

การคัดแยกแบคทีเรียจากวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อการผลิตปุ๋ยหมัก



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ไม่สังกัดภาควิชา/เทียบเท่า

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ISOLATION OF BACTERIA FROM SOLID WASTE IN CASSAVA STARCH INDUSTRY FOR
COMPOST PRODUCTION



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Common Course

FACULTY OF SCIENCE

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การคัดแยกแบคทีเรียจากวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมการ ผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อการผลิตปุ๋ยหมัก
โดย	น.ส.เมอญานุส บุตรคำโชติ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปฐมวดี ญาณทัศนีย์จิต)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชมภูษ ก्लीนวงษ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรตรา เพ็ญเขียว)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร.สุริษา สุวรรณรังษี)

เมธอด บุตริคัล : การคัดแยกแบคทีเรียจากวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อการผลิตปุ๋ยหมัก. (ISOLATION OF BACTERIA FROM SOLID WASTE IN CASSAVA STARCH INDUSTRY FOR COMPOST PRODUCTION) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ศ. ดร.วรุฒิ จุฬาลักษณ์านุกูล

ในประเทศไทยกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังก่อให้เกิดของเหลือทิ้งจำนวนมาก เช่น กากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ก่อให้เกิดมลพิษทางสิ่งแวดล้อม ในงานวิจัยนี้ศึกษาการเปลี่ยนกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียให้เป็นปุ๋ยหมักโดยใช้หัวเชื้อแบคทีเรีย หัวเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ประกอบด้วย กลุ่มเชื้อที่ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลส *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 กลุ่มเชื้อที่ทำหน้าที่ย่อยแป้ง *B. subtilis* A-CV1031 และ *B. subtilis* A-S51041 เชื้อที่ทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจน *B. ginsengihumi* N-BS1 เชื้อที่ทำหน้าที่ละลายฟอสเฟต *B. shackletonii* P-S1041 และเชื้อที่ทำหน้าที่ละลายโพแทสเซียม *B. bataviensis* K-S1043 การใช้หัวเชื้อแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวกับกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย ร่วมกับรำข้าว มูลวัว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์ เพื่อผลิตเป็นปุ๋ยหมัก พบว่ามีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม เท่ากับร้อยละ 1.77, 1.97, 1.75, 3.76, 0.72 และมีปริมาณ สังกะสี แมงกานีส เหล็ก และทองแดงเท่ากับ 139, 740, 3040 และ 11.26 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในขณะที่อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของปุ๋ยลดลง การใช้กากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย ร่วมกับรำข้าว มูลวัว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์ มีศักยภาพในการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้แก่ปุ๋ยหมักจากวัสดุเหลือทิ้งได้

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6270030223 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORD: compost, cassava pulp, wastewater treatment sludge, cellulase,
amylase

Cheryanus Butkumchote : ISOLATION OF BACTERIA FROM SOLID WASTE IN
CASSAVA STARCH INDUSTRY FOR COMPOST PRODUCTION. Advisor: Prof.
WARAWUT CHULALAKSANANUKUL, Ph.D.

In Thailand, cassava starch processing generates various solid waste such as cassava pulp and wastewater treatment sludge that creating serious environmental pollution. The study of cassava pulp and wastewater treatment sludge converted to compost by a bacterial consortium. Bacterial consortium formulated with five groups of bacteria containing *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 and *B. shackletonii* C-S1052 (cellulolytic bacteria), *B. subtilis* A-CV1031 and *B. subtilis* A-S51041 (amylolytic bacteria), *B. ginsengihumi* N-BS1 (nitrogen fixation bacteria), *B. shackletonii* P-S1041 (phosphate solubilizing bacteria), and *B. bataviensis* K-S1043 (potassium solubilizing bacteria). The effect of consortium inoculation on cassava pulp, wastewater treatment sludge, rice bran, cow dung, phosphate rock and feldspar compost demonstrated nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg), zinc (Zn), manganese (Mn), iron (Fe), copper (Cu) were 1.77%, 1.97%, 1.75%, 3.76%, 0.72%, 139, 740, 3040 and 11.26 mg/kg, respectively. Whereas, C:N ratio of waste compost was reduced. The combination of cassava pulp, wastewater treatment sludge, rice bran, cow dung, phosphate rock and feldspar has potential to improve the nutrients in waste compost.

Field of Study: Biotechnology

Student's Signature

Academic Year: 2021

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับการสนับสนุนจาก ศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่คอยให้คำปรึกษา และ คำแนะนำในการพัฒนาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ให้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งยังช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จ สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปฐมวดี ญาณทัศน์ย์จิต ประธานกรรมการสอบ วิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.สีหนาท ประสงค์สุข ประธานกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชมภูณัฐ กลิ่นวงษ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรตรา เพ็ญภูเขียว และดร.สุริษา สุวรรณรังสี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำ ในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณ บริษัท ไทยวา จำกัด (มหาชน) สำหรับเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับ ความช่วยเหลือจากเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนช่วยที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ หน่วยปฏิบัติการวิจัยการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ ในการ สนับสนุนพื้นที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ ทุกคนในหน่วยปฏิบัติการวิจัยการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพด้วยตัวเร่ง ปฏิกิริยาชีวภาพ สำหรับการถ่ายทอดความรู้ ให้คำแนะนำและประสบการณ์ต่าง ๆ ส่งผลให้งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่น้อง และนายภูมิภัทร นิลทยา สำหรับการให้คำปรึกษา ให้การสนับสนุน ให้ กำลังใจ ทั้งยังคอยให้การช่วยเหลือตลอดระยะเวลา 3 ปีในการเรียนปริญญาโท

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจ ให้การ สนับสนุนตลอดมา

เมธอญานุส บุตรคำโชติ

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	6
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	6
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	6
1.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.1 มันทำปะหลัง.....	8
2.1.1 กากมันสำปะหลัง.....	8
2.1.2 กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย.....	10
2.1.2.1 การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ออกซิเจน.....	10
2.1.2.2 การบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน.....	11
2.2 ปุ๋ยหมัก.....	12

2.2.1 การผลิตปุ๋ยหมักแบบใช้อากาศ (aerobic composting).....	13
2.2.2 การผลิตปุ๋ยหมักแบบไม่ใช้อากาศ (anaerobic composting).....	14
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตปุ๋ยหมักแบบใช้อากาศ.....	14
2.3.1 ความชื้น.....	14
2.3.2 การเติมอากาศ.....	15
2.3.3 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....	15
2.3.4 อุณหภูมิ.....	15
2.3.5 จุลินทรีย์.....	16
2.3.5.1 เชื้อรา.....	16
2.3.5.2 แอคติโนมัยซีท.....	16
2.3.5.3 แบคทีเรีย.....	17
2.4 เอนไซม์เซลลูเลส.....	18
2.4.1 เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส หรือคาร์บอกซิเมทิลเซลลูเลส (E.C. 3.2.1.4).....	19
2.4.2 เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส หรือเซลโลไบโอไฮโดรเลส (E.C. 3.2.1.91).....	19
2.4.3 เอนไซม์บีตาไกลูโคซิเดส หรือเซลโลไบเอส (E.C. 3.2.1.21).....	20
2.5 เอนไซม์อะไมเลส.....	20
2.5.1 แอลฟา-อะไมเลส (E.C. 3.2.1.1).....	21
2.5.2 บีตา-อะไมเลส (E.C. 3.2.1.2).....	22
2.5.3 กลูโคอะไมเลส (E.C. 3.2.3).....	22
2.6 ไนโตรเจน.....	23
2.7 ฟอสฟอรัส.....	24
2.8 โปแทสเซียม.....	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	28
3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	28

3.2 เคมีภัณฑ์.....	29
3.3 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และวัสดุในการผลิตปุ๋ยหมัก	30
3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	31
3.4.1 เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และดินใต้ต้นมัน สำปะหลัง.....	31
3.4.1.1 เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย.....	31
3.4.1.2 เก็บตัวอย่างดิน.....	31
3.4.2 ตรวจสอบองค์ประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก.....	31
3.4.3 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้	32
3.4.3.1 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้บนอาหารแข็ง	32
3.4.3.2 การวัดกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	32
3.4.3.3 การวัดกิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมด (Total cellulase: FPase)....	33
3.4.4 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้	34
3.4.4.1 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้บนอาหารแข็ง	34
3.4.4.2 การวัดกิจกรรมการย่อยแป้งมันสำปะหลัง	35
3.4.5 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้.....	36
3.4.5.1 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้บนอาหารแข็ง	36
3.4.5.2 ทดสอบการผลิตแอมโมเนียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้	36
3.4.6 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียสามารถละลายฟอสเฟตได้บนอาหารแข็ง.....	37
3.4.7 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียสามารถละลายโพแทสเซียมได้บนอาหารแข็ง.....	37
3.4.8 ระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้	38
3.4.8.1 ระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วย 16S rRNA	38
3.4.8.2 ศึกษาลักษณะ รูปร่าง และการติดสีของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้	38
3.4.9 ทดสอบความเข้ากันได้ของเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาผลิตหัวเชื้อ	38

3.4.10	ศึกษาการผลิตปุ๋ยหมัก.....	39
3.4.10.1	การผลิตปุ๋ยหมักในกล่องโฟม.....	39
3.4.10.2	การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา	39
3.4.10.3	การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา..	40
3.4.11	ตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก	41
3.4.12	ตรวจสอบเชื้อ PGPB หลังจากกระบวนการหมักปุ๋ย.....	41
บทที่ 4	ผลการดำเนินงาน	42
4.1	ผลการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวเคมีของวัสดุบิที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก .	42
4.1.1	ผลการตรวจสอบองค์ประกอบในกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำ เสีย.....	42
4.1.2	ผลการตรวจสอบองค์ประกอบในรำข้าว มูลวัว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์.....	44
4.2	ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้.....	45
4.2.1	ผลคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้บนอาหารแข็ง	45
4.2.2	ผลการวัดกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส.....	47
4.2.3	ผลการวัดกิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมด	48
4.3	ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้.....	50
4.3.1	ผลคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้บนอาหารแข็ง	50
4.3.2	ผลการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส	51
4.4	ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้	52
4.4.1	ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสามารถตรึงไนโตรเจนได้บนอาหารแข็ง	52
4.4.2	ผลการทดสอบการผลิตแอมโมเนียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้.....	53
4.5	ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสามารถละลายฟอสเฟตได้บนอาหารแข็ง	54
4.6	ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสามารถละลายโพแทสเซียมได้บนอาหารแข็ง	55

4.7 ผลการระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้.....	58
4.7.1 ผลการระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วย 16S rRNA.....	58
4.7.2 ผลการศึกษาลักษณะ และการติตสีของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้.....	59
4.7.3 ผลทดสอบความเข้ากันได้ของเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาผลิตหัวเชื้อ.....	62
4.8 ผลการศึกษาการผลิตปุ๋ยหมัก.....	63
4.8.1 ผลการศึกษาการหมักปุ๋ยในกล่องโฟม.....	63
4.8.2 การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทรวา อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา.....	65
4.8.3 การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทรวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา.....	66
4.9 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก.....	67
4.9.1 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก ของปุ๋ยหมักในกล่อง โฟม.....	67
4.9.2 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก ของปุ๋ยหมัก ณ แปลง ทดลองไทรวา อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา.....	69
4.9.3 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก ของปุ๋ยหมัก ณ แปลง ทดลองไทรวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา.....	71
4.10 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB หลังจากกระบวนการหมักปุ๋ย.....	73
4.10.1 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมักกล่องโฟม.....	73
4.10.2 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอลำทะเมนชัย.....	73
4.10.2 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว.....	74
บทที่ 5 วิจัยณ์ผลการทดลอง.....	75
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	84
บรรณานุกรม.....	86
ภาคผนวก.....	93
ภาคผนวก ก.....	94
ภาคผนวก ข.....	97

ภาคผนวก ค	100
ภาคผนวก ง.....	102
ประวัติผู้เขียน.....	111



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ลักษณะทางชีวเคมีของกากมันสำปะหลังแห้ง.....	10
ตารางที่ 2 ลักษณะทางเคมี และชีวเคมีของกากตะกอนที่ผ่านการบำบัดน้ำเสีย.....	12
ตารางที่ 3 สมบัติทางกายภาพและเคมีของกากมันสำปะหลังและกากตะกอนจากบ่อน้ำเสีย	43
ตารางที่ 4 สมบัติทางชีวเคมีของกากมันสำปะหลัง	43
ตารางที่ 5 สมบัติทางกายภาพและเคมีของกากมันสำปะหลังและกากตะกอนจากบ่อน้ำเสีย	44
ตารางที่ 6 สมบัติทางเคมีของผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์	45
ตารางที่ 7 การสร้างโซนไสของไอโซเลตที่คัดแยกได้บนอาหาร CMC.....	47
ตารางที่ 8 กิจกรรมการย่อย CMC ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์เซลลูเลส.....	47
ตารางที่ 9 กิจกรรมการย่อย CMC ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์เซลลูเลส (ต่อ)	48
ตารางที่ 10 กิจกรรมการย่อยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ของเอนไซม์เซลลูเลสทั้งหมด.....	49
ตารางที่ 11 การสร้างโซนไสของไอโซเลตที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง SA.....	51
ตารางที่ 12 กิจกรรมการย่อยแป้งในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์อะไมเลส.....	52
ตารางที่ 13 การผลิตแอมโมเนียของแบคทีเรียไอโซเลต N-BS1.....	53
ตารางที่ 14 การสร้างโซนไสของแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK.....	54
ตารางที่ 15 การสร้างโซนไสของแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK (ต่อ)	55
ตารางที่ 16 การสร้างโซนไสของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Aleksandrov	56
ตารางที่ 17 การสร้างโซนไสของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Aleksandrov (ต่อ).....	57
ตารางที่ 18 การสร้างโซนไสของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Aleksandrov (ต่อ).....	58
ตารางที่ 19 ชนิดของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลตที่ถูกคัดเลือก	59
ตารางที่ 20 การย้อมติดสีของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก	60
ตารางที่ 21 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อทั้ง 8 ไอโซเลต	61

ตารางที่ 22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อทั้ง 8 ไอโซเลต (ต่อ).....	62
ตารางที่ 23 ลักษณะปุ๋ยหมักในกล่องโฟม.....	65
ตารางที่ 24 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมักในกล่องโฟม.....	68
ตารางที่ 25 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมักในกล่องโฟม (ต่อ).....	69
ตารางที่ 26 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมัก ณ อำเภอลำปาง.....	70
ตารางที่ 27 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมัก ณ อำเภอลำปาง (ต่อ)	71
ตารางที่ 28 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสี่คิ้ว	72



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 กระบวนการสกัดแป้งออกจากหัวมันสำปะหลัง.....	9
ภาพที่ 2 การบำบัดน้ำเสียโดยการใช้ออกซิเจน.....	10
ภาพที่ 3 การบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน.....	12
ภาพที่ 4 กระบวนการหมักแบบใช้อากาศ.....	14
ภาพที่ 5 เซลลูโลส.....	19
ภาพที่ 6 ลักษณะโครงสร้างของเอนไซม์เซลลูเลส.....	20
ภาพที่ 7 วัฏจักรไนโตรเจน.....	24
ภาพที่ 8 โพลีแซ็กคาไรด์.....	27
ภาพที่ 9 ความสามารถในการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส.....	46
ภาพที่ 10 การสร้างโซนไลสของจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง SA.....	50
ภาพที่ 11 แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่คัดแยกได้จากดินใต้ต้นโสน.....	53
ภาพที่ 12 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK.....	54
ภาพที่ 13 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายโพลีแซ็กคาไรด์บนอาหารแข็ง Aleksandrov.....	56
ภาพที่ 14 การซัดทับกันของเชื้อทั้ง 8 ชนิดเพื่อทดสอบความเข้ากันได้.....	63
ภาพที่ 15 อุณหภูมิเฉลี่ยของกองปุ๋ยหมักในกล่องโฟม.....	64
ภาพที่ 16 อุณหภูมิเฉลี่ยของกองปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา.....	66
ภาพที่ 17 อุณหภูมิเฉลี่ยของกองปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา.....	67
ภาพที่ 18 เชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมักกล่องโฟม.....	73
ภาพที่ 19 เชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง.....	74
ภาพที่ 20 เชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว.....	74

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สำคัญของประเทศไทย เป็นพืชหัวและเจริญได้ในภูมิประเทศเขตร้อน ในประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นจำนวนมากในแถบพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยคิดเป็นร้อยละ 8.22 ของผลผลิตรวมภายในประเทศ เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่มีข้อได้เปรียบกว่าพืชอื่น ๆ ได้แก่ มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์เป็นพลังงานชีวภาพได้สูง มีความสามารถในการทนความแห้งแล้งได้ดี และมีอัตราในการสกัดแป้งสูง (Okogbenin และคณะ, 2013) ส่งผลให้อุตสาหกรรมในการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นมากจากในอดีตที่เริ่มจากอุตสาหกรรมเล็ก ๆ ภายในครัวเรือน ปัจจุบันได้มีการขยายใหญ่ขึ้นเป็นโรงงานอุตสาหกรรมที่เน้นการแปรรูปและส่งออกเป็นหลัก โดยประเทศไทยผลิตแป้งมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลังดัดแปลงส่งออกเป็นรายใหญ่ที่สุดของโลก ส่งผลให้มีของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังมากตามไปด้วย เช่น กากมันสำปะหลัง เปลือกมันสำปะหลัง ใบและต้นมันสำปะหลังที่ได้หลังจากการเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย (Ubalua, 2007) ในแต่ละปีจะมีกากมันสำปะหลังเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังเป็นจำนวนมากประมาณ 5 ล้านตันต่อปี ซึ่งองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลัง คือ ลิกโนเซลลูโลส โดยมีอยู่มากถึงร้อยละ 55.1 ของน้ำหนักกากมันสำปะหลังแห้ง ลิกโนเซลลูโลสของกากมันสำปะหลังแห้งจะมีเซลลูโลสที่มีโครงสร้างเป็นผลึก (crystalline cellulose) และเซลลูโลสที่มีโครงสร้างไม่แน่นอน (amorphous cellulose) ร้อยละ 25 ลิกนิน (lignin) ที่มีหน้าที่ในการป้องกันการรุกรานจากจุลินทรีย์ ร้อยละ 17.8 และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ที่ทำหน้าที่ในการเชื่อมเส้นใยของเซลลูโลสกับลิกนิน และเพิ่มความแข็งแรงให้กับโครงข่ายลิกโนเซลลูโลส ร้อยละ 12.3 ของน้ำหนักกากมันสำปะหลังแห้ง ตามลำดับ (Zhang และคณะ, 2016) นอกจากนี้กากมันสำปะหลังยังมี คาร์โบไฮเดรต แป้ง โปรตีน และไคยาไนด์ (Chithra และคณะ, 2016) ซึ่งองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังเหล่านี้มีขนาดใหญ่ ยากต่อการย่อยสลาย และ

ใช้ระยะเวลาานาน ดังนั้นการนำของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังไปใช้เป็นปุ๋ย สำหรับการเพาะปลูกพืชจึงไม่เหมาะสมนัก พืชจะนำแร่ธาตุหรือธาตุอาหารต่าง ๆ ไปใช้งานได้ช้าลง ส่งผลให้พืชอาจมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าลงไปด้วย ด้วยเหตุนี้จึงต้องมีการนำของเหลือทิ้งจาก อุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังเหล่านี้มาแปรรูปให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้การเจริญเติบโต ได้ง่ายและรวดเร็ว โดยการทำเป็นปุ๋ยหมักที่เหมาะสมสำหรับการปลูกพืช เพื่อช่วยลดของเหลือทิ้งจาก อุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังให้เหลือน้อยที่สุดและเกิดประโยชน์อย่างสูงสุด

ปัจจุบันปุ๋ยที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมปลูกพืชมากที่สุด คือ ปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15 หรือ สูตร 13-13-21 เรียงตามร้อยละของธาตุอาหารหลัก 3 ตัว คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม ตามลำดับที่มีอยู่ในปุ๋ยเคมีสูตรนั้น ๆ ปุ๋ยเคมีสูตรดังกล่าวเป็นปุ๋ยเคมีสูตรมาตรฐานที่ใช้ สำหรับการเร่งลำต้น ใบ และดอก แต่การใช้ปุ๋ยเคมีพบว่ามีความเสี่ยงที่เป็นอันตรายต่อดิน ได้แก่ ปุ๋ยเคมี บางชนิดเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลาานานจะทำให้ดินมีสภาพเป็นกรด (Kaur และคณะ, 2005) จึง จำเป็นต้องมีการปรับปรุงคุณภาพดินก่อนปลูกพืชครั้งต่อไป และปุ๋ยเคมีบางชนิดหากใส่ใกล้โคนต้นพืช มากเกินไป อาจส่งผลให้เกิดอันตรายต่อต้นพืชและการงอกของเมล็ดได้ ดังนั้นการเลือกใช้ปุ๋ยหมัก แทนปุ๋ยเคมีจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ ปุ๋ยหมัก คือ ปุ๋ยอินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ผ่านมากระบวนการผลิต ทางธรรมชาติ ปุ๋ยอินทรีย์ส่วนใหญ่ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของดิน ทำให้ร่วนซุย ระบายน้ำ และถ่ายเทอากาศได้ดี รากพืชชอนไชไปหาธาตุอาหารได้ง่าย ปุ๋ยหมักมีปริมาณธาตุอาหาร อยู่น้อยเมื่อเทียบกับปุ๋ยเคมี และธาตุอาหารส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ จึงต้องนำมา ผ่านกระบวนการย่อยสลายของเชื้อแบคทีเรียในดิน โดยใช้ของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตมัน สำปะหลัง ได้แก่ กากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียเป็นวัตถุดิบตั้งต้น เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้มากถึงร้อยละ 89 ช่วยรักษาความชุ่มชื้น และทำให้น้ำระเหยออกไปได้อย่างช้า ๆ เส้นใยของกากมันสำปะหลังมีลักษณะเป็นรูพรุนจำนวนมาก มีโครงสร้างเส้นใยที่ไม่ซับซ้อน จึงทำให้มีการระบายน้ำได้ดี รากพืชไม่เน่า (Chithra และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังพบว่ากากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบของแป้งและเส้นใยสูง แต่มีโปรตีน ธาตุอาหาร

และไซยาไนด์ที่ต่ำ จึงไม่มีผลเสียต่อดิน ส่งผลให้การจะนำของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการแปรรูปไปใช้เป็นปุ๋ยสำหรับเพาะปลูกพืชเป็นไปได้ยาก จึงต้องมีการนำกากมันสำปะหลัง และสารอื่น ๆ เพิ่มเติมที่สามารถเป็นแหล่งแร่ธาตุสำหรับการเจริญเติบโตของพืชมาแปรรูปด้วยวิธีการหมักกับเชื้อแบคทีเรียเสียก่อน เชื้อแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญเติบโตได้เร็ว เมื่อเทียบกับจุลินทรีย์อื่น ๆ เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายจำพวกลิกโนเซลลูโลสได้ สามารถพบได้ง่ายในสิ่งแวดล้อมทั่วไป หรือสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะกับการเจริญ เชื้อแบคทีเรียก็สามารถเจริญเติบโตได้ (Maki และคณะ, 2009) โดยวิธีการแปรรูปของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ง่ายที่สุด คือ การหมักแบบ solid-state fermentation (SSF) ซึ่งเป็นกระบวนการหมักที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตบนวัสดุแข็งที่เรียกว่า solid support material (Pandey, 1992) วัสดุแข็งมีอยู่ด้วยกัน 2 ชนิด คือ วัสดุแข็งที่ได้จากธรรมชาติ (natural support) เช่น ขยะที่เป็นลิกโนเซลลูโลส และอีกชนิด คือ วัสดุแข็งที่ไม่ใช่สารธรรมชาติ (inert support) เช่นพลาสติกโฟม (Machado และคณะ, 2013) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่จะสามารถแปรรูปของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักแบบ SSF ได้ จะต้องมีการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ระบบการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ การผลิตเอนไซม์กลูคาเนส (endoglucanase) ที่ทำหน้าที่ในการตัดพันธะของ บีตา-1,4-กลูโคซิดิก ของโมเลกุลเซลลูโลสอย่างสุ่ม ทำให้ได้โพลีแซคคาไรด์สายสั้นอย่างน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลเซลโลไบโอส การผลิตเอนไซม์เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) ทำหน้าที่ในการตัด บีตา-1,4-กลูโคซิดิก และการผลิตเอนไซม์บีตาไกลูโคซิเดส ทำหน้าที่ในการย่อยน้ำตาลเซลโลไบโอส (Jomsueb และคณะ, 2013) นอกเหนือจากการแปรรูปของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังไปเป็นแหล่งอาหารที่พืชสามารถใช้ในการเจริญเติบโตได้แล้ว การเติมแบคทีเรียในกลุ่ม plant growth promoting bacteria ยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ plant growth promoting bacteria หรือ PGPB คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่สามารถพบได้ในบริเวณไรโซสเฟียร์ (rhizosphere) หรือบนรากพืช และยังสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช ป้องกันโรคพืช และลดสภาวะที่ทำให้เกิดความเครียดต่อพืชได้ (Souza และคณะ, 2015) นอกจากนี้ที่กล่าวไปข้างต้นแล้วการมีแบคทีเรียในกลุ่ม PGPB จะมีประโยชน์

ต่อพืชในทั้งทางตรงและทางอ้อม ประโยชน์ในทางตรง ได้แก่ การแปรสภาพแร่ธาตุบางตัวให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้งานได้ หรือ ช่วยลดระดับฮอร์โมนพืชที่มีมากเกินไปจนอาจจะส่งผลเสียต่อพืช และยังสามารถช่วยเพิ่มฮอร์โมนบางชนิดที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย ส่วนประโยชน์ในทางอ้อม ได้แก่ ยับยั้งผลที่เกิดจากเชื้อก่อโรคชนิดต่าง ๆ ได้ (Glick, 2012) ดังนั้น PGPB จึงมีส่วนสำคัญในการช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์และแข็งแรง ตัวอย่างของ PGPB ที่พบได้บ่อย ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea* และ *Microbacterium* (Compant และคณะ, 2010)

ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาการคัดเลือกแบคทีเรียที่เหมาะสมในการนำไปแปรรูปของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตแปงมันสำปะหลัง ได้แก่ กากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย โดยเริ่มจากการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการเป็น PGPB จากนั้นนำของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตแปงมันสำปะหลังมาหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ให้ออกมาเป็นแร่ธาตุที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อ้างอิงตามธาตุอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตสำหรับพืช คือ ธาตุอาหารหลัก (primary macronutrients) ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ธาตุอาหารรอง (secondary macronutrients) ได้แก่ แคลเซียม และแมกนีเซียม และสุดท้าย คือ ธาตุอาหารเสริม (micronutrients) อย่างเช่น แมงกานีส ทองแดง เหล็ก สังกะสี เป็นต้น (Uchida, 2000) งานวิจัยนี้สนใจการหมักแบบ SSF ด้วยวัสดุแข็งที่ได้จากธรรมชาติ คือ กากมันสำปะหลัง ทำหน้าที่เป็น solid support material เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียย่อยกากมันสำปะหลังให้ได้เป็นแร่ธาตุที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ง่าย ซึ่งจะมีการวัดคุณสมบัติทั้งหมด 4 ส่วน คือ คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ วัดการอุ้มน้ำ (water holding capacity : WHC) ความหนาแน่น อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio) และรูพรุน คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริม คุณสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ การนับจำนวนแบคทีเรีย เชื้อรา (fungi) และนับโคโลนีของแอคติโนมัยซีต (Actinomycetes) และตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เช่น ปริมาณของ

คาร์โบไฮเดรต แป้ง เซลลูโลส ไฟเบอร์ โปรตีน และไขมัน ก่อนหมัก และหลังได้รับการหมักด้วย เชื้อแบคทีเรียแล้วเปรียบเทียบกัน นอกจากนี้ยังมีการเติมสารเติมแต่งอื่น ๆ ตัวอย่างเช่น ผงหิน ฟอสเฟต ที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งฟอสเฟต เป็นต้น และมีการเติมเชื้อในกลุ่ม PGPB ตัวอย่างเช่น เชื้อในกลุ่ม *Bacillus* ที่ช่วยในการตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสฟอรัส และ ละลายโพแทสเซียม (Syamala และคณะ, 2017) เพื่อนำมาผลิตเป็นปุ๋ยหมัก



1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

คัดแยกแบริคที่เรียจจากวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง และดิน จากนั้น นำแบริคที่เรียจที่คัดแยกได้มาหมักกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อผลิต เป็นปุ๋ยหมัก

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการคัดแยกเชื้อแบริคที่เรียจ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อแบริคที่เรียจที่มี ความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบริคที่เรียจที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลู ลีส เชื้อแบริคที่เรียจที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เชื้อแบริคที่เรียจละลายฟอสเฟต และเชื้อ แบริคที่เรียจละลายโพแทสเซียม และนำมาหมักร่วมกับกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัด น้ำเสีย และสารเติมแต่งอื่น ๆ เพื่อผลิตเป็นปุ๋ยหมัก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลิตปุ๋ยหมักจากวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ได้แก่ กากมัน สำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย
2. คัดแยกแบริคที่เรียจที่มีความสามารถในการผลิตปุ๋ยหมักได้

1.5 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. ศึกษาค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัย
2. เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และสารเติมแต่งอื่น ๆ ได้แก่ รำข้าว มูลวัว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์ มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวเคมี

3. คัดแยกแบคทีเรียจำนวน 5 กลุ่มที่มีความสามารถในการผลิตปุ๋ยหมัก ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต และเชื้อแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม
4. ศึกษาลักษณะ รูปร่าง การติดสี และระบุนิตของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้
5. ศึกษาการผลิตปุ๋ยหมักจากแบคทีเรียที่คัดแยกได้
6. ตรวจสอบองค์ประกอบของปุ๋ยหมักก่อน และหลังหมักเปรียบเทียบกัน
7. วิเคราะห์ข้อมูล สรุปผล นำเสนองานวิจัยในการประชุมวิชาการ และเขียนวิทยานิพนธ์



บทที่ 2

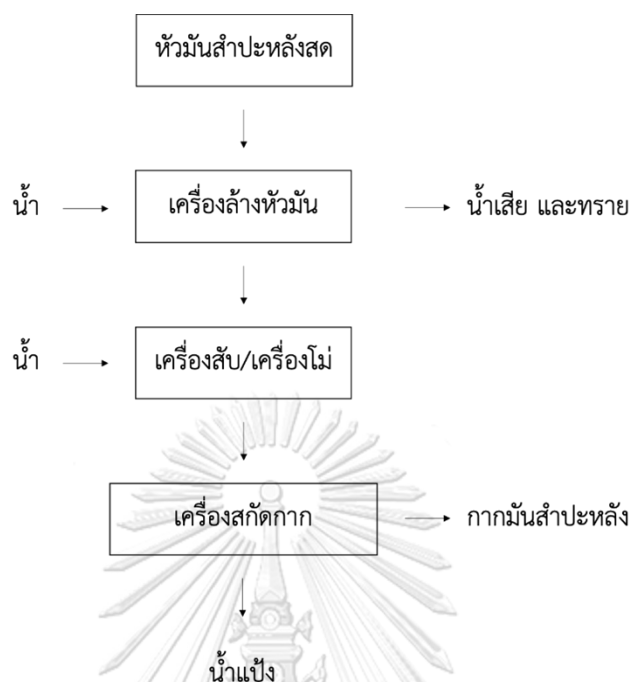
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชยืนต้นที่มีลักษณะเป็นพุ่มอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae และเป็นพืชที่มีการสะสมแป้งบริเวณราก พืชชนิดนี้มีความทนทานต่อสภาพดินที่เสื่อมโทรม ขาดธาตุอาหาร อีกทั้งทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ (Hillocks และคณะ, 2002) มันสำปะหลังถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญเป็นอันดับ 3 ของประเทศไทย นิยมปลูกมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คิดเป็นร้อยละ 55 ของพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังทั้งประเทศ โดยในปี พ.ศ. 2564 ประเทศไทยมีการคาดการณ์ผลผลิตมันสำปะหลัง 29.88 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2563 ถึงร้อยละ 24 มันสำปะหลังถูกนำไปแปรรูป และส่งออกในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้แก่ มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น ในกระบวนการแปรรูปมันสำปะหลังพบว่ามีวัสดุเหลือทิ้งที่ได้จากการแปรรูปจำนวนมาก โดยเฉพาะการแปรรูปมันสำปะหลังเป็นแป้งมันสำปะหลังที่ได้อายุสั้นหรือทิ้งจำพวกกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย

2.1.1 กากมันสำปะหลัง

หลังจากเกษตรกรทำการเก็บหัวมันสำปะหลังสดจากแปลงเป็นที่เรียบร้อยแล้ว หัวมันสำปะหลังสดทั้งหมดจะถูกนำเข้าสู่โรงงานเพื่อแปรรูปหัวมันสำปะหลังสดให้เป็นแป้ง โดยของเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตแป้ง คือ กากมันสำปะหลัง กากมันสำปะหลังได้จากกระบวนการนำหัวมันสำปะหลังสดมาล้างด้วยน้ำให้สะอาดเพื่อล้างเศษดิน ทราย และสิ่งสกปรกที่ติดอยู่กับหัวมันสำปะหลังออกให้หมด จากนั้นหัวมันสำปะหลังสดที่ผ่านการล้างด้วยน้ำจะถูกนำเข้าสู่เครื่องสับ หรือเครื่องโม่ เพื่อสับหัวมันสำปะหลังสดให้ละเอียด ซึ่งจะได้ของเหลวที่มีองค์ประกอบของแป้ง น้ำ และกากมันสำปะหลังผสมกันอยู่ สุดท้ายของเหลวดังกล่าวจะถูกนำเข้าสู่เครื่องสกัดกาก เพื่อแยกกากมันสำปะหลังออกจากน้ำแป้งโดยอาศัยแรงเหวี่ยง (Deeprasert และคณะ, 2012) จากนั้นน้ำแป้งจะถูกนำเข้าสู่เครื่องอบ และกากมันสำปะหลังจะถูกนำเข้าสู่เครื่องอัดกากต่อไป ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กระบวนการสกัดแป้งออกจากหัวมันสำปะหลัง

โดยทำการล้างหัวมันสำปะหลังสดแล้วนำเข้าเครื่องสับ หรือเครื่องโม่ จากนั้นมันสำปะหลังที่ได้จะถูกนำเข้าสู่เครื่องสกัดกาก ทำให้ได้น้ำแป้ง และกากมันสำปะหลังออกมาเป็นวัสดุเหลือทิ้ง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

กากมันสำปะหลังที่ผ่านการนำเข้าเครื่องอัดกาก และตากแล้วพบว่ายังคงมีปริมาณแป้งเหลืออยู่ 401 ถึง 751 กรัมต่อกิโลกรัมกากมันสำปะหลังแห้ง รองลงมา คือ ไฟเบอร์ เหลืออยู่ 149 ถึง 506 กรัมต่อกิโลกรัมกากมันสำปะหลังแห้ง และ ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 41 ถึง 114 กรัมต่อกิโลกรัมมันสำปะหลังแห้ง (Li และคณะ, 2017) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะทางชีวเคมีของกากมันสำปะหลังแห้ง

ค่าที่ตรวจสอบ	ปริมาณ (กรัมต่อ กิโลกรัมของกากมันสำปะหลังแห้ง)
แป้ง	401-751
ไฟเบอร์	149 - 506
เซลลูโลส	41.0 - 114
เฮมิเซลลูโลส	42.0 - 83.0
ลิกนิน	12.0
ไขมัน	5.0 - 11.0
โปรตีน	0.3 - 1.6

2.1.2 กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย

การบำบัดน้ำเสียของโรงงานทั่วไปสามารถทำได้โดยอาศัยจุลินทรีย์ในการบำบัด ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ออกซิเจน และการบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน

2.1.2.1 การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ออกซิเจน

การบำบัดน้ำเสียโดยการใช้ออกซิเจนทำได้โดยการเติมออกซิเจนเข้าไปในระบบ เพื่อให้สารอินทรีย์ในน้ำถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์แล้วสลายไปเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นหลังจากกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์จะทำให้ได้เซลล์ของจุลินทรีย์ น้ำ และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การบำบัดน้ำเสียโดยการใช้ออกซิเจน

ทำให้ได้เซลล์จุลินทรีย์ น้ำ และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา

การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ออกซิเจนมีข้อดี คือ มีประสิทธิภาพในการบำบัดสูง และใช้ระยะเวลาในการบำบัดน้อยกว่าการบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน แต่มีข้อเสีย คือ ต้องมีการพ่นอากาศที่ใช้ในการบำบัดจำนวนมาก ส่งผลให้ต้องใช้ค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง และต้องกำจัดเซลล์จุลินทรีย์ส่วนเกินที่เกิดขึ้นเพื่อไม่ให้รบกวนระบบการบำบัด นอกจากนี้การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ ออกซิเจนไม่เหมาะกับน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์จำนวนมาก เนื่องจากระบบพ่นอากาศอาจพ่น ออกซิเจนได้ไม่ทั่วถึงทำให้การบำบัดน้ำเสียไม่มีประสิทธิภาพ

2.1.2.2 การบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน

การบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจนสารอินทรีย์ในน้ำเสียร้อยละ 80 – 90 จะถูกย่อยสลายเป็นแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ รวมเรียกว่าแก๊สชีวภาพ (biogas) ดังภาพที่ 3 ระบบบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจนประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ กระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เป็นกระบวนการที่นำแบคทีเรียที่สามารถปล่อยเอนไซม์เข้ามาช่วยในการเร่งการสลาย โมเลกุลของสารอินทรีย์ จากสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ที่ย่อยสลายได้ยากให้เป็นสารโมเลกุลที่เล็กลง โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะได้รับสารอาหารที่ได้จากการแตกตัวของโมเลกุลของสารอินทรีย์ดูดซึมเข้าสู่ เซลล์ได้โดยตรง ต่อมาเป็นกระบวนการอะซิโดเจเนซิส (acidogenesis) เป็นกระบวนการที่แบคทีเรีย กลุ่มผลิตกรด (acid forming bacteria) เข้ามาทำหน้าที่ในการย่อยสลายโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่ แตกตัวแล้วในขั้นตอนไฮโดรไลซิสให้เป็นกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ เป็นต้น สุดท้าย คือ กระบวนการสร้างมีเทน (methanogenesis) ในขั้นตอนนี้แบคทีเรียในกลุ่มที่ สามารถผลิตแก๊สมีเทน (methane forming bacteria) จะทำหน้าที่ในการเปลี่ยนกรดอะซิติก และ ไฮโดรเจนให้เป็นแก๊สมีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ (Fricke และคณะ, 2005) ส่วนที่ย่อยสลายยาก จะกลายเป็นกากตะกอนอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ จากนั้นจะถูกนำออกจากระบบบำบัด และไม่มี การเปลี่ยนแปลงหรือย่อยสลายต่อไป



ภาพที่ 3 การบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน

ทำให้ได้เซลล์จุลินทรีย์ น้ำ และแก๊สชีวภาพ ที่ประกอบด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แก๊สแอมโมเนีย แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ และแก๊สมีเทน

กากตะกอนที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจนแล้วพบว่ามีความชื้นสูงถึง 70 – 780 กรัมต่อลิตร รองลงมา คือ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 9.6 -37.5 กรัมต่อลิตร และปริมาณโปรตีนทั้งหมดเท่ากับ 2.3 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่ากากตะกอนที่ผ่านการบำบัดน้ำเสียมีองค์ประกอบของธาตุอาหารที่สามารถนำไปผลิตเป็นปุ๋ยหมักได้

ตารางที่ 2 ลักษณะทางเคมี และชีวเคมีของกากตะกอนที่ผ่านการบำบัดน้ำเสีย

ค่าที่ตรวจสอบ	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	9.60 – 37.5
ปริมาณโปรตีนทั้งหมด	2.30
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	0.10 - 1.30
ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด	70.0 – 780
น้ำมัน	0.60
ความเป็นกรดเป็นด่าง	3.60-6.20

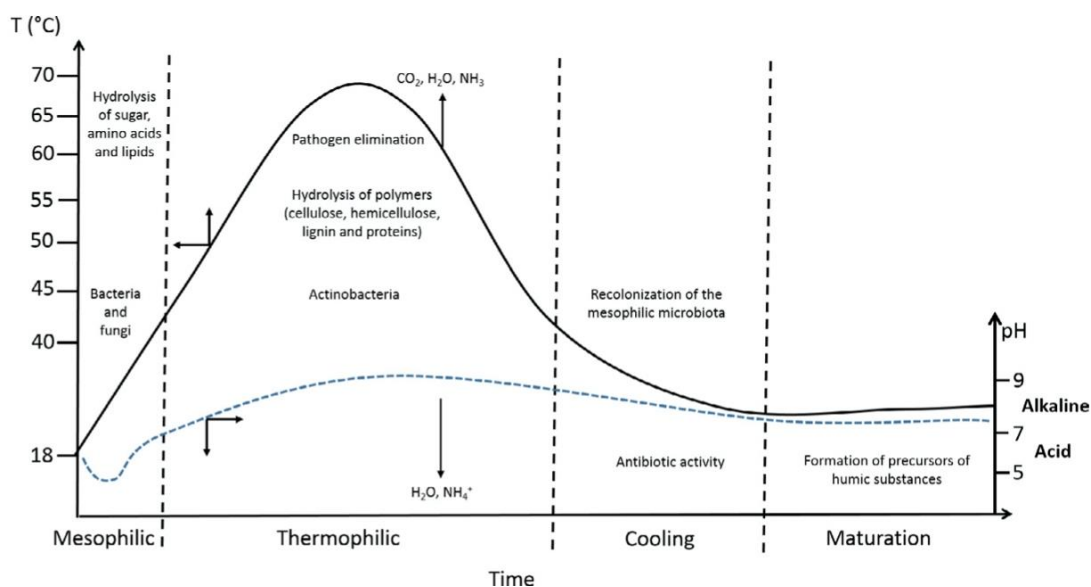
2.2 ปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมัก คือ ปุ๋ยที่ได้จากการนำซากพืช ซากสัตว์ หรือมูลสัตว์มากองรวมกัน และทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยมีการควบคุมความชื้นผ่านการรดน้ำ

และปล่อยให้จุลินทรีย์แปรสภาพวัสดุตั้งกล่าวจนมีลักษณะร่วนซุย และเปลี่ยนเป็นสีดำ หรือสีน้ำตาลเข้ม (Agnew และคณะ, 2003) การทำปุ๋ยหมักสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.2.1 การผลิตปุ๋ยหมักแบบใช้อากาศ (aerobic composting)

การผลิตปุ๋ยหมักแบบใช้อากาศ คือ การย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยจุลินทรีย์ที่ใช้ ออกซิเจน ในระหว่างกระบวนการหมักจะมีความร้อน น้ำ และคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น กระบวนการหมักแบบใช้อากาศ ประกอบด้วย 4 ระยะ คือ ระยะแรกของการหมักจุลินทรีย์ที่ชอบ อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic microorganism) จะเข้ามาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่นำมาใช้ ประโยชน์ได้ง่าย ได้แก่ น้ำตาล กรดอะมิโน และไขมัน เป็นต้น เมื่อจุลินทรีย์ในกลุ่มแรกทำงานได้ ระยะหนึ่งจะเกิดการเผาผลาญพลังงานส่งผลให้เกิดความร้อนขึ้น จากนั้นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ชอบ อุณหภูมิปานกลางจะเริ่มลดน้อยลง และถูกแทนที่ด้วยจุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบ อุณหภูมิสูง (thermophilic microorganism) จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายโมเลกุลที่มีความ ซับซ้อน ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และโปรตีน ในกระบวนการนี้มีการปลดปล่อยก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย และไอน้ำออกมา จากนั้นอุณหภูมิจะค่อย ๆ ลดลง จุลินทรีย์ในกลุ่ม แรกจึงกลับเข้ามาทำงานอีกครั้ง เพื่อย่อยสลายน้ำตาล เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เมื่อจุลินทรีย์กลุ่ม สุดท้ายเข้าทำงานสารอาหารต่าง ๆ ในกองปุ๋ยจะถูกเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้นที่สามารถย่อยสลายได้ง่าย ในดินต่อไป (Sánchez และคณะ, 2017) ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 กระบวนการหมักแบบใช้อากาศ

โดยในระยะแรกจะมีอุณหภูมิต่ำเพื่อให้จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิปานกลางทำงาน จากนั้นอุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์เกิดขึ้น และอุณหภูมิลดลงสุดท้ายเข้าสู่ระยะที่เกิดเป็นสารตั้งต้นในดิน

2.2.2 การผลิตปุ๋ยหมักแบบไม่ใช้อากาศ (anaerobic composting)

การผลิตปุ๋ยหมักแบบไม่ใช้อากาศ คือ การย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต การหมักด้วยวิธีนี้ส่งผลให้เกิดก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย กรดอินทรีย์ และก๊าซอื่น ๆ เป็นจำนวนมาก (Tweib และคณะ, 2011)

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตปุ๋ยหมักแบบใช้อากาศ

2.3.1 ความชื้น

ความชื้นจำเป็นต่อกระบวนการทำงานจุลินทรีย์ โดยในระหว่างกระบวนการหมักปุ๋ย ต้องมีการควบคุมความชื้นของกองปุ๋ยให้อยู่ระหว่างร้อยละ 40 ถึง 60 ถ้าหากกองปุ๋ยมีความชื้นที่ต่ำเกินไปจะส่งผลทำให้กองปุ๋ยเกิดกระบวนการหมักได้ช้าลง เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ และถ้าหากกองปุ๋ยมีความชื้นมากเกินไปจะส่งผลทำให้เกิดกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนแทน

และส่งผลให้กองปุยหมักมีกลิ่นเหม็นอีกด้วย (Zavala และคณะ, 2005) หลังกระบวนการหมักปุยเสร็จสิ้นความชื้นของกองปุยควรอยู่ที่ร้อยละ 30

2.3.2 การเติมอากาศ

การผลิตปุยหมักแบบใช้อากาศจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะในระยะแรกของกระบวนการหมัก เนื่องจากออกซิเจนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกระบวนการหมัก ถ้าหากมีปริมาณของออกซิเจนไม่เพียงพอ เชื้อจุลินทรีย์จะเติบโตได้ช้าลง ส่งผลให้กระบวนการหมักจะเกิดช้าลงไปด้วย ดังนั้นการเติมอากาศด้วยการกลับกองปุยจึงมีความสำคัญเพื่อช่วยให้จุลินทรีย์ได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอ ส่งผลให้จุลินทรีย์มีกิจกรรมการเผาผลาญอาหารอย่างต่อเนื่อง และช่วยให้การหมักปุยเร็วขึ้นได้ (Sundberg, 2005)

2.3.3 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

ปริมาณธาตุอาหารของวัตถุดิบที่จะนำมาหมักเป็นปุยมีความสำคัญ โดยเฉพาะปริมาณของคาร์บอน และไนโตรเจนของวัตถุดิบ กระบวนการหมักจะเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตปุยมีค่าระหว่าง 25 ถึง 30 (Kumar และคณะ, 2010) ถ้าหากวัตถุดิบมีค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงกว่า 40 กระบวนการหมักจะเกิดได้ช้าลง เนื่องจากการเผาผลาญอาหารของจุลินทรีย์ที่จำกัด และถ้าหากวัตถุดิบมีค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต่ำกว่า 20 ปริมาณของไนโตรเจนที่จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้ได้จะต่ำ และเกิดการแปรสภาพของไนโตรเจนไปเป็นก๊าซแอมโมเนียระเหยออกสู่ชั้นบรรยากาศ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นภายในกองปุยได้อีกด้วย (Guo และคณะ, 2012)

2.3.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิภายในกองปุยหมักมีความสัมพันธ์โดยตรงกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ทำการย่อยวัตถุดิบในกองปุยหมัก ยิ่งจุลินทรีย์มีกิจกรรมการย่อยสลาย และเผาผลาญอาหารมาก อุณหภูมิภายในกองปุยหมักก็จะสูงตามไปด้วย ในทางตรงกันข้ามถ้ากิจกรรมการเผาผลาญอาหารของจุลินทรีย์ลดลง อุณหภูมิภายในกองปุยหมักจะลดลงเช่นเดียวกัน ในกระบวนการหมักปุยมีการทำงานของ

จุลินทรีย์ 2 ช่วงอุณหภูมิ คือ ช่วงอุณหภูมิปานกลาง และช่วงอุณหภูมิสูง โดยอุณหภูมิในช่วงเริ่มต้นของการหมักมักอยู่ที่ 20 ถึง 45 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิของกองปุ๋ยจะเพิ่มสูงขึ้น เข้าสู่ช่วงอุณหภูมิสูงอยู่ที่ 50 ถึง 70 องศาเซลเซียส ซึ่งการที่อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยเพิ่มสูงขึ้นบ่งบอกถึงการทำงานของจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยที่กำลังย่อยสลายวัตถุดิบอยู่ นอกจากนี้การที่อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ 55 องศาเซลเซียสขึ้นไปยังเป็นการช่วยทำลายเชื้อก่อโรคพืช และตัวอ่อนของแมลงอีกด้วย (Mengqi และคณะ, 2021) ดังนั้นการเติมอากาศให้กับกองปุ๋ยจึงเป็นการช่วยควบคุมไม่ให้อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยเพิ่มสูงเกินไป

2.3.5 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการแปรสภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยจากรูปสารอินทรีย์ให้อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยสามารถพบจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ทั่วไปตามแหล่งที่เกิดการย่อยสลายของวัสดุทางการเกษตร หรือเศษไม้ต่าง ๆ ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการแปรสภาพวัสดุทางการเกษตร ได้แก่ เชื้อรา แอคติโนมัยซีท และแบคทีเรีย เป็นต้น

2.3.5.1 เชื้อรา

ในระยะแรกของการหมักปุ๋ยมักมีเชื้อราขึ้นอยู่เสมอ เนื่องจากในช่วงแรกของการหมักปุ๋ยอุณหภูมิและความชื้นของกองปุ๋ยมักยังไม่สูงมากนัก ซึ่งเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของรา (Kertesz และคณะ, 2018) จากนั้นเมื่อการหมักปุ๋ยผ่านไปได้สักระยะอุณหภูมิของกองปุ๋ยจะค่อย ๆ สูงขึ้น จนสูงได้ถึง 65 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสูง ทำให้ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา ดังนั้นในขณะที่กองปุ๋ยมีอุณหภูมิสูงจะพบการเจริญเติบโตของเชื้อรารายนอกกองปุ๋ยเท่านั้น

2.3.5.2 แอคติโนมัยซีท

แอคติโนมัยซีทมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ากว่ารา และแบคทีเรีย เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณที่มีน้ำ อาหาร และออกซิเจนเพียงพอ นอกจากนี้แอคติโนมัยซีทสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูงถึง 70 องศาเซลเซียส แอคติโนมัยซีทมักเจริญเติบโต

รวมกันเป็นกลุ่มบนกองปุ๋ยหมัก มีลักษณะเป็นจุดสีขาวคล้ายผงปูน โดยแอกติโนมัยซีทมีบทบาทสำคัญในการผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยองค์ประกอบที่ซับซ้อนภายในกองปุ๋ยหมักได้ เช่น เซลลูโลส ลิกโนเซลลูโลส และลิกนิน เป็นต้น (Lacey, 1997)

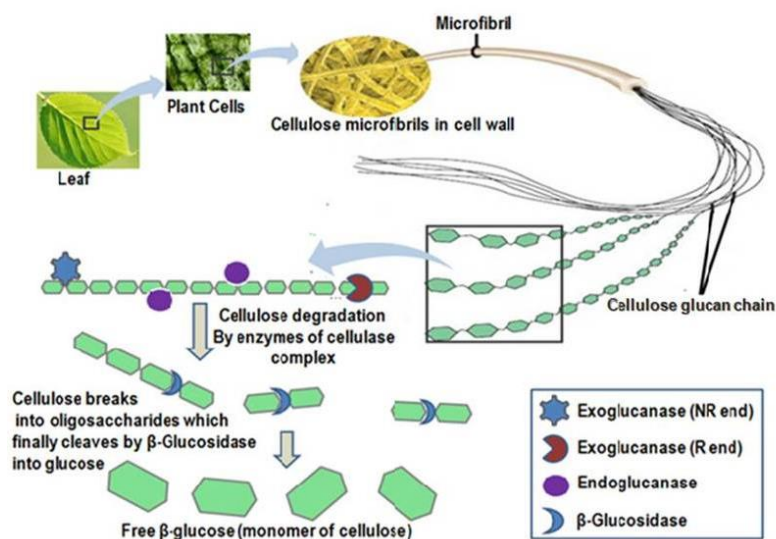
2.3.5.3 แบคทีเรีย

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้มากที่สุดที่สุดในกองปุ๋ยหมัก และมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัตถุคิบ และก่อให้เกิดความร้อนในกองปุ๋ยหมัก (Lee, 2016) โดยเมื่อเริ่มกระบวนการหมักแบคทีเรียในกลุ่มที่ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิปานกลางจะมีบทบาทสำคัญการย่อยวัตถุคิบที่ไม่ซับซ้อนในกองปุ๋ยหมัก เช่น น้ำตาล แป้ง และกรดอะมิโน เป็นต้น จากการทำงานของแบคทีเรียจะส่งผลให้อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นแบคทีเรียที่สามารถทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิสูงจะเข้ามามีบทบาทในการย่อยวัตถุคิบที่มีความซับซ้อนอย่าง เหมิเซลลูโลส ลิกนิน และเซลลูโลส ซึ่งเมื่ออุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักอยู่ที่ 50 ถึง 65 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ทำงานได้ดี ต่อมาเมื่อวัตถุคิบที่ย่อยสลายยากถูกย่อยสลายไป แบคทีเรียที่ทำงานได้ดีในอุณหภูมิปานกลางจะกลับมาทำงานอีกครั้งเพื่อย่อยสลายแป้ง น้ำตาล และเซลลูโลสอีกครั้ง เมื่อเข้าสู่ระยะสุดท้ายของการหมักปุ๋ยจำนวนของแบคทีเรียจะค่อยๆลดลง (Insam และคณะ, 2007) และวัตถุคิบในกองปุ๋ยหมักที่ถูกย่อยจะแปรสภาพเป็นปุ๋ยที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

เนื่องจากจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดที่สุดในกองปุ๋ยหมัก คือ แบคทีเรีย พบได้มากถึงร้อยละ 80 ถึง 90 แบคทีเรียจึงมีบทบาทสำคัญมากในกระบวนการย่อยวัตถุคิบในกองปุ๋ยหมักที่เป็นสารอินทรีย์ให้กลายเป็นสารอนินทรีย์ และอยู่ในรูปของธาตุอาหารที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ วัตถุคิบส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการหมักปุ๋ย คือ วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ เศษใบไม้ มูลสัตว์ เศษฟาง ใบพืช และวัชพืช เป็นต้น ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้มีองค์ประกอบหลัก คือ เซลลูโลส เหมิเซลลูโลส ลิกนิน หรือวัสดุเหลือทิ้งบางชนิดมีแบ่งเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นแบคทีเรียที่จะนำมาหมักวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เป็นปุ๋ยจึงจำเป็นต้องสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส หรืออะไมเลสได้

2.4 เอนไซม์เซลลูเลส

ในการแปรสภาพวัสดุเพื่อให้เหมาะสมสำหรับการเป็นปุ๋ยหมักนั้นจำเป็นต้องใช้เอนไซม์เซลลูเลสซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยเฉพาะผนังเซลล์ของพืชที่ประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีองค์ประกอบของเซลลูโลส เพคติน และไซลาลานอส ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งน้ำตาลกลูโคสที่เชื้อแบคทีเรียเปลี่ยนได้นั้นจะถูกนำไปเป็นแหล่งอาหาร แหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอน ให้แก่แบคทีเรีย หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญเติบโต และทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนธาตุอาหารต่าง ๆ ในปุ๋ยหมักให้เป็นธาตุอาหารที่พืชดูดซึมไปใช้ได้ เอนไซม์เซลลูเลสมีระบบการทำงานที่ประกอบด้วย เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) และเอนไซม์บีตาไกลูโคซิเดส (beta-glucosidase) (Jomsueb และคณะ, 2013) ดังภาพที่ 5 เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นลำไส้ของแมลง หรือบริเวณใต้พื้นผิวดิน กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ คือ แบคทีเรียในสกุล *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermonospora*, *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbiospora* และ *Streptomyces* (Singh และคณะ, 2019)



ภาพที่ 5 เซลลูโลส

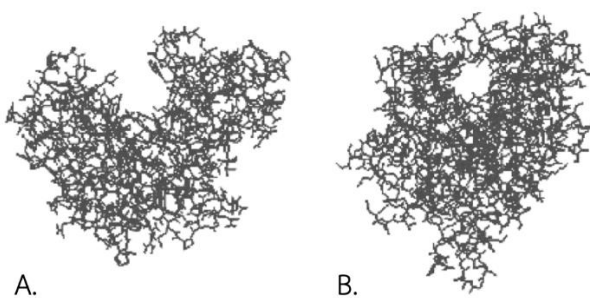
พืชมีส่วนประกอบหลักเป็นเซลลูโลสอยู่ที่ผนังเซลล์ เซลลูโลสจะถูกย่อยด้วยระบบการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ประกอบด้วยเอนไซม์กลูคาเนส เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส และเอนไซม์บีตากลูโคซิเดส เพื่อให้ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นน้ำตาลกลูโคส

2.4.1 เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส หรือคาร์บอกซิเมทิลเซลลูเลส (E.C. 3.2.1.4)

เอนไซม์เอนโดกลูคาเนสทำหน้าที่ในการตัดพันธะของปีตา-1,4-ไกลโคซิดิก ของสายเซลลูโลสอย่างสุ่ม โดยเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสมีบริเวณเร่ง (active site) ที่มีลักษณะเป็นร่องเพื่อทำหน้าที่จับ และตัดสายของเซลลูโลส ดังภาพที่ 6A ทำให้ได้โพลีแซคคาไรด์สายสั้นอย่างน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลเซลโลไบโอส

2.4.2 เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส หรือเซลโลไบโอไฮโดรเลส (E.C. 3.2.1.91)

เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) ทำหน้าที่ในการตัดปีตา-1,4-ไกลโคไซด์อย่างจำเพาะ ทำให้ได้น้ำตาลเซลโลไบโอส และกลูโคส โดยเอนไซม์เอกโซกลูคาเนสมีบริเวณเร่งที่มีลักษณะเป็นท่อนซึ่งทำให้สามารถย่อยเซลลูโลสที่มีความจำเพาะมากขึ้น ดังภาพที่ 6B



ภาพที่ 6 ลักษณะโครงสร้างของเอนไซม์เซลลูเลส

A. เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส ที่บริเวณเร่งมีลักษณะเป็นร่องเพื่อทำหน้าที่จับ และตัดสายของเซลลูโลส

B. เอนไซม์เอกโซกลูคาเนสมีบริเวณเร่งที่มีลักษณะเป็นท่อ (Bayer และคณะ, 2000)

2.4.3 เอนไซม์ปีตากลูโคซิเดส หรือเซลโลไบเอส (E.C. 3.2.1.21)

เอนไซม์ปีตากลูโคซิเดสทำหน้าที่ในการย่อยน้ำตาลเซลโลไบเอส ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยเอนไซม์ปีตากลูโคซิเดสมีบริเวณเร่งที่มีลักษณะคล้ายกระบี่ทำหน้าที่จับกับนอนรีดิซกลูโคส และตัดกลูโคสออกจากเซลโลไบเอส

2.5 เอนไซม์อะไมเลส

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนอกจากมีองค์ประกอบหลักเป็นเซลลูโลสแล้ว บางชนิดยังมีองค์ประกอบหลักเป็นแป้งด้วย แป้งประกอบด้วยอะไมโลสร้อยละ 20-25 และอะไมโลเพกตินร้อยละ 75-85 อะไมโลส คือ โพลีกลูแคนที่เชื่อมกันด้วยพันธะ แอลฟา-1,4 กลูแคน ส่วนอะไมโลเพกตินที่มีโมเลกุลใหญ่กว่าจะถูกเชื่อมด้วยพันธะ แอลฟา-1,4 และ แอลฟา-1,6 กลูแคน จึงทำให้อะไมโลเพกตินมีโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่า (Kumar และคณะ, 2018) การที่จะย่อยสลายแป้งจำเป็นต้องใช้เอนไซม์อะไมเลสที่สามารถตัดพันธะ แอลฟา-1,4 และ แอลฟา-1,6 กลูแคน ที่มีอยู่ในแป้ง เอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สามารถให้ปริมาณที่มากกว่าเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตได้จากพืช หรือสัตว์ เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า ความหลากหลายทางชีวเคมีที่มากกว่า และสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์โดยการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมหรือเทคนิคทางพันธุศาสตร์ได้ (Mishra และ

คณะ, 2008) ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ เช่น แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Bacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นต้น (Sjofjan และคณะ, 2011) เอนไซม์อะไมเลสสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มตามกลไกการทำงานของเอนไซม์ คือ เอนไซม์อะไมเลสที่ไม่เปลี่ยนโครงสร้างของสารตั้งต้นเมื่อเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยา (retaining) คือ แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์อะไมเลสที่เปลี่ยนโครงสร้างของสารตั้งต้นเมื่อเอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยา (invertig) คือ บีตา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลส นอกจากการแบ่งเอนไซม์อะไมเลสตามกลไกการทำงานแล้วยังสามารถแบ่งเอนไซม์อะไมเลสตามการทำงานที่จำเพาะของเอนไซม์อะไมเลสกับสายของแอลฟา-กลูแคนได้อีกด้วย คือ การทำงานภายนอก (exo-acting) และการทำงานภายใน (endo-acting) บีตา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลสจัดเป็นเอนไซม์อะไมเลสที่ทำงานภายนอก เนื่องจากเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถปลดปล่อยมอลโทส หรือ กลูโคสจากบริเวณปลายสายของอนรีติวซ์แอลฟา-กลูแคน ในทางตรงกันข้ามเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจัดเป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายใน เนื่องจากแอลฟา-อะไมเลสสามารถจับกับพันธะกลูโคซิดิกได้โดยตรงเพื่อผลิตเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้

2.5.1 แอลฟา-อะไมเลส (E.C. 3.2.1.1)

แอลฟา-อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่มีการทำงานภายในโดยสามารถตัดพันธะแอลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ที่อยู่ส่วนด้านในของอะไมโลส และอะไมโลเพกทินได้ ซึ่งแอลฟา-อะไมเลสย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,4 ในสายแอลฟา-กลูแคนได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,6 ได้ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีความยาวแตกต่างกัน และมีโครงสร้างเป็นแอลฟา (Tiwari และคณะ, 2015) ในกระบวนการเริ่มต้นการย่อยเด็กซ์ทรินที่มีมวลโมเลกุลมากที่สุดจะถูกย่อยออกมาเป็นตัวแรก และลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากความหนืดของสารละลายแป้งที่เกิดขึ้น ในช่วงท้ายของกระบวนการย่อยจะได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็นจำนวนมาก ได้แก่ มอลโทส มอลโทไตรโอส กลูโคส และโอลิโกแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเกิดของเด็กซ์ทริน โดยทั่วไปแอลฟา-อะไมเลสทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเป็นกลาง จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ ได้แก่ อาร์เคียสกุล *Sulfolobus* โปรคาริโอตสกุล *Bacillus* และยูคาริโอตสกุล *Aspergillus*

นอกจากนี้จุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถผลิตเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้ในสภาวะที่ค่าพีเอชเป็นกรดมาก หรือเป็นด่างมาก และที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส ได้แก่ *A. niger*, *A. oryzae*, *B. amyloliquefaciens*, *B. circulans*, *B. licheniformis*, *B. strearothermophilus* และ *B. subtilis*

2.5.2 บีตา-อะไมเลส (E.C. 3.2.1.2)

ในอดีตนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าเอนไซม์บีตา-อะไมเลสสามารถพบได้ในอาณาจักรพืช เท่านั้น แต่ต่อมาในปี 1974 เอนไซม์บีตา-อะไมเลสจึงถูกค้นพบใน *B. megaterium* เป็นครั้งแรก บีตา-อะไมเลสจัดเป็นเอนไซม์อะไมเลสที่มีการทำงานภายนอก โดยทำหน้าที่ตัดพันธะแอลฟา-1,4 ถัดจากปลายสายนอนรีติวซ์ แต่ไม่สามารถตัดพันธะแอลฟา-1,6 ได้ นอกจากนี้บีตา-อะไมเลสสามารถย่อยอะไมโลเพกตินที่มีโครงสร้างของสายแอลฟา-กลูแคนเป็นกิ่งก้านจำนวนมาก ทำให้ได้เบตา-มอลโทส และเดกซ์ทริน (Husain และคณะ, 2019) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าบีตา-อะไมเลสมีการทำงานที่แตกต่างจากแอลฟา-อะไมเลสกล่าวคือ เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายนอก และสามารถเปลี่ยนโครงสร้างของสารผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการย่อยด้วยบีตา-อะไมเลสได้ด้วย

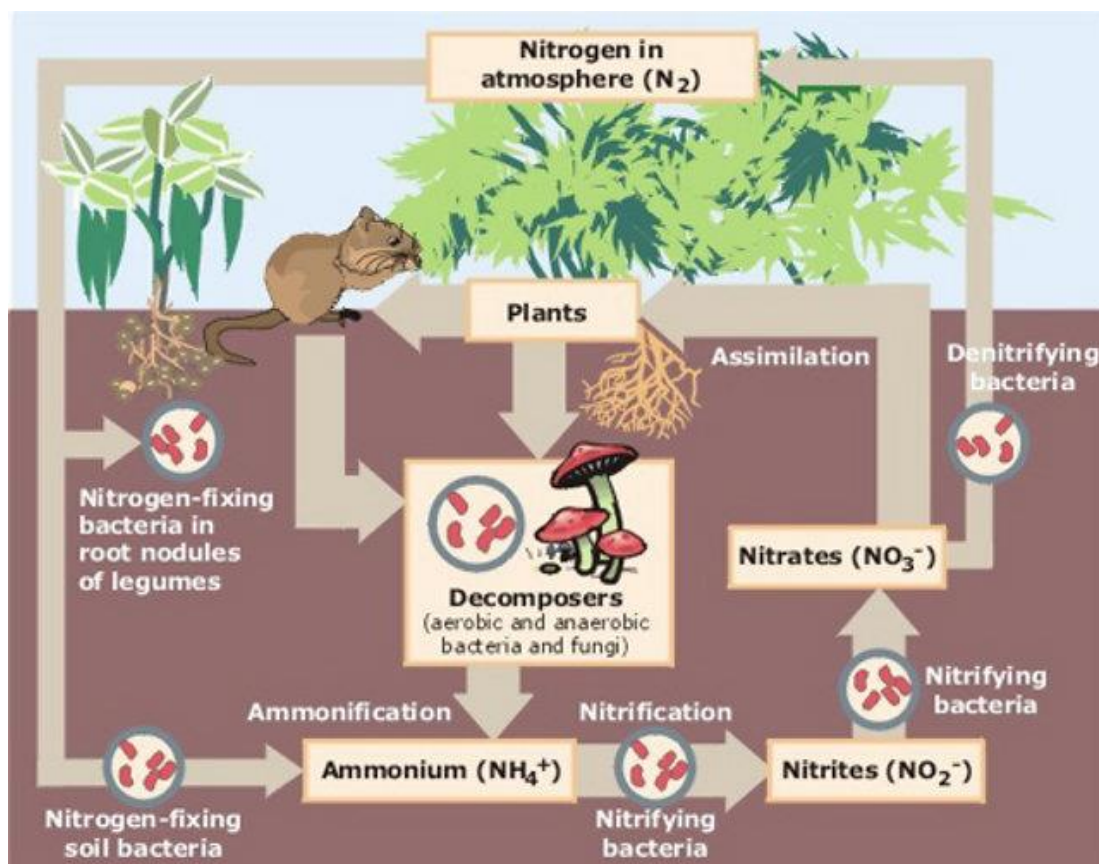
2.5.3 กลูโคอะไมเลส (E.C. 3.2.3)

กลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์อะไมเลสชนิดเดียวที่สามารถผลิตแอลฟา-ดี-กลูโคสจากแป้งได้ และสามารถย่อยพันธะแอลฟา1,4 บริเวณปลายสายนอนรีติวซ์ของสายกลูแคนได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังสามารถย่อยพันธะแอลฟา-1,6 กลูแคนได้อีกด้วย จึงสามารถกล่าวได้ว่ากลูโคอะไมเลสสามารถย่อยแป้งออกมาเป็นกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแอลฟา-อะไมเลส และบีตา-อะไมเลส (Kumar และคณะ, 2009) กลูโคอะไมเลสส่วนใหญ่ผลิตได้จากราพบน้อยมากในแบคทีเรีย ราที่สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสได้ ได้แก่ *A. oryzae*, *A. niger*, *Rhizopus delemar*, *R. oryzae* และ *R. niveus*

2.6 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่พืช และจุลินทรีย์ต้องการมากที่สุด เนื่องจากไนโตรเจนสามารถสังเคราะห์เป็นสารต่าง ๆ ที่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน โพรตีน นิวคลีโอไทด์ เป็นต้น ยิ่งไปกว่านั้นไนโตรเจนช่วยให้พืชมีใบสีเขียว ช่วยให้ลำต้นพืชเจริญเติบโตแข็งแรง และมีส่วนช่วยในการเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ด้วย ดังนั้นไนโตรเจนจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดความสามารถในการเจริญเติบโตของพืชได้ ถึงแม้ในบรรยากาศจะมีธาตุไนโตรเจนในรูปแบบของแก๊สไนโตรเจนมากถึงร้อยละ 78 แต่พืช และสัตว์ไม่สามารถนำไนโตรเจนในรูปแบบของแก๊สไนโตรเจนไปใช้ได้โดยตรง ในทางตรงกันข้ามสิ่งมีชีวิตบางกลุ่มอย่างแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจนให้อยู่ในรูปแบบที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ รูปแบบของไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง คือ ไนโตรเจนในรูปแบบสารอนินทรีย์ ได้แก่ ไนเตรท

การผลิตปุ๋ยที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของพืชจะมีการเติมวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่เป็นแหล่งของไนโตรเจนเข้าได้ด้วย เช่น ฟางข้าว เปลือกมันสำปะหลัง และกากกาแฟ เป็นต้น ในปัจจุบันมีอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้กับปุ๋ย และอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ นั่นคือการเติมแบคทีเรียในกลุ่มตรึงไนโตรเจน หรือแบคทีเรียที่เปลี่ยนรูปของแอมโมเนียให้เป็นไนเตรท หรือว่าไนเตรทได้ วัฏจักรไนโตรเจนเริ่มจากการเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียด้วยแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้เสียก่อน จากนั้นจึงถูกเปลี่ยนให้เป็นไนเตรท และไนเตรทตามลำดับ ดังภาพที่ 7 กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้แก่ต้นพืช ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Acetobacter*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Dexia*, *Enterobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* และ *Zoogloea* เป็นต้น (Barraquio และคณะ, 2000)



ภาพที่ 7 วัฏจักรไนโตรเจน

แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้อาศัยอยู่ในดิน ทำการตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียม จากนั้นจึงเปลี่ยนแอมโมเนียมให้เป็นไนไตรท์ และไนไตรท์ตามลำดับ ต่อมาพืชจึงดูดซึมไนโตรเจนในรูปของไนไตรท์ไปใช้

2.7 ฟอสฟอรัส

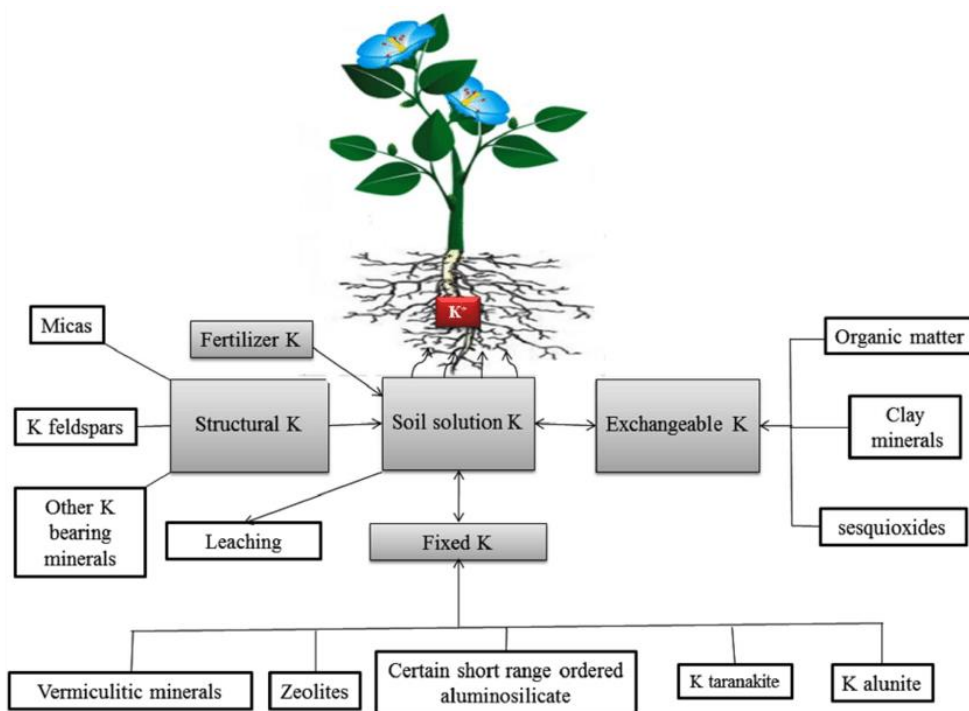
ฟอสฟอรัสถือเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช มีปริมาณร้อยละ 0.2 ของน้ำหนักแห้ง ฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในกรดนิวคลีอิก ฟอสโฟลิพิด และอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต นอกจากนี้ยังมีหน้าที่สำคัญในการช่วยเร่งการเจริญเติบโตของราก การแพร่กระจายของราก ควบคุมการออกดอก ผล และการสร้างเมล็ด ปริมาณฟอสฟอรัสรวมในดินประกอบด้วยฟอสฟอรัส 2 รูปแบบ คือ ฟอสฟอรัสในรูปสารอินทรีย์ และฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์ ในดินหลายแหล่งพบว่า

ปริมาณฟอสฟอรัสรวมในปริมาณที่สูงมาก อยู่ในช่วง 200 ถึง 6,000 ปอนด์ต่อเอเคอร์ แต่ร้อยละ 80 ของปริมาณฟอสฟอรัสรวมอยู่ในรูปแบบที่ไม่ละลาย และพืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ในดินพบว่าปริมาณของฟอสฟอรัสในรูปแบบของสารอินทรีย์ร้อยละ 30 ถึง 65 อยู่ในรูปแบบของชิ้นส่วนของพืช และสัตว์ที่ตายแล้ว และจุลินทรีย์ในดิน ส่วนอีกร้อยละ 35 ถึง 70 อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ โดยฟอสฟอรัสในรูปแบบสารอนินทรีย์มีอยู่ด้วยกัน 3 รูปแบบภายในดิน รูปแบบที่ 1 คือ ฟอสฟอรัสในรูปของสารอนินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำ และดิน ซึ่งพืชสามารถนำฟอสฟอรัสรูปแบบนี้ไปใช้ประโยชน์ได้รวดเร็ว รูปแบบที่ 2 คือ ฟอสฟอรัสในรูปของสารอนินทรีย์ที่ติดอยู่กับผิวดิน เหล็ก อะลูมิเนียม และแคลเซียมออกไซด์ในดิน ฟอสฟอรัสในรูปแบบนี้จะถูกปลดปล่อยได้ช้า และพืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ช้ากว่าแบบที่ 1 และรูปแบบสุดท้าย คือ แร่ธาตุฟอสเฟตในดิน ประกอบด้วยฟอสเฟต 2 ชนิด ชนิดแรก ได้แก่ อะพาไทต์ (apatite) วาริสไซด์ (variscite) และสเตรนไจต์ (strengite) ชนิดที่ 2 ได้แก่ สารประกอบฟอสเฟตกับแคลเซียม เหล็ก หรืออะลูมิเนียม ฟอสฟอรัสในรูปแบบสุดท้ายนี้ปลดปล่อยธาตุฟอสฟอรัสออกมาได้ช้าที่สุด (Dalai, 1977)

ดังนั้นจุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการแปรสภาพฟอสฟอรัสในรูปแบบของสารอินทรีย์ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing bacteria) ได้สามารถละลาย ตรึง หรือดูดซับ ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ และเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ด้วยการสร้างและหลั่งกรดอินทรีย์ และเอนไซม์เอซิดฟอสฟาเตส (acid phosphatase) ที่สามารถละลายฟอสฟอรัสในดิน (Dawwam และคณะ, 2013) โดยแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวเปลี่ยนจากอินทรีย์ฟอสเฟตเป็นอนินทรีย์ฟอสเฟต (mineralization of organic phosphorus) ด้วยการผลิตเอนไซม์เอซิดฟอสฟาเตสเพื่อย่อยสลายฟอสโฟโมโนเอสเทอร์ในสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้อยู่บริเวณผนังเซลล์ และเมือกที่ใช้ปกป้องตนเอง (extracellular polymeric substance: EPS) ที่อยู่บริเวณรอบ ๆ เซลล์ของแบคทีเรีย (Behera และคณะ, 2017) แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Rhizobium* (Rodríguez และคณะ, 1999)

2.8 โปแทสเซียม

โปแทสเซียมถือเป็นธาตุอาหารหลักอีกชนิดที่จำเป็นสำหรับพืชในการเจริญเติบโต ช่วยในการพัฒนา ช่วยให้ผลเจริญเติบโตเร็ว มีคุณภาพดี และป้องกันโรคพืช นอกจากนี้ยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ ไขมัน และสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ความสามารถในการทนความแห้งแล้ง และการประสิทธิภาพในการใช้น้ำ โดยปกติแล้วโปแทสเซียมอยู่ในดินในรูปของแร่ธาตุโปแทสเซียม โปแทสเซียมที่ไม่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (non-exchangeable K) โปแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) และสารละลายโปแทสเซียม ดังภาพที่ 8 ซึ่งในดินมีปริมาณโปแทสเซียมรวมเท่ากับร้อยละ 0.04 ถึง 3 โปแทสเซียมในดินร้อยละ 90 ถึง 98 อยู่ในรูปของแร่ธาตุโปแทสเซียมที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ แร่ธาตุโปแทสเซียมที่สามารถพบได้ คือ เฟลด์สปาร์ หรือแร่ฟันม้า และแร่ไมกา ส่วนโปแทสเซียมที่ไม่สามารถแลกเปลี่ยนได้จับอยู่ระหว่างชั้นดินมีอยู่ในดินร้อยละ 1 ถึง 10 รูปแบบของโปแทสเซียมที่พืช และจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ดี และเร็วที่สุด คือสารละลายโปแทสเซียม (Etesami และคณะ, 2017) ซึ่งโปแทสเซียมในรูปแบบนี้มักถูกชะล้างออกไปได้ง่ายเมื่อเปรียบเทียบกับโปแทสเซียมรูปแบบอื่น ดังนั้นจุลินทรีย์จึงมีบทบาทสำคัญที่จะช่วยแปรสภาพโปแทสเซียมในดินให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ จุลินทรีย์สามารถแปรสภาพโปแทสเซียมในดินได้หลากหลายวิธี เช่น การผลิตกรดอินทรีย์ที่สามารถละลายแร่ธาตุโปแทสเซียมหรือกระบวนการแอซิโดไลซิส (acidolysis) เป็นต้น แบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนโปแทสเซียมอินทรีย์เป็นโปแทสเซียมอนินทรีย์ได้ เช่น *B. mucilaginosus* และ *B. edaphicus* แบคทีเรีย 2 ชนิดนี้สามารถผลิตกรดซิตริก กรดทาร์ทาริก และกรดออกซาลิก ที่ใช้ในการละลายแร่ฟันม้าได้ (Lin และคณะ, 2002)



ภาพที่ 8 โพแทสเซียม

รูปของโพแทสเซียมที่อยู่ในดินมีด้วยกัน 4 รูปแบบ คือ แร่ธาตุโพแทสเซียม โพแทสเซียมที่ไม่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (non-exchangeable K) โพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K) และสารละลายโพแทสเซียม (Sparks และคณะ, 1985)

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No.1)	(Whatman, England)
กระดาษลิตมัส (litmus paper)	(Isolab, Germany)
เครื่องกวนสารแท่งแม่เหล็ก (magnetic stirrer)	(Barnstead, USA)
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking incubator)	(Vision Scientific, Korea)
เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex mixer)	(Vision Scientific, Korea)
เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter)	(Satorious, Germany)
เครื่องวัดความชื้น (moisture meter)	(Geo, Germany)
เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer)	(CT chemical, Thailand)
เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge)	(Z36HK, Hermle)
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	(Hettich, Germany)
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	(OHAUS, USA)
เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave)	(Sturdy Industrial, Taiwan)
เครื่องควบคุมอุณหภูมิน้ำ (water bath)	(Memmert, Germany)
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)	(ANTHOS Zenyth 200, USA)
ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow)	(Biobase, China)
ตู้อบเชื้อ (incubator)	(Memmert, Germany)
ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven)	(Memmert, Germany)

3.2 เคมีภัณฑ์

กรดซิตริก (citric acid)	(Univar, Australia)
กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$)	(Univar, Australia)
คองโกเรด (congo red)	(Fluka, England)
คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethylcellulose)	(Sigma, Belgium)
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	(Unilab, Thailand)
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$)	(Loba Chemie, India)
แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	(Merk, Germany)
แคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$)	(Univar, Australia)
แคลเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($CaHPO_4$)	(Univar, Australia)
ซูโครส (sucrose)	(Ajax Finechem, New Zealand)
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	(Univar, Australia)
โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)	(Loba Chemie, India)
โซเดียมซิเตรท (sodium citrate)	(Ajax Finechem, New Zealand)
โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$)	(Ajax Finechem, New Zealand)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	(Univar, Australia)
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)	(Qrec, New Zealand)
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	(Univar, Australia)
เปปโตน (Peptone)	(Hi media, India)

แป้งมันสำปะหลัง	(Thaiwah, Thailand)
ผงวุ้น (agar)	(CT chemical, Thailand)
พอลิเปปโตน (polypeptone)	(Hi media, India)
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	(Univar, Australia)
เฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรท ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	(Qrec, New zealand)
เฟอร์ริกซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	(Ajax Finechem, New Zealand)
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรท ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	(Univar, Australia)
สารละลายซาฟรานินโอ (safranin O)	(Suvchem, India)
สารละลายบรอมอไทมอลบลู (Bromthymol blue)	(Ajax Finechem, New Zealand)
สารละลายไอโอดีน (iodine solution)	(Merck, Germany)
สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	(Hi media, India)
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	(Hi media, India)
สีย้อมคริสตัลไวโอเล็ต (crystal violet)	(Loba Chemie, India)
เอทานอล (ethanol)	(CT chemical, Thailand)
แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3)	(Ajax Finechem, Auckland)

3.3 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และวัสดุในการผลิตปุ๋ยหมัก

กากมันสำปะหลัง

กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย

รำข้าว

มูลวัว

ผงหินฟอสเฟต

แร่เฟลด์สปาร์ (แร่ฟันม้า)

กากน้ำตาล

3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.4.1 เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และดินใต้ต้นมันสำปะหลัง

3.4.1.1 เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย

เก็บตัวอย่างกากมันสำปะหลังที่ผ่านการสกัดแป้ง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน และต่อด้วยการบำบัดด้วยออกซิเจน ณ บริษัทไทยวา จำกัด (มหาชน) โรงงานพิมาย ตำบลในเมือง อำเภอพิมาย จังหวัดนครราชสีมา

3.4.1.2 เก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงปลูกต้นมันสำปะหลัง ณ ตำบลโนนรัง อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา และเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ต้นโสน ณ โรงเรียนภาคีศึกษาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยขุดดินลึกราว 15 เซนติเมตร และเก็บตัวอย่างดินบริเวณใกล้รากต้นโสน

3.4.2 ตรวจสอบองค์ประกอบของวัตถุคิที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก

วิเคราะห์ตัวอย่างกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย มูลวัว และรำข้าว โดยวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ คือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) คุณสมบัติทางเคมี คือ ความเป็นกรดต่าง (pH) อินทรีย์วัตถุ ปริมาณธาตุอาหารหลัก ปริมาณธาตุอาหารรอง ได้แก่ ปริมาณแคลเซียม ปริมาณแมกนีเซียม ปริมาณสังกะสี ปริมาณแมงกานีส ปริมาณเหล็ก และปริมาณทองแดง เป็นต้น ณ โครงการพัฒนาวิชาการดิน ปุ๋ย และสิ่งแวดล้อม ภาควิชาปฐพี คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นอกจากนี้กากมันสำปะหลังจะได้รับการวิเคราะห์คุณสมบัติ

ทางชีวเคมีเพิ่มเติม ได้แก่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต แป้ง เซลลูโลส ไฟเบอร์ โปรตีน ไขมัน หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลัง และแป้ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4.3 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้

3.4.3.1 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้บนอาหารแข็ง

คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้จากกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง โดยการนำตัวอย่าง 1 กรัม ไปเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} และ เกลี่ยสารละลาย แต่ละระดับการเจือจาง 100 ไมโครลิตรลงบนอาหารแข็ง nutrient ที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็น องค์ประกอบ หรืออาหารแข็ง CMC ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ จะสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง CMC สังเกตลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้น เลือกโคโลนีที่มี ลักษณะแตกต่างกันไปแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการขีดลาก (streak) บนอาหารแข็ง nutrient เพื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา และนำมาจุ่มฟันจิมโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแต่ละชนิดไปจุดลงบนอาหาร แข็ง CMC บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นรดด้วยสารละลายคองโกเรด สังเกตโคโลนีที่มีวงใสรอบโคโลนีจากการที่เชื้อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยคาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลสในอาหาร วัดขนาดโคโลนี และโซนใสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนี เพื่อหาอัตราส่วนระหว่าง เส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไปวัดกิจกรรมการ ย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และการย่อยของเซลลูโลสทั้งหมดต่อไป

3.4.3.2 การวัดกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

เริ่มต้นที่การเลี้ยงเชื้อโดยการนำเชื้อบนอาหารแข็ง nutrient ใส่ลงใน อาหารเหลว nutrient เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 170 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงในอาหารเหลวที่มี องค์ประกอบของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส หัวเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลวที่มี องค์ประกอบของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงด้วย

ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใสไปหากิจกรรมของเอนไซม์ เซลลูเลส โดยนำสารละลายส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสความเข้มข้นร้อยละ 1 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 7 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีดีเอ็นเอส (Dinitrosalicylic acid)

กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เท่ากับ

$$\frac{\text{ความเข้มข้นของกลูโคส (ไมโครกรัม)} \times \text{ค่าการเจือจางตัวอย่างเอนไซม์}}{\text{เวลาที่ใช้ในการบ่ม (นาที)} \times \text{ปริมาตรของสารตั้งต้น (มิลลิลิตร)} \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคส (กรัมต่อโมล)}}$$

โดย 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที จากนั้นแบคทีเรียที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดจะถูกนำไปวัดกิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมดทำการวัดแยกไอโซเลตเดี่ยว และห้วเชื้อผสมเปรียบเทียบกัน

3.4.3.3 การวัดกิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมด (Total cellulase: FPase)

เริ่มต้นที่การเลี้ยงเชื้อโดยการนำเชื้อบนอาหารแข็ง nutrient ใส่ลงในอาหารอาหารเหลว nutrient เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงในอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส หัวเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายน้ำส่วนใสไปหากิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมด โดยการนำสารละลายดังกล่าวปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีกระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 6 เซนติเมตร หนัก 50 มิลลิกรัม และ

สารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 4.8 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ต่อมาจึงนำไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีดีเอ็นเอส

กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสทั้งหมด (FPUต่อมิลลิลิตร) เท่ากับ

$$\frac{\text{ความเข้มข้นของกลูโคส (ไมโครกรัม)} \times \text{ค่าการเจือจางตัวอย่างเอนไซม์}}{\text{เวลาที่ใช้ในการบ่ม (นาท)} \times \text{ปริมาตรของสารตั้งต้น (มิลลิลิตร)} \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคส (กรัมต่อโมล)}}$$

โดย 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายกระดาษกรองหมายเลข 1 ให้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที แบบที่เรียที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสทั้งหมดสูงที่สุดจะถูกนำไปเป็นหัวข้อแบบที่เรียที่มีหน้าที่ย่อยวัสดุที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสในการผลิตปุ๋ยหมักต่อไป

3.4.4 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้

3.4.4.1 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้บนอาหารแข็ง

คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้จากกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง โดยการนำตัวอย่าง 1 กรัม ไปเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} และ เกลี่ยสารละลายแต่ละระดับการเจือจาง 100 ไมโครลิตรลงบนอาหารแข็ง nutrient ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบ หรืออาหารแข็ง SA ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ จะสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง SA สังเกตลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้น เลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันไปแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการขีดลาก (streak) บนอาหารแข็ง nutrient เพื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา และนำไม้จิ้มฟันจิ้มโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแต่ละชนิดไปจุดลงบนอาหารแข็ง SA บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวาดด้วยสารละลายแกรมไอโอดีนสังเกตรูปโคโลนีที่มีวงใสรอบโคโลนีจากการที่เชื้อผลิต

เอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้งมันสำปะหลังในอาหาร วัดขนาดโคโลนี และโซนไฮสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนี เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนไฮสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีอัตราส่วนดังกล่าวมากที่สุดเพื่อนำไปวัดกิจกรรมการย่อยแป้งมันสำปะหลังต่อไป

3.4.4.2 การวัดกิจกรรมการย่อยแป้งมันสำปะหลัง

เริ่มต้นที่การเลี้ยงเชื้อโดยการนำเชื้อบนอาหารแข็ง nutrient ใส่ลงในอาหารเหลว nutrient เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรลงในอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบของแป้งมันสำปะหลัง หัวเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเหลวที่มีองค์ประกอบของแป้งมันสำปะหลัง ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใสไปหากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โดยนำสารละลายส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายแป้งมันสำปะหลังเข้มข้นร้อยละ 1 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.5 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธีดีเอ็นเอส

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เท่ากับ

$$\frac{\text{ความเข้มข้นของมอลโทส (ไมโครกรัม)} \times \text{ค่าการเจือจางตัวอย่างเอนไซม์}}{\text{เวลาที่ใช้ในการบ่ม (นาท)} \times \text{ปริมาตรของสารตั้งต้น (มิลลิลิตร)} \times \text{น้ำหนักโมเลกุลของมอลโทส (กรัมต่อโมล)}}$$

โดย 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาแป้งมันสำปะหลังให้เป็นมอลโทส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที แบคทีเรียที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสสูงที่สุดจะถูกนำไปเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่มีหน้าที่ย่อยวัสดุที่มีองค์ประกอบของแป้งในการผลิตปุ๋ยหมักต่อไป

3.4.5 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้

3.4.5.1 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้บนอาหารแข็ง

คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดินใต้ต้นโสนบริเวณแปลงเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการนำตัวอย่างดิน 1 กรัมไปเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} และเกลี่ยสารละลายแต่ละระดับการเจือจาง 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ จะสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free สังเกตลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้น เลือกลักษณะที่ต่างกันไปแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยการขีดลาก (streak) บนอาหารแข็ง nutrient เพื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา และนำไม้จิ้มฟันจิ้มโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแต่ละชนิดไปจุดลงบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง จากนั้นวัดขนาดโคโลนีเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดเพื่อนำไปทดสอบการผลิตแอมโมเนียต่อไป

3.4.5.2 ทดสอบการผลิตแอมโมเนียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

เริ่มต้นที่การเลี้ยงเชื้อโดยการนำเชื้อบนอาหารแข็ง nutrient ใส่ลงในอาหารเหลว nutrient เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อปริมาณร้อยละ 1 โดยปริมาตรลงในอาหารเหลว เปปโตเน ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศา นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 170 รอบต่อนาที เป็นเวลา 96 ชั่วโมง แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อเก็บส่วนใส ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และนำไปทดสอบกับสารละลาย Nessler's reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายทั้งหมดด้วยการเติมน้ำกลั่นอีก 8.5 มิลลิลิตร หลังจากเติมน้ำกลั่นสารละลายที่ทดสอบจะมีสีเหลืองอ่อนถึงสีน้ำตาล สุดท้ายนำไปวัดความขุ่นด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตแอมโมเนียสูงที่สุดจะถูกนำไปเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในการผลิตปุ๋ยหมักต่อไป

3.4.6 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้บนอาหารแข็ง

คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้จากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง โดยการนำตัวอย่างดิน 1 กรัมไปเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} และ เกลี่ยสารละลายแต่ละระดับการเจือจาง 100 ไมโครลิตรลงบนอาหารแข็ง Pikovskaya (PVK) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถละลายฟอสเฟตจะสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง PVK สังเกตลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้น เลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันไปแยกให้เป็นโคโลนีเดียวด้วยการขีดลาก (streak) บนอาหารแข็ง nutrient เพื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา และนำไม้จิ้มฟันจิ้มโคโลนีเดียวของเชื้อแต่ละชนิดไปจุดลงบนอาหารแข็ง PVK บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง วัดขนาดโคโลนี และโซนใสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนี เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีอัตราส่วนดังกล่าวมากที่สุดเพื่อนำไปเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยหมักต่อไป

3.4.7 คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมได้บนอาหารแข็ง

คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมได้จากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง โดยการนำตัวอย่างดิน 1 กรัมไปเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} และ เกลี่ยสารละลายแต่ละระดับการเจือจาง 100 ไมโครลิตรลงบนอาหารแข็ง Aleksandrov ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถละลายฟอสเฟตจะสามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร Aleksandrov สังเกตลักษณะของโคโลนีที่เกิดขึ้น เลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันไปแยกให้เป็นโคโลนีเดียวด้วยการขีดลาก (streak) บนอาหารแข็ง nutrient เพื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา และนำไม้จิ้มฟันจิ้มโคโลนีเดียวของเชื้อแต่ละชนิดไปจุดลงบนอาหารแข็ง Aleksandrov บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 ชั่วโมง วัดขนาดโคโลนี และโซนใสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนี เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีอัตราส่วนดังกล่าวมากที่สุดเพื่อนำไปเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยหมักต่อไป

3.4.8 ระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

3.4.8.1 ระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วย 16S rRNA

ระบุชนิดเชื้อแบคทีเรียที่ถูกคัดเลือกทั้ง 5 ชนิด ประกอบด้วย เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม ด้วยการสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอของยีน 16S rRNA ในแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต ด้วยไพรเมอร์สากล (universal primer) คือ 27F : 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' และ 1492R : 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' ต่อมาจึงส่งผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ไปตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์เพื่อระบุชนิดของแบคทีเรียด้วยโปรแกรม BLASTN ในฐานข้อมูล GenBank เพื่อระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

3.4.8.2 ศึกษาลักษณะ รูปร่าง และการติดสีของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

นำเชื้อแบคทีเรียที่ถูกคัดเลือกทั้ง 5 ชนิด ประกอบด้วย เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม มาเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient เป็นเวลา 12 ถึง 16 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเชื้อปริมาณเล็กน้อยมาแตะลงบนสไลด์ ทำให้แห้งแล้วย้อมด้วยสีย้อมคริสตัลไวโอเลต ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที ต่อมาย้อมสไลด์ด้วยสารละลายไอโอดีน และล้างออกด้วยเอทานอล 95% แล้วจึงย้อมซ้ำอีกครั้งด้วยสารละลายซาฟรานินโอ สูดทำย้อมจึงสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ การย้อมติดสี (gram staining) สีของโคโลนี ลักษณะของโคโลนี และรูปร่างของแบคทีเรีย

3.4.9 ทดสอบความเข้ากันได้ของเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาผลิตหัวเชื้อ

นำเชื้อแบคทีเรียที่ถูกคัดเลือก และมีความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับที่ 1 ประกอบด้วย เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และเชื้อ

แบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม มาทดสอบความเข้ากันได้บนอาหารแข็ง nutrient โดยการฉีดเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ทับกันเพื่อสังเกตความสามารถในการเจริญเติบโตบนอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อทั้ง 5 กลุ่มที่สามารถเจริญเติบโตร่วมกันได้ และมีความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับที่ 1 จะถูกนำมาใช้ในการผลิตเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียเพื่อใช้สำหรับการผลิตเป็นปุ๋ยหมักต่อไป

3.4.10 ศึกษาการผลิตปุ๋ยหมัก

3.4.10.1 การผลิตปุ๋ยหมักในกล่องโฟม

การผลิตปุ๋ยหมักในกล่องโฟม ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประกอบด้วยวัตถุดิบตั้งต้นจำนวน 2 ชนิด คือ กากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย ชนิดละ 5 กิโลกรัม นอกจากนี้มีการเติมสารเติมแต่งอีก 4 ชนิด ได้แก่ แหลงฟอสฟอรัส คือ หินฟอสเฟตจำนวน 0.4 กิโลกรัม แหลงโพแทสเซียม คือ แร่เฟลด์สปาร์จำนวน 0.4 กิโลกรัม และแหลงของธาตุอาหารอื่น ๆ คือ มูลวัว และรำข้าว ชนิดละ 2 กิโลกรัม วัสดุในการผลิตปุ๋ยหมักทั้งหมดจะถูกนำไปผสมกับหัวเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 0.4 ลิตร ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม โดยใช้เชื้อแบคทีเรียทุกชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน และผลิตจำนวน 2 ข้ำ จากนั้นวัสดุในการผลิตปุ๋ยหมัก และหัวเชื้อจะถูกคลุกเข้าด้วยกันในกล่องโฟมที่มีการเจาะรูขนาด 1 นิ้วบริเวณก้นกล่องจำนวน 4 รู เพื่อใช้ในการระบายน้ำ และอากาศ และใช้ตาข่ายกันแมลงวางไว้ที่ก้นกล่อง ปรับความชื้นของกองปุ๋ยให้มีค่าระหว่างร้อยละ 50 ถึง 60 ทำการหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 30 วัน ระหว่างที่หมักปุ๋ยจะมีการบันทึกลักษณะทางกายภาพ คือ อุณหภูมิกองปุ๋ยทุกวัน กลับกองปุ๋ยด้วยพลั่วขนาดเล็ก และบันทึกลักษณะของปุ๋ยที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 7 วัน

3.4.10.2 การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา

การผลิตปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง จำนวน 1 กอง ประกอบด้วยวัตถุดิบตั้งต้นจำนวน 2 ชนิด คือ กากมันสำปะหลัง จำนวน 500 กิโลกรัม และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำ

เสียจำนวน 500 กิโลกรัม นอกจากนี้มีการเติมสารเติมแต่งอีก 4 ชนิด ได้แก่ แหล่งฟอสฟอรัส คือ หินฟอสเฟตจำนวน 40 กิโลกรัม แหล่งโพแทสเซียม คือ แร่เฟลด์สปาร์จำนวน 40 กิโลกรัม และแหล่งของธาตุอาหารรองอื่น ๆ คือ มูลวัว และรำข้าวชนิดละ 200 กิโลกรัม วัสดุในการผลิตปุ๋ยหมักทั้งหมดจะถูกนำไปผสมกับหัวเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 40 ลิตร ที่ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม โดยใช้เชื้อแบคทีเรียทุกชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน จากนั้นวัสดุในการผลิตปุ๋ยหมัก และหัวเชื้อจะถูกคลุกเข้าด้วยกันบนผ้าใบ ปรับความชื้นของกองปุ๋ยให้มีค่าระหว่างร้อยละ 50 ถึง 60 ต่อมาจึงขึ้นกองปุ๋ยเป็นรูปสามเหลี่ยมที่มีฐานกว้าง 3 ถึง 6 เมตร ความสูง 1.5 ถึง 3 เมตร สูดท้ายคลุมด้วยผ้าใบซ้ำอีกครั้งเพื่อป้องกันแดด และฝน ทำการหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 60 วัน ระหว่างที่หมักปุ๋ยจะมีการวัดอุณหภูมิของกองปุ๋ย 2 วันต่อ 1 ครั้ง โดยการชุดหลุมบริเวณกลางกองปุ๋ยหมักจำนวน 5 จุด ระยะห่างเท่า ๆ กัน กระจายให้ทั่วกองปุ๋ย ความลึกประมาณ 30 เซนติเมตร จากนั้นจุ่มเทอร์โมมิเตอร์ค้างไว้ประมาณ 15 นาที บันทึกอุณหภูมิกองปุ๋ยทั้ง 5 จุด นอกจากนี้มีการกลับกองปุ๋ยด้วยพลั่ว และตรวจสอบความชื้นของกองปุ๋ยหมัก 7 วันต่อ 1 ครั้ง

3.4.10.3 การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา

การผลิตปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว จำนวน 1 กอง ประกอบด้วยวัตถุดิบตั้งต้นจำนวน 2 ชนิด คือ กากมันสำปะหลัง จำนวน 4,000 กิโลกรัม และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียจำนวน 4,000 กิโลกรัม นอกจากนี้มีการเติมสารเติมแต่งอีก 4 ชนิด ได้แก่ แหล่งฟอสฟอรัส คือ หินฟอสเฟตจำนวน 320 กิโลกรัม แหล่งโพแทสเซียม คือ แร่เฟลด์สปาร์จำนวน 320 กิโลกรัม และแหล่งของธาตุอาหารรองอื่น ๆ คือ มูลวัว และรำข้าวชนิดละ 1,600 กิโลกรัม วัสดุในการผลิตปุ๋ยหมักทั้งหมดจะถูกนำไปผสมกับหัวเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 320 ลิตร ที่ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส เชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม โดยใช้เชื้อแบคทีเรียทุกชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน จากนั้น

วัสดุในการผลิตปุ๋ยหมัก และหัวเชื้อจะถูกคลุกเข้าด้วยกันบนผ้าใบ ปรับความชื้นของกองปุ๋ยให้มีค่าระหว่างร้อยละ 50 ถึง 60 ต่อมาจึงขึ้นกองปุ๋ยเป็นรูปสามเหลี่ยมที่มีฐานกว้าง 3 ถึง 6 เมตร ความสูง 1.5 ถึง 3 เมตร สุดท้ายคลุมด้วยผ้าใบซ้ำอีกครั้งเพื่อป้องกันแดด และฝน ทำการหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 60 วัน ระหว่างที่หมักปุ๋ยจะมีการวัดอุณหภูมิของกองปุ๋ย 2 วันต่อ 1 ครั้ง โดยการซุดหลุมบริเวณกลางกองปุ๋ยหมักจำนวน 5 จุด ระยะห่างเท่า ๆ กัน กระจายให้ทั่วกองปุ๋ย ความลึกประมาณ 30 เซนติเมตร จากนั้นจุ่มเทอร์โมมิเตอร์ค้างไว้ประมาณ 15 นาที บันทึกอุณหภูมิกองปุ๋ยทั้ง 5 จุด นอกจากนี้มีการกลับกองปุ๋ยด้วยรถแทรกเตอร์ และตรวจสอบความชื้นของกองปุ๋ยหมัก 7 วันต่อ 1 ครั้ง

3.4.11 ตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก

วิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยหมักที่ผลิตได้ โดยวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ คือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) คุณสมบัติทางเคมี คือ ความเป็นกรดต่าง (pH) อินทรีย์วัตถุ ความชื้น ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณธาตุอาหารหลัก ปริมาณธาตุอาหารรอง ได้แก่ ปริมาณแคลเซียม ปริมาณแมกนีเซียม ปริมาณสังกะสี ปริมาณแมงกานีส ปริมาณเหล็ก และปริมาณทองแดง เป็นต้น ณ โครงการพัฒนาวิชาการดิน ปุ๋ย และสิ่งแวดล้อม ภาควิชาปฐพี คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เปรียบเทียบระหว่างปุ๋ยก่อนหมัก และหลังหมักเป็นระยะเวลา 60 วัน

3.4.12 ตรวจสอบเชื้อ PGPB หลังจากกระบวนการหมักปุ๋ย

นับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ใส่ลงไปกองปุ๋ย หลังจากกระบวนการหมักปุ๋ยเสร็จสิ้นแล้ว โดยการนำปุ๋ยหมักที่ผลิตได้มาทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} ถึง 10^{-8} และเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน อาหารแข็ง PVK เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต และอาหารแข็ง Aleksandrov เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุดท้ายจึงนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารต่าง ๆ

บทที่ 4

ผลการดำเนินงาน

4.1 ผลการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ เคมี และชีวเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก

4.1.1 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบในกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย

ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะได้กากมันสำปะหลังออกมาเป็นของเสีย หลังจากกระบวนการสกัดแป้ง โดยเครื่องสกัดแป้งจะทำการสกัดแป้งออกจากหัวมันสำปะหลัง จากนั้นกากมันสำปะหลังจะถูกแยกออกจากน้ำแป้ง ขณะที่กากตะกอนเป็นของเสียที่ได้มาจากระบบบำบัดน้ำเสียที่เกิดขึ้นในโรงงานซึ่งผ่านการบำบัดน้ำเสียโดยไม่ใช้ออกซิเจน และต่อด้วยการบำบัดน้ำเสียโดยใช้ออกซิเจนออกเป็นกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตปุ๋ยหมัก จากการวิเคราะห์การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และเคมีของกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียพบว่ากากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียมีค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 6.74 มิลลิซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ต่างจากกากมันสำปะหลังที่มีค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 3.32 มิลลิซีเมนส์ต่อเซนติเมตร แต่กากมันสำปะหลังมีความชื้นมากกว่ากากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีค่าความชื้นร้อยละ 85.44 และ 64.53 ตามลำดับ นอกจากนี้กากมันสำปะหลังมีปริมาณของอินทรีย์วัตถุมากกว่ากากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งกากมันสำปะหลังมีปริมาณอินทรีย์วัตถุร้อยละ 86.75 ส่วนกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียมีปริมาณอินทรีย์วัตถุเท่ากับร้อยละ 40.12 ต่อมาที่อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน กากมันสำปะหลังมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย กากมันสำปะหลังมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอยู่ที่ 114 ต่างจากกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 8.0 ถัดไปคือปริมาณของไนโตรเจนของกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และกากมันสำปะหลังมีค่าเท่ากับร้อยละ 2.91 และ 0.44 ตามลำดับ เช่นเดียวกับปริมาณฟอสฟอรัสของกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณมากกว่ากากมันสำปะหลังที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 1.62 และ 0.10 ตามลำดับ สุดท้าย คือปริมาณโพแทสเซียมของกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.63 และปริมาณ

โพแทสเซียมจากกากมันสำปะหลังมีค่าใกล้เคียงกับกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.62 ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สมบัติทางกายภาพและเคมีของกากมันสำปะหลังและกากตะกอนจากบ่อน้ำเสีย

ค่าที่ตรวจสอบ	กากมันสำปะหลัง	กากตะกอนจากระบบ บำบัดน้ำเสีย
สภาพการนำไฟฟ้า (มิลลิซีเมนส์ต่อเซนติเมตร)	3.32	6.74
ความชื้น (%)	85.44	64.53
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (%)	86.75	40.12
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N)	114	8.0
ปริมาณไนโตรเจน (%)	0.44	2.91
ปริมาณฟอสฟอรัสที่ (%)	0.10	1.62
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	0.62	0.63

จากตารางที่ 4 พบว่ากากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้ง เซลลูโลส โปรตีน และไฟเบอร์ เท่ากับร้อยละ 58.25, 21.73, 1.94 และ 19.25 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 สมบัติทางชีวเคมีของกากมันสำปะหลัง

ค่าที่ตรวจสอบ	กากมันสำปะหลัง
ปริมาณแป้ง (%)	58.25 ± 0.60
เซลลูโลส (%)	21.73 ± 0.04
โปรตีน (%)	1.94 ± 0.03
ไฟเบอร์ (%)	19.25 ± 0.03

4.1.2 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบในรำข้าว มูลวัว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์

จากตารางที่ 5 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีในรำข้าว และมูลวัวพบว่า รำข้าวมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียม ปริมาณแคลเซียม และปริมาณแมกนีเซียมร้อยละ 82.36, 1.04, 0.41, 0.68, 0.19 และ 0.25 ตามลำดับ มีปริมาณสังกะสี ปริมาณแมงกานีส ปริมาณเหล็ก และปริมาณทองแดงเท่ากับ 24.97, 2.11, 86.76 และ 1.69 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และรำข้าวมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 45.93 ส่วนปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียม ปริมาณแคลเซียม และปริมาณแมกนีเซียมในมูลวัวมีค่าเท่ากับร้อยละ 77.34, 1.59, 1.28, 1.30, 1.27 และ 0.61 ตามลำดับ ปริมาณสังกะสี ปริมาณแมงกานีส ปริมาณเหล็ก และปริมาณทองแดงในมูลวัวมีค่าเท่ากับ 122, 237, 1,024 และ 29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และสุดท้ายมูลวัวมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 28.25

ตารางที่ 5 สมบัติทางกายภาพและเคมีของกากมันสำปะหลังและกากตะกอนจากบ่อน้ำเสีย

ค่าที่ตรวจสอบ	รำข้าว	มูลวัว
ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (%)	82.36	77.34
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N)	45.93	28.25
ปริมาณไนโตรเจน (%)	1.04	1.59
ปริมาณฟอสฟอรัสที่ (%)	0.41	1.28
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	0.68	1.30
ปริมาณแคลเซียม (%)	0.19	1.27
ปริมาณแมกนีเซียม (%)	0.25	0.61
ปริมาณสังกะสี (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	24.97	122
ปริมาณแมงกานีส (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	2.11	237
ปริมาณเหล็ก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	86.76	1,024
ปริมาณทองแดง (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	1.69	29

จากตารางที่ 6 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์ พบว่าผงหินฟอสเฟตมีปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับร้อยละ 0.29 และแร่เฟลด์สปาร์มีปริมาณโพแทสเซียมเท่ากับร้อยละ 0.41

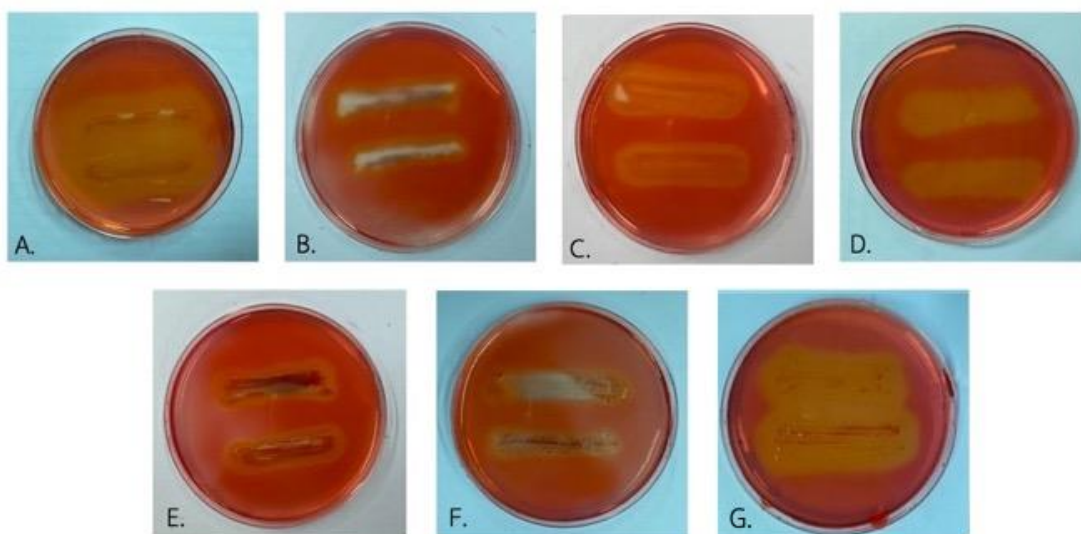
ตารางที่ 6 สมบัติทางเคมีของผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์

ค่าที่ตรวจสอบ	ผงหินฟอสเฟต	แร่เฟลด์สปาร์
ปริมาณฟอสฟอรัสที่ (%)	0.29	-
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	-	0.41

4.2 ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้

4.2.1 ผลคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้บนอาหารแข็ง

จากการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็งที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ พบว่าได้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสทั้งหมด 6 ไอโซเลต และเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีในห้องปฏิบัติการจำนวน 1 ไอโซเลต โดยคัดแยกได้จากกากมันสำปะหลังจำนวน 4 ไอโซเลต และคัดแยกได้จากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลังจำนวน 2 ไอโซเลต จากนั้นนำไอโซเลตที่แยกได้มาตรวจสอบประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลส โดยทำการเลี้ยงเชื้ออีกครั้งบนอาหารแข็งที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ และสังเกตการสร้างโซนใสบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งหากเชื่อมีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจะพบบริเวณวงใสที่ไม่มีการติดสีแดงจากการใช้สารละลายคองโกเรดในการทดสอบ ดังภาพที่ 9 นอกจากนี้ได้มีการนำ *B. subtilis* TISTR 008 ซึ่งมีในห้องปฏิบัติการเข้ามาทดสอบการย่อยเซลลูโลสด้วย



ภาพที่ 9 ความสามารถในการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

ไอโซเลต A. คือ *B. subtilis* TISTR 008, B. คือ ไอโซเลต C-S1044, C. คือ ไอโซเลต C-S1052, D. คือ ไอโซเลต C-S1043, E คือ ไอโซเลต C-S1042, F. คือ ไอโซเลต C-CV1043 และ G. คือ ไอโซเลต C-CV1033

นอกจากนี้เมื่อวัดอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี พบว่า C-CV1033 มีอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมากที่สุด รองลงมา คือ ไอโซเลต *B. subtilis* TISTR 008, C-S1052 และ C-S1043 โดยมีอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 3.42, 3.18, 1.80 และ 1.62 ตามลำดับ ดังตารางที่ 7 ไอโซเลตที่มีอัตราส่วนระหว่างความกว้างโซนใสต่อความกว้างโคโลนีมาก จะมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสมากตามไปด้วย ดังนั้นทั้ง 4 ไอโซเลตจึงถูกนำมาทดสอบหากิจกรรมการย่อยของการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อไป

ตารางที่ 7 การสร้างโซนใสของไอโซเลตที่คัดแยกได้บนอาหาร CMC

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลาง โซนใส (เซนติเมตร)	อัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลาง โซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
<i>B. subtilis</i> TISTR 008	1.75	0.55	3.18
C-S1044	2.50	3.00	1.20
C-S1052	1.80	1.00	1.80
C-S1043	2.10	1.30	1.62
C-S1042	1.90	1.60	1.19
C-CV1043	2.60	3.00	1.15
C-CV1033	1.47	0.43	3.42

4.2.2 ผลการวัดกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

จากนั้นทำการหากิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสของเอนไซม์อะไมเลส โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ทุกไอโซเลตที่แยกได้มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ทำการเก็บตัวอย่างมาทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าไอโซเลต C-CV1033 *B. subtilis* ไอโซเลต C-S1052 และ C-S1043 ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด เท่ากับ 0.20, 0.16, 0.12 และ 0.12 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 8-9 การทดสอบด้วยการใช้อาหารแข็งที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนเป็นเพียงการวัดเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส ซึ่งเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเป็นเพียงส่วนหนึ่งของระบบการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส เท่านั้น ดังนั้นจึงต้องมีการวัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสรวมเพื่อดูการทำงานร่วมกันของเชื้อที่สามารถคัดแยกได้

ตารางที่ 8 กิจกรรมการย่อย CMC ในรูปของน้ำตาลรีดิซซ์ของเอนไซม์เซลลูเลส

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
<i>B. subtilis</i> TISTR 008	0.16
C-S1044	0.095

ตารางที่ 9 กิจกรรมการย่อย CMC ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์เซลลูเลส (ต่อ)

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
C-S1052	0.12
C-S1043	0.12
C-S1042	0.11
C-CV1043	0.095
C-CV1033	0.20

4.2.3 ผลการวัดกิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมด

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้บนอาหารที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ แล้วจึงทดสอบด้วยการราดสารละลายคองโกเรดเพื่อสังเกตส่วนใสที่เกิดขึ้น และการวัดกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ซึ่งทั้ง 2 วิธีที่กล่าวมานี้ใช้คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสแทนแหล่งคาร์บอนเป็นเพียงการวัดเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสเท่านั้น ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบการวัดกิจกรรมการย่อยด้วยเซลลูเลสทั้งหมดด้วยการใช้กระดาษ Whatman เบอร์ 1 การวัดด้วยวิธีนี้เรียกว่า Filter paper activity หรือ Fpase โดยหน่วยของกิจกรรมเอนไซม์ที่วัดได้จะออกมาเป็น Filter paper unit (FPU/ml) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่ง 1 ไมโครโมลของกลูโคสภายในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด ซึ่งแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีไซโนส และกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสทั้ง 4 ไอโซเลต ได้แก่ *B. subtilis* TISTR 008 เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต C-CV1033 C-S1052 และ C-S1043 จะถูกนำมาทดสอบด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ทั้งการวัดแยกเป็นไอโซเลตเดี่ยว และการนำมาผสมกัน พบว่าเมื่อนำ *B. subtilis* TISTR 008 ไอโซเลต C-CV1033 และ ไอโซเลต C-S1052 ผสมกันให้ค่ากิจกรรมการย่อยของเซลลูเลสทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 0.31 FPU ต่อมิลลิลิตร เท่ากับการผสมระหว่าง *B. subtilis* TISTR 008 ไอโซเลต C-CV1033 และ ไอโซเลต C-S1043 และ ไอโซเลตเดี่ยว C-CV1033 มีค่าเท่ากับ 0.17 FPU ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่

10 จากการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็ง การวัดกิจกรรมการย่อยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์เซลลูเลส และสุดท้ายจึงวัดกิจกรรมการย่อยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ของเอนไซม์เซลลูเลสทั้งหมดของไอโซเลตเดี่ยว และหัวเชื้อผสม พบว่าหัวเชื้อผสมระหว่าง *B. subtilis* TISTR 008 ไอโซเลต C-CV1033 และ ไอโซเลต C-S1052 มีค่ากิจกรรมการย่อยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 มากที่สุด ดังนั้น *B. subtilis* TISTR 008 แบคทีเรียไอโซเลต C-CV1033 และ ไอโซเลต C-S1052 จะถูกนำไประบุชนิดของแบคทีเรีย และนำไปใช้เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการย่อยเซลลูโลสในกองปุ๋ยหมักต่อไป

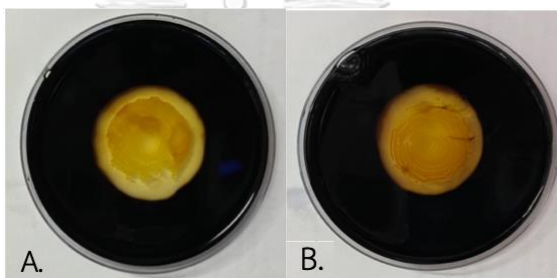
ตารางที่ 10 กิจกรรมการย่อยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ของเอนไซม์เซลลูเลสทั้งหมด

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ (FPUต่อมิลลิเมตร)
<i>B. subtilis</i> TISTR 008	0.15
C-S1044	0.093
C-S1052	0.091
C-S1043	0.089
C-S1042	0.089
C-CV1033	0.17
<i>B. subtilis</i> TISTR 008 + C-S1052	0.11
<i>B. subtilis</i> TISTR 008 + C-S1043	0.15
<i>B. subtilis</i> TISTR 008 + C-CV1033	0.15
<i>B. subtilis</i> TISTR 008 + C-CV1033 + C-S1052	0.31
<i>B. subtilis</i> TISTR 008 + C-CV1033 + C-S1043	0.30

4.3 ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้

4.3.1 ผลคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้บนอาหารแข็ง

จากการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็งที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ พบว่ามีโคโลนีที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบได้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสทั้งหมด 6 ไอโซเลต จากนั้นนำไอโซเลตที่แยกได้มาตรวจสอบประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง โดยการเลี้ยงเชื้อใหม่บนอาหารแข็งที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ และสังเกตการสร้างโซนใสบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อดังภาพที่ 10 ซึ่งหากเชื้อมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลสจะพบบริเวณวงใสที่ไม่มีการติดสีน้ำเงินเข้มจากการใช้ไอโอดีนในการทดสอบ



ภาพที่ 10 การสร้างโซนใสของจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง SA

โดยรูป A และ B คือ ไอโซเลต A-CV1031 และ A-S51041 ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อวัดอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของทั้ง 6 ไอโซเลตที่คัดแยกได้ พบว่าไอโซเลต A-CV1031 มีอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมากที่สุด รองลงมา คือ ไอโซเลต A-S51041 และ A-CV1021 ดังตารางที่ 11 ไอโซเลตที่มีอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมาก จะมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์มากตามไปด้วย

ตารางที่ 11 การสร้างโซนใสของไอโซเลตที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง SA

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลาง โซนใส (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส ต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
A-CV1031	1.20	2.30	1.92
A-CV1015	2.50	3.00	1.20
A-CV1021	1.20	1.90	1.58
A-S51041	1.70	2.60	1.87
A-S51053	2.90	3.50	1.21
A-S51061	1.60	2.50	1.56

4.3.2 ผลการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

หลังจากคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้บนอาหารแข็งโดยสังเกตส่วนใสที่เกิดขึ้นรอบ ๆ โคโลนีหลังจากกรดด้วยสารละลายไอโอดีน จากนั้นจึงนำมาคำนวณเพื่อหาอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเป็นเพียงการคัดแยกเบื้องต้นเท่านั้น ดังนั้นจึงต้องมีการตรวจสอบเพิ่มเติมด้วยการวัดกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสของเชื้อชนิดต่าง ๆ ที่สามารถย่อยแป้งซึ่งเป็นองค์ประกอบในอาหารเหลว และวัดกิจกรรมการย่อยแป้งของเอนไซม์อะไมเลสในรูปแบบของน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่ง 1 ยูนิตของเอนไซม์อะไมเลส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ปลดปล่อยน้ำตาลรีดิวซ์ปริมาตร 1 ไมโครโมลต่อ 1 นาทีภายใต้สภาวะที่ทดสอบ จากการทดลองพบว่าไอโซเลต A-CV1031 มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสมากที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 0.20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ ไอโซเลต A-S51041 มีค่าเท่ากับ 0.18 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 12 จากการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสบนอาหารแข็ง และการวัดกิจกรรมการย่อยแป้งในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์อะไมเลส พบว่าไอโซเลต A-CV1031 และ A-S51041 มีอัตราส่วนความกว้างโซนใสต่อความกว้างโคโลนี และมีความสามารถในการย่อยแป้งในรูป

น้ำตาลรีดิวซ์ได้มากที่สุด ดังนั้นไอโซเลต A-CV1031 และ A-S51041 จะถูกนำไประบุชนิดของแบคทีเรีย และนำไปใช้เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ในการย่อยแป้งในกองปุ๋ยหมักต่อไป

ตารางที่ 12 กิจกรรมการย่อยแป้งในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์อะไมเลส

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
A-CV1031	0.20
A-CV1015	0.11
A-CV1021	0.080
A-S51041	0.18
A-S51053	0.11
A-S51061	0.085

4.4 ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้

4.4.1 ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้บนอาหารแข็ง

การคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนที่เลี้ยงในอาหารที่ Burk's nitrogen free จากดินใต้ต้นโสนบริเวณแปลงเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาหารดังกล่าวไม่มีองค์ประกอบของธาตุไนโตรเจน ซึ่งสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ธาตุไนโตรเจนในการเจริญเติบโตไม่ว่าจะเป็นส่วนประกอบของโปรตีนหรือสารพันธุกรรม ดังนั้นแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free ได้จำเป็นต้องตรึงไนโตรเจนจากอากาศ และแปรสภาพให้อยู่ในรูปที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตบนอาหารได้ จากการทดลองสามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้จำนวน 1 ไอโซเลต คือ ไอโซเลต N-BS1 ดังภาพที่ 11 ไอโซเลต N-BS1 จึงถูกนำมาทดสอบการผลิตแอมโมเนียด้วย Nessler's reagent และนำไปใช้เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนในการผลิตปุ๋ยหมักต่อไป



ภาพที่ 11 แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่คัดแยกได้จากดินใต้ต้นโสน

แบคทีเรียไอโซเลต N-BS1 ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนที่คัดแยกได้จากดินใต้ต้นโสนบริเวณแปลงเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เจริญเติบโตได้บนอาหารแข็งที่ปราศจากไนโตรเจน Burk's nitrogen free

4.4.2 ผลการทดสอบการผลิตแอมโมเนียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

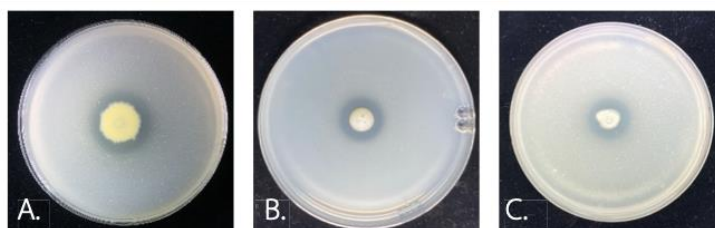
จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free จากดินใต้ต้นโสนบริเวณแปลงเพาะชำ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้จำนวน 1 ไอโซเลต เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวจะถูกนำมาทดสอบกับสารละลาย Nessler's reagent เพื่อทดสอบการผลิตแอมโมเนียที่เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตได้ พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต N-BS1 สามารถผลิตแอมโมเนียได้ 0.28 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 13 ดังนั้นแบคทีเรียไอโซเลต N-BS1 จะถูกนำไประบุชนิดของแบคทีเรีย และถูกนำไปใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนในกองปุ๋ยหมักต่อไป

ตารางที่ 13 การผลิตแอมโมเนียของแบคทีเรียไอโซเลต N-BS1

ไอโซเลต	ปริมาณแอมโมเนีย (กรัมต่อลิตร)
N-BS1	0.28

4.5 ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้บนอาหารแข็ง

การคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตที่เลี้ยงในอาหารที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้จากกากมันสำปะหลังจำนวน 3 ไอโซเลต จากกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียจำนวน 6 ไอโซเลต และจากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง จำนวน 5 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 14 ไอโซเลต ดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK โดย A, B และ C คือ ไอโซเลต P-S1041, P-S51064 และ P-S51063 ตามลำดับ

เมื่อวัดอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีพบว่าไอโซเลต P-S1041 มีอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมากที่สุด รองลงมา คือ ไอโซเลต P-S51064 และ P-S51053 มีอัตราส่วนดังกล่าวเท่ากับ 2.91, 2.83 และ 2.30 ตามลำดับ ดังตารางที่ 14-15 ดังนั้นไอโซเลต P-S51041 จะถูกนำไประบุชนิดของแบคทีเรีย และถูกนำไปใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตในกองปุ๋ยหมักต่อไป

ตารางที่ 14 การสร้างโซนใสของแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK

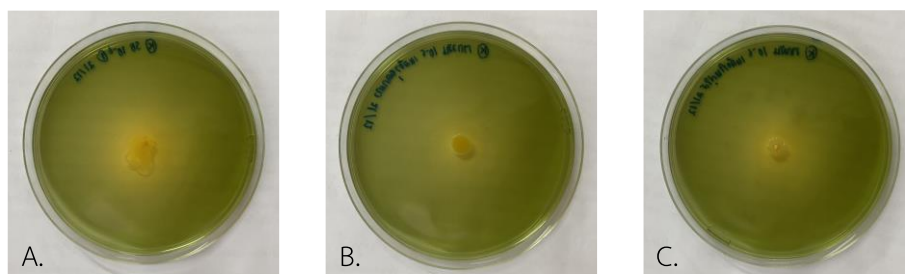
ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซน ใส (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซน ใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
P-CV1041	1.25	0.75	1.67
P-CV1051	1.90	1.10	1.73

ตารางที่ 15 การสร้างโซนใสของแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK (ต่อ)

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซน ใส (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซน ใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
P-CV1052	1.40	1.10	1.27
P-S51053	2.30	1.00	2.30
P-S51054	2.20	1.90	1.16
P-S51061	0.75	0.60	1.25
P-S51063	1.10	0.90	1.22
P-S51064	1.70	0.60	2.83
P-S51065	1.20	0.60	2.00
P-S1041	3.20	1.10	2.91
P-S1042	1.00	0.85	1.18
P-S1043	0.90	0.60	1.50
P-S1061	1.50	1.10	1.36
P-S1064	0.80	0.50	1.60

4.6 ผลการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตเชื่อมได้บนอาหารแข็ง

การคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตเชื่อมที่เลี้ยงในอาหารที่มีแร่เฟลด์สปาร์เป็นองค์ประกอบ สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตเชื่อมได้จากกากมันสำปะหลังจำนวน 4 ไอโซเลต จากกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียจำนวน 5 ไอโซเลต และจากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลังจำนวน 9 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 18 ไอโซเลต จากนั้นนำไอโซเลตที่แยกได้มาตรวจสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตเชื่อมโดยดูจากอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีที่ ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov โดย A, B, และ C คือ ไอโซเลต K-S1043, K-S51054 และ K-S1051 ตามลำดับ

เมื่อวัดอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีพบว่าไอโซเลต K-S1043 มีอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมากที่สุด รองลงมา คือ ไอโซเลต K-S51054 และ K-S1051 มีอัตราส่วนดังกล่าวเท่ากับ 2.42 2.33 และ 2.09 ตามลำดับ ดังตารางที่ 16-18 ดังนั้นแบคทีเรียไอโซเลต K-S1043 จะถูกนำไประบุชนิดของแบคทีเรีย และถูกนำไปใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมในกองปุ๋ยหมักต่อไป

ตารางที่ 16 การสร้างโซนใสของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Aleksandrov

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส ต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
K-CV1041	0.90	0.60	1.50
K-CV1042	2.00	1.10	1.82
K-CV1051	1.30	0.90	1.44

ตารางที่ 17 การสร้างโซนใสของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Aleksandrov (ต่อ)

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส ต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
K-CV1052	1.50	1.20	1.25
K-S51051	2.40	1.20	2.00
K-S51052	1.80	1.10	1.64
K-S51054	1.40	0.60	2.33
K-S51055	2.60	1.30	2.00
K-S51063	2.40	1.70	1.41
K-S1041	1.50	0.80	1.88
K-S1042	1.20	0.70	1.71
K-S1043	2.90	1.20	2.42
K-S1051	2.30	1.10	2.09
K-S1061	3.00	1.80	1.67
K-S1063	1.40	0.90	1.56
K-S1062	1.70	1.20	1.42
K-S1064	2.10	1.70	1.24

ตารางที่ 18 การสร้างโชนไสของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Aleksandrov (ต่อ)

ไอโซเลต	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโชนไส (เซนติเมตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางโชนไส ต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนี
K-S1065	2.70	1.60	1.69

4.7 ผลการระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

4.7.1 ผลการระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วย 16S rRNA

เมื่อคัดกรองแบคทีเรียได้ครบทั้ง 5 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต และแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมได้ แบคทีเรียในแต่ละกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการทำงานมากที่สุดจะถูกนำมาระบุชนิดของแบคทีเรียด้วยการสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอของยีน 16S rRNA และคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับที่ 1 เท่านั้น เพื่อนำมาผลิตเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตเป็นปุ๋ยหมักจากกากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย พบว่าแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด คือ ไอโซเลต C-CV1033 และ C-S1052 ถูกระบุว่าเป็น *B. subtilis* และ *B. shackletonii* ตามลำดับ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส คือ ไอโซเลต เลต A-CV1031 และ A-S51041 ถูกระบุว่าเป็น *B. subtilis* แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน คือ ไอโซเลต N-BS1 ถูกระบุว่าเป็น *B. ginsengihumi* แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสฟอรัส คือ ไอโซเลต P-S1041 ถูกระบุว่าเป็น *B. shackletonii* และสุดท้ายแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการละลายโพแทสเซียม คือ ไอโซเลต *B. bataviensis* ดังตารางที่ 19 ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 5 กลุ่ม 8 ชนิด เป็นแบคทีเรียที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพในระดับที่ 1 ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้จะถูกนำมาใช้ใน

การผลิตปุ๋ยหมักที่มีสารตั้งต้น คือ กากมันสำปะหลัง และกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย โดยมีสารเติมแต่ง คือ รำข้าว มูลวัว หินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์

ตารางที่ 19 ชนิดของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลตที่ถูกคัดเลือก

หน้าที่ของแบคทีเรีย	ชนิดของแบคทีเรีย	ชื่อไอโซเลต
เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิต	<i>B. subtilis</i>	A-CV1031
เอนไซม์อะไมเลสได้	<i>B. subtilis</i>	A-S51041
เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิต	<i>B. subtilis</i> TISTR 008	-
เอนไซม์เซลลูเลสได้	<i>B. subtilis</i>	C-CV1033
	<i>B. shackletonii</i>	C-S1052
เชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถ	<i>B. ginsengihumi</i>	N-BS1
ในการตรึงไนโตรเจน		
เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลาย	<i>B. shackletonii</i>	P-S1041
ฟอสเฟตได้		
เชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลาย	<i>B. bataviensis</i>	K-S1043
โพแทสเซียมได้		

4.7.2 ผลการศึกษาลักษณะ และการติดสีของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อที่คัดแยกได้จำนวน 5 กลุ่ม 8 ชนิด ประกอบด้วย แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส คือ *B. subtilis* A-CV1031 และ *B. subtilis* A-S51041 แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ คือ *B. ginsengihumi* N-BS1 แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ คือ *B.*






shackletonii P-S1041 และสุดท้ายแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมได้ คือ *B. bataviensis* K-S1043 ประกอบด้วย การศึกษาสัณฐานวิทยา ประกอบด้วยการศึกษาการติดสี และศึกษารูปร่างของเซลล์แบคทีเรีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 8 ชนิด ย้อมติดสีม่วงไม่ติดสีแดงของซาฟรานินโอ และมีลักษณะเป็นท่อน ดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 การย้อมติดสีของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก

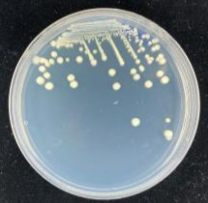
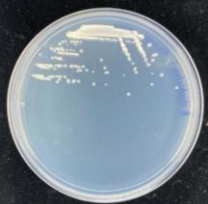

หน้าที่ของแบคทีเรีย	ชนิดของแบคทีเรีย	การย้อมติดสี		ความใกล้เคียง (%)
		แกรม บวก/ลบ	รูปร่าง	
เชื้อแบคทีเรียผลิต	<i>B. subtilis</i> A-CV1031	บวก	ท่อน	92
เอนไซม์อะไมเลส	<i>B. subtilis</i> A-S51041	บวก	ท่อน	99
เชื้อแบคทีเรียผลิตเอนไซม์	<i>B. subtilis</i> TISTR 008	บวก	ท่อน	-
เซลล์ลูเลส	<i>B. subtilis</i> C-CV1033	บวก	ท่อน	98
	<i>B. shackletonii</i> C-S1052	บวก	ท่อน	98
เชื้อแบคทีเรียตรึง	<i>B. ginsengihumi</i>	บวก	ท่อน	99
ไนโตรเจน	N-BS1			
เชื้อแบคทีเรียละลาย	<i>B. shackletonii</i>	บวก	ท่อน	99
ฟอสเฟต	P-S1041			
เชื้อแบคทีเรียละลาย	<i>B. bataviensis</i>	บวก	ท่อน	99
โพแทสเซียม	K-S1043			

นอกจากนี้ *B. subtilis* A-CV1031, *B. subtilis* A-S51041, *B. subtilis* TISTR 008 และ *B. subtilis* C-CV1033 มีรูปร่างโคโลนีที่ไม่แน่นอน ขอบของโคโลนีหยัก และมีสีขาวขุ่น ส่วน *B. shackletonii* C-S1052, *B. ginsengihumi* N-BS1, *B. shackletonii* P-S1041 และ *B. bataviensis* K-S1043 มีลักษณะโคโลนีที่กลม ขอบของโคโลนีเรียบ และโคโลนีมีสีขาวขุ่น ดังตารางที่ 21-22

ตารางที่ 21 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อทั้ง 8 ไอโซเลต

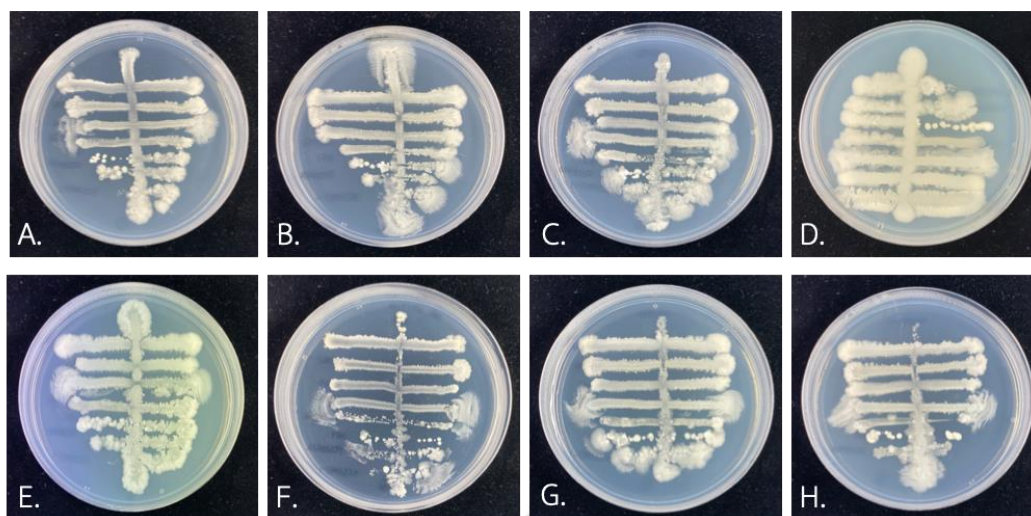
ไอโซเลต	ชนิดของแบคทีเรีย	รูปร่าง (form)	ขอบ (margin)	สี (color)
	<i>B. subtilis</i> A-CV1031	รูปร่างไม่ แน่นอน	หยัก	ขาวขุ่น
	<i>B. subtilis</i> A-S51041	รูปร่างไม่ แน่นอน	หยัก	ขาวขุ่น
	<i>B. subtilis</i> TISTR 008	รูปร่างไม่ แน่นอน	หยัก	ขาวขุ่น
	<i>B. subtilis</i> C-CV1033	รูปร่างไม่ แน่นอน	หยัก	ขาวขุ่น
	<i>B. shackletonii</i> C-S1052	กลม	เรียบ	ขาวขุ่น

ตารางที่ 22 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อทั้ง 8 ไอโซเลต (ต่อ)

ไอโซเลต	ชนิดของแบคทีเรีย	รูปร่าง (form)	ขอบ (margin)	สี (color)
	<i>B. ginsengihumi</i> N-BS1	กลม	เรียบ	ขาวขุ่น
	<i>B. shackletonii</i> P-S1041	กลม	เรียบ	ขาวขุ่น
	<i>B. bataviensis</i> K-S1043	กลม	เรียบ	ขาวขุ่น

4.7.3 ผลทดสอบความเข้ากันได้ของเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาผลิตหัวเชื้อ

จากการทดสอบความเข้ากันได้ของหัวเชื้อ โดยการนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 กลุ่ม จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส คือ *B. subtilis* A-CV1031 และ *B. subtilis* A-S51041 แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน คือ *B. ginsengihumi* N-BS1 แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต คือ *B. shackletonii* P-S1041 และสุดท้ายแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียม คือ *B. bataviensis* K-S1043 มาชิตทับกันลงบนอาหารแข็ง nutrient ให้เชื้อแต่ละชนิดเป็นแกนตั้ง และชิตทับด้วยเชื้อชนิดอื่น ๆ อีก 7 ชนิด จนครบ พบว่าเชื้อทั้ง 8 ชนิดสามารถชิตทับกันได้ โดยไม่มีช่องว่างระหว่างโคโลนีเกิดขึ้น ดังภาพที่ 14 ดังนั้นเชื้อทั้ง 8 ชนิดสามารถเจริญเติบโต และสามารถใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยหมักได้

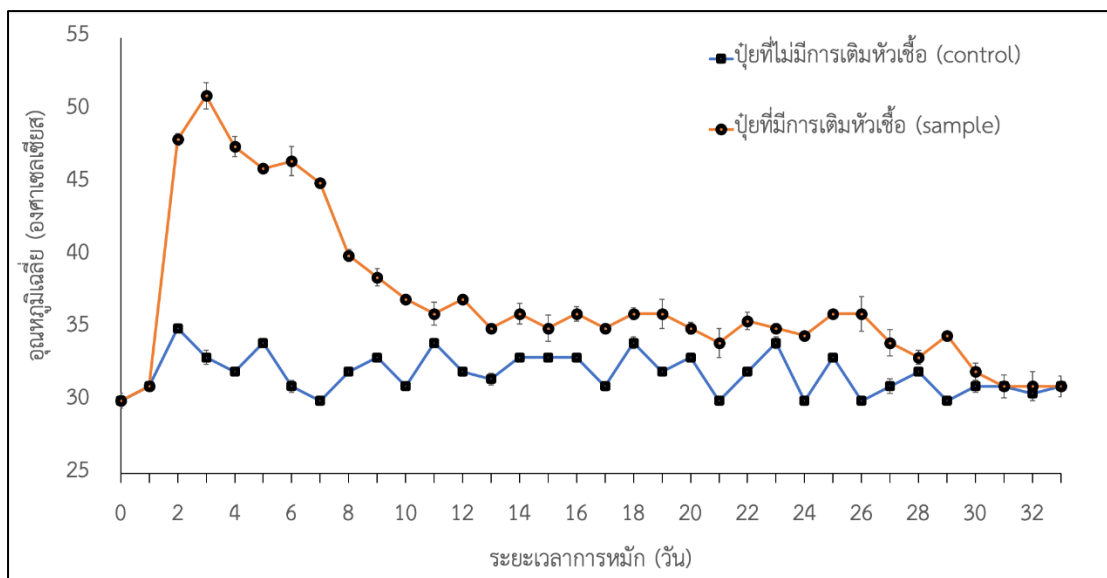


ภาพที่ 14 การขีดทับกันของเชื้อทั้ง 8 ชนิดเพื่อทดสอบความเข้ากันได้

4.8 ผลการศึกษาการผลิตปุ๋ยหมัก

4.8.1 ผลการศึกษาการหมักปุ๋ยในกล่องโฟม

ปุ๋ยหมักในกล่องได้มีการปรับวิธีการทดลอง โดยได้ทดลองทำในกล่องโฟมที่มีการเจาะรูบริเวณก้นกล่องจำนวน 4 รู เพื่อใช้ในการระบายน้ำ และอากาศ จากนั้นบันทึกลักษณะทางกายภาพ คือ อุณหภูมิของปุ๋ยทุกวัน และบันทึกลักษณะของปุ๋ยที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 7 วัน ปุ๋ยหมักในกล่องโฟม ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยใช้ระยะเวลาในการหมักปุ๋ยทั้งหมด 33 วัน จากการวัดอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยทุกวันพบว่ากองปุ๋ยที่มีการเติมหัวเชื้อ (sample) มีอุณหภูมิที่สูงกว่ากองปุ๋ยที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ โดยกองปุ๋ยที่มีการเติมหัวเชื้อมีอุณหภูมิเพิ่มสูงสุดในวันที่ 2 มีอุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 51 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงลดลงเท่ากับ 34 องศาเซลเซียส ในวันที่ 33 แตกต่างจากกองปุ๋ยที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ (control) ที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยระหว่าง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 15 ซึ่งหมายความว่ากองปุ๋ยที่มีการเติมหัวเชื้อมีการทำงานของเชื้อแบคทีเรีย และปลดปล่อยความร้อนออกมาทำให้อุณหภูมิของกองปุ๋ยเพิ่มสูงขึ้น



ภาพที่ 15 อุณหภูมิเฉลี่ยของกองปύหมักในกล่องโฟม

โดยใช้ระยะเวลาในการหมักทั้งหมด 33 วัน เปรียบเทียบระหว่างปύหมักที่มีการเติมหัวเชื้อ 8 ชนิด และปύหมักที่ไม่มีกรเติมเชื้อ

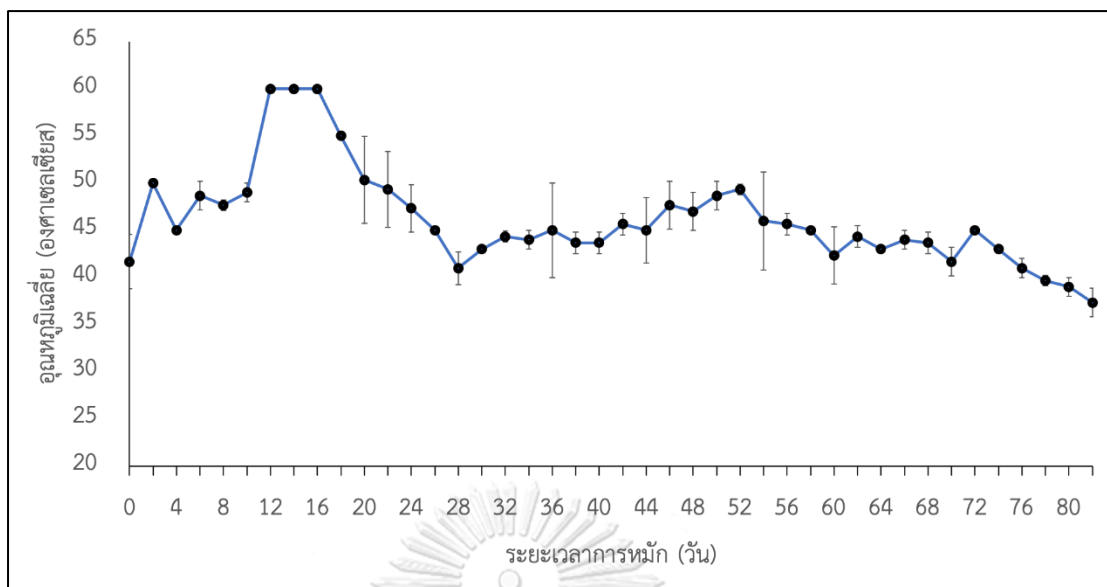
นอกจากการวัดอุณหภูมิของปύแล้วได้มีการสังเกต และบันทึกลักษณะของกองปύที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 7 วัน พบว่าใน 7 วันแรกกองปύทั้ง 2 กองมีสีน้ำตาลอ่อน แต่กองปύที่มีการเติมหัวเชื้อมีกลิ่นเหม็น และลักษณะของกองปύเปียกแฉะ รอบ ๆ ภายในกล่องโฟมมีหยดน้ำเกาะอยู่เป็นจำนวนมาก แตกต่างจากกองปύที่ไม่มีกรเติมหัวเชื้อกองปύจะไม่มีกลิ่นเหม็น และปύจะจับตัวกันเป็นก้อน ต่อมาในวันที่ 14 พบว่ากองปύที่มีการเติมหัวเชื้อมีสีที่เข้มขึ้น แต่กลิ่นของกองปύ และลักษณะของกองปύมีลักษณะเดิม ส่วนกองปύที่ไม่มีกรเติมหัวเชื้อมีลักษณะเหมือนเดิมตั้งแต่วันที่ 14 จนถึงวันสุดท้าย จากนั้นในวันที่ 21 กองปύที่มีการเติมหัวเชื้อมีลักษณะที่แห้งขึ้น เนื้อของกองปύเริ่มละเอียด ขึ้นส่วนต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำปύเริ่มเล็กลง ส่วนในวันที่ 28 กองปύที่มีการเติมหัวเชื้อไม่มีกลิ่นเหม็น ปύมีเนื้อที่ละเอียดขึ้น และวันสุดท้าย คือ วันที่ 33 กองปύที่มีการเติมหัวเชื้อมีกลิ่นคล้ายดิน ปύเริ่มแห้งมากขึ้น และเนื้อปύส่วนใหญ่ละเอียด ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 23 ลักษณะปุ๋ยหมักในกล่องโฟม

ระยะเวลาหมัก(วัน)	ปุ๋ย	สี	กลิ่น	ลักษณะของปุ๋ย
7	control	สีน้ำตาลอ่อน	ไม่มีกลิ่น	ปุ๋ยจับตัวเป็นก้อน
	sample	สีน้ำตาลอ่อน	มีกลิ่นเหม็น	ปุ๋ยมีลักษณะเปียกแฉะ
14	control	สีน้ำตาล	ไม่มีกลิ่น	ปุ๋ยเป็นก้อน
	sample	สีน้ำตาลเข้ม	มีกลิ่นเหม็น	ปุ๋ยมีลักษณะเปียกแฉะ
21	control	สีน้ำตาล	ไม่มีกลิ่น	ปุ๋ยเป็นก้อน
	sample	สีน้ำตาลเข้ม	มีกลิ่นเหม็น	ปุ๋ยเริ่มแห้ง และเนื้อละเอียด
28	control	สีน้ำตาล	ไม่มีกลิ่น	ปุ๋ยเป็นก้อน
	sample	สีน้ำตาลเข้ม	ไม่มีกลิ่นเหม็น	ปุ๋ยมีเนื้อที่ละเอียดขึ้น
33	control	สีน้ำตาล	ไม่มีกลิ่น	ปุ๋ยเป็นก้อน
	sample	สีน้ำตาลเข้ม	กลิ่นคล้ายดิน	ปุ๋ยแห้ง เนื้อละเอียด

4.8.2 การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา

การผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมาใช้ระยะเวลาในการหมักปุ๋ยทั้งหมด 82 วัน จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยในกองปุ๋ยหมักขึ้นสูงสุด 60 องศาเซลเซียส ในช่วง 2 สัปดาห์แรก จากนั้นลดลงมาต่ำสุดอยู่ที่ 36 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 16

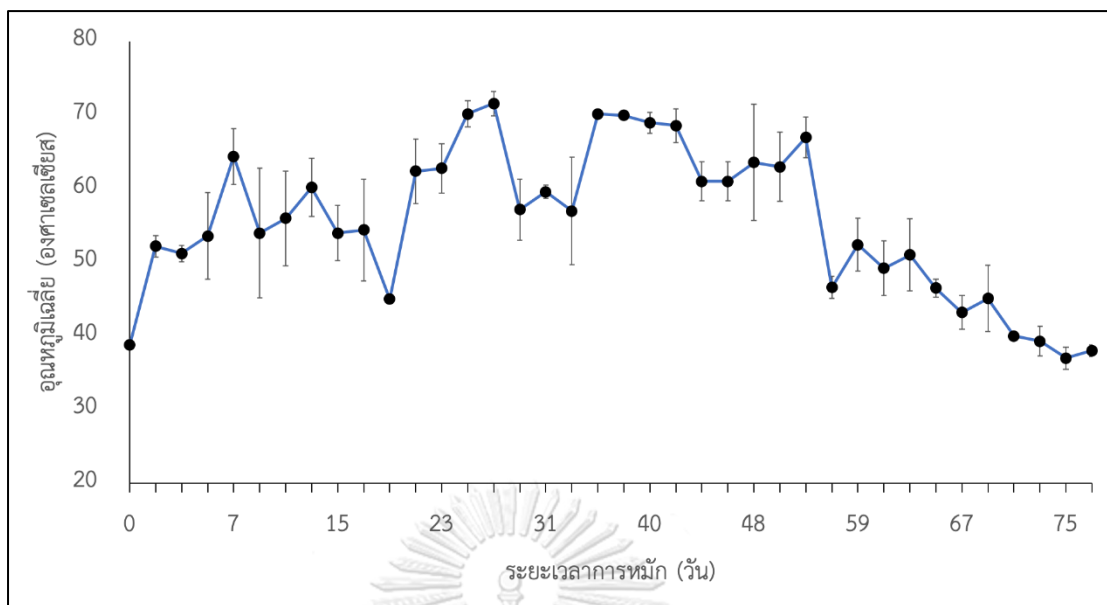


ภาพที่ 16 อุณหภูมิเฉลี่ยของกอกปุยหมัก ณ อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา

โดยใช้ระยะเวลาในการหมักทั้งหมด 82 วัน อุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 36 องศาเซลเซียส

4.8.3 การผลิตปุยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา

การผลิตปุยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา ใช้ระยะเวลาในการหมักปุยทั้งหมด 77 วัน จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยในกอกปุยหมักขึ้นสูงสุด 71.6 องศาเซลเซียส จากนั้นลดลงมาต่ำสุดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 อุณหภูมิเฉลี่ยของกองปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา

โดยใช้ระยะเวลาในการหมักทั้งหมด 77 วัน อุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุด 71.6 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุด 37 องศาเซลเซียส

4.9 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก

4.9.1 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก ของปุ๋ยหมักในกล่องโฟม เมื่อนำปุ๋ยหมักในกล่องโฟม ก่อนหมัก หลังหมัก (มีการเติมหัวเชื้อ) และหลังหมัก (ไม่มีการเติมหัวเชื้อ) ไปตรวจวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ย โดยภาควิชาปฐพี คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พบว่าค่าความเป็นกรดต่างของปุ๋ยหมักก่อนหมักอยู่ที่ 6.09 หลังจากเป็นปุ๋ยหมักมีค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มมากขึ้น โดยปุ๋ยหมักที่มีการเติมหัวเชื้อมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.75 ส่วนปุ๋ยหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.8 เช่นเดียวกับสภาพการนำไฟฟ้าของปุ๋ยหมักที่มีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากกระบวนการหมักเป็นปุ๋ย สภาพการนำไฟฟ้าก่อนหมัก หลังหมัก (มีการเติมหัวเชื้อ) และหลังหมัก (ไม่มีการเติมหัวเชื้อ) มีค่าเท่ากับ 2.62, 3.65 และ 3.55 เดซิเมนส์ต่อเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ปริมาณธาตุอาหารหลักของปุ๋ยหมักหลังจากผ่านกระบวนการหมักมีค่าเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ปุ๋ยหมักหลังหมักที่มีการเติมหัวเชื้อมีปริมาณไนโตรเจนสูงที่สุด รองลงมา คือ

ปุ๋ยหลังหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ และปุ๋ยก่อนหมัก มีค่าเท่ากับร้อยละ 2.18, 1.83 และ 1.76 ตามลำดับ ต่อมาปุ๋ยหมักหลังหมักที่มีการเติมหัวเชื้อมีปริมาณฟอสฟอรัสสูงที่สุด รองลงมา คือ ปุ๋ยหมักหลังหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ และสุดท้าย คือ ปุ๋ยหมักก่อนหมัก มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.95, 0.89 และ 0.57 ตามลำดับ ส่วนปุ๋ยหมักหลังหมักที่มีการเติมหัวเชื้อมีปริมาณโพแทสเซียมที่เท่ากับปุ๋ยหมักหลังหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อ คือ ร้อยละ 1.18 และปุ๋ยก่อนหมัก มีปริมาณโพแทสเซียมที่เท่ากับร้อยละ 0.95 นอกจากนี้อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของปุ๋ยลดลงเมื่อผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งปุ๋ยหมักก่อนหมักมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 35.58 จากนั้นเมื่อผ่านกระบวนการหมักอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของปุ๋ย ที่ไม่มีการเติมหัวเชื้ออยู่ที่ 16.55 และ 29.39 ตามลำดับ ส่วนปริมาณอินทรีย์วัตถุมีประมาณลดลงเล็กน้อยหลังผ่านกระบวนการหมัก โดยปุ๋ยหมักก่อนหมักมีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ที่ร้อยละ 74.58 หลังผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยหมักที่มีการเติมหัวเชื้อมีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ที่ร้อยละ 62.2 และปุ๋ยหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อมีปริมาณอินทรีย์วัตถุร้อยละ 61.01 ดังตารางที่ 24-25 จากค่าที่กล่าวมาทั้งหมดพบว่าปุ๋ยหมักที่มีการเติมหัวเชื้อทั้ง 8 ชนิดมีคุณสมบัติทุกค่าผ่านเกณฑ์การเป็นปุ๋ยตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 แต่ปุ๋ยหมักที่ไม่มีการเติมหัวเชื้อมีคุณสมบัติบางประการที่ไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่มีค่าเกิน 20 และปริมาณความชื้นที่เกินร้อยละ 35 ดังนั้นการเติมหัวเชื้อทั้ง 8 ชนิดลงในกองปุ๋ยหมักจึงมีประสิทธิภาพในการแปรสภาพวัตถุดิบในกองปุ๋ยให้เป็นปุ๋ยหมักที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานได้

ตารางที่ 24 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมักในกองโม่

ค่าที่ตรวจสอบ	ก่อนหมัก	หลังหมัก (เติมเชื้อ)	หลังหมัก (ไม่เติมเชื้อ)
ค่าความเป็นกรดต่าง	6.09	6.75	6.8
สภาพการนำไฟฟ้า (เดซิซีเมนส์ต่อเมตร)	2.62	3.65	3.55
ปริมาณไนโตรเจน (%)	1.76	2.18	1.83

ตารางที่ 25 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมักในกล่องโฟม (ต่อ)

ค่าที่ตรวจสอบ	ก่อนหมัก	หลังหมัก (เติมเชื้อ)	หลังหมัก (ไม่เติมเชื้อ)
ปริมาณฟอสฟอรัส (%)	0.57	0.95	0.89
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	0.95	1.18	1.18
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	35.58	16.55	29.39
อินทรีย์วัตถุ (%)	74.58	62.2	61.01
ปริมาณแคลเซียม (mg/kg)	1.66	2.41	2.6
ปริมาณแมกนีเซียม (mg/kg)	0.31	0.42	0.42
ปริมาณสังกะสี (mg/kg)	118	178	211
ปริมาณแมงกานีส (mg/kg)	286	450	507
ปริมาณเหล็ก (mg/kg)	1945	2985	3656
ปริมาณทองแดง (mg/kg)	22.3	31.01	35.09
ความชื้น (%)	60.0	28.3	36.51

4.9.2 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก ของปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา

จากการผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา พบว่าปุ๋ยหมักมีค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มมากขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการหมักไปแล้วจาก 6.42 เพิ่มเป็น 7.92 แต่มีสภาพการนำไฟฟ้าลดลงจาก 5.41 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร เป็น 2.81 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร นอกจากนี้ปุ๋ยหมักที่ผลิตได้มีปริมาณของไนโตรเจน และปริมาณฟอสฟอรัสที่เพิ่มมากขึ้น โดยก่อนหมักปริมาณไนโตรเจน และปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ที่ร้อยละ 1.71 และ 1.50 ตามลำดับ หลังผ่าน

กระบวนการหมักพบว่าปริมาณไนโตรเจน และปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นมาเท่ากันเท่ากับร้อยละ 2.02 แต่ปริมาณโพแทสเซียมของกองปุ๋ยหมักลดลงจากร้อยละ 1.95 เหลืออยู่ร้อยละ 1.82 ต่อมาที่ อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของกองปุ๋ยหมักก่อนหมักอยู่ที่ 42.58 หลังจากผ่านกระบวนการหมักแล้วกองปุ๋ยหมักมีค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงเหลือ 12.72 เช่นเดียวกับปริมาณ อินทรีย์วัตถุที่ลดลงจากร้อยละ 61.1 เหลืออยู่ร้อยละ 44.13 และสุดท้าย คือ ความชื้น ความชื้นของ กองปุ๋ยหมักหลังผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยแล้วพบว่ากองปุ๋ยหมักมีความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 14.05 ดัง ตารางที่ 26-27 จากค่าที่กล่าวมาทั้งหมดพบว่าปุ๋ยหมักที่มีการเติมหัวเชื้อทั้ง 8 ชนิด หลังผ่าน กระบวนการหมักแล้วมีคุณสมบัติทุกค่าผ่านเกณฑ์การเป็นปุ๋ยตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550

ตารางที่ 26 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง

ค่าที่ตรวจสอบ	ก่อนหมักเป็นปุ๋ย	หลังหมักเป็นปุ๋ย
ค่าความเป็นกรดต่าง	6.42	7.92
สภาพการนำไฟฟ้า (เดซิซีเมนส์ต่อเมตร)	5.41	2.81
ปริมาณไนโตรเจน (%)	1.71	2.02
ปริมาณฟอสฟอรัส (%)	1.50	2.02
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	1.95	1.82
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	42.58	12.72
อินทรีย์วัตถุ (%)	61.1	44.13
ปริมาณแคลเซียม (mg/kg)	1.68	2.27
ปริมาณแมกนีเซียม (mg/kg)	0.47	0.64

ตารางที่ 27 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง (ต่อ)

ค่าที่ตรวจสอบ	ก่อนหมักเป็นปุ๋ย	หลังหมักเป็นปุ๋ย
ปริมาณสังกะสี (mg/kg)	87.06	171
ปริมาณแมงกานีส (mg/kg)	539.47	922
ปริมาณเหล็ก (mg/kg)	0.15	2965
ปริมาณทองแดง (mg/kg)	2.14	31
ความชื้น (%)	60.0	14.05

4.9.3 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของปุ๋ยหมักก่อนหมัก และหลังหมัก ของปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา

จากการผลิตปุ๋ยหมัก ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา พบว่าปุ๋ยหมักมีค่าความเป็นกรดต่างเพิ่มมากขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการหมักไปแล้วจาก 5.62 เพิ่มเป็น 6.52 แต่มีสภาพการนำไฟฟ้าลดลงจาก 7.29 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร เป็น 2.81 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร นอกจากนี้ปุ๋ยหมักที่ผลิตได้มีปริมาณของไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมที่เพิ่มมากขึ้น โดยก่อนหมักปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมอยู่ที่ร้อยละ 1.71, 1.50 และ 1.60 ตามลำดับ หลังผ่านกระบวนการหมักพบว่าปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นมาเท่ากับร้อยละ 1.77, 1.97 และ 1.75 ต่อมาที่อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของกองปุ๋ยหมักก่อนหมักอยู่ที่ 24.39 หลังจากผ่านกระบวนการหมักแล้วกองปุ๋ยหมักมีค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงเหลือ 16.96 เช่นเดียวกับปริมาณอินทรีย์วัตถุที่ลดลงจากร้อยละ 65.60 เหลืออยู่ร้อยละ 51.59 และสุดท้าย คือ ความชื้น ความชื้นของกองปุ๋ยหมักหลังผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยแล้วพบว่ากองปุ๋ยหมักมีความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 38.11 ดังตารางที่ 28 จากค่าที่กล่าวมาทั้งหมดพบว่าปุ๋ยหมักที่มีการเติมหัวเชื้อทั้ง 8 ชนิด หลังผ่าน

กระบวนการหมักแล้วมีคุณสมบัติส่วนใหญ่ผ่านเกณฑ์การเป็นปุ๋ยตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ยกเว้นปริมาณความชื้นที่มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ดังนั้นจึงต้องมีการตากปุ๋ยเพิ่มเติมก่อนนำไปใช้ในการเพาะปลูก

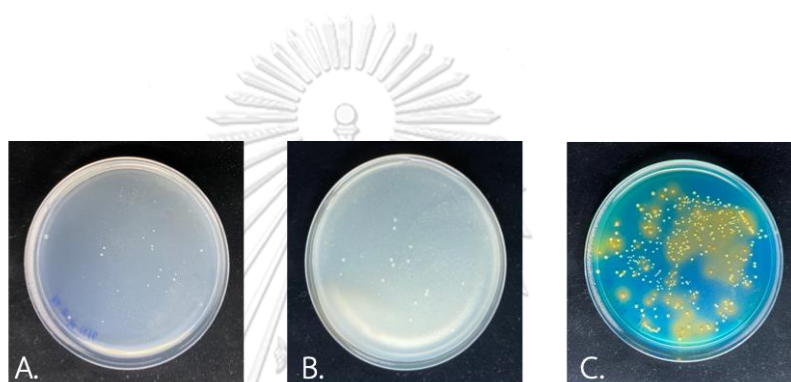
ตารางที่ 28 สมบัติทางกายภาพ และเคมี ของปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว

ค่าที่ตรวจสอบ	ก่อนหมักเป็นปุ๋ย	หลังหมักเป็นปุ๋ย
ค่าความเป็นกรดต่าง	5.62	6.52
สภาพการนำไฟฟ้า (เดซิซีเมนส์ต่อเมตร)	7.29	2.81
ปริมาณไนโตรเจน (%)	1.56	1.77
ปริมาณฟอสฟอรัส (%)	1.78	1.97
ปริมาณโพแทสเซียม (%)	1.60	1.75
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	24.39	16.96
อินทรีย์วัตถุ (%)	65.60	51.59
ปริมาณแคลเซียม (%)	2.95	3.76
ปริมาณแมกนีเซียม (%)	0.60	0.72
ปริมาณสังกะสี (mg/kg)	0.97	139
ปริมาณแมงกานีส (mg/kg)	425	740
ปริมาณเหล็ก (mg/kg)	921	3,040
ปริมาณทองแดง (mg/kg)	16.58	11.26
ความชื้น (%)	60.0	38.11

4.10 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB หลังจากกระบวนการหมักปุ๋ย

4.10.1 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมักลิ่งโพน

จากการนับจำนวนเชื้อ PGPB หลังจากผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 33 วัน พบว่าได้เชื้อตรึงไนโตรเจนที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free จำนวน 1.8×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม เชื้อละลายฟอสเฟตที่เจริญเติบโตบนอาหารแข็ง PVK จำนวน 1.5×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม และเชื้อละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov จำนวน 8.0×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม ดังภาพที่ 18



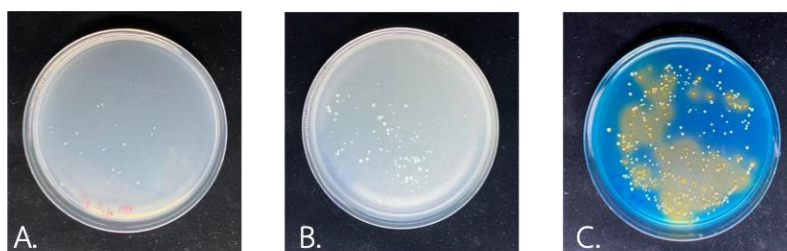
ภาพที่ 18 เชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมักลิ่งโพน

โดย A. คือ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free B. คือ แบคทีเรียละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK และ C. คือ แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.10.2 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง

จากการนับจำนวนเชื้อ PGPB หลังจากผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 82 วัน พบว่าได้เชื้อตรึงไนโตรเจนที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free จำนวน 1.5×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม เชื้อละลายฟอสเฟตที่เจริญเติบโตบนอาหารแข็ง PVK จำนวน 5.7×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม และเชื้อละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov จำนวน 7.0×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม ดังภาพที่ 19

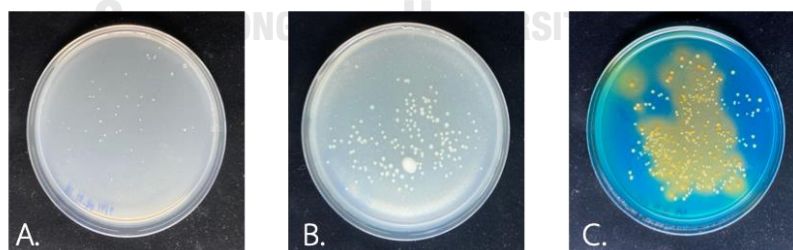


ภาพที่ 19 เชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง

โดย A. คือ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free B. คือ แบคทีเรียละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK และ C. คือ แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov

4.10.2 ผลการตรวจสอบเชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว

จากการนับจำนวนเชื้อ PGPB หลังจากผ่านกระบวนการหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 77 วัน พบว่าได้เชื้อตรึงไนโตรเจนที่สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free จำนวน 3.1×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม เชื้อละลายฟอสเฟตที่เจริญเติบโตบนอาหารแข็ง PVK จำนวน 1.4×10^9 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม และเชื้อละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov จำนวน 7.5×10^8 CFU/ปุ๋ยหมัก 1 กรัม ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 เชื้อ PGPB ในปุ๋ยหมัก ณ อำเภอสีคิ้ว

โดย A. คือ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free B. คือ แบคทีเรียละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง PVK และ C. คือ แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็งที่มีคาร์บอนซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบจากกากมันสำปะหลัง และจากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นรอบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียหลังจากรดด้วยสารละลายคองโกเรดจำนวน 6 ไอโซเลต ซึ่งกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบของเซลลูโลสมากเป็นอันดับ 2 รองจากแป้ง และเป็นแหล่งอาหารให้กับจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส ดังนั้นกากมันสำปะหลังจึงเป็นแหล่งในการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเซลลูเลสได้ ส่วนในดินเป็นสถานที่ที่มีชิ้นส่วนของพืชจำนวนมาก และถูกแปรสภาพให้อยู่ในรูปของอินทรีย์คาร์บอน ซึ่งจุลินทรีย์ในดินมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนอินทรีย์คาร์บอนภายในสิ่งแวดล้อม การที่จะหมุนเวียนวัสดุที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสกลับสู่สิ่งแวดล้อมจำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ ดังนั้นดินจึงเป็นอีกสถานที่ที่สามารถใช้ในการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ (Irfan และคณะ, 2012) แต่การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็งที่มีคาร์บอนซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบไม่สามารถบ่งบอกถึงปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เชื้อแบคทีเรียผลิตได้ ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จึงถูกนำมาทดสอบเพื่อหาปริมาณการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยการหากิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสที่เกิดขึ้นอีกครั้ง พบว่าไอโซเลต C-CV1033 *B. subtilis* TISTR 008 ไอโซเลต C-S1052 และ C-S1043 ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดเป็น 4 อันดับแรก มีค่าเท่ากับ 0.20, 0.16, 0.12 และ 0.12 หนึ่งต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ การคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากแหล่งอื่น ๆ เช่น การคัดแยก *B. amyloliquefaciens* จากมูลแรดมีกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 0.079 หนึ่งต่อมิลลิลิตร การคัดแยก *Cellulomonas* sp. จากน้ำเสียจากขุยมะพร้าวมีกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 0.0336 หนึ่งต่อมิลลิลิตร และการคัดแยก *Brevibacillus* sp. จากมูลสุกรมีกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 0.02 หนึ่งต่อมิลลิลิตร เป็นต้น (Singh และคณะ, 2013) ดังนั้นแหล่งในการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจึงมีผลต่อ

แบคทีเรียที่คัดแยกได้ และปริมาณของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสที่ผลิตได้ด้วย จากนั้นเชื้อแบคทีเรียที่ถูกคัดแยก จะถูกนำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส และต่อด้วยมาวัดกิจกรรมการย่อยของเซลลูโลสทั้งหมด โดยเปรียบเทียบระหว่างไอโซเลตเดี่ยว และผสมเป็นหัวเชื้อ พบว่าหัวเชื้อผสมระหว่าง *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 มีค่ากิจกรรมการย่อยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 เท่ากับ 0.31 FPU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งหัวเชื้อผสมระหว่าง 3 ไอโซเลตมีค่ากิจกรรมการย่อยของเซลลูโลสทั้งหมดสูงกว่าหัวเชื้อผสมของสกุล *Bacillus* ที่มีค่ากิจกรรมดังกล่าวอยู่ในช่วง 0.012 ถึง 0.196 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร (Gupta และคณะ, 2012) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าหัวเชื้อแบคทีเรียที่ประกอบด้วย *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส และการย่อยเซลลูโลส ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการย่อยวัสดุที่มีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลสได้

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสบนอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบจากกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากการสังเกตโซนใสที่เกิดขึ้นรอบ ๆ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียหลังจากรดด้วยสารละลายไอโอดีนจำนวน 6 ไอโซเลต โซนใสที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากการที่แบคทีเรียเหล่านี้ผลิตเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้งที่อยู่รอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรีย สารละลายไอโอดีนที่ใช้ทดสอบนั้นจะไม่ติดสีน้ำเงินเข้มของไอโอดีนถ้าหากในบริเวณนั้นมีคาร์โบไฮเดรตที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่น้อย การติดสีน้ำเงินเข้มของไอโอดีนจะเกิดเมื่อมีคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยกลูโคสต่อกันเป็นโครงสร้างซับซ้อน หรือเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำตาลกลูโคสมากกว่า 20 โมเลกุล (Silaban และคณะ, 2020) ซึ่งกากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก ดังนั้นกากมันสำปะหลังจึงเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ จากการคัดแยกพบว่าได้แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่มีประสิทธิภาพจำนวน 2 ไอโซเลต คือ *B. subtilis* A-CV1031 และ *B. subtilis* A-S51041 โดยมี

กิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสเท่ากับ 0.20 และ 0.18 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเชื้อสกุล *Bacillus* สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม และเชื้อสกุลนี้ถูกรายงานว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้มาก (Saleh และคณะ, 2020)

จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนได้มีด้วยกันหลายชนิด เช่น จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนที่อยู่แบบพึ่งพาอาศัย (symbiotic relationship) กับพืชในตระกูลถั่ว เพื่อทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศให้กับพืช โดยอาศัยอยู่ในปมรากถั่ว เช่น แบคทีเรียสกุล *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium* เป็นต้น หรือแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในดิน ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Azotobacter* เป็นต้น นอกจากนี้มีแบคทีเรียอีกจำพวกหนึ่งอย่างแบคทีเรียที่ละลายสารอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมเพื่อการดำรงชีวิต (heterotrophic bacteria) ที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้โดยไม่ต้องมีปฏิสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น สิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้ ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* และ *Klebsiella* เป็นต้น แต่ว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะตรึงไนโตรเจนได้ในปริมาณที่จำกัด และน้อยกว่ากลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนในปมรากถั่ว เนื่องจากออกซิเจนมีผลยับยั้งเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่ทำหน้าที่ในการสลายพันธะระหว่างไนโตรเจน 2 อะตอมที่ตรึงจากบรรยากาศ และเติมไฮโดรเจน 3 อะตอมให้กับไนโตรเจนที่ถูกสลายพันธะแล้ว ดังนั้นในขณะที่แบคทีเรียในกลุ่มนี้ตรึงไนโตรเจนจึงประพฤติตัวเสมือนเป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobes) หรือ แบคทีเรียที่เจริญในบรรยากาศที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (microaerophiles) (Vadakattu และคณะ, 2006) การคัดแยกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากดินใต้ต้นโสนถือเป็นแหล่งที่น่าสนใจในการคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มนี้ เนื่องจากต้นโสนเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีไรโซเบียมอยู่บริเวณราก ส่งผลให้บริเวณนี้เป็นแหล่งของธาตุอาหารต่าง ๆ จำนวนมาก และอาจมีแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่อย่างอิสระอีกด้วย จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนบนอาหารแข็ง Burk's nitrogen free พบว่าได้แบคทีเรียจำนวน 1 ชนิด คือ *B. ginsengihumi* N-BS1 ซึ่ง *B. ginsengihumi* ยังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับความสามารถในการตรึงไนโตรเจน แต่ *B. ginsengihumi* M2.11 ที่คัดแยกจากดินที่สาธารณรัฐตาดาร์สถาน เป็นไรโซ

แบคทีเรียที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (Itkina และคณะ, 2020) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสลายฟอสฟอรัส นอกจากนี้มีการรายงานว่ *B. ginsengihumi* เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพในการควบคุมไม่ให้พืชติดโรคราสีเทา (Botrytis bunch rot: BBR) ในองุ่นได้อีกด้วย (Calvo-Garrido และคณะ, 2019) ดังนั้นการใช้ *B. ginsengihumi* เพื่อการผลิตปุ๋ยหมักในงานวิจัยนี้นอกจากจะช่วยตรึงไนโตรเจนแล้วอาจมีส่วนช่วยในการสลายฟอสฟอรัส หรือทำหน้าที่ในการควบคุมไม่ให้พืชติดโรคจากราได้ โดยต้องมีการศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ต่อไปในอนาคต

จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดอินทรีย์ออกมาทำให้เกิดโซนไฮดรอป ๆ โคลนินบนอาหารแข็งที่มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบได้ คือ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต โดยสามารถคัดแยกเชื้อชนิดนี้เบื้องต้นได้ด้วยการคัดแยกบนอาหารแข็ง Pikovskaya หรือ อาหารแข็งไตรแคลเซียมฟอสเฟต ปกติแล้วแร่ธาตุฟอสฟอรัสในรูปแบบของสารอนินทรีย์จะถูกดูดซับอยู่บริเวณผิวดิน หรืออยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ เช่น แคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) เฟอร์ริกฟอสเฟต (FePO_4) หรือ อะลูมินัมฟอสเฟต (AlPO_4) เป็นต้น ในสภาวะที่ดินเป็นกรด (Yu และคณะ, 2011) การคัดแยกจุลินทรีย์จากดินที่เกาะอยู่รอบรากพืชมักพบจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตมากกว่าดินที่อยู่บริเวณอื่น เนื่องจากจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีบทบาททั้งทางตรง และทางอ้อมในการช่วยให้ดินมีสุขภาพที่ดีขึ้น และส่งผลให้การเจริญเติบโตของพืชดีขึ้นไปด้วย

ในงานวิจัยนี้สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้จากกากมันสำปะหลังจำนวน 3 ไอโซเลต จากกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียจำนวน 6 ไอโซเลต และจากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลังจำนวน 5 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 14 ไอโซเลต เชื้อแบคทีเรียทั้ง 14 ไอโซเลตที่คัดแยกได้นี้มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตสังเกตได้จากโซนไฮดรอปที่เกิดขึ้นรอบ ๆ โคลนินของเชื้อแบคทีเรียบนอาหารที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลาย

ฟอสเฟตมากที่สุด คือ *B. shackletonii* P-S1041 ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณแปลงปลูกสำปะหลัง สังเกตได้จากอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางไซนัสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อชนิดนี้ที่มีอัตราส่วน ดังกล่าวมากที่สุด จากงานวิจัยของ Liu และคณะ (2015) ทดลองใช้ฟอสเฟตที่แตกต่างกันทั้ง 3 รูปแบบเป็นองค์ประกอบของอาหาร ได้แก่ แคลเซียมฟอสเฟต เฟอร์ริกฟอสเฟต และอะลูมิเนียม ฟอสเฟต เพื่อดูว่าแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้จะสามารถละลายฟอสเฟตในรูปแบบใดได้ดีที่สุด จากการทดลองพบว่าแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้สามารถละลายฟอสเฟตสังเคราะห์ในรูปแบบของ แคลเซียมฟอสเฟตได้ดีที่สุด ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Chung และคณะ (2005) ดังนั้นการใช้อาหารที่มี องค์ประกอบของฟอสเฟตในรูปแบบของแคลเซียมฟอสเฟตจึงมีประสิทธิภาพในการใช้คัดแยกจุลินทรีย์ที่ สามารถละลายฟอสเฟตได้ในเบื้องต้น

ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของ พืช ปุ๋ยไนโตรเจน ปุ๋ยฟอสฟอรัส และปุ๋ยโพแทสเซียมจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการช่วยเพิ่มปริมาณ ผลผลิต แต่การใช้ปุ๋ยเคมีเป็นระยะเวลานานย่อมส่งผลต่อสิ่งแวดล้อมโดยรอบ ถึงแม้ว่าการใช้แร่ เฟลด์สปาร์ และผงหินฟอสเฟต ซึ่งเป็นแหล่งของโพแทสเซียม และฟอสฟอรัสที่ปลอดภัยกว่าการใช้ ปุ๋ยเคมี แต่การใช้แร่เฟลด์สปาร์ปลูกพืชโดยตรงไม่เป็นผลดีต่อพืชมากนัก เนื่องจากแร่เฟลด์สปาร์ ปลดปล่อยธาตุโพแทสเซียมได้ช้า ส่งผลให้การที่พืชจะนำธาตุโพแทสเซียมไปใช้ย่อมเกิดช้าลงตามไป ด้วย ดังนั้นการนำเอาแร่เฟลด์สปาร์เข้ามาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักร่วมกับการเติมแบคทีเรียที่สามารถ ละลายโพแทสเซียมได้จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ ที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการที่พืชจะนำ โพแทสเซียมไปใช้ และเพิ่มปริมาณผลผลิตต่อไปได้ในอนาคต

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมจากกากมันสำปะหลังจำนวน 4 ไอโซ เลต จากกากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียจำนวน 5 ไอโซเลต และจากดินบริเวณแปลงปลูกมัน

สำปะหลังจำนวน 9 ไอโซเลต รวม 18 ไอโซเลต เชื้อแบคทีเรียทั้ง 18 ไอโซเลตที่คัดแยกได้นี้แสดงความสามารถในการละลายโพแทสเซียมบนอาหารแข็ง Aleksandrov ที่มีองค์ประกอบของแร่เฟลด์สปาร์ ด้วยการแสดงโซนสีเหลืองที่เกิดจากการละลายโพแทสเซียมรอบ ๆ โคลโลนีของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยไอโซเลต K-S1043, K-S51054 และ K-S1051 แสดงอัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคลโลนีมากที่สุด ซึ่งคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Parmar และคณะ (2013) ที่ทำการคัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจากดินบริเวณรากต้นข้าวสาเลียบอาหารแข็ง Aleksandrov ที่มีองค์ประกอบของแร่ไมก้า หรือในงานวิจัยของ Chen และคณะ (2020) ที่คัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม *B. aryabhatai* SK1-7 จากรากต้นพอลาร์บนอาหารที่มีองค์ประกอบของแร่เฟลด์สปาร์ และได้ทดสอบการใช้แบคทีเรีย *B. aryabhatai* SK1-7 กับการเจริญเติบโตของต้นพอลาร์ พบว่าการใช้แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมลงในดินมีส่วนช่วยทำให้ต้นพอลาร์มีการเจริญเติบโตที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการใส่แบคทีเรียละลายโพแทสเซียม จากงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่าแบคทีเรีย *B. bataviensis* K-S1043 ที่คัดแยกจากดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลังมีประสิทธิภาพในการละลายแร่เฟลด์สปาร์ที่อยู่ในอาหารแข็ง ดังนั้นการนำ *B. bataviensis* K-S1043 ไปใช้ร่วมกับการปลูกพืชในอนาคตก็อาจมีส่วนช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ในประเทศไทยกากมันสำปะหลังถือเป็นวัสดุทางการเกษตรที่ถูกนำมาแปรรูปให้เกิดประโยชน์ค่อนข้างน้อย เน้นการส่งออกกากมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการแปรรูป สังเกตได้จากงานวิจัยที่นำกากมันสำปะหลังมาแปรรูปที่มีการตีพิมพ์ในประเทศไทยมีอยู่น้อย ในต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศไนจีเรีย อินเดีย และแอฟริกา ที่มีการเพาะปลูกมันสำปะหลังเป็นจำนวนมาก จำเป็นต้องมีวิธีในการจัดการกับวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปมันสำปะหลัง หรือแม้กระทั่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มาจาก การเพาะปลูกมันสำปะหลัง ในต่างประเทศมักแปรรูปกากมันสำปะหลัง และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เป็นปุ๋ยหมัก โดยใช้จุลินทรีย์ในการย่อยคาร์โบไฮเดรต ลิกโนเซลลูโลส

หรือสารประกอบอื่น ๆ ให้กลายเป็นสารประกอบที่มีปริมาณโปรตีนสูง เพื่อเป็นการลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้งที่อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเป็นเพิ่มมูลค่าให้กับกากมันสำปะหลัง เนื่องจากจุลินทรีย์มีข้อดี คือ มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็ว สามารถควบคุม หรือบังคับให้มีการแสดงออกตามวัตถุประสงค์ของงานได้ง่ายด้วยการปรับสภาวะในการเลี้ยง และสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสารตั้งต้นที่เป็นของแข็ง หรือของเหลว เป็นต้น (Ubalua, 2007) ในงานวิจัยของ Chithra และคณะ (2013) มีการศึกษาการแปรรูปกากมันสำปะหลัง ใบมันสำปะหลัง และสารเติมแต่งอื่น ๆ ที่มีราคาถูกแต่มีปริมาณธาตุอาหารสูงร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ และไส้เดือนเพื่อผลิตปุ๋ยหมัก พบว่าปุ๋ยหมักที่ผลิตได้มีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็กร้อยละ 1.32, 3.82, 0.4, 2.18, 0.96, 1.11 0.08 ปริมาณทองแดง และแมงกานีส 11.23 และ 89.93 ppm ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณมากกว่ากากมันสำปะหลัง 3.5, 49, 7, 3.25, 8.1, 185, 100, 2.5 และ 12 เท่าตามลำดับ นอกจากนี้งานวิจัยของ Kamolmanit และคณะ (2006) ทดลองผลิตปุ๋ยหมักจากกากมันสำปะหลัง และมูลหมู โดยใช้จุลินทรีย์ พ.ด.1 เป็นตัวย่อยวัตถุดิบในกองปุ๋ยหมัก และทดสอบปุ๋ยหมักที่ผลิตได้กับการปลูกผักบุ้ง ผักกาดขาว และคะน้า ในโรงเรือน พบว่าปุ๋ยหมักจากกากมันสำปะหลัง และมูลหมูที่ผลิตได้มีปริมาณธาตุอาหารหลักค่อนข้างสูง โดยมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเท่ากับร้อยละ 2.11, 2.56 และ 1.79 ตามลำดับ ปุ๋ยที่ผลิตได้นั้นช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้ง ผักกาดขาว และคะน้า ส่งผลให้พืชทั้ง 3 ชนิด มีน้ำหนักหลังการเก็บเกี่ยวที่เพิ่มมากขึ้น เปรียบเทียบกับพืชที่ไม่มีการใช้ปุ๋ยหมัก

ในงานวิจัยนี้ทำการคัดแยกแบคทีเรียจากกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย ดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา และดินใต้ต้นโสนบริเวณโรงเรียนภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่าได้หัวเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 กลุ่ม 8 ชนิด ได้แก่ กลุ่มเชื้อที่ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลส *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 กลุ่มเชื้อที่ทำหน้าที่ย่อยแป้ง *B. subtilis* A-CV1031 และ *B. subtilis* A-S51041 เชื้อที่ทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจน *B. ginsengihumi* N-

BS1 เชื้อที่ทำหน้าที่ละลายฟอสเฟต *B. shackletonii* P-S1041 และเชื้อที่ทำหน้าที่ละลาย โปแทสเซียม *B. bataviensis* K-S1043 ซึ่งหัวเชื้อที่แบคทีเรียที่คัดแยกได้นี้มีประสิทธิภาพในการแปรสภาพกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย มูลวัว รำข้าว ผงหินฟอสเฟต และแร่ เพลต์สปาร์ให้เป็นปุ๋ยหมักที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติม โดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 โดยในการผลิตปุ๋ยหมักครั้งที่ 1 ในกล่องโฟม ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่ามีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เท่ากับร้อยละ 2.18, 0.95 และ 1.18 ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.75 สภาพการนำไฟฟ้าเท่ากับ 3.65 เดซิซีเมนส์ต่อเมตรต่อมาในการผลิตปุ๋ยหมักครั้งที่ 2 ณ แปลงทดลองทดลองไทยวา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา พบว่ามีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เท่ากับร้อยละ 2.02, 2.02 และ 1.82 ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.92 สภาพการนำไฟฟ้าเท่ากับ 2.81 เดซิซีเมนส์ต่อเมตรและการผลิตปุ๋ยหมักในครั้งสุดท้าย ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอสีคิ้ว จังหวัด นครราชสีมา พบว่ามีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแทสเซียม เท่ากับร้อยละ 1.77, 1.97 และ 1.75 ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.52 สภาพการนำไฟฟ้าเท่ากับ 2.81 เดซิซีเมนส์ต่อ เมตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าถึงแม้จะใช้วัสดุทางเกษตรในการหมักปุ๋ยเหมือนกัน แต่คุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมีของปุ๋ยที่ผลิตได้ในแต่ละครั้งแตกต่างกัน อาจมีผลมาจากปริมาณธาตุอาหาร ของวัสดุทางการเกษตรในตอนเริ่มต้นที่มีค่าแตกต่างกัน เช่น การรีดแป้งมันสำปะหลัง และได้กากมัน สำปะหลังออกมาในแต่ละครั้งอาจให้ปริมาณแป้ง เซลลูโลส ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โปแทสเซียมในปริมาณที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรชนิดอื่น ๆ ที่เป็นวัตถุดิบใน การผลิตปุ๋ย ดังนั้นหลังจากผ่านกระบวนการหมักแล้วคุณสมบัติของปุ๋ยหมักที่ได้ จึงมีปริมาณธาตุ อาหารที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้การใช้หัวเชื้อที่สามารถคัดแยกได้ในการหมักวัสดุเหลือทิ้งจาก อุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง พบว่าหัวเชื้อดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการแปรสภาพกากมัน สำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอื่น ๆ ให้เป็นปุ๋ยหมักที่ ผ่านมาตรฐานปุ๋ยหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ โอ และคณะ (2015) ที่ทำการหมักกากมัน สำปะหลังเป็นระยะเวลา 60 วัน โดยไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์เข้าไปช่วยในกระบวนการหมัก พบว่า

เมื่อหมักปุ๋ยเป็นระยะเวลา 60 วัน ปุ๋ยหมักที่ผลิตได้มีปริมาณไนโตรเจนที่สูง แต่มีปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมต่ำ อีกทั้งอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเกินกว่ามาตรฐานของปุ๋ย อินทรีย์ เช่นเดียวกับในงานวิจัยของ Champar-ngam และคณะ (2013) ที่ทำการทดลองคล้ายคลึง กัน แต่เมื่อหมักกากมันสำปะหลังเป็นระยะเวลา 60 วัน ปริมาณของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม อยู่ในเกณฑ์ที่ค่อนข้างต่ำ ถึงแม้ว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนจะผ่านเกณฑ์ มาตรฐานก็ตาม ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการหมักกากมันสำปะหลังร่วมกับการใช้วัสดุเหลือทิ้งทาง การเกษตรอื่น ๆ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหมัก โดยทำให้ปุ๋ยหมักที่ผลิตได้นั้นมีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แลโพแทสเซียมที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกากมันสำปะหลังเพียงอย่างเดียว ยิ่งไปกว่านั้นการใช้หัวเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมีส่วน ช่วยทำให้กระบวนการหมักปุ๋ยมีประสิทธิภาพ และหมักได้รวดเร็วขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ การปล่อยให้เกิดกระบวนการหมักตามธรรมชาติ อย่างในงานวิจัยของ Song และคณะ (2018) พบว่าเมื่อเติม จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมักลงไปทำให้กองปุ๋ยมีอุณหภูมิที่สูงมากถึง 70 องศาเซลเซียส แตกต่าง กับกองปุ๋ยที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์พบว่ามีอุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงระยะเวลา ที่เกิดการหมัก ซึ่งอุณหภูมิที่เกิดขึ้นภายในกองปุ๋ยสัมพันธ์กับกิจกรรมการย่อยของจุลินทรีย์ในกองปุ๋ย หมัก และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงอินทรีย์วัตถุอีกด้วย การเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไปกองปุ๋ยหมักทำให้ การย่อยวัสดุต่าง ๆ เกิดได้เร็วขึ้น มีประสิทธิภาพขึ้น และเปลี่ยนเป็นธาตุอาหารที่มีประโยชน์ต่อพืชได้ มากขึ้น (Xi และคณะ, 2012)

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

การคัดแยกแบคทีเรียจากกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย ดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลัง ณ แปลงทดลองไทยวา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา และดินใต้ต้นโนสโนบริเวณโรงเรียนภาคิวิชาพฤษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่าได้หวัเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 กลุ่ม 8 ชนิด ได้แก่ กลุ่มเชื้อที่ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลส *B. subtilis* TISTR 008, *B. subtilis* C-CV1033 และ *B. shackletonii* C-S1052 กลุ่มเชื้อที่ทำหน้าที่ย่อยแป้ง *B. subtilis* A-CV1031 และ *B. subtilis* A-S51041 เชื้อที่ทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจน *B.ginsengihumi* N-BS1 เชื้อที่ทำหน้าที่ละลายฟอสเฟต *B. shackletonii* P-S1041 และเชื้อที่ทำหน้าที่ละลายโพแทสเซียม *B. bataviensis* K-S1043 ซึ่งหวัเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้นี้มีประสิทธิภาพในการแปรสภาพกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย มูลวัว รำข้าว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์ ให้เป็นปุ๋ยหมักที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ในทุกครั้งถึงแม้จะมีการเพิ่มปริมาณการผลิตให้มากขึ้น แต่ปริมาณของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และคุณสมบัติทางเคมีหลังจากกระบวนการหมักปุ๋ยแล้วมีค่าแตกต่างกันขึ้นกับคุณสมบัติทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางชีวเคมีเริ่มต้นของวัสดุทางการเกษตรที่นำมาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักในแต่ละครั้ง

ในอนาคตหากจะนำกากมันสำปะหลัง กากตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสีย มูลวัว รำข้าว ผงหินฟอสเฟต และแร่เฟลด์สปาร์มาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักจึงควรตรวจคุณสมบัติทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพ และคุณสมบัติทางชีวเคมี ของวัตถุดิบแต่ละชนิดก่อนทุกครั้ง เพื่อใช้ในวิเคราะห์ และแปลผลของคุณสมบัติทางเคมี และคุณสมบัติทางชีวเคมีของปุ๋ยหมักที่ผลิตได้ในแต่ละครั้งว่ามีปริมาณมากหรือน้อยแตกต่างจากการผลิตปุ๋ยหมักครั้งอื่นอย่างไร นอกจากนี้ถ้าหากจะมีการเพิ่มปริมาณการผลิตควรจัดสรรพื้นที่ในการผลิตให้เหมาะสม เนื่องจากในการผลิตปุ๋ยหมัก ณ อำเภอชุมพวง และอำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา ทั้งสองครั้งทำบนพื้นดินที่มีการรองด้วยผ้าใบ หรือผ้าฟาง อยู่กลางแจ้งที่มีแดดจัด ซึ่งบริเวณโดยรอบมีเศษวัสดุทางการเกษตรอื่น ๆ เช่น ใบไม้ และใบมันสำปะหลัง เป็นต้น

ส่งผลให้ธาตุอาหารในปุ๋ยหมักที่ผลิตได้อาจไม่ได้มีผลมาจากวัสดุทางการเกษตรที่ใส่ลงไปเพียงอย่างเดียว แต่อาจมาจากวัสดุอื่น ๆ อีกด้วย ดังนั้นจึงควรมีสถานที่ในการผลิตปุ๋ย โดยควรเป็นพื้นที่ซีเมนต์ และหลังคาต้านบน เพื่อที่จะสามารถควบคุมอุณหภูมิของปุ๋ยได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากการผลิตปุ๋ยในพื้นที่กลางแจ้งมีการรบกวนจากแสงแดด และฝน ส่งผลให้อุณหภูมิ หรือความชื้นของปุ๋ยที่เกิดขึ้นมีปัจจัยมาจากสิ่งแวดล้อมร่วมด้วย และอาจรบกวนการทำงานของแบคทีเรียในกองปุ๋ยได้ การกลับกองปุ๋ยก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ควรให้ความสำคัญในกระบวนการหมักปุ๋ย เนื่องจากการกลับกองปุ๋ยช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับจุลินทรีย์ที่ทำงานอยู่ภายในกองปุ๋ย ดังนั้นถ้าหากมีการกลับกองปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพย่อมส่งผลให้จุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยทำงานได้ดีไปด้วย ในการผลิตปุ๋ย ณ อำเภอชุมพลวง จังหวัดนครราชสีมา มีการกลับกองปุ๋ยด้วยพลั่ว พบว่าใช้ระยะเวลาในการกลับกองปุ๋ยนาน และกลับได้ไม่ทั่วกองส่งผลให้มีวัสดุทางการเกษตรบางส่วนไม่ถูกหมักหลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้วยังพบวัสดุทางการเกษตรที่มีลักษณะเป็นชิ้นอยู่ ส่วนการผลิตปุ๋ย ณ อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา ใช้รถแทรกเตอร์ในการกลับกองปุ๋ยพบว่าการกลับกองปุ๋ยทำได้ดีขึ้น ใช้ระยะเวลาที่เร็วขึ้น แต่บริเวณด้านล่างของกองปุ๋ยไม่ถูกกลับขึ้นมา และวัสดุทางการเกษตรถูกอัดกันแน่นอยู่ทางด้านล่าง ซึ่งส่งผลต่อความชื้นของกองปุ๋ยทำให้กองปุ๋ยมีความชื้นมากขึ้นอีกด้วย ดังนั้นจึงควรมีระบบสายพาน หรือระบบกวนด้านล่างกองปุ๋ย เพื่อช่วยให้การกลับกองเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ และจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยสามารถย่อยวัตถุดิบในกองปุ๋ยได้ทั้งหมด

บรรณานุกรม

- Agnew, J. and J. Leonard (2003). "The physical properties of compost." Compost Science & Utilization **11**(3): 238-264.
- Barraquio, W. L., E. M. Segubre, M. A. S. Gonzalez, S. C. Verma, E. K. James, J. K. Ladha and A. K. Tripathi (2000). "Diazotrophic enterobacteria: What is their role in the rhizosphere of rice." The quest for nitrogen fixation in rice: 93-118.
- Bayer, E. A., Y. Shoham and R. Lamed (2000). "The cellulosome—an exocellular organelle for degrading plant cell wall polysaccharides." Glycomicrobiology. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY: 387-439.
- Behera, B., H. Yadav, S. Singh, R. Mishra, B. Sethi, S. Dutta and H. Thatoi (2017). "Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of *Serratia* sp. isolated from mangrove soil of Mahanadi river delta, Odisha, India." Journal of Genetic Engineering and Biotechnology **15**(1): 169-178.
- Calvo-Garrido, C., J. Roudet, N. Aveline, L. Davidou, S. Dupin and M. Fermaud (2019). "Microbial antagonism toward *Botrytis* bunch rot of grapes in multiple field tests using one *Bacillus ginsengihumi* strain and formulated biological control products." Frontiers in plant science **10**: 105.
- Champar-ngam, N., C. B. IWAI, M. Ta-oun and S. Seripong (2013). "The Change of Phosphorus Form in Vermicompost Using Cassava Pulp." Inter. J. Environ. and Rural Development **4**(1): 81-87.
- Chen, Y., J. Ye and Q. Kong (2020). "Potassium-solubilizing activity of *Bacillus aryabhatai* SK1-7 and its growth-promoting effect on *Populus alba* L." Forests **11**(12): 1348.
- Chithra, S., K. S. John and J. Sreekumar (2016). "Low cost traditional cassava starch factory solid waste (Thippi) composting: A possible strategy for organic nutrient management and economic security for tribal farmers."
- Chithra, S., K. Susan John and M. Manikantan Nair (2013). "Thippi compost: a possible avenue for cassava starch factory solid waste management."
- Chung, H., M. Park, M. Madhaiyan, S. Seshadri, J. Song, H. Cho and T. Sa (2005). "Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of

- crop plants of Korea." Soil Biology and Biochemistry **37**(10): 1970-1974.
- Compant, S., C. Clément and A. Sessitsch (2010). "Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization." Soil Biology and Biochemistry **42**(5): 669-678.
- Dalai, R. (1977). "Soil organic phosphorus." Advances in agronomy **29**: 83-117.
- Dawwam, G., A. Elbeltagy, H. Emara, I. Abbas and M. Hassan (2013). "Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant." Annals of Agricultural Sciences **58**(2): 195-201.
- Deeprasert, S., S. Boonmunma, W. Boottongmol, B. Chinchodwong and V. Loha (2012). "Utilization of cassava soild waste for sugar production." Thaksin University Journal **15**(3): 39-46.
- Etesami, H., S. Emami and H. A. Alikhani (2017). "Potassium solubilizing bacteria (KSB):: Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects A review." Journal of soil science and plant nutrition **17**(4): 897-911.
- Fricke, K., H. Santen and R. Wallmann (2005). "Comparison of selected aerobic and anaerobic procedures for MSW treatment." Waste management **25**(8): 799-810.
- Glick, B. R. (2012). "Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications." Scientifica **2012**.
- Guo, R., G. Li, T. Jiang, F. Schuchardt, T. Chen, Y. Zhao and Y. Shen (2012). "Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost." Bioresource technology **112**: 171-178.
- Gupta, P., K. Samant and A. Sahu (2012). "Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential." International journal of microbiology **2012**.
- Hillocks, R. J., J. Thresh and A. Bellotti (2002). Cassava: biology, production and utilization, Cabi.
- Husain, Q. and M. F. Ullah (2019). "Biocatalysis." Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007: 978-973>.
- Insam, H. and M. De Bertoldi (2007). Microbiology of the composting process. Waste management series, Elsevier. **8**: 25-48.

- Irfan, M., A. Safdar, Q. Syed and M. Nadeem (2012). "Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production and activity." Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi **37**(3).
- Islam, M. R., T. Sultana, M. M. Joe, W. Yim, J. C. Cho and T. Sa (2013). "Nitrogen-fixing bacteria with multiple plant growth-promoting activities enhance growth of tomato and red pepper." Journal of basic microbiology **53**(12): 1004-1015.
- Itkina, D. and A. Suleimanova (2020). Phytate-hydrolyzing rhizobacteria: abiotic stress tolerance and antimicrobial activity. E3S Web of Conferences, EDP Sciences.
- Jomsueb, S., M. Rodprapakorn and W. Sanpamongkolchai (2013). Characterization and production in bioreactor of carboxymethylcellulase from Thermobifida fusca PA1-1. Proceedings of the 51st Kasetsart University Annual Conference, Bangkok, Thailand, 5-7 February 2013, Kasetsart University.
- Kamolmanit, N. and A. Reungsang (2006). "EFFECT OF CASSAVA PULP AND SWINE MANURE COMPOST ON GROWING PLANTS IN GREENHOUSE." Journal of Water and Environment Technology **4**(1): 9-32.
- Kaur, K., K. K. Kapoor and A. P. Gupta (2005). "Impact of organic manures with and without mineral fertilizers on soil chemical and biological properties under tropical conditions." Journal of Plant Nutrition and Soil Science **168**(1): 117-122.
- Kaur, M. and S. Arora (2012). "Isolation and screening of cellulose degrading bacteria in kitchen waste and detecting their degrading potential." IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering **1**(2): 33-35.
- Kertesz, M. A. and M. Thai (2018). "Compost bacteria and fungi that influence growth and development of Agaricus bisporus and other commercial mushrooms." Applied microbiology and biotechnology **102**(4): 1639-1650.
- Kumar, M., Y.-L. Ou and J.-G. Lin (2010). "Co-composting of green waste and food waste at low C/N ratio." Waste management **30**(4): 602-609.
- Kumar, P. and T. Satyanarayana (2009). "Microbial glucoamylases: characteristics and applications." Critical reviews in biotechnology **29**(3): 225-255.
- Kumar, S. and S. Chakravarty (2018). Amylases. Enzymes in human and animal nutrition, Elsevier: 163-180.

- Lacey, J. (1997). "Actinomycetes in compost." Annals of agricultural and environmental medicine **4**(1).
- Landrot, S., C. Chongsuphanpong and C. Armartmontree "การประเมินสมบัติตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์กรมวิชาการเกษตรและการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยอินทรีย์ที่ผลิตจากลีโอนาร์ไดต์ Property Assessment Complying with the Organic Fertilizer Standard of Department of Agriculture and Plant Nutrient Release of Leonardite-based Organic Fertilizers." Journal of Agriculture **37**(2): 179-191.
- Lee, Y. (2016). "Various microorganisms' roles in composting: A review." APEC Youth Scientist Journal **8**(1): 11-15.
- Li, S., Y. Cui, Y. Zhou, Z. Luo, J. Liu and M. Zhao (2017). "The industrial applications of cassava: current status, opportunities and prospects." Journal of the Science of Food and Agriculture **97**(8): 2282-2290.
- Lin, Q.-M., Z.-H. Rao, Y.-X. Sun, J. Yao and L.-J. Xing (2002). "Identification and practical application of silicate-dissolving bacteria." Agricultural Sciences in China **1**(1): 81-85.
- Liu, Z., Y. C. Li, S. Zhang, Y. Fu, X. Fan, J. S. Patel and M. Zhang (2015). "Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils." Applied Soil Ecology **96**: 217-224.
- Machado, I., J. A. Teixeira and S. Rodríguez-Couto (2013). "Semi-solid-state fermentation: a promising alternative for neomycin production by the actinomycete *Streptomyces fradiae*." Journal of biotechnology **165**(3-4): 195-200.
- Maki, M., K. T. Leung and W. Qin (2009). "The prospects of cellulase-producing bacteria for the bioconversion of lignocellulosic biomass." International journal of biological sciences **5**(5): 500.
- Mehrabadi, M. and A. R. Bandani (2009). "Assessing of α -amylase activity of midgut in wheat bug *Eurygaster Maura*." American Journal of Applied Sciences **6**(3): 478.
- Mengqi, Z., A. Shi, M. Ajmal, L. Ye and M. Awais (2021). "Comprehensive review on agricultural waste utilization and high-temperature fermentation and composting." Biomass Conversion and Biorefinery: 1-24.
- Mishra, S. and N. Behera (2008). "Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil receiving kitchen wastes." African journal of Biotechnology **7**(18).

- Nautiyal, C. S. (1999). "An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms." FEMS Microbiology Letters **170**(1): 265-270.
- Okogbenin, E., T. L. Setter, M. Ferguson, R. Mutegi, H. Ceballos, B. Olasanmi and M. Fregene (2013). "Phenotypic approaches to drought in cassava." Frontiers in physiology **4**: 93.
- Oo, A., C. Iwai and P. Saenjan (2015). "Soil properties and maize growth in saline and nonsaline soils using cassava-industrial waste compost and vermicompost with or without earthworms." Land Degradation & Development **26**(3): 300-310.
- Pandey, A. (1992). "Recent process developments in solid-state fermentation." Process biochemistry **27**(2): 109-117.
- Park, M., C. Kim, J. Yang, H. Lee, W. Shin, S. Kim and T. Sa (2005). "Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea." Microbiological Research **160**(2): 127-133.
- Parmar, P. and S. Sindhu (2013). "Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions." J Microbiol Res **3**(1): 25-31.
- Rodríguez, H. and R. Fraga (1999). "Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion." Biotechnology advances **17**(4-5): 319-339.
- Saleh, F., A. Hussain, T. Younis, S. Ali, M. Rashid, A. Ali, G. Mustafa, F. Jabeen, A. A. Al-Surhane and M. M. Alnoman (2020). "Comparative growth potential of thermophilic amylolytic Bacillus sp. on unconventional media food wastes and its industrial application." Saudi Journal of Biological Sciences **27**(12): 3499-3504.
- Sánchez, Ó. J., D. A. Ospina and S. Montoya (2017). "Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process." Waste management **69**: 136-153.
- Silaban, S., D. B. Marika and M. Simorangkir (2020). Isolation and characterization of amylase-producing amylolytic bacteria from rice soil samples. Journal of Physics: Conference Series, IOP Publishing.
- Singh, S., D. K. Jaiswal, N. Sivakumar and J. P. Verma (2019). "Developing efficient

- thermophilic cellulose degrading consortium for glucose production from different agro-residues." Frontiers in Energy Research **7**: 61.
- Singh, S., V. S. Moholkar and A. Goyal (2013). "Isolation, identification, and characterization of a cellulolytic *Bacillus amyloliquefaciens* strain SS35 from rhinoceros dung." International Scholarly Research Notices **2013**.
- Sjofjan, O. and T. Ardyati (2011). "Extracellular amylase activity of amylolytic bacteria isolated from quail's (*Coturnix japonica*) intestinal tract in corn flour medium." International Journal of Poultry Science **10**(5): 411-415.
- Song, C., Y. Zhang, X. Xia, H. Qi, M. Li, H. Pan and B. Xi (2018). "Effect of inoculation with a microbial consortium that degrades organic acids on the composting efficiency of food waste." Microbial biotechnology **11**(6): 1124-1136.
- Souza, R. d., A. Ambrosini and L. M. Passaglia (2015). "Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils." Genetics and molecular biology **38**: 401-419.
- Sparks, D. and P. Huang (1985). "Physical chemistry of soil potassium." Potassium in agriculture: 201-276.
- Sundberg, C. (2005). Improving compost process efficiency by controlling aeration, temperature and pH.
- Syamala, C., S. J. Kuzhivilayil, M. M. Nair and J. Sreekumar (2017). "Management of cassava starch factory solid waste (thippi) through composting to a nutrient-rich organic manure." Communications in Soil Science and Plant Analysis **48**(6): 595-607.
- Tiwari, S., R. Srivastava, C. Singh, K. Shukla, R. Singh, P. Singh, R. Singh, N. Singh and R. Sharma (2015). "Amylases: an overview with special reference to alpha amylase." J Global Biosci **4**(1): 1886-1901.
- Tweib, S. A., R. Rahman and M. S. Kalil (2011). A literature review on the Composting. International Conference on Environment and Industrial Innovation IPCBEE.
- Ubalua, A. (2007). "Cassava wastes: treatment options and value addition alternatives." African journal of biotechnology **6**(18): 2065-2073.
- Uchida, R. (2000). "Essential nutrients for plant growth: nutrient functions and deficiency symptoms." Plant nutrient management in Hawaii's soils **4**: 31-55.
- Vadakattu, G. and J. Paterson (2006). "Free-living bacteria lift soil nitrogen supply."

Farming Ahead **169**: 40.

Vaidya, S. and P. Rathore (2015). Isolation, screening and characterization of amylase producing bacteria from soil of potato dump sites from different regions of madhya pradesh. Conference Paper.

Xi, B.-D., X.-S. He, Z.-M. Wei, Y.-H. Jiang, M.-X. Li, D. Li, Y. Li and Q.-L. Dang (2012). "Effect of inoculation methods on the composting efficiency of municipal solid wastes." Chemosphere **88**(6): 744-750.

Xiao, Z., R. Storms and A. Tsang (2004). "Microplate-based filter paper assay to measure total cellulase activity." Biotechnology and bioengineering **88**(7): 832-837.

Yu, X., X. Liu, T. H. Zhu, G. H. Liu and C. Mao (2011). "Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization." Biology and Fertility of Soils **47**(4): 437-446.

Zavala, M. A. L. and N. Funamizu (2005). "Effect of moisture content on the composting process in a biotoilet system." Compost science & utilization **13**(3): 208-216.

Zhang, M., L. Xie, Z. Yin, S. K. Khanal and Q. Zhou (2016). "Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: Current status and opportunities." Bioresource technology **215**: 50-62.



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ CMC (Kaur และคณะ, 2012)

แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)	0.3 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.3 กรัม
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.0 กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	1.0 กรัม
พอลิเปปโตน (polypeptone)	2.0 กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	1.0 กรัม
แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3)	4.4 กรัม
คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC)	10 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้เท่ากับ 7 ด้วย NaOH ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และปรับปริมาตรอาหารให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร สำหรับอาหารแข็งให้เติมวุ้น 15 กรัม ต่อลิตร ลงในอาหาร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นองค์ประกอบ (Vaidya และคณะ, 2015)

ยีสต์สกัด (Yeast extract)	2.0 กรัม
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.3 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.5 กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.1 กรัม
เปปโตน (Peptone)	5.0 กรัม

แป้งมันสำปะหลัง 10.0 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้เท่ากับ 7 ด้วย NaOH ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และปรับปริมาตรอาหารให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร สำหรับอาหารแข็งให้เติมวุ้น 15 กรัม ต่อลิตร ลงในอาหาร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Burk's nitrogen free (Park และคณะ, 2005)

กลูโคส (glucose)	10	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.41	กรัม
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.52	กรัม
โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)	0.05	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2)	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.1	กรัม
เฟอร์ริกซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.005	กรัม
โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.0025	กรัม

ละลายส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Burk's nitrogen free ทั้งหมดแล้วปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.0 ± 0.1 ด้วย 1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับปริมาตร และนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya (PVK) (Nautiyal, 1999)

กลูโคส (glucose)	10	กรัม
แคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)	5	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	0.5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	0.2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.1	กรัม

โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.2	กรัม
สารสกัดยีสต์ (yeast extract)	0.5	กรัม
แมงกานีสซัลเฟตมอนอไฮเดรต ($MnSO_4 \cdot H_2O$)	0.002	กรัม
เฟอร์ริกซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.002	กรัม

ปรับปริมาตรอาหารให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร สำหรับอาหารแข็งให้เติมวุ้น 15 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Aleksandrov (Parmar และคณะ, 2013)

กลูโคส (glucose)	5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.1	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)	0.1	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$)	0.006	กรัม
แคลเซียมฟอสเฟต (Ca_3PO_4)	3	กรัม
แร่เฟลด์สปาร์	3	กรัม
สารละลายบรอมอไทมอลบลู (Bromthymol blue solution)	5	มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Aleksandrov แล้วจึงนำมาผสมกับแร่เฟลด์สปาร์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 3 ครั้ง ต่อมานำมาปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ด้วย 1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับปริมาตร และเติมสารละลายบรอมอไทมอลบลู สุดท้ายจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ข

มาตรฐานปุ๋ย

(Landrot และคณะ, 2021)

หน้า ๔

เล่ม ๑๓๑ ตอนพิเศษ ๒๙ ง

ราชกิจจานุเบกษา

๑๒ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๗

ประกาศกรมวิชาการเกษตร

เรื่อง กำหนดเกณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์

พ.ศ. ๒๕๕๗

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๓๓/๒ แห่งพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. ๒๕๑๘ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๕๐ อันเป็นกฎหมายที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๓ มาตรา ๔๑ มาตรา ๔๓ และมาตรา ๔๕ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย บัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย อธิบดีกรมวิชาการเกษตรโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการปุ๋ย จึงออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ประกาศนี้เรียกว่า “ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง กำหนดเกณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. ๒๕๕๗”

ข้อ ๒ ประกาศนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษา เป็นต้นไป

ข้อ ๓ กำหนดลักษณะเกณฑ์ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการควบคุมคุณภาพ ดังต่อไปนี้

(๑) กรณีไม่เป็นปุ๋ยอินทรีย์เหลว

(ก) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๑.๐ โดยน้ำหนัก ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total P_2O_5) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๕ โดยน้ำหนัก และโพแทสเซียมทั้งหมด (Total K_2O) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๕ โดยน้ำหนัก หรือมีปริมาณธาตุอาหารหลักรวมกันไม่ต่ำกว่าร้อยละ ๒.๐ โดยน้ำหนัก

(ข) อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N Ratio) ไม่เกิน ๒๐ : ๑

(ค) ความชื้นไม่เกินร้อยละ ๓๐ โดยน้ำหนัก

(๒) กรณีเป็นปุ๋ยอินทรีย์เหลว

(ก) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๕ โดยน้ำหนัก ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total P_2O_5) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๕ โดยน้ำหนัก และโพแทสเซียมทั้งหมด (Total K_2O) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๕ โดยน้ำหนัก หรือมีปริมาณธาตุอาหารหลักรวมกันไม่ต่ำกว่าร้อยละ ๑.๕ โดยน้ำหนัก

(ข) อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N Ratio) ไม่เกิน ๒๐ : ๑

ประกาศ ณ วันที่ ๒๔ มกราคม พ.ศ. ๒๕๕๗

ดำรงค์ จิระสุทัศน์

อธิบดีกรมวิชาการเกษตร

ประกาศกรมวิชาการเกษตร

เรื่อง มาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. ๒๕๕๘

ด้วยปัจจุบัน มีการส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงบำรุงดิน ตลอดจนมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาใช้ในการปรับปรุงบำรุงดิน เพิ่มคุณค่าของธาตุอาหารพืชทำให้มีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น จึงจำเป็นต้องมีข้อกำหนดมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อเป็นการรักษาผลประโยชน์ของเกษตรกร กรมวิชาการเกษตรจึงกำหนดมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ รายละเอียดกำหนดคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์

ลำดับที่	คุณลักษณะ	เกณฑ์กำหนด
๑	ขนาดของปุ๋ย	ไม่เกิน ๑๒.๕x๑๒.๕ มิลลิเมตร
๒	ปริมาณความชื้นและสิ่ง ที่ระเหยได้	ไม่เกิน ๓๕ เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
๓	ปริมาณหิน และกรวด	ขนาดใหญ่กว่า ๕ มิลลิเมตร ไม่เกิน ๕ เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
๔	พลาสติก แก้ว วัสดุมีคม และ โลหะอื่น ๆ	ต้องไม่มี
๕	ปริมาณอินทรีย์วัตถุ	ไม่น้อยกว่า ๓๐ เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
๖	ค่าความเป็นกรด ด่าง (pH)	๕.๕-๘.๕
๗	อัตราส่วนคาร์บอนต่อ ไนโตรเจน (C/N)	ไม่เกิน ๒๐ : ๑
๘	ค่าการนำไฟฟ้า(EC : Electrical Conductivity)	ไม่เกิน ๖ เดซิซีเมน/เมตร
๙	ปริมาณธาตุอาหารหลัก	-ไนโตรเจน (total N) ไม่น้อยกว่า ๑.๐ เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก -ฟอสฟอรัส (total P ₂ O ₅) ไม่น้อยกว่า ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

		-โพแทสเซียม (total K ₂ O) ไม่น้อยกว่า ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
๑๐	การย่อยสลายที่สมบูรณ์	มากกว่า ๘๐ เปอร์เซ็นต์
๑๑	สารหนู (Arsenic) แคดเมียม (Cadmium) โครเมียม (Chromium) ทองแดง (Copper) ตะกั่ว (Lead) ปรอท (Mercury)	ไม่เกิน ๕๐ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่เกิน ๕ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่เกิน ๓๐๐ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่เกิน ๕๐๐ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่เกิน ๕๐๐ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ไม่เกิน ๒ มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ข้อ ๒ มาตรฐานฉลากและบรรจุภัณฑ์ของปุ๋ยอินทรีย์

ต้องมีรายละเอียดบนภาชนะบรรจุดังนี้

๒.๑ ชื่อการค้าและเครื่องหมายการค้า

๒.๒ ชนิดของผลิตภัณฑ์

๒.๓ ปริมาณบรรจุเป็นน้ำหนักสุทธิ (ในระบบเมตริก)

๒.๔ ชื่อผู้ผลิตและสถานที่ผลิต

๒.๕ ระบุวัสดุที่ใช้ผลิตและอัตราส่วนที่ใช้

๒.๖ ระบุวันที่ผลิตและวันที่หมดอายุ

๒.๗ ระบุวิธีการใช้ การเก็บรักษา และข้อควรระวัง

เพื่อให้เป็นไปตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. ๒๕๑๘ มาตรา ๕๕ ให้ผู้ผลิตปุ๋ยอินทรีย์เพื่อการค้าต้องแจ้งกรมวิชาการเกษตรในส่วนที่เกี่ยวข้องกับปุ๋ยอินทรีย์ โดยแสดงชื่อปุ๋ยอินทรีย์ เครื่องหมายการค้า สถานที่ผลิต สถานที่เก็บ สถานที่ขาย และสถานที่ทำการ

การแจ้งดังกล่าวให้แจ้งได้ที่ผู้ว่าราชการจังหวัด เกษตรจังหวัด และหน่วยงานของกรมวิชาการเกษตร

ประกาศ ณ วันที่ ๒ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๘

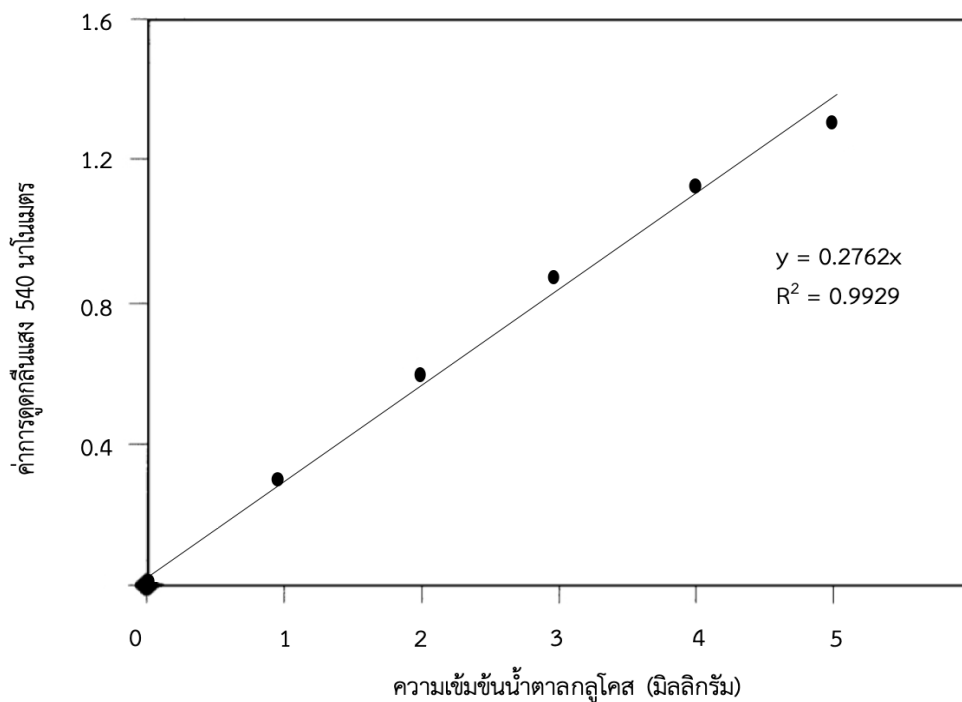
ฉกรรจ์ แสงรักษาวงศ์

อธิบดีกรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก ค

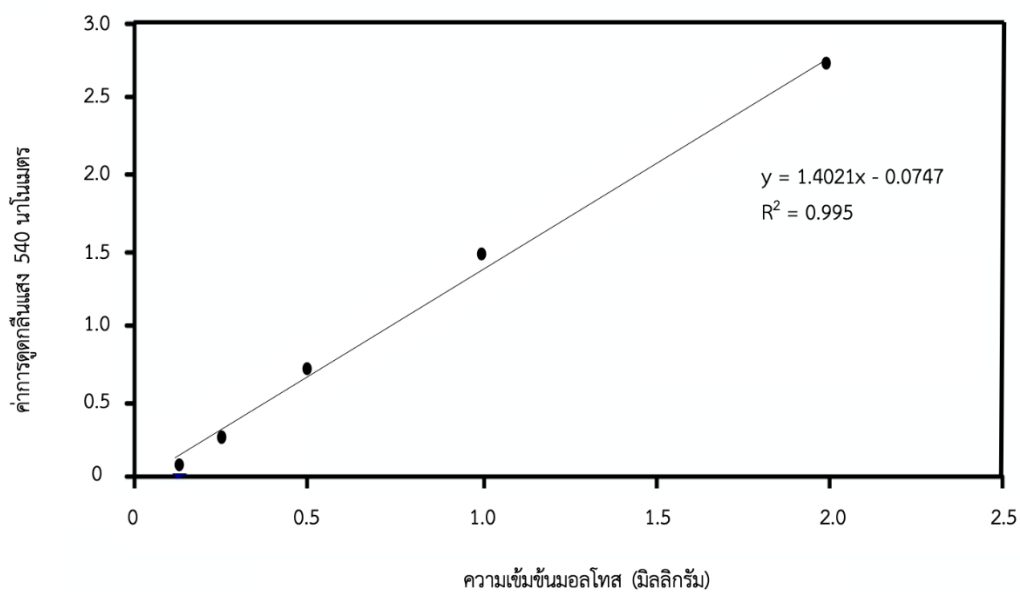
กราฟสารละลายมาตรฐาน

กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (สำหรับทดสอบเอนไซม์เซลลูเลส) (Xiao และคณะ, 2004)

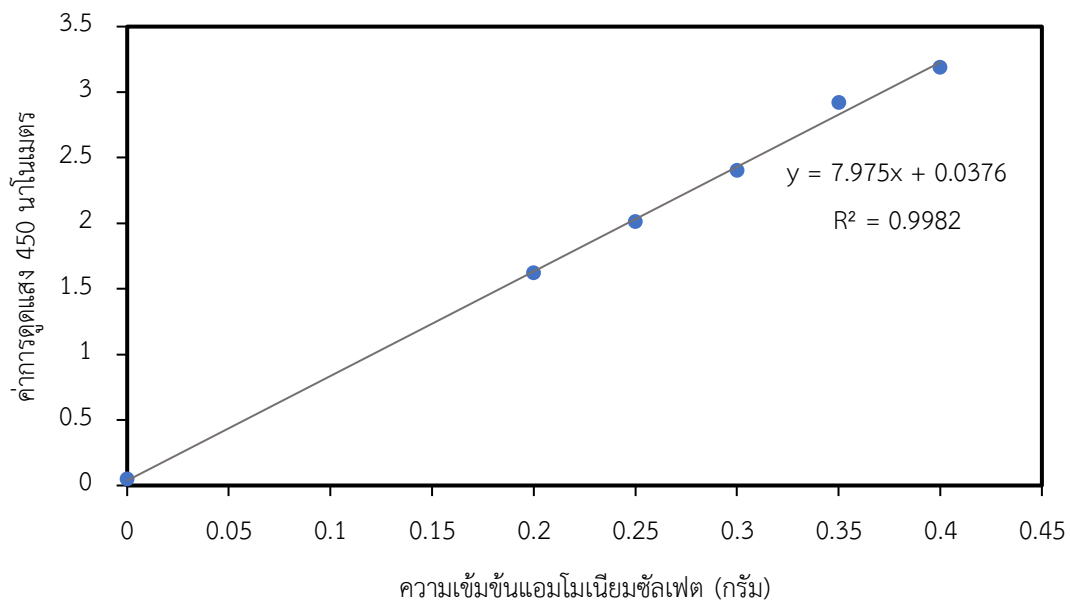


กราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส (สำหรับทดสอบเอนไซม์อะไมเลส) (Mehrabadi และคณะ, 2009)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กราฟมาตรฐานแอมโมเนียมซัลเฟต (สำหรับทดสอบการผลิตแอมโมเนีย) (Islam และคณะ, 2013)



ภาคผนวก ง
การระบุชนิดแบคทีเรียที่คัดแยกได้

B. subtilis A-CV1031

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-CVF5X11R013

Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary ▾

How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title **Nucleotide Sequence**

RID [CVF5X11R013](#) Search expires on 07-14 02:26 am [Download All](#) ▾

Program BLASTN [Citation](#) ▾

Database nt [See details](#) ▾

Query ID lcl|Query_8925

Description None

Molecule type dna

Query Length 2391

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ⓘ

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity to E value to Query Coverage to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ▾ ⓘ

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis subsp. subtilis strain WXZS4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis subsp. subtilis	2028	3603	92%	0.0	98.12%	1298	OL468539.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis subsp. subtilis strain WXZP7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis subsp. subtilis	2025	3569	91%	0.0	98.04%	1307	OL468530.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis subsp. subtilis strain QSYW1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis subsp. subtilis	2025	3569	91%	0.0	98.04%	1307	OL468509.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis subsp. subtilis strain WXZP9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis subsp. subtilis	2023	3514	92%	0.0	98.04%	1299	OL468532.1

ลำดับนิวคลีโอไทด์

CAATTAGGAACGTCTATACTGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGG
CGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGG
GCTAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACT
TACAGATGGACCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGC
GTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGG
AGGACGACAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
TGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGG
TACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGA
TGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGA
GGAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAG

ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGT
GCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAG
GAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTG
ACAGTGGTGCATGGGTTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTTGGGGTTTAAGTCCCCGCAA
CGAGCGCACCCCTTGATTCTAGTTTGCCAGCATTAGTTTGGGCACCTCTAGTGAAGTCCCGCT
GACTGCCGGAAGACGTGCGAAATGACGTCCAATCATTATTGCCCCCTTAATTGAAACCCCT
TTTGTCTAGTTCCGGCGGCTGGCTCTAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTG
GTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGCCCCGGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATT
ACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGT
GGGATTGGCTTAACCTCGCGTTTTGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGT
CACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTT
AACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAG
GGGACGTCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTT
CGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTT
GCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCC
CCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTCCC
CACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCCTC
ACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATCCACTCTCCTCTTCTGCACTCAAGTCCCC
AGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGC
GAGCCCTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGC
ACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTTAGGTACCGTCAAAGGTACCGCCCTATTTGAAACGGTA
CTTTGTTCTCCCTACAACAGAGCTTACGATCCGAAAATCTTTCATCACTCACGCCGGCGTTGC
TCCGTCAGGACTTTCGTCATTTGCGAGATCCCTTACCTGCCTGCCTTCGTACGAGTCTGGACGT
GTTCTCAGTCCCAGTGGTGGGACCGGAATTCAAC

B. subtilis A-S51041

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : HC00293894
 Sample name : S51041_contig_1

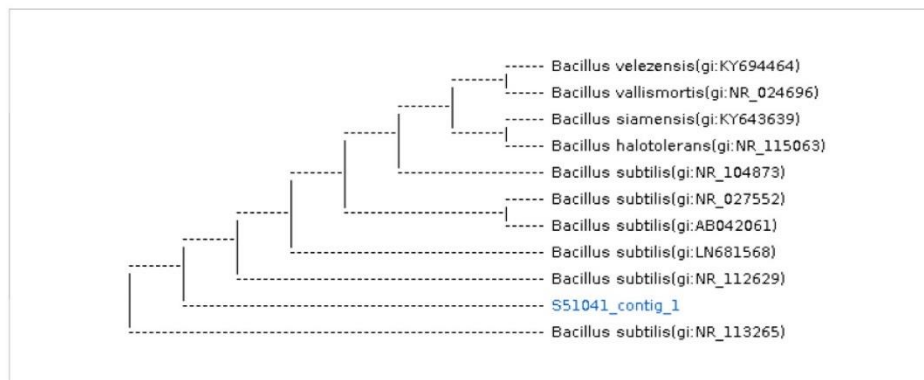
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
CP019663.1	Bacillus subtilis	4215385	30291	31790	0	2747	0.0	1496/1500	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus subtilis



Characterization

Bacilli cause an array of infections from ear infections to meningitis, and urinary tract infections to septicemia. Mostly they occur as secondary infections in immunodeficient hosts or otherwise compromised hosts. They may exacerbate previous infection by producing tissue-damaging toxins or metabolites that interfere with treatment.

Bacillus subtilis bacteria are non-pathogenic. They can contaminate food, however, they seldom result in food poisoning. They are used on plants as a fungicide. They are also used on agricultural seeds, such as vegetable and soybean seeds, as a fungicide. The bacteria, colonized on root systems, compete with disease causing fungal organisms. *Bacillus subtilis* use as a fungicide fortunately does not affect humans (EMBL EBI). Some strains of *Bacillus subtilis* cause

B. subtilis C-CV1033

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-CVFVZYT013

Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary ▾

How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title Nucleotide Sequence

RID CVFVZYT013 Search expires on 07-14 02:37 am Download All ▾

Program BLASTN Citation ▾

Database nt See details ▾

Query ID lcl|Query_30039

Description None

Molecule type dna

Query Length 2360

Other reports Distance tree of results MSA viewer ?

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity to

E value to

Query Coverage to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ?

select all 100 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis strain CR26 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis	2006	3991	98%	0.0	98.02%	1449	KR780430.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis strain WJ-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis	2006	3981	98%	0.0	98.02%	1453	JX673943.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus sp. NL1-3-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp. NL1-3-2	2004	3970	97%	0.0	98.10%	1428	KR999933.1
<input checked="" type="checkbox"/> Bacillus subtilis strain JK-B-06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus subtilis	2004	3979	98%	0.0	98.02%	1469	QM909094.1

ลำดับนิวคลีโอไทด์

CGGATCCGCGTCTATAATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGGC
GACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGC
TAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTA
CAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCAACGATGCGT
AGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATG
AAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTA
CCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG
GTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATG
TGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAAC TTGAGTGCAGAAGAGG
AGAGTGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAG
GCGACTCTCTGGTCTGTAAC T GACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT

ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTG
TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAAT
TGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA
CCGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCTCCTTCGGGGCAGAGTGACAG
TGGGTGCATGGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTGGGTTAAGGTCCCGCAACGAGCGC
ACCCTGATCTAGTTGCCAGCATTAGTGGGCACTCTAAGTCACTGCCAGTGACGACCCGGCAAGA
CGTTGGGCATTGACGTCCAAGTCCAATTCCAGAACTGTTAGTTCGGCGCTGGCTCTAAAGGTTA
CCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGA
ACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTG
CAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTACCC
TTTGTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCA
TCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAAC
TAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACA
ACCATGCACCACCTGTCACCTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGAT
GTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCG
GGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCAGCCGTACTIONCCCCAGGCGGAGTGCTTAATG
CGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGGCGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGG
ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGTTTTGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACC
AGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAA
TTCCACTCTCCTTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGG
GGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCCTTACGCCAATAATTCCCGGACAAC
GCTTGCCACCTACGTATTACCGCGCTGCTGGCACGTAGTTTAGCCGTGGGCTTTCTGGGTTAG
GTACCGTCAAGTACCCGCCCTATTCGAAACGGTACTTGTCTTCCCTACAACAGAGCTTTACGA
TCCGAAAACCTTTCATCACTCACGCCGGCGTTTGTGTCGTCAGACTTTCCGTCATTGCCGAGATC
CCTACTGCTGGCTCGTAGAGTCTGGTCGTGTTCTCAGTTCCATGTGATGGCCGAATTCAACTCC
T

B. shackletonii C-S1052

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : HC00301309
 Sample name : CCS1052_contig_1

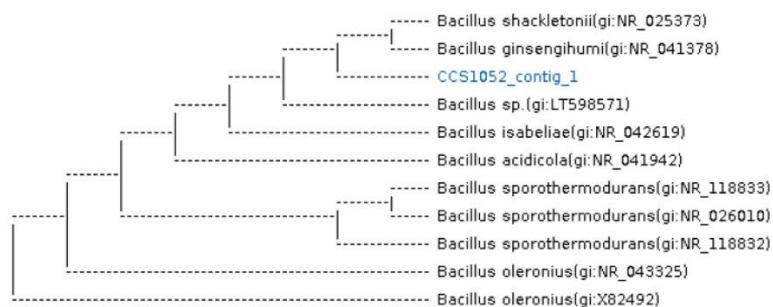
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_025373.1	Bacillus shackletonii	1503	1	1487	98	2603	0.0	1464/1491	98

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Bacillaceae	-	Bacillus shackletonii



Characterization

Bacilli cause an array of infections from ear infections to meningitis, and urinary tract infections to septicemia. Mostly they occur as secondary infections in immunodeficient hosts or otherwise compromised hosts. They may exacerbate previous infection by producing tissue-damaging toxins or metabolites that interfere with treatment.

Bacillus shackletonii, Cells are motile, round-ended rods (0.7?0.9× 2.5?4.5 μm) occurring singly. Gram-variable; Gram-positive reactions are only seen in cultures at 18 h or at temperatures below 30.

B. ginsengihumi N-BS1

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : HC00301309
 Sample name : NP1_contig_1

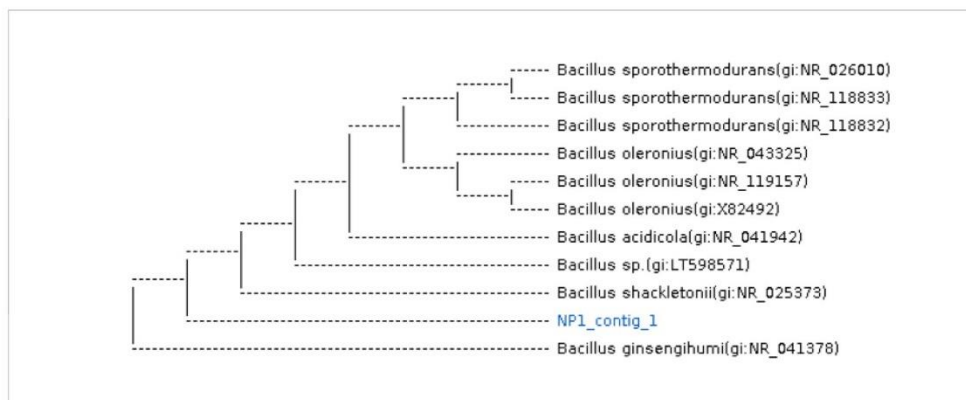
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_041378.1	Bacillus ginsengihumi	1499	1	1481	98	2730	0.0	1481/1482	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Bacillaceae	-	Bacillus ginsengihumi



Characterization

Bacilli cause an array of infections from ear infections to meningitis, and urinary tract infections to septicemia. Mostly they occur as secondary infections in immunodeficient hosts or otherwise compromised hosts. They may exacerbate previous infection by producing tissue-damaging toxins or metabolites that interfere with treatment.

Under investigation

B. shackletonii P-S1041

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : HC00301309
Sample name : PCS1041_contig_1

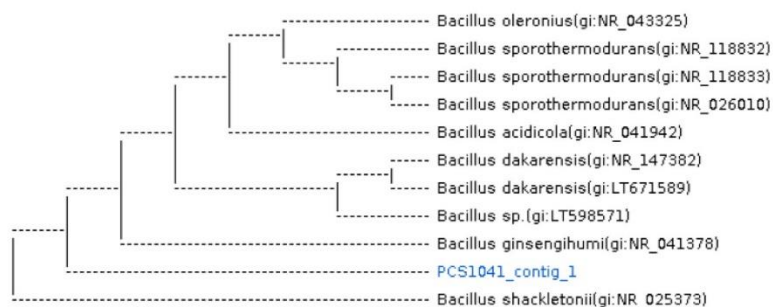
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_025373.1	Bacillus shackletonii	1503	1	1480	98	2721	0.0	1478/1481	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Bacillaceae	-	Bacillus shackletonii



Characterization

Bacilli cause an array of infections from ear infections to meningitis, and urinary tract infections to septicemia. Mostly they occur as secondary infections in immunodeficient hosts or otherwise compromised hosts. They may exacerbate previous infection by producing tissue-damaging toxins or metabolites that interfere with treatment.

Bacillus shackletonii, Cells are motile, round-ended rods (0.7?0.9× 2.5?4.5 μm) occurring singly. Gram-variable; Gram-positive reactions are only seen in cultures at 18 h or at temperatures below 30.

B. bataviensis K-S1043

Standard ID



16S rRNA service report

Order Number : HC00301309
Sample name : KCS1043-1_contig_1

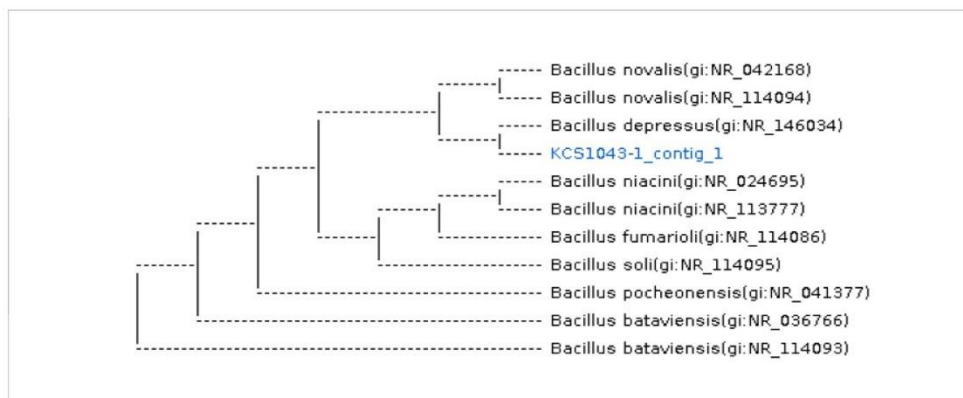
Information

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F	5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F	5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R	5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R	5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_036766.1	Bacillus bataviensis	1502	1	1477	98	2623	0.0	1459/1478	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Bacillaceae	-	Bacillus bataviensis



Characterization

Bacilli cause an array of infections from ear infections to meningitis, and urinary tract infections to septicemia. Mostly they occur as secondary infections in immunodeficient hosts or otherwise compromised hosts. They may exacerbate previous infection by producing tissue-damaging toxins or metabolites that interfere with treatment.

Bacillus bataviensis, Gram-positive or variable (at 24 h), facultatively anaerobic, motile, slightly tapered rods (0.7?1.2 mm in diameter) occurring singly, in pairs and in short chains. Endospores are mainly ellipsoidal but may be spherical, and lie centrally, paracentrally and occasionally subterminally, in slightly swollen sporangia.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	เมอญานุส บุตรคำโชติ
วัน เดือน ปี เกิด	5 มกราคม 2539
วุฒิการศึกษา	การศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Bachelor of Science in Genetics, Chulalongkorn University)
ที่อยู่ปัจจุบัน	97/246 หมู่1 มบ.ชื้อตรง รังสิต คลอง 3 ถนนรังสิต-นครนายก ต.บึงยี่โถ อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12130



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY