

การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อการผลิตปุ๋ยหมักจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน



นางสาวชนพิศ เรืองจรัส

ศูนย์วิทยพัทยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SELECTION OF MICROORGANISM FOR COMPOST PRODUCTION
FROM OIL PALM EMPTY-FRUIT- BUNCHES

Miss Chuanpit Ruangcharus



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อการผลิตปุ๋ยหมักจากทะเลลาย
ปาล์มน้ำมัน

โดย

นางสาวชวนพิศ เรืองจรัส

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพ็ญเขียว

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รองศาสตราจารย์ ดร. วรุดมิ จุฬาลักษณ์านุกูล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

รองคณบดีฝ่ายบริหารรักษาการแทน

.....
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. วิมลวรรณ พิมพ์พันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพ็ญเขียว)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรุดมิ จุฬาลักษณ์านุกูล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตต์สิน สีहनนท์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

ชวณพิศ เรืองจรัส : การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อการผลิตปุ๋ยหมักจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน (SELECTION OF MICROORGANISM FOR COMPOST PRODUCTION FROM OIL PALM EMPTY-FRUIT- BUNCHES) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. จิตรตรา เพ็ญเขียว, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. วรวิมล จุฬาลักษณ์านุกูล, 267 หน้า.

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางชีวภาพของปุ๋ยหมักที่ได้จากทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับแหล่งจุลินทรีย์เศษใบไม้ทับถมและปุ๋ยที่หมักเสร็จสิ้นจากแหล่งต่างๆ 9 แหล่ง พบว่าปุ๋ยหมักที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นของปุ๋ยหมักที่ถูกกลดลงต่ำที่สุด คือ ปุ๋ยหมักที่ใส่เศษใบมังคุดทับถม (14:1) และปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (18:1) ซึ่งถูกนำไปใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับแหล่งไนโตรเจนมูลไก่ และรำข้าว ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 โดยส่วนผลสมมีอัตราส่วนของทะเลลายปาล์มน้ำมันต่อแหล่งจุลินทรีย์ต่อแหล่งไนโตรเจนเป็น 8:1:1 ตามลำดับ บรรจุในกล่องโฟมขนาด 0.40 X 0.55 X 0.26 เมตร หลังจากหมักเป็นเวลา 35 วัน พบว่าอุณหภูมิของทุกกองปุ๋ยหมักสูงขึ้น 65-74 องศาเซลเซียส ใน 3 วันแรกของการหมักปุ๋ยซึ่งขึ้นอยู่กับแหล่งจุลินทรีย์และแหล่งไนโตรเจน ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ใส่มูลไก่ และใส่รำข้าวมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นของทุกกองปุ๋ยหมักถูกลดลงเป็น 24:1 ถึง 26:1 19:1 ถึง 26:1 และ 20:1 ถึง 23:1 ตามลำดับ สายพันธุ์จุลินทรีย์ (แบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีด) ที่เด่นและมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันที่คัดแยกได้และจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และเทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์ ประกอบด้วยแบคทีเรีย *Chryseobacterium* sp. *Stenotrophomonas maltophilia* *Stenotrophomonas* sp.1 *Staphylococcus sciuri* *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *Arthrobacter keyseri* *Bacillus pumilus* *Pseudomonas aeruginosa* *Stenotrophomonas* sp.2 *Rheinheimera* sp *Acinetobacter calcoaceticus* *Pseudomonas putida* *Aeromonas punctata* *Pseudomonas* sp. *Enterobacter pyrinus* และ *Acinetobacter* sp. แบคทีเรียที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยได้ทั้งโปรตีนและไขมัน แอกติโนมัยซีด 2 สายพันธุ์ประกอบด้วย *Streptomyces* sp. และ *Streptomyces thermocoprophilus* ซึ่งสามารถย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลสได้ นอกจากนี้รา 7 สายพันธุ์ประกอบด้วย *Geotrichum* sp. *Rhizopus* sp. *Cunninghamella* sp. *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 *Aspergillus* sp.2 และ *Aspergillus* sp.3 ซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยได้ทั้งโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสำคัญต่อการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน แหล่งจุลินทรีย์และแหล่งไนโตรเจนจากแหล่งต่างๆ มีผลต่อคุณภาพของปุ๋ยหมัก

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....ชวณพิศ เรืองจรัส.....
ปีการศึกษา.....2551.....ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....จิตรตรา เพ็ญเขียว.....
ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

4872264023: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEYWORD: COMPOST / PROTEOLYTIC/ LYPOLYTIC/ CELLULOLYTIC

CHUANPIT RUANGCHARUS: SELECTION OF MICROORGANISM FOR COMPOST PRODUCTION FROM OIL PALM EMPTY-FRUIT- BUNCHES. THESIS PRINCIPAL ADVISOR: ASST. PROF. JITTRA PIAPUKIEW, Ph.D., THESIS COADVISOR: ASSOC. PROF. WARAWUT CHULALAKSANANUKUL, Ph.D., 267 pp.

In this study, the chemical and biological properties of compost made from oil palm empty-fruit-bunches (EFB) supplemented with different inoculum sources from 9 sources of leaf litter and finished compost were determined. The initial C:N ratios of the compost piles were reduced to the lowest C:N ratio such as the compost supplemented with mangosteen leaf litter (14:1) and compost supplemented with compost from Thailand Institute of Scientific and Technological Research (18:1). Then two compost were used inoculums for study in the first and second of the chemical and biological properties of compost made from EFB supplemented with different nitrogen sources such as chicken manure and rice bran. Mixture were weighed in a 8:1:1 proportion (EFB: microbial inoculum: nitrogen source) and placed in foam boxes (0.40 X 0.55 X 0.26 m) for 35 days of composting. The temperature in compost piles rose to 65-74 °C in the first 3 days depending on the inoculum and nitrogen sources. The initial C:N ratios of compost without nitrogen sources, compost supplemented with chicken manure and rice bran were reduced to 24:1 to 26:1, 19:1 to 26:1 and 20:1 to 23:1 respectively. The predominant microbial strains (bacteria, actinomycetes and fungi) during composting process of EFB were isolated and identified using morphological, biochemical and molecular techniques. Their proteolytic, lipolytic and cellulolytic activities were also characterized. Bacterial strains included *Chryseobacterium* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Stenotrophomonas* sp.1, *Staphylococcus sciuri*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Arthrobacter keyseri*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas* sp.2, *Rheinheimera* sp, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas putida*, *Aeromonas punctata*, *Pseudomonas* sp., *Enterobacter pyrinus* and *Acinetobacter* sp. Most isolated bacterial strains showed both proteolytic and lipolytic activities. Two isolated actinomycetes including *Streptomyces thermocorphilus* and *Streptomyces* sp. were capable of protein, lipid and cellulose degradation. Moreover, 7 fungal strains including *Geotrichum* sp., *Rhizopus* sp., *Cunninghamella* sp., *Mucor* sp., *Aspergillus* sp.1, *Aspergillus* sp.2 and *Aspergillus* sp.3 were detected and showing proteolytic, lipolytic, and cellulolytic activities. This study indicates that these microorganisms play an important role in composting of EFB and different inoculum sources and nitrogen sources can affect the compost quality.

Field of study BIOTECHNOLOGY Student's signature...*Chuanpit Ruangcharus*
Academic year 2008 Principal advisor's signature...*Jitra Piapukiew*
Co-advisor's signature...*Warawut Chulalaknanukul*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากหลายฝ่าย ดังต่อไปนี้

กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตรตรา เพ็ญเขียว อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยจัดหาวัสดุอุปกรณ์สำหรับการทำปุ๋ยหมัก และให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นตลอดจนความช่วยเหลือต่าง ๆ จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และรองศาสตราจารย์ ดร. วรภูมิ จุฬาลักษณ์นกุล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง ที่กรุณามาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประภิตต์สิน สีहनนท์ ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

กราบขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย แก่งานวิจัยนี้

กราบขอบพระคุณ คณาจารย์ นักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่านที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

กราบขอบพระคุณบิดามารดา ตลอดจนครอบครัวของข้าพเจ้าที่สนับสนุน ช่วยเก็บตัวอย่าง และให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณนางสาวทศนา นิธิสกุลกาญจน์ และนางสาวสุนัดดา โยมญาติ ที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบคุณนายประเสริฐ พันธมาศ และนายอัศนัย อรรถพร ที่ช่วยเหลือในการทำปุ๋ยหมัก

และท้ายที่สุด ขอขอบคุณ เพื่อน พี่ น้อง และทุก ๆ ท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ณ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ปุ๋ยอินทรีย์ (organic fertilizers).....	3
2.2 ปุ๋ยหมัก (compost).....	3
2.3 การผลิตปุ๋ยหมัก.....	4
2.4 ระยะเวลาต่างๆของกระบวนการหมักปุ๋ย (The phases of the composting process).....	6
2.5 กิจกรรมที่เกิดขึ้นระหว่างการกองปุ๋ยหมัก.....	7
2.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก.....	8
2.7 หลักการพิจารณาปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์.....	20
2.8 มาตรฐานคุณภาพของปุ๋ยหมัก.....	20
2.9 ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก.....	21
2.10 ทะลายปาล์มน้ำมัน.....	24
2.11 การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก.....	25
2.12 เอกสารที่เกี่ยวข้อง.....	25
3 คู่มือ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย.....	29
3.1 คู่มือ.....	29
3.2 สารเคมี.....	30
3.3 เก็บตัวอย่างดินและปุ๋ยหมักเพื่อใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์.....	33

บทที่	หน้า
3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ย จากเศษทะลายปาล์มน้ำมัน.....	35
3.5 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการ หมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจน ต่างๆ ครั้งที่ 1.....	41
3.6 การคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่ เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักปุ๋ย.....	42
3.7 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการ หมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็น แหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2.....	46
3.8 การเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้.....	46
3.9 วิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	47
3.10 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการ หมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็น แหล่งไนโตรเจนต่างๆ.....	47
3.11 การศึกษาอนุพันธุศาสตร์เพื่อระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็น แหล่งไนโตรเจนต่างๆ.....	50
4 ผลการทดลอง.....	55
4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ย จากเศษทะลายปาล์มน้ำมัน.....	55
4.2 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการ หมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็น แหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1.....	71
4.3 การคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับ วัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1.....	89

บทที่	หน้า
4.4 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2.....	125
4.5 การคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2	144
4.6 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ.....	177
4.7 การศึกษาอนุพันธุศาสตร์เพื่อระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ.....	186
4.8 การศึกษาเปรียบเทียบของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2	193
5 วิจัยณ์ผลการทดลอง.....	196
5.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ.....	196
5.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ.....	204
6 สรุปผลการทดลอง.....	215
6.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ.....	215
6.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ.....	216
รายการอ้างอิง.....	220
ภาคผนวก ก.....	225
ภาคผนวก ข.....	231
ภาคผนวก ค.....	235
ภาคผนวก ง.....	254
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	267

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุอินทรีย์ชนิดต่างๆ..... 10
2.2	ปริมาณของสารประกอบที่มีอยู่ในส่วนของอินทรีย์สารของพืช..... 10
2.3	ความยากง่ายต่อการสลายตัวของสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ..... 12
2.4	ชนิดของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากกองปุ๋ยหมัก..... 19
2.5	ระดับอินทรีย์วัตถุที่ใช้เป็นมาตรฐาน..... 21
2.6	แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในอินทรีย์วัตถุระดับต่างๆ 23
2.7	แสดงสารประกอบอินทรีย์ในทะเลสาบปาล์มน้ำมัน 25
3.1	แสดงแหล่งที่มาของตัวอย่างดินและปุ๋ยหมักที่ใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์..... 33
3.2	สาร ความเข้มข้น และปริมาตรที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์..... 53
4.1	การเปรียบเทียบปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน..... 66
4.2	เปรียบเทียบปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน..... 84
4.3	แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ..... 90
4.4	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ..... 91
4.5	แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ..... 95
4.6	แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ..... 96

ตารางที่	หน้า	
4.7	แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	99
4.8	แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน.....	101
4.9	แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	102
4.10	แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ	104
4.11	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	105
4.12	แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	109
4.13	แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	110
4.14	แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ	113
4.15	แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ	115

ตารางที่	หน้า	
4.16	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน.....	116
4.17	แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	117
4.18	แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ	118
4.19	แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ	121
4.20	แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน.....	123
4.21	แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	124
4.22	แสดงปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน.....	133
4.23	แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	145
4.24	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	146

ตารางที่	หน้า	
4.25	แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	146
4.26	แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	149
4.27	แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบมากที่สุดบน อาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผัน แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	152
4.28	แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน.....	153
4.29	แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบบน อาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผัน แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	154
4.30	แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	156
4.31	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผัน แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	159
4.32	แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผัน แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	159
4.33	แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ ใส่ โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	160

ตารางที่	หน้า	
4.34	แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	163
4.35	แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ กัน เป็นระยะเวลา 7 ถึง 14 วัน.....	164
4.36	แสดงวันที่ตรวจพบแอคติโนมัยซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	165
4.37	แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจน ครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	167
4.38	แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ กัน เป็นระยะเวลา 5 วัน.....	168
4.39	แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	169
4.40	แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	170
4.41	แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ	173

ตารางที่	หน้า	
4.42	แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีตที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน.....	175
4.43	แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบน อาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ.....	176
4.44	แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของไอโซเลตแบคทีเรียที่ แยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็น แหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส	178
4.45	แสดงการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสที่ตำแหน่ง 16S rRNA gene ของแบคทีเรียที่แยกได้ที่มีความสามารถในการย่อยเซลลูโลส โปรตีน และไขมัน กับข้อมูลของชนิดแบคทีเรียที่มีอยู่ใน GenBank	189
4.46	แสดงไอโซเลตแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีตที่แยกได้ซึ่งมีความสามารถในการ ย่อยเซลลูโลส โปรตีน และไขมัน	192

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงกระบวนการหมักปุ๋ย.....	3
2.2	กระบวนการเกิดชีวมีล	4
2.3	ระยะต่างๆของกระบวนการหมักปุ๋ยและการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในกระบวนการหมักปุ๋ย.....	7
2.4	แสดงวัฏจักรคาร์บอน	11
2.5	อินทรีย์วัตถุที่แทรกเข้าไปอยู่ในดินเหนียวและดินทราย.....	22
3.1	แสดงลักษณะของตัวอย่างดินและปุ๋ยหมักที่ใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์.....	34
4.1	แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน ลูกศร (↓) แสดงวันที่กลับกองปุ๋ยหมัก.....	60
4.2	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ย จากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	61
4.3	แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	62
4.4	แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	63
4.5	แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน	64
4.6	แสดงการเปรียบเทียบอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	65
4.7	แสดงลักษณะของปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองต่างๆ เมื่อเริ่มต้น 0 วัน (แถวที่1 และ3) และเมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน (แถวที่2 และ4).....	67
4.8	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	68
4.9	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	69

รูปที่	หน้า	
4.10	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน.....	70
4.11	แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน ลูกศร (↓) แสดงวันที่กลับกองปุ๋ยหมัก.....	78
4.12	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน.....	79
4.13	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน.....	80
4.14	แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน.....	81
4.15	แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน	82
4.16	แสดงการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน	83
4.17	แสดงลักษณะของปุ๋ยหมักที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เมื่อเริ่มต้น 0 วัน (แถวที่1 และ3) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน (แถวที่2 และ4).....	85
4.18	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG เป็นเวลา 35 วัน.....	86

รูปที่	หน้า	
4.19	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลอง ต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ เป็นเวลา 35 วัน.....	86
4.20	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะลาย ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่ แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG เป็นเวลา 35 วัน.....	87
4.21	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะลาย ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่ แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ เป็นเวลา 35 วัน.....	87
4.22	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลอง ต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG 35 วัน.....	88
4.23	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลอง ต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ เป็นเวลา 35 วัน.....	88
4.24	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ที่ ได้จากปุ๋ยหมักทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุด การทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ข้าว) และบน อาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ขวา).....	92
4.25	ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากปุ๋ยหมักทะลายปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็น ระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ข้าว) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ขวา)	97

รูปที่	หน้า	
4.26	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี(กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บีภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ขวา).....	106
4.27	ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี (กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บีภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ขวา)	111
4.28	ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC (กลาง) และการสร้างวงใสสีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากกรดด้วยคองโกเรด (ขวา).....	119
4.29	แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน ลูกศร (↓) แสดงวันที่กลับกองปุ๋ยหมัก	130
4.30	แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน.....	131
4.31	แสดงการเปลี่ยนแปลงความชื้นในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน.....	132
4.32	แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน	134

รูปที่	หน้า	
4.33	แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมัก ปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน.....	135
4.34	แสดงการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจน ทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่ง ไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน	136
4.35	แสดงลักษณะของปุ๋ยหมักที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เมื่อเริ่มต้น 0 วัน (แถวที่ 1 และ 3) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน (แถวที่ 2 และ 4).....	137
4.36	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลอง ต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 และ CGR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน.....	141
4.37	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลอง ต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 CJC1 และ CJR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน.....	141
4.38	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบ ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่ แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 และ CGR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน.....	142
4.39	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบ ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่ แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 CJC1 และ CJR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน.....	142
4.40	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลอง ต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 และ CGR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน.....	143

4.41	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนไมซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 CJC1 และ CJR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน.....	143
4.42	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 วันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ข้าว) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ข้าว).....	147
4.43	ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ข้าว) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ข้าว).....	150
4.44	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ข้าว) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามิน บี (กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามิน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ข้าว)...	143
4.45	ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ข้าว) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามิน บี (กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามิน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ข้าว)	161
4.46	ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ข้าว) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC (กลาง) และการสร้างวงใสสีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากวาดด้วยคองโกเรด (ข้าว).....	171

- 4.47 ลักษณะโคโลนีสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซีดที่แยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ย
จากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1
และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และ
เซลลูโลส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar (ซ้าย) และลักษณะ
สัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ขวา) เป็นเวลา 4
วัน..... 181
- 4.48 ลักษณะสัณฐานวิทยาโคโลนีของราที่แยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษ
ทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่
2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส บน
อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 วัน (ซ้าย) และลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้น
ใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่เจริญบนชิ้นวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA
(ขวา)..... 183

บทที่ 1

บทนำ

ทะเลสาบปาล์มน้ำมันเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม หากปล่อยไว้จะเพิ่มปริมาณขยะเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อม การทำปุ๋ยหมักจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการนำของเหลือทิ้งทางชีวภาพกลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ลดปริมาณวัสดุเหลือทิ้ง ช่วยในการปรับสภาพดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และตอบสนองนโยบายเกษตรอินทรีย์ที่เป็นวาระแห่งชาติ

ปุ๋ยหมักเป็นปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่งเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณความชื้น ปริมาณออกซิเจน การทำงานของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ จุลินทรีย์สำคัญที่พบในปุ๋ยหมักคือ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีต และรา กลไกในกระบวนการหมักนั้น แบคทีเรีย และราจะทำงานในช่วงแรกของกระบวนการหมัก โดยจะขนถ่ายอินทรีย์วัตถุและปล่อยของเสียออกมาอยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ สารคล้ายฮิวมัส และความร้อน ส่งผลให้อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักสูง แบคทีเรียและราที่ไม่สามารถทนความร้อนได้จะตาย แต่แอคติโนมัยซีตทำงานได้ดี ปัจจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งได้แก่ องค์ประกอบพวกเซลลูโลส ลิกนิน ที่เป็นวัสดุหลักในผนังเซลล์พืช ย่อยสลายยากและมีปริมาณต่างกัน ทำให้ระยะเวลาในการหมักปุ๋ยไม่สม่ำเสมอ ทำให้ยากต่อการติดตามอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น คาร์บอนละลายน้ำ และสารฮิวมัส

ปัจจุบันมีการผลิตแหล่งจุลินทรีย์เร่งการย่อยสลายสารอินทรีย์สำหรับการทำปุ๋ยหมักจำหน่ายในระดับชุมชนมากมาย แต่ยังขาดข้อมูลที่ถูกต้องทางวิชาการ คุณภาพไม่สม่ำเสมอ งานวิจัยนี้จึงนำแหล่งจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ มาหมักปุ๋ยโดยใช้ทะเลสาบปาล์มน้ำมันเป็นวัสดุหมัก เพื่อเป็นการลดปริมาณทะเลสาบปาล์มเหลือทิ้ง และเนื่องจากปริมาณไนโตรเจนที่มีในวัสดุหมักค่อนข้างต่ำ จึงต้องศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มการทำงานของจุลินทรีย์ ระยะเวลาในการหมักให้น้อยลง ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ชีวภาพ และคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสำหรับการหมักปุ๋ย เพื่อเป็นมาตรฐานสำหรับการผลิตแหล่งจุลินทรีย์และปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่ดีและมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเพื่อการผลิตปุ๋ยหมักจากทะเลสาบปาล์มน้ำมัน และติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และชีวภาพระหว่างการหมักปุ๋ย

ขั้นตอนการวิจัย

1. ค้นคว้า และรวบรวมเอกสารสำหรับการวิจัย
2. เก็บตัวอย่างดินและปุ๋ยหมัก
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน
4. ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ
5. ตรวจสอบชนิดจุลินทรีย์ที่พบในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ
6. วิเคราะห์ สรุปผลงานวิจัย และเขียนวิทยานิพนธ์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นมาตรฐานสำหรับการผลิตแหล่งจุลินทรีย์และปุ๋ยหมักจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

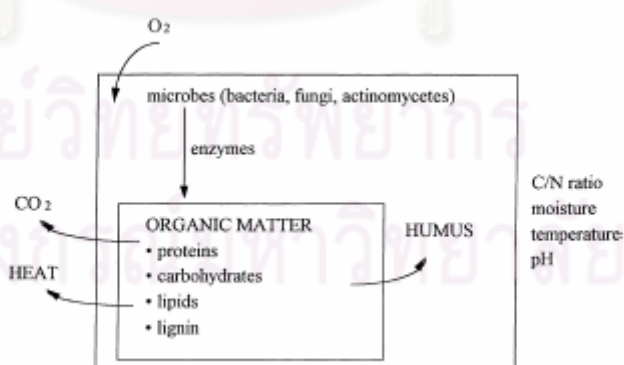
2.1 ปุ๋ยอินทรีย์ (organic fertilizers)

ปุ๋ยอินทรีย์ หมายถึง ปุ๋ยที่มีองค์ประกอบหลักเป็นสารอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งได้มาจากซากพืช ซากสัตว์ รวมทั้งสิ่งขับถ่ายจากสัตว์ เศษเหลือของสารอินทรีย์ต่างๆ เซลล์จุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์ จะเป็นประโยชน์ต่อพืชเมื่อผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์แบ่ง ออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ ปุ๋ยพืชสด (green manure) ปุ๋ยคอก (farm manure) และปุ๋ยหมัก (compost) (ธงชัย มาลา, 2550)

2.2 ปุ๋ยหมัก (compost)

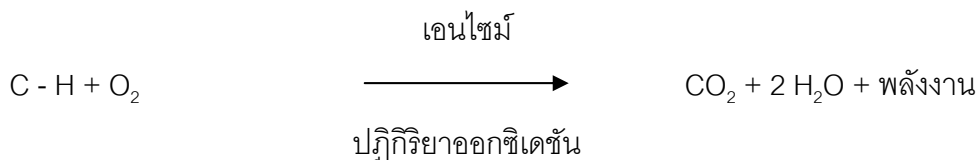
ปุ๋ยหมัก หมายถึง ปุ๋ยที่ได้จากการหมักวัสดุอินทรีย์เหลือใช้ต่างๆ มาหมักรวมกัน แล้วปรับสภาพให้เกิดกระบวนการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ จนกระทั่งได้วัสดุที่มีความคงทนต่อการย่อยสลาย สีนํ้าตาลปนดำ (สมศักดิ์ วังใน, 2521)

จุลินทรีย์พวก แบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซีสที่ต้องการอากาศ (Aerobic microbe) อาศัยร่วมกับซากพืช ซากสัตว์ (Saprophytes) และใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน (Heterotroph) เป็นจุลินทรีย์พวกหลักในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ โดยระหว่างการหมักปุ๋ย จุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุและปลดปล่อยออกมาให้อยู่ในรูปของ คาร์บอนไดออกไซด์ ชีวมวล ความร้อน และสารคล้ายฮิวมัส ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงกระบวนการหมักปุ๋ย (Tuomela และคณะ, 2000)

ในการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุโดยอาศัยจุลินทรีย์อาจเขียนเป็นสมการของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ ซึ่งประกอบด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ พลังงาน ดังนี้



สารประกอบไฮโดรคาร์บอน

ฮิวมัส

ฮิวมัสเป็นอินทรีย์วัตถุที่มีโครงสร้างที่สลับซับซ้อนและคงทนต่อการสลายตัวมาก มีสีดำหรือสีน้ำตาล มีลักษณะเป็นคอลลอยด์มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของโมเลกุลประมาณ 10 – 100 อังสตรอม มีธาตุ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน และธาตุอื่นๆ เป็นองค์ประกอบ ฮิวมัสเกิดขึ้นหลังจากที่จุลินทรีย์ทำการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์แล้วจุลินทรีย์จะสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์จำพวก กรดอะมิโน โปรตีน และอะโรมาติก หลังจากที่ถูกจุลินทรีย์ได้ตายและทับถมกันเป็นเวลานานจะเกิดขบวนการรวมตัวระหว่าง กรดอะมิโน หรือโปรตีน กับสารประกอบ อะโรมาติก กลายเป็นฮิวมัส ดังรูปที่ 2.2 (มุกดา สุขสวัสดิ์, 2544)



รูปที่ 2.2 กระบวนการเกิดฮิวมัส (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

2.3 การผลิตปุ๋ยหมัก

การหมักวัสดุอินทรีย์ทั้งที่เป็นเศษพืชและซากสัตว์ให้สลายตัวนั้นสามารถทำได้ 3 วิธี ดังนี้ (ธงชัย มาลา, 2550)

2.3.1 การหมักในหลุม

ซึ่งสามารถทำได้ทั้งในหลุมดิน หลุมคอนกรีต หรือ ในขอบซีเมนต์ ด้านบนสุดอาจมีการกลบด้วยดิน วิธีนี้ไม่มีการกักเก็บของเศษวัสดุอินทรีย์ การหมักจึงเกิดในสภาพอับอากาศหรือมี

อากาศถ่ายเทได้น้อย การย่อยสลายเกิดขึ้นได้อย่างช้าๆ อุณหภูมิระหว่างการหมักไม่สูงมากนัก เชื้อโรค และไข่ของแมลงอาจไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน การสลายตัวของเศษวัสดุอินทรีย์ จนกระทั่งได้ปุ๋ยหมักจะใช้เวลานาน สารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวจะมีมากกว่าการย่อยสลายในสภาพที่มีอากาศถ่ายเทดี เช่น กรดอินทรีย์ ฮอริโมน วิตามิน สารชีวโมล แอลกอฮอล์ ฟีนอล แร่ธาตุอาหาร เอนไซม์ และก๊าซมีเทน เป็นต้น

2.3.2 การหมักในของเหลว

เป็นการนำเศษวัสดุอินทรีย์ต่างๆใส่ลงในภาชนะที่ปิดมิดชิด บรรจุน้ำในสัดส่วนที่พอเหมาะ และสารเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เช่น กากน้ำตาล กากส่าเหล้า และจุลินทรีย์เร่งการย่อยสลาย การหมักในสภาพนี้เป็นการหมักในสภาพอับอากาศ วัสดุอินทรีย์ที่ใช้หมักมักจะเป็นเศษพืชหรือซากสัตว์ที่ยังเปียกแฉะ เช่น ผัก ผลไม้ เศษปลา เป็นต้น การย่อยสลายเกิดอย่างช้าๆ อาจมีกลิ่นเหม็น สารอินทรีย์เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายมากมายละลายอยู่ในน้ำคล้ายกันกับสารที่เกิดในการหมักในหลุม

2.3.3 การหมักแบบกองบนพื้น เป็นการหมักแบบให้อากาศ ซึ่งมี 2 แบบ (อาณัฐ ตันโซ, 2549)

2.3.3.1 การทำปุ๋ยหมักแบบกลับกอง

เป็นการทำปุ๋ยหมักแบบดั้งเดิมเป็นการกองปุ๋ยหมักแบบต่างๆ ไม่ต้องใช้อุปกรณ์มากนัก อาจกองบนพื้นราบในพื้นดินธรรมดา พื้นซีเมนต์ในบริเวณกลางแจ้ง หรือในโรงเรือน แต่การกองในโรงเรือนจะได้ผลผลิตปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพดีกว่าเนื่องจากน้ำจะระเหยออกจากกองปุ๋ยได้ช้ากว่า และไม่ถูกฝนหรือแดด ทำให้ธาตุอาหารไม่ถูกชะล้างออกไป หลังจากตั้งกองปุ๋ยหมักแล้ว กองปุ๋ยจะเกิดการหมักสภาพภายในกองปุ๋ยมีสภาพอับอากาศและอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักสูงขึ้น ทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนและจุลินทรีย์ที่ไม่ทนต่ออุณหภูมิสูงไม่สามารถเจริญหรือทำกิจกรรมการย่อยสลายได้ ดังนั้นหลังจากตั้งกองปุ๋ยหมักแล้วต้องหมั่นกลับกองปุ๋ยอยู่เสมออย่างน้อย 3-4 ครั้ง ควรกลับกองครั้งแรกภายหลังจากหมัก 7 วัน ครั้งที่ 2 ภายหลัง 14 วัน และครั้งต่อไปภายหลัง 20 วัน จนเศษวัสดุที่นำมาใช้หมักแปรสภาพไปเป็นกองปุ๋ยหมักที่ผ่านการย่อยสลายสมบูรณ์แล้ว

2.3.3.2 การทำปุ๋ยหมักแบบไม่กลับกองโดยใช้ระบบกองใส่อากาศ

วิธีนี้เศษพืชจะถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลง แล้วกองบนลานพื้นกลางแจ้งให้มี ความสูงประมาณ 2 เมตร มีการควบคุมความชื้น แหล่งจุลินทรีย์ อุณหภูมิภายในกอง รวมทั้งธาตุ

อาหารที่จำเป็นสำหรับจุลินทรีย์มีการใส่อากาศให้แก่กองปุ๋ย การหมักจะเสร็จภายใน 20-45 วัน โดยเมื่อหมักเสร็จควรนำไปบ่มในที่ที่สามารถกันแสงแดดและฝนได้ เพื่อรักษาและคงสภาพของปุ๋ยหมักที่ได้ให้มีประสิทธิภาพยาวนาน การใส่อากาศวิธีนี้ช่วยตัดปัญหาการพลิกกลับกองได้

2.4 ระยะเวลาต่างๆของกระบวนการหมักปุ๋ย (The phases of the composting process)

ช่วงเวลาในแต่ละระยะของกระบวนการหมักขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอินทรีย์วัตถุเริ่มต้นก่อนการหมัก ประสิทธิภาพของกระบวนการหมักปุ๋ยซึ่งพิจารณาโดยการใส่อากาศ กิจกรรมของจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงเวลาของกระบวนการหมักปุ๋ยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิซึ่งกระบวนการหมักปุ๋ยสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะ (Tuomela และคณะ, 2000) ดังรูปที่ 2.3 โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.4.1 ระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase)

เป็นระยะแรกของการหมักปุ๋ย อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักจะใกล้เคียงกับในสิ่งแวดล้อม และมีสภาพเป็นกรดอ่อนเนื่องจากเกิดกรดอินทรีย์ระหว่างการย่อยสลาย ซึ่งแบคทีเรียและราที่ชอบอุณหภูมิปานกลางจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ย่อยสลายสารที่ละลายน้ำได้และสารที่เป็นแหล่งคาร์บอนที่ย่อยง่าย เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว แป้ง และไขมัน ทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 45 องศาเซลเซียส ส่งผลให้กิจกรรมของจุลินทรีย์พวกนี้หยุดลงโดย vegetative cell ของแบคทีเรีย และ hyphae ของราจะตาย เหลือเพียงสปอร์ที่ทนความร้อนเท่านั้น

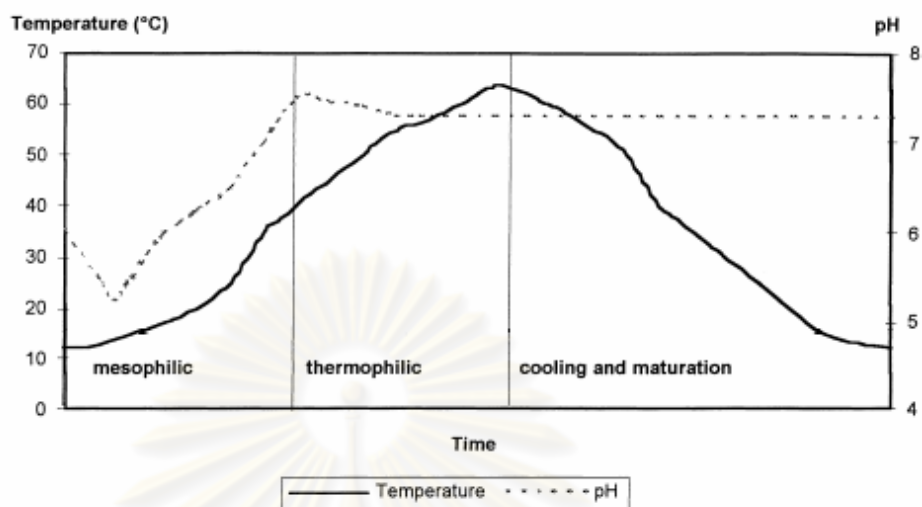
2.4.2 ระยะชอบอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase)

ระยะนี้จะมีช่วงเวลานานตั้งแต่ 2 วันถึงหลายเดือน พวกแบคทีเรีย แอคติโนมัยซีต และราบางชนิดที่ชอบอุณหภูมิสูง จะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์พวกเซลลูโลส ลิกนิน และโปรตีนปลดปล่อยแอมโมเนีย ทำให้พีเอชเพิ่มขึ้น อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์พวกนี้อยู่ระหว่าง 50 และ 65 องศาเซลเซียส และกิจกรรมของจุลินทรีย์พวกนี้จะสิ้นสุดลงเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 70-80 องศาเซลเซียส

2.4.3 ระยะคงที่และกระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์ (The cooling and maturation phase)

ซึ่งมีระยะเวลาหลายเดือน เป็นช่วงไม่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เพราะปริมาณความร้อนที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์กับความร้อนที่ระบายออกจากกองปุ๋ยหมักสมดุลกัน ประชากรจุลินทรีย์ที่ยังคงอยู่เป็นพวกแบคทีเรีย แอคติโนมัยซีต และราที่ชอบอุณหภูมิสูง หลังจากนั้นอุณหภูมิจะลดเป็นอุณหภูมิปานกลาง และลดลงเท่ากับอุณหภูมิภายนอก เป็นระยะที่

กระบวนการหมักสมบูรณ์ จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่รอดจากอุณหภูมิสูงหรือพวกที่เจริญอยู่รอบนอกกองปุ๋ยหมักกลับเข้ามามีบทบาทในการย่อยสลายอีกครั้ง



รูปที่ 2.3 ระยะเวลาต่างๆของกระบวนการหมักปุ๋ยและการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในกระบวนการหมักปุ๋ย (Tuomela และคณะ, 2000)

2.5 กิจกรรมที่เกิดขึ้นระหว่างการกองปุ๋ยหมัก

ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้สภาพแวดล้อมบางประการในกองปุ๋ยหมักเปลี่ยนแปลง ซึ่งมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์ เช่น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ เป็นต้นซึ่งการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ก่อให้เกิดประโยชน์ ดังนี้ (ธงชัย มาลา, 2550)

2.5.1 การย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ เมื่อมีการกองวัสดุอินทรีย์อย่างเหมาะสม จะเป็นการร่นระยะเวลาการย่อยสลายให้สั้นลง ได้ปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์เร็วขึ้น โดยมีจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลาย 3 ไอโซเลต คือ แบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus* sp., *Cellulomonas* sp. รา ได้แก่ *Aspergillus* sp. *Trichoderma* sp. *Nocardia* sp. และแอกติโนมัยซีต ได้แก่ *Streptomyces* sp. ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ได้สารต่างๆ มากมาย

2.5.2 การทำลายโรคพืชบางชนิด การทดลองกองปุ๋ยหมักจากต้นพืชที่เป็นโรคบางชนิด เช่น เชื้อรา *Helminthosporium maydis* ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคใบไหม้ของข้าวโพด เชื้อ *Curvularia lunata* เป็นสาเหตุให้เกิดโรคใบจุดของข้าวโพด และ *Collectotrichum dermatium* var. *truncatum* เป็นสาเหตุให้เกิดโรคแอนแทรกคโนสของถั่วเหลือง พบว่าเมื่ออุณหภูมิในกองปุ๋ย

หมักสูงถึง 70 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญได้ นอกจากนั้น รา ประเภท *Aspergillus* sp. *Trichoderma* sp. และ แอคติโนมัยซีสประเภท *Streptomyces* sp. บางชนิดมีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะทำลายเชื้อโรคพืช มีการแข่งขันกันระหว่างจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักกับเชื้อที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคพืช หรือการที่จุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักเป็นพาราไซต์กับเชื้อโรคพืช

2.5.3 การทำลายไข่ของแมลงและแมล็ดวัชพืชบางชนิด ความร้อนที่เกิดขึ้นภายในกองปุ๋ยหมักซึ่งอาจสูงถึง 60 ถึง 80 องศาเซลเซียส สามารถทำลายไข่ของแมลงศัตรูพืชโดยทำให้ไข่ฟ่อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และยังมีผลในการทำลายแมล็ดวัชพืชโดยตรงด้วย ขณะที่แมล็ดวัชพืชอาจงอกได้ง่ายที่อุณหภูมิสูง แต่เมื่องอกแล้วจะถูกทำลายโดยการกลับกองปุ๋ยในเวลาถัดมา

2.5.4 การเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยหมัก จุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักบางชนิด เช่น *Azotobacter* sp. สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศได้ จึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหมัก ธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่เกิดจากการย่อยสลายหินฟอสเฟตหรือซากกระดูก จะถูกย่อยสลายและปลดปล่อยออกมาในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เชื้อ *Bacillus* spp. บางชนิดมีความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืชที่ช่วยให้พืชเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วด้วย

2.5.5 ประหยัดค่าใช้จ่ายในการทำปุ๋ยหมัก การใช้เชื้อเร่งปุ๋ยหมักเป็นการช่วยให้เกษตรกรสามารถทำปุ๋ยหมักได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่จำเป็นต้องซื้อเชื้อเร่งทุกครั้ง เนื่องจากสามารถนำปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์แล้วใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับการผลิตปุ๋ยหมักครั้งต่อไปได้

2.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก

จุลินทรีย์มีความสามารถผลิตเอนไซม์ออกมานอกเซลล์เพื่อใช้สลายซากพืชซากสัตว์ให้เป็นโมเลกุลเล็กๆ เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงาน สิ่งที่เหลือจากการสลายตัวอาจจะรวมกับเซลล์จุลินทรีย์ที่ตายแล้วและสิ่งจุลินทรีย์ขับถ่ายออกมา ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อนเรียกว่าอินทรีย์วัตถุ การย่อยสลายอินทรีย์วัตถุเกิดขึ้นโดยอาศัยจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนเป็นตัวการสำคัญผลที่ได้จากการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุมักเป็นพวกออกไซด์ เช่น ไนเตรต (NO_3^-) คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) การสลายตัวของอินทรีย์วัตถุขึ้นอยู่กับปัจจัย หลายอย่างที่ควบคุมให้กระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์และมีประสิทธิภาพ (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541; คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548; Kutzner, 2000; Alexander, 1977; Subba Rao, 1982) ได้แก่

2.6.1 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio)

ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ เพื่อนำไปใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์นั้น นอกจากจะย่อยสลายเพื่อให้ได้พลังงานแล้ว จุลินทรีย์ก็นำเอาธาตุจากสารอินทรีย์เหล่านั้นไปใช้สร้างสารประกอบต่างๆ ของเซลล์ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคาร์บอนซึ่งต้องนำมาใช้สังเคราะห์สารประกอบที่เป็นโครงสร้างหลักของเซลล์ กับไนโตรเจน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของโปรตีน กรดอะมิโนหรือกรดนิวคลีอิก ที่มีอยู่เป็นปริมาณมากในเซลล์จุลินทรีย์ ดังนั้นอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจนซึ่งอยู่ในสารอินทรีย์หรือที่เรียกว่า C:N ratio จึงมักเป็นปัจจัยที่บ่งบอกว่า ในการย่อยสลายสารอินทรีย์เหล่านั้นจะมีไนโตรเจนเพียงพอกับความต้องการของจุลินทรีย์และทำให้การย่อยสลายสารอินทรีย์ดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่ C:N ratio เป็นสิ่งสำคัญในการพิจารณาเลือกวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมักที่มีความยากง่ายต่อการย่อยสลายและใช้เป็นตัวกำหนดระดับความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ควรมี C:N ratio อยู่ในช่วงประมาณ 20:1 ซึ่งเมื่อใส่ลงในดินแล้วจะไม่เกิดผลเสียต่อพืช (Thambirajah และคณะ, 1995) เมื่อพิจารณาจากค่า C:N ratio สามารถแบ่งวัสดุเหลือใช้ที่นำมาทำปุ๋ยหมักได้ 2 ประเภท คือ วัสดุที่ย่อยสลายง่ายมีค่า C:N ratio ต่ำกว่า 100/1 และวัสดุที่ย่อยสลายยากมีค่า C:N ratio มากกว่า 100:1 ซึ่งค่า C:N ratio ของวัสดุอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 ถ้าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง เช่น ฟางข้าวมี C:N ratio เท่ากับ 90:1-100:1 แม้ว่าจะมีคาร์บอนให้ใช้ในการเจริญเติบโตมาก แต่ก็มีไนโตรเจนอย่างจำกัดทำให้ไม่สามารถย่อยสลายเศษพืชได้รวดเร็วเท่าที่ควร เมื่อคลุกเคล้าเศษพืชลงในดิน จุลินทรีย์มักจะดึงไนโตรเจนในดิน เช่น NH_4^+ หรือ NO_3^- ไปใช้ การที่จุลินทรีย์ดินนำเอาสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนไปใช้สร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์ เรียกว่ากระบวนการ immobilization เป็นการทำให้ไนโตรเจนที่จะเป็นประโยชน์ต่อพืชในดินลดปริมาณลงจนอาจทำให้พืชเกิดการขาดธาตุไนโตรเจนได้ ในทางตรงกันข้ามหากเศษพืชมีธาตุไนโตรเจนอยู่มาก เช่น พืชตระกูลถั่ว ซึ่งมักมีค่า C:N ratio แคบ หรือต่ำกว่า 20:1 ก็จะมีไนโตรเจนเหลือปลดปล่อยออกมาสู่สภาพแวดล้อมในรูปของ NH_4^+ โดยกระบวนการ mineralization โดยทั่วไปประมาณ 2/3 ส่วนของสารอินทรีย์คาร์บอน จะถูกออกซิไดส์เป็น คาร์บอนไดออกไซด์ มีบางส่วนที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ และยังคงค้างเป็นฮิวมัสหรืออยู่ในรูปของไฟเบอร์ (fiber) ในกระบวนการสร้างพลังงานของจุลินทรีย์ที่เหลืออีกประมาณ 1/3 ส่วน จึงเป็นส่วนที่นำไปใช้สร้างเซลล์ของจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.1 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของวัสดุอินทรีย์ชนิดต่างๆ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

ชนิดของวัสดุอินทรีย์	C:N ratio
จุลินทรีย์ดิน	5 – 15
อินทรีย์วัตถุในดิน	10
ปุ๋ยหมัก	15 – 20
ฟางข้าว	80 – 125
ต้นข้าวโพด	60
ชานอ้อย	140 - 190
ขี้เลื่อย	200 - 400

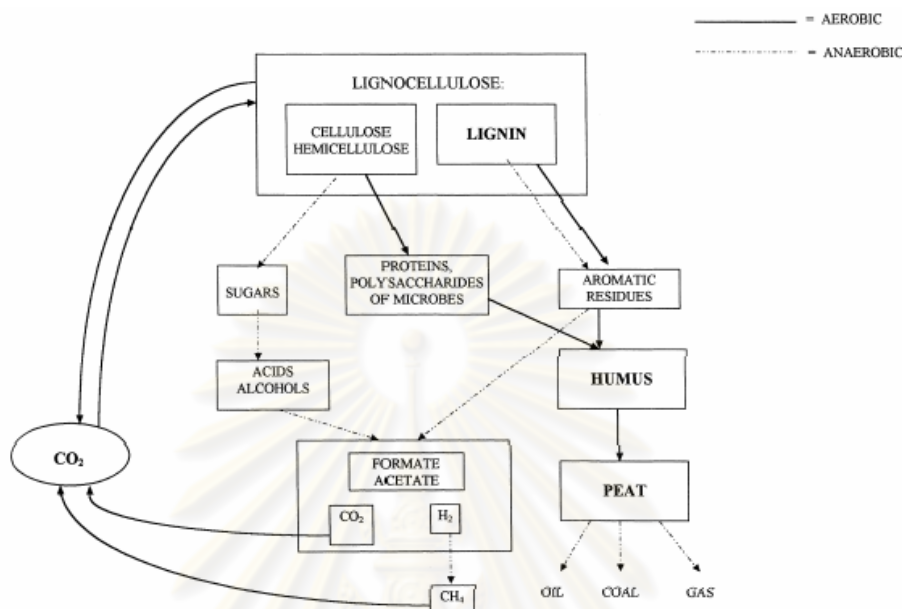
2.6.2 วัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก (Organic waste as nutrients)

ขนาด และชนิดของวัสดุอินทรีย์มีผลต่ออัตราเร็วในการย่อยสลาย วัสดุอินทรีย์ที่มีขนาดเล็กช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวทำให้จุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายได้เร็วขึ้น การสลายตัวของเศษซากสัตว์หรือจุลินทรีย์มีรูปแบบใกล้เคียงกับพืช เพียงแต่มีสารประกอบที่ย่อยสลายได้ง่ายอยู่มากกว่าและไม่มีผนังเซลล์แบบพืชในกรณีที่วัสดุอินทรีย์เป็นพืช การย่อยสลายขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อพืชและอายุซึ่งในเนื้อเยื่อพืชชั้นสูงประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ อินทรีย์สาร 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 11 เปอร์เซ็นต์ ออกซิเจน 10 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจน 2 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณสารประกอบในเนื้อเยื่อพืชในส่วนที่เป็นอินทรีย์สารหรือน้ำหนักแห้งของพืชที่เจริญเติบโตเต็มที่ แสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณของสารประกอบที่มีอยู่ในส่วนของอินทรีย์สารของพืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548; Smith, 1982)

สารประกอบอินทรีย์	เปอร์เซ็นต์ (%)	
คาร์โบไฮเดรต	เซลลูโลส	20 – 50
	เฮมิเซลลูโลส	10 – 30
	น้ำตาลและแป้ง	1 – 5
ลิกนิน	10 – 30	
โปรตีน	1 – 15	
ไขมัน ขี้ผึ้ง แทนนิน	1 – 8	

อินทรีย์วัตถุที่ใช้ในการทำปุ๋ยหมักมักนำมาจากส่วนต่างๆ ของพืช ที่มีองค์ประกอบหลักคือ คาร์โบไฮเดรตที่ได้จากเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งถูกย่อยสลายได้ยาก ความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ทั้งที่ต้องการและไม่ต้องการอากาศ แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงวัฏจักรคาร์บอน (Tuomela และคณะ, 2000)

จุลินทรีย์ใช้เวลาในการย่อยสลายองค์ประกอบของพืชและสัตว์ได้ไม่เท่ากัน สารประกอบใดที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อน (มีแรงยึดเหนี่ยวมาก) ก็จะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายได้ช้า หรือไม่สามารถย่อยสลายได้ ส่วนสารประกอบใดที่มีโครงสร้างไม่สลับซับซ้อน (มีแรงยึดเหนี่ยว น้อย) ก็จะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายได้เร็วธาตุที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของคาร์โบไฮเดรตได้แก่ธาตุ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ซึ่งอยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถสลายตัวได้ง่าย เมื่อนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาต่อกันเป็นสายยาวๆ พบในพืชเรียกว่าเซลลูโลส ซึ่งสลายตัวได้ยาก ส่วนลิกนินจะมี ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบแต่ลิกนินจะมีโครงสร้างที่ ซับซ้อนมาก พบในส่วนที่เป็นลำต้นและเนื้อไม้แข็งของพืช มีความคงทนต่อการสลายตัว ส่วน โปรตีนจะมีธาตุ คาร์บอน ออกซิเจน ไนโตรเจน กำมะถัน เหล็ก และฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบที่ สำคัญ สามารถสลายตัวได้เร็วและให้ธาตุที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ความยากง่ายต่อการสลายตัวของสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541)

สารประกอบอินทรีย์	อัตราการสลายตัว
น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว	สลายตัวเร็วมาก
แป้ง โปรตีน	↓
เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส	
ลิกนิน ไขมัน ชี้น้ำมัน	สลายตัวช้ามาก

วัสดุอินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ทำปุ๋ยหมักได้แก่

2.6.2.1 ประเภทเศษพืช ได้แก่ เศษพืชชนิดต่าง ๆ ที่เหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกถั่ว ต้นถั่ว ต้นข้าวโพด เศษหญ้าชนิดต่าง ๆ ชังข้าวโพด หญ้าสดหรือหญ้าแห้ง ใบอ้อย ใ้สไป และใบไม้ทุกชนิด ฯลฯ

2.6.2.2 วัสดุทางการเกษตรที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น กากอ้อยจากโรงงานน้ำตาล กากสับปะรดจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง ชี้อ้อยจากโรงเลื่อย แกลบจากโรงสี ชุยมะพร้าวจากโรงงานกะเพาะมะพร้าว กากเส้นใยปอจากโรงงานทำกระสอบ กากมันสำปะหลังจากโรงงานแป้งมัน สำปะหลัง เปลือกผลไม้จากโรงงานอาหารกระป๋อง กากปลาจากโรงงานทำน้ำปลา ฯลฯ เหล่านี้เป็นต้น

2.6.2.3 เศษขยะมูลฝอยที่มีอยู่ทั่วครัวเรือน เช่น เปลือกผลไม้ เศษผัก และเศษอาหาร เป็นต้น

2.6.2.4 พวกวัชพืชน้ำ เช่น ผักตบชวา กอสะวะในแม่น้ำลำคลอง หนองบึง และพวกวัชพืชบกทุกชนิดที่มีอยู่ตามเรือกสวนไร่นาทั่ว ๆ ไป

2.6.2.5 มูลสัตว์ชนิดต่าง ๆ อุจจาระและปัสสาวะเก่า ๆ รวมทั้งดิน ธรรมชาติเหล่านี้ก็นำมาใช้ผสมกับเศษพืชทำเป็นปุ๋ยหมักได้ สารเคมีชนิดต่าง ๆ เช่น ปุ๋ยเคมีที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ก็สามารถนำมาผสมกับเศษพืช เป็นตัวเร่งทำให้เศษพืชสลายตัว เป็นปุ๋ยหมักได้เร็วยิ่งขึ้น

2.6.3 การระบายอากาศ (Aeration)

กระบวนการหมักปุ๋ยเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยที่จุลินทรีย์พวกที่ต้องการอากาศในกระบวนการหายใจโดยใช้ออกซิเจนเพื่อใช้ในกระบวนการสร้างพลังงาน และใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ต่างๆที่อยู่ในกองปุ๋ยหมักด้วย สภาพที่มีออกซิเจน การย่อยสลายเกิดขึ้นได้

รวดเร็วและสมบูรณ์ ส่วนใหญ่จะสลายตัวกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แม้ว่าจะมีการระบายอากาศแต่ยังพบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะในช่วงแรกของการกองปุ๋ย ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ ความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยลดลง เกิดแอมโมเนีย ก๊าซมีเทนและสารอื่นๆ อีกหลายชนิด ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการอากาศ ส่วนเชื้อราและแอกติโนมัยซีดจะชะงักการเจริญเติบโตเมื่ออยู่ในสภาวะขาดออกซิเจน การระบายอากาศจึงเป็นสิ่งจำเป็น นอกจากเพื่อให้ออกซิเจนแก่จุลินทรีย์แล้ว ยังช่วยระบายความร้อน ในกระบวนการหมักปุ๋ย อุณหภูมิของปุ๋ยอาจสูงถึง 80 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ตาย นอกจากนี้พบว่าขนาดของวัสดุที่ใช้ทำปุ๋ยหมักก็มีความสำคัญ ถ้าวัสดุที่ใช้หมักเป็นกากผลไม้หรือวัสดุที่สามารถอัดกันแน่นได้ง่ายการระบายอากาศจะเกิดขึ้นได้ยาก จำเป็นต้องใส่ bulking agent ซึ่งเป็นตัวลดการอัดแน่นของวัสดุและช่วยเพิ่มการระบายอากาศ เช่น ก้านอู่น ข้าวผสมกับวัสดุที่ต้องการหมัก (Albuquerque และคณะ, 2006) การระบายอากาศอาจใช้วิธีการกลับกองปุ๋ยหมัก หรือสร้างท่อระบายอากาศให้แก่กองปุ๋ยหมัก

2.6.4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด-ด่าง มีผลกระทบต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ เมื่อความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางการสลายตัวจะเกิดรวดเร็วกว่าช่วงที่เป็นกรดหรือด่างเกินไป ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกรดค่อนข้างมากเช่น ความเป็นกรด-ด่างประมาณ 5.5 หรือต่ำกว่า กิจกรรมของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีดจะลดลงมาก ในขณะที่รายังทนอยู่ได้ กิจกรรมการย่อยสลายจึงเกิดจากราเป็นส่วนใหญ่ ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 5.5 ถึง 8.0 อย่างไรก็ตามความเป็นกรด-ด่างอาจเปลี่ยนแปลงตามกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในช่วงแรกของการหมักปุ๋ย ความเป็นกรด-ด่างจะลดลงเนื่องจากจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายวัสดุที่ย่อยสลายได้ง่ายอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ มีผลให้มีความเป็นกรด หรือในช่วงแรกไม่มีการระบายอากาศแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการอากาศ จะสร้างกรดอินทรีย์ส่งผลต่อ ความเป็นกรด-ด่างทำให้มีสภาพกรดเช่นกัน หลังจากมีการระบายอากาศโดยกลับกองปุ๋ย จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศจะทำงานโดยปลดปล่อยสารประกอบอินทรีย์ออกมาความเป็นกรด-ด่าง ก็จะเพิ่มสูงขึ้น หรือธาตุที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของอินทรีย์วัตถุ ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน และธาตุอื่นๆ เมื่อถูกจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน และไม่ต้องการออกซิเจน ย่อยสลายแล้วจะได้สารประกอบซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง โดยคาร์บอนเมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโดยจุลินทรีย์จะอยู่ในรูป คาร์บอนไดออกไซด์ คาร์บอนเนต ไบคาร์บอนเนต (CO_2 CO_3^- HCO_3^-) ไนโตรเจนอยู่ในรูป แอมโมเนียม ไนเตรท ไนไตรท์ และก๊าซไนโตรเจน (NH_4^+ NO_3^- NO_2^-)

N_2) ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปโมโนฟอสเฟต และไดฟอสเฟต (HPO_4^{2-} $H_2PO_4^-$) กำมะถันอยู่ในรูปของกำมะถัน ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซัลไฟต์ และซัลเฟต (S H_2S SO_3^{2-} SO_4^{2-}) (เกษมศรี ชับช้อน, 2541)

หากวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมักเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มักจะไม่มีปัญหาเนื่องจากความเป็นกรด-ด่างของเศษพืชอยู่ในช่วงที่เป็นกลางหรือกรดเล็กน้อย (เสียงแจ้ว พิริยพจน์ต์ และ นวลจันทร์ ภาสตา, 2540 อ่างถึงในกัญญา ม่วงแก้ว, 2544) กรณีที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างสูงเนื่องจากผ่านกรรมวิธีทางเคมีมาก่อน จำเป็นต้องทราบความเป็นกรด-ด่าง เพื่อทำการปรับความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วงที่เป็นด่างลดลงจนค่อนข้างจะเป็นกรดเล็กน้อย เพื่อให้เหมาะสมต่อการหมัก

2.6.5 ปริมาณความชื้น (Moisture)

นอกจากน้ำจะมีความสำคัญในการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์แล้ว น้ำยังมีอิทธิพลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ทั้งในด้านการทำงานของเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาออกเซลล์ การละลายสารประกอบของธาตุอาหารต่างๆ เป็นที่อยู่อาศัย และช่วยในการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์ และน้ำมีผลต่อการถ่ายเทอากาศด้วย ดังนั้นความชื้นจึงมีความสัมพันธ์กับอัตราการย่อยสลายอย่างใกล้ชิด อัตราการย่อยสลายจะเกิดได้ดีที่ ความชื้น 50 ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณความชื้นต่ำ จะไปยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้กระบวนการหมักปุ๋ยเกิดได้ช้า และที่ความชื้นสูง ทำให้การระบายอากาศเกิดขึ้นได้น้อยลง เกิดเป็นสภาพไร้อากาศ เกิดกิจกรรมการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน กระบวนการหมักปุ๋ยเกิดช้าลงเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดของเศษวัสดุที่ใช้ในการทำปุ๋ยหมักก็มีความสำคัญ เศษวัสดุที่มีไฟเบอร์เป็นองค์ประกอบมาก การให้ความชื้นแก่กองปุ๋ยหมักอาจมีค่าสูง เนื่องจากวัสดุเหล่านี้รักษาความชื้นได้ดี หากวัสดุมีลักษณะละเอียด การให้ความชื้นเริ่มต้นแก่กองปุ๋ยหมักอาจไม่สูงมากนัก เพราะถ้าให้ความชื้นมากไปวัสดุจะจับเป็นก้อน การย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างช้าๆระหว่างการทำปุ๋ย น้ำระเหยออกไปตลอดเวลาเนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้นในกองปุ๋ยหมัก และจุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโต ทำให้ปริมาณความชื้นในกองปุ๋ยหมักลดลงจาก 50-70 เปอร์เซ็นต์ เหลือประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ลดลง ดังนั้นจึงต้องใส่น้ำให้กับกองปุ๋ยเพื่อรักษาระดับความชื้นที่เหมาะสม

2.6.6 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะเป็นตัวบ่งชี้กิจกรรมของจุลินทรีย์ได้ ในช่วงแรกของการหมักประมาณ 2-4 วัน อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะสูงขึ้น เนื่องจากพลังงานความร้อนที่ถูกปลดปล่อยออกมาหลังจากการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ และคุณสมบัติการเก็บความร้อนของวัสดุอินทรีย์ ทำให้ความร้อนยังคงอยู่ไม่แพร่กระจายออกจากกองปุ๋ย เป็นลักษณะพิเศษ

ของกระบวนการหมักปุ๋ย อุณหภูมิสูงประมาณ 55 องศาเซลเซียส สามารถทำลายจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตที่ก่อโรคกับคนและพืช (พิทยากร ลิ้มทอง, 2536) อุณหภูมิสูงจะมีอัตราการย่อยสลายตัวของพืชได้เร็วกว่าบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำ ประเทศไทยอยู่ในเขตร้อนทำให้อัตราการย่อยสลายตัวของพืชสูง ตัวอย่างอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับย่อยฟางข้าวอยู่ในช่วง 37 ถึง 39 องศาเซลเซียส (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541) การที่อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้น ทำให้สภาพแวดล้อมในกองปุ๋ยหมักเปลี่ยนแปลง ทำให้ชนิดของจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไปขณะที่อุณหภูมิสูงจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญได้แก่พวกที่ทนอุณหภูมิสูง (thermophiles) เช่น *Bacillus* sp. และ *Clostridium* sp. (Tuomela และคณะ, 2000) หลังจากอุณหภูมิสูงสุดแล้วจะค่อย ๆ ลดลงจนถึงระดับที่จุลินทรีย์พวกที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) สามารถเจริญได้ นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการกองปุ๋ยหมักสามารถเพิ่มอุณหภูมิในกองปุ๋ยโดยการกองปุ๋ยหมักให้สูง และกองปุ๋ยหมักที่มีขนาดใหญ่จะสามารถรักษาความร้อนได้ดีกว่ากองปุ๋ยหมักขนาดเล็ก

2.6.7 จุลินทรีย์ระหว่างการหมักปุ๋ย (Microorganisms during composting)

สำหรับการแบ่งจุลินทรีย์ตามความต้องการอากาศ คือ ออกซิเจน เพื่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ในแต่ละชนิดนั้น มีความแตกต่างกันไป ซึ่งสามารถแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 พวกใหญ่ ๆ (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541; Alexander, 1977) คือ

1 Aerobic microbe เป็นจุลินทรีย์ที่มีความต้องการออกซิเจนในปริมาณที่สูงมาก สำหรับการเจริญเติบโต

2 Anaerobic microbe คือ จุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีโดยปราศจากออกซิเจน

3 Facultative microbe คือจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเท่านั้น หรือปราศจากออกซิเจนในบางครั้งคราว

นักวิทยาศาสตร์สามารถแบ่งจุลินทรีย์โดยอาศัยความสัมพันธ์ของพืชหรือสัตว์ ออกเป็น 3 พวก (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541; Alexander, 1977) คือ

1 Saprophytes ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บนซากพืช ซากสัตว์อย่างอิสระ ไม่มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน

2 Parasite หรือ Pathogen คือ จุลินทรีย์อาศัยอยู่ร่วมกันกับพืชหรือสัตว์แล้วเข้าไปทำลายพืชหรือสัตว์ จนทำให้เกิดผลเสียหายถึงตาย

3 Symbiosis หรือ Mutualist คือ จุลินทรีย์ที่ชอบอาศัยอยู่ร่วมกับพืชและสัตว์ และมีความสัมพันธ์ในทางที่เกิดประโยชน์ร่วมกันแบบถ้อยที่ถ้อยอาศัย

นอกจากนี้สามารถจำแนกจุลินทรีย์ตามชนิดของสารคาร์บอนซึ่งแบ่งออกได้เพียง 2 พวก (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548; Alexander, 1977) คือ

1 Heterotroph ซึ่งเป็นไอโซเลตที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยหมัก

2 Autotroph เป็นพวกที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อสังเคราะห์สารอินทรีย์มาสร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์ จุลินทรีย์พวกนี้ส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นอาหารจะได้พลังงานจากแสงหรือจากการออกซิเดชัน (oxidation) ของสารอินทรีย์มาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม

หากแบ่งชนิดของจุลินทรีย์ตามระบบการจำแนกสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกองปุ๋ยหมัก สามารถแบ่งออกได้เป็น แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีต และรา (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541; คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548; ธงชัย มาลา, 2550; Tuomela และคณะ, 2000; Alexander, 1977; Bess, 1999 อ้างถึงใน กัญญา ม่วงแก้ว, 2544) ดังนี้

1. แบคทีเรีย

เป็นจุลินทรีย์ขนาดเล็กที่มีมากที่สุดมากที่สุดในกองปุ๋ยหมัก ประมาณ 80 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ที่พบในช่วงการย่อยสลายจะเป็นแบคทีเรีย ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในกองปุ๋ยหมักมีค่าประมาณ 10^8 - 10^{10} เซลล์ต่อปุ๋ยหมักแห้ง 1 กรัม ปริมาณดังกล่าวนี้ไม่แน่นอน อาจมีการผันแปรไปจากนี้ ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมและวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก แบคทีเรียในกองปุ๋ยหมัก เป็นพวก heterotroph ที่ดำรงชีวิตแบบ Saprophyte แบคทีเรียค่อนข้างจะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายและการเกิดความร้อนในกองปุ๋ยหมัก ในระยะแรกของการกองปุ๋ยหมัก อุณหภูมิภายในกองจะไม่สูงมากนัก แบคทีเรียส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่พบได้ทั่วไปในดิน เช่น แบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* *Cellulomonas* *Achromobacter* *Flavobacterium* *Micrococcus* และ *Bacillus* ซึ่งมีการรายงานว่า 87 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียที่คัดเลือกจากระยะที่อุณหภูมิสูง (thermophilic phase) เป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* (Tuomela และคณะ, 2000) พวก *Bacillus* spp. ค่อนข้างจะพบในปริมาณมากกว่าพวกอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่ชอบอุณหภูมิสูง ได้แก่ *B. subtilis* และ *B. stearothermophilus* ซึ่งเจริญได้ดีในช่วง 50 ถึง 55 องศาเซลเซียส ในบางกรณีอาจถึง 65 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบว่าเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงระดับนี้ได้แก่ *Thermus* sp. มีบทบาทสำคัญในช่วงที่อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักสูง บางครั้งจะพบว่าสามารถทนต่อความร้อนได้สูง ได้แก่ *Thermus aquaticus* เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พวก *Bacillus* spp. เป็นพวกที่สามารถสร้างสปอร์ได้ สปอร์จะมากขึ้นตั้งแต่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ยังพบ *Clostridium* spp. ซึ่งสามารถสร้างสปอร์ได้เช่นกัน แต่เจริญในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียโดยทั่วไปเจริญได้ดีในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ค่อนข้างเป็นกลางอยู่ในช่วงประมาณ 6 ถึง 8 และไม่ชอบความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำกว่า 5.5

2. แอกติโนมัยซีต

เป็นจุลินทรีย์ที่จัดเป็นพวกแบคทีเรียเพราะมีผนังเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์ ตลอดจนขนาดที่เหมือนกับแบคทีเรีย คือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์อยู่ในช่วงประมาณ 0.05 ถึง 2 ไมโครเมตร แต่มีลักษณะรูปร่างยืดยาวเป็นเส้นใยคล้ายรา เพียงแต่มีขนาดเล็กและสั้นกว่ามากคือมีความยาวเพียงแค่ประมาณ 10 ถึง 15 ไมโครเมตรเท่านั้น แอกติโนมัยซีตสามารถสร้างสปอร์เพื่อแพร่พันธุ์ได้คล้ายเชื้อราและเป็นสปอร์ที่ไม่ทนทานต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งต่างจาก endospore ของแบคทีเรีย โดยทั่วไปแอกติโนมัยซีตมีอัตราการเจริญช้ากว่าแบคทีเรียและรา เนื่องจากไม่มีการเจริญเติบโตด้านปลายเส้นใยและแตกแขนงแบบรา และไม่มีการแบ่งเซลล์แบบ binary fission เหมือนแบคทีเรีย แอกติโนมัยซีต เจริญได้ไม่ดีเมื่ออยู่ในสภาพอากาศไม่พอเพียง เนื่องจากจุลินทรีย์พวกนี้ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่เจริญอย่างอิสระแบบ saprophyte โดยใช้อินทรีย์วัตถุเป็นอาหาร แอกติโนมัยซีตเจริญได้ดีในความเป็นกรด-ด่างเป็นกลางหรือด่างอ่อน แต่จะไม่ทนต่อสภาพที่เป็นกรด ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีตเมื่อเจริญเป็นไฮโซเลตบนวัสดุที่ใช้ทำปุ๋ยหมักจะเห็นเป็นจุดสีขาวคล้ายผงปนหลังจากอุณหภูมิขึ้นถึงจุดสูงมาก เชื้อแอกติโนมัยซีตสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิสูงถึง 65 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่า 75 องศาเซลเซียส การเจริญจะลดลงหรือหยุดชะงัก แอกติโนมัยซีตที่มักพบอยู่เสมอในกองปุ๋ยหมักได้แก่พวก *Thermoactinomyces* sp. และ *Thermomonospora* sp. เป็นพวกที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ อาจพบพวก *Streptomyces* spp. และ *Micropolyspora* spp. ในกองปุ๋ยได้เช่นกัน เนื่องจากแอกติโนมัยซีตเจริญช้ากว่า แบคทีเรียและรา แอกติโนมัยซีตจึงปรับตัวเพื่อการอยู่รอดโดย เชื้อจุลินทรีย์พวกนี้มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีความซับซ้อนที่ย่อยสลายยาก เช่น เซลลูโลส ลิกนิน ไคติน และ โปรตีนที่มีอยู่ในกองปุ๋ยหมัก รวมทั้งปรับตัวให้มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่สภาวะแห้งแล้ง ความเป็นกรด-ด่างมีสภาพเป็นด่าง หรือขณะที่มีอุณหภูมิสูง ปริมาณแอกติโนมัยซีตที่พบในกองปุ๋ยที่หมักสมบูรณ์มีค่าประมาณ 10^6 ถึง 10^8 เซลล์ต่อปุ๋ยหมักแห้ง 1 กรัม ปริมาณ อาจมีการผันแปรไปจากนี้ ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมและวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก

3. รา

เป็นจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างเป็นเส้นใย เจริญโดยการยืดยาวและแตกแขนงของเส้นใยเป็นหลัก สามารถสร้างสปอร์ได้ เป็นพวก aerobic heterotroph เจริญได้ดีในช่วง pH ที่เป็นกลาง ทนต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดได้ดีกว่า แบคทีเรีย และแอกติโนมัยซีต เจริญได้ดีใน pH ช่วง 4-8 บทบาทของเชื้อราสามารถย่อยสลายลิกนิน และสารฮิวมิกได้ดี ในกองปุ๋ยหมักจะพบราอยู่เสมอ ชนิดและปริมาณของราจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก ความชื้น และอุณหภูมิของสภาพแวดล้อม ในกองปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์จะมีจำนวนราประมาณ 10^3 ถึง 10^4 เซลล์ต่อปุ๋ยหมักแห้ง 1 กรัม การที่อุณหภูมิสูงขึ้นและความชื้นสูงขึ้น เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียมากกว่ารา ดังนั้นจึงมักตรวจพบราเจริญอยู่บริเวณผิวนอกของกองปุ๋ยหมักซึ่งมีอุณหภูมิและความชื้นต่ำกว่าในกองปุ๋ยหมักในช่วงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถพบราได้ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 65 องศาเซลเซียส จะไม่พบราเลย และเมื่ออยู่ในสภาพที่แห้งจะพบว่าอุณหภูมิสูงถึง 62 ถึง 65 องศาเซลเซียส ยังสามารถตรวจพบราได้ ปัจจัยต่างๆ ของสภาพแวดล้อมเป็นตัวควบคุม และคัดเลือกราที่มีความสามารถในการเจริญและดำเนินกิจกรรมในกองปุ๋ยหมักในระยะแรกซึ่งอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นมักจะตรวจพบราพวก *Geotrichum candidum* และ *Aspergillus fumigates* และเมื่ออุณหภูมิสูงถึงระดับ 45 ถึง 55 องศาเซลเซียส มักจะตรวจพบพวก *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp. และ *Mucor* sp. เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านี้อาจจะพบพวก *Penicillium duponti* อย่างไรก็ตามเชื้อราดังกล่าวจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมและวัสดุที่ใช้

สามารถสรุปชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากกองปุ๋ยหมัก ดังตารางที่ 2.4 (พิทยากร และเสียงแจ้ว, 2540 อ้างถึงใน อานัฐ ตันโช, 2549)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.4 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากกองปุ๋ยหมัก (พิทยากร และเสียงแจ้ว, 2540 อ้างถึงใน อานัฐ ตันโช, 2549)

เชื้อรา		แบคทีเรีย	แอกติโนมัยซีต
อุณหภูมิปานกลาง	อุณหภูมิสูง		
<i>Alternaria tenius</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Achromobacter</i> sp.	<i>Micromonospora vulgaris</i>
<i>Aspergillus amstellodami</i>	<i>Chaetomium thermophilum</i>	<i>Angiococcus</i> sp.	<i>Nocardia brasilensis</i>
<i>Cephalosporium</i> sp.	<i>Humicola insolens</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Streptomyces thermofuscus</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Humicola lanuginosa</i>	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	<i>Streptomyces thermophilus</i>
<i>Coprinus cinereus</i>	<i>Mucor pusillus</i>	<i>Cellfacicula</i> sp.	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>
<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Penicillium duponti</i>	<i>Cellulomonas</i> sp.	<i>Streptomyces thermovulgaris</i>
<i>Paecilomyces</i> sp.	<i>Sporotrichum thermophile</i>	<i>Cellulovibrio</i> sp.	<i>Streptomyces violacesus-ruber</i>
<i>Ployporus versicolor</i>	<i>Talaromyces thermophilis</i>	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>
<i>Scopulariopsis brevicantis</i>	<i>Thermoascus aurantiacus</i>	<i>Myxococcus virescens</i>	<i>Thermoactinomyces curvata</i>
<i>Trichoderma viridae</i>		<i>Myxococcus fulvus</i>	<i>Thermopolyspora polyspora</i>
		<i>Polyangium</i> sp.	<i>Thermomonospora fusca</i>
		<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Streptosporangium</i> sp.
		<i>Sorangium</i> sp.	
		<i>Sporocytophaga</i> sp.	
		<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	
		<i>Thiobacillus denitrificans</i>	

2.7 หลักการพิจารณาปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์

เมื่อกองปุ๋ยหมักเสร็จแล้ว จะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีทั้งที่มองเห็นได้และที่มองเห็นไม่ได้ ที่มองเห็นได้ก็คือ ชิ้นส่วนของพืชจะมีขนาดเล็กลงและยุบตัวลงกว่าเมื่อเริ่มกอง สีของเศษพืชก็จะเปลี่ยนไป ส่วนที่มองเห็นไม่ได้ก็คือปริมาณของจุลินทรีย์ การสังเกตว่าปุ๋ยหมักสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่ มีข้อสังเกตง่าย ๆ ดังนี้

1. สีของกองปุ๋ยหมักจะเข้มขึ้นกว่าเมื่อเริ่มกอง อาจมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ
2. อุณหภูมิภายในของปุ๋ยหมักและอุณหภูมิภายนอกใกล้เคียงกันหรือแตกต่างกันน้อยมาก
3. ใช้นิ้วมือบีบตัวอย่างปุ๋ยหมักดูเศษพืชจะยุ่ยและขาดออกจากกันได้ง่าย ไม่แข็งกระด้าง
4. พบต้นพืชที่มีระบบรากลึกขึ้นบนกองปุ๋ยหมัก แสดงว่าปุ๋ยหมักสลายตัวดีแล้ว
5. สังเกตกลิ่นของปุ๋ยหมัก ถ้าเป็นปุ๋ยหมักที่ใช้ได้ ปุ๋ยหมักจะมีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน
6. วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการดูธาตุคาร์บอน และไนโตรเจน ถ้ามีอัตราส่วนเท่ากันหรือต่ำกว่า 20 : 1 ใช้เป็นปุ๋ยหมักได้แล้ว

2.8 มาตรฐานคุณภาพของปุ๋ยหมัก

ปัจจุบัน มีการส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อตอบสนองนโยบายวาระแห่งชาติ ในการปรับปรุงบำรุงดิน และมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาใช้ในการปรับปรุงดิน เพิ่มคุณภาพของธาตุอาหารพืช เนื่องจากการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้นนี้จึงจำเป็นต้องมีการควบคุมมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อให้ปุ๋ยที่ได้มีคุณภาพเหมือนกัน เพื่อให้เป็นไปตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 มาตรา 55 กรมวิชาการเกษตรจึงกำหนดประกาศมาตรฐานการปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548 ดังต่อไปนี้

- 1 ขนาดของปุ๋ย ไม่เกิน 12.5X12.2 มิลลิเมตร
- 2 ปริมาณความชื้นและสิ่งที่ระเหยได้ ไม่เกิน 35 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
- 3 ปริมาณหิน และกรวด ขนาดใหญ่กว่า 5 มิลลิเมตร ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
- 4 พลาสติก แก้ว วัสดุมีคม และโลหะอื่นๆ ต้องไม่มี
- 5 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ไม่น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
- 6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 5.5-8.5
- 7 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ไม่เกิน 20:1
- 8 ค่าการนำไฟฟ้า (EC:Electrical Conductivity) ไม่เกิน 6 เดซิซีเมน/เมตร
- 9 การย่อยสลายที่สมบูรณ์ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

10 ปริมาณธาตุอาหารหลัก

ไนโตรเจน (total N) ไม่น้อยกว่า 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

ฟอสฟอรัส (total P2O5) ไม่น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

โพแทสเซียม (total K2O) ไม่น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

11 สารหนู (Arsenic) ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

แคดเมียม (Cadmium) ไม่เกิน 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

โครเมียม (Chromium) ไม่เกิน 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ทองแดง (Copper) ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ตะกั่ว (Lead) ไม่เกิน 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ปรอท (Mercury) ไม่เกิน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

2.9 ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก

ดินในประเทศไทยที่เป็นดินทรายจะมีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำ และเม็ดดินจะไม่เกาะตัวกันได้ดี ทำให้การอุ้มน้ำของดินน้อยลง ส่วนดินเหนียวที่ขาดอินทรีย์วัตถุดินจะแน่นทึบ ออกซิเจนในดินจะมีน้อย รากของพืชจะไม่สามารถไชซอนไปหาอาหารบริเวณไกลๆได้ ในการพิจารณาอินทรีย์วัตถุในดิน กรมพัฒนาที่ดินได้กำหนดมาตรฐานของระดับอินทรีย์วัตถุในดินไว้ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ระดับอินทรีย์วัตถุที่ใช้เป็นมาตรฐาน (มุกดา สุขสวัสดิ์, 2544)

ระดับ	อินทรีย์วัตถุ (%)
ต่ำมาก	< 0.5
ต่ำ	0.5 – 1.0
ต่ำปานกลาง	>1.0 – 1.5
ปานกลาง	>1.5 – 2.5
สูงปานกลาง	>2.5 – 3.5
สูง	>3.5 – 4.5
สูงมาก	> 4.5

ถ้าดินมีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำถึงต่ำมาก คือต่ำกว่า 0.5 และ 0.5 ถึง 1.0 เปอร์เซ็นต์ ต้องเพิ่มอินทรีย์วัตถุลงไปดินจำนวนมาก ถ้าดินมีอินทรีย์วัตถุตั้งแต่ 1.0 ถึง 2.0 เปอร์เซ็นต์ ดินมี

อินทรีย์วัตถุปานกลาง ควรเพิ่มอินทรีย์วัตถุลงไปในดินบ้าง ถ้าดินมีอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับ 3 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ ไม่จำเป็นต้องเพิ่มอินทรีย์วัตถุลงไปในดิน

การใส่ปุ๋ยหมักลงไปในดินเป็นรูปแบบหนึ่งในการเพิ่มอินทรีย์วัตถุและฮิวมัสให้แก่ดิน ซึ่งมีอิทธิพลต่อสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพของดิน ซึ่งสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

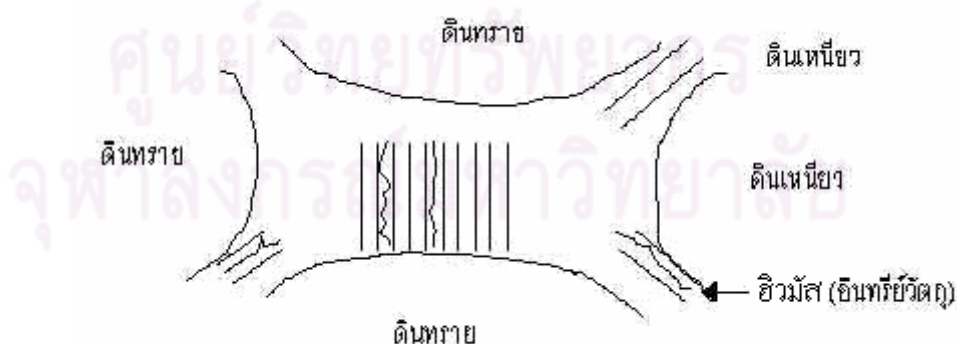
2.9.1 สมบัติทางด้านกายภาพของดิน

2.9.1.1 สีของดิน อินทรีย์วัตถุทำให้ดินเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีดำ เนื่องจากฮิวมัสที่ได้จะมีสีน้ำตาลเข้ม มีขนาดของอนุภาคละเอียดมีพื้นที่ผิวจำนวนมากสามารถคลุมเคล้ากับส่วนต่างๆของดินได้ดี

2.9.1.2 อินทรีย์วัตถุในดิน มีพื้นที่ผิวมากทำให้ดินมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดีขึ้น

2.9.1.3 อินทรีย์วัตถุช่วยให้อนุภาคของดินจับตัวกันเป็นก้อน ทำให้ดินมีโครงสร้างที่ดีขึ้น มีการถ่ายเทอากาศได้ดี มีการระบายน้ำได้ดี ทำให้ดินมีความชุ่มชื้น

2.9.1.4 อินทรีย์วัตถุจะทำหน้าที่เข้าไปแทรกอยู่ในดินเหนียวและดินทราย ดังรูปที่ 2.5 จะช่วยให้อนุภาคของดินทั้งสองแยกออกจากกัน ทำให้ดินร่วนหรือดินโปร่งขึ้น ทำให้อากาศสามารถแทรกเข้าไปอยู่ในระหว่างอนุภาคของดินเหนียว มีการระบายน้ำ อากาศ และน้ำแร่ธาตุอาหารที่มีอยู่ในดิน เคลื่อนย้ายจากที่หนึ่งไปอีกที่หนึ่ง ง่ายต่อการถูกดึงดูดไปใช้จากรากพืช ทำให้พืชแข็งแรง สมบูรณ์ มีความทนทานต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืช



รูปที่ 2.5 อินทรีย์วัตถุที่แทรกเข้าไปอยู่ในดินเหนียวและดินทราย (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

2.9.2. สมบัติทางด้านเคมีของดิน

2.9.2.1 อินทรีย์วัตถุ เป็นแหล่งให้ธาตุ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และกำมะถัน ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยามิเนรัลไลเซชัน (mineralization) ซึ่งจะปลดปล่อยธาตุดังกล่าวออกมาอย่างช้าๆ ซึ่งปริมาณธาตุไนโตรเจนทั้งหมดขึ้นอยู่กับปริมาณอินทรีย์วัตถุที่อยู่ในดินดังตารางที่ 2.6

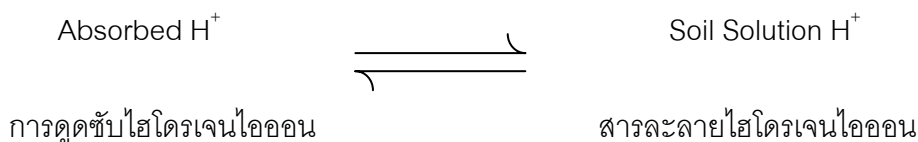
ตารางที่ 2.6 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในอินทรีย์วัตถุระดับต่างๆ (มุกดา สุขสวัสดิ์, 2544)

อินทรีย์วัตถุในดิน (%)	ไนโตรเจนทั้งหมด (ก.ก./ไร่)
0.5	90
1.0	180
2.0	360
3.0	540
4.0	720
5.0	900

2.9.2.2 อินทรีย์วัตถุในดินมีความสามารถดูดซับแคตไอออน (cation) ได้ดี เนื่องจากอินทรีย์วัตถุมีสารประกอบจำพวก คาร์บอกซิลิก (carboxylic group ; COOH) และหมู่ ฟีนอลิก (phenolic group ; OH) เมื่อสารประกอบดังกล่าวแตกตัวจะได้ประจุลบ แคตไอออนที่อยู่ในดินสามารถรวมกับสารประกอบดังกล่าวได้ ทำให้ธาตุอาหารที่เป็นไอออนบวก โดยเฉพาะธาตุอาหารเสริม ไม่สูญเสียไปกับการชะล้าง

2.9.2.3 อินทรีย์วัตถุในดิน จะช่วยลดการตรึงฟอสฟอรัสของดินที่มีเหล็ก และอลูมิเนียมอยู่มากและลดความเป็นพิษของโลหะดังกล่าว เนื่องจากอินทรีย์วัตถุมีสารประกอบจำพวกคาร์บอกซิลิก (carboxylic group ; COOH) และหมู่ ฟีนอลิก (phenolic group ; OH) ซึ่งสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำกับพวกโลหะ (เหล็ก อลูมิเนียม และแมงกานีส) แทนฟอสฟอรัส

2.9.2.4 ช่วยเพิ่มความต้านทานการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (buffer capacity) เนื่องจากอินทรีย์วัตถุในดินมีจำนวนประจุลบอยู่เป็นจำนวนมากสามารถจะดูดซับไอออนบวกได้เป็นปริมาณมากด้วย ดังนั้นดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูงสามารถต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช ได้ดี ดังสมการ



ปฏิกิริยาที่ได้จากสมการจะเป็น ปฏิกิริยาสมดุล (equilibrium reaction) ไม่ว่าจะใส่สารประกอบที่มีความเป็นกรดหรือด่างลงไปในดินก็ไม่สามารถทำให้ค่าพีเอชของดินเพิ่มขึ้นหรือลดลง

2.9.3. สมบัติทางชีวภาพของดิน

2.9.3.1 อินทรีย์วัตถุในดิน จะเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ในดินให้จุลินทรีย์ในดินสามารถทำกิจกรรมต่างๆได้ดีขึ้น

2.9.3.2 ช่วยยับยั้งการเจริญและความสามารถในการก่อให้เกิดโรคพืชของเชื้อโรค เนื่องจากสารปฏิชีวนะที่ขับออกมาจากเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด การเกิดการแข่งขันกันระหว่างจุลินทรีย์ดินกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และการที่จุลินทรีย์ดินเป็นศัตรูกับเชื้อโรคพืช

2.10 ทะลายปาล์มน้ำมัน

ทะลายปาล์มน้ำมัน เป็นส่วนเหลือจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มในโรงงาน ซึ่งปาล์มน้ำมัน เป็นพีชน้ำมันยืนต้นขนาดใหญ่ การเพาะปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทยเป็นอันดับ 4 ของโลก โดยจังหวัดที่มีการเพาะปลูกมากที่สุดคือ จังหวัดกระบี่ ผลผลิตปาล์มน้ำมันสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งด้านอุปโภคและบริโภค โดยเฉพาะในประเทศไทยใช้น้ำมันปาล์มในกิจการต่างๆ คือ ทำน้ำมันพืช สบู่ ครีมเทียม นมข้นหวานและจืด เนยขาว เนยเทียม เครื่องสำอาง น้ำมันหล่อลื่น ยางรถยนต์ ใช้ในอุตสาหกรรมขนมอบและอาหารขบเคี้ยว อุตสาหกรรมบะหมี่สำเร็จรูป อุตสาหกรรมพลาสติก และใช้ทำน้ำมันไบโอดีเซล เป็นต้น ปริมาณการใช้น้ำมันปาล์มของประเทศในแต่ละปีสูงมาก ส่งผลให้ปริมาณทะลายปาล์มน้ำมันเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์มมากขึ้นด้วย โดยในปี พ.ศ. 2543 ประเทศไทยมีผลผลิตทะลายปาล์มสด 3.3 ล้านตัน เมื่อนำเข้าสู่โรงงานผลิตน้ำมันปาล์มจะมีทะลายปาล์มน้ำมันเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม 1.4 ล้านตัน สำหรับในปี พ.ศ. 2546 นั้น เนื่องจากการให้ผลผลิตปาล์มน้ำมันทั้งประเทศ 1.8 ล้านไร่ ให้ผลผลิต 4.9 ล้านตัน (พรชัย เหลืองอากาศ, 2549) ปริมาณทะลายปาล์มน้ำมันเหลือทิ้งมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี จากตัวเลขเบื้องต้น เปรียบเทียบทะลายสดปาล์มน้ำมันเข้าสู่โรงงาน 100 กิโลกรัม หรือ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผ่านขั้นตอนแยกผลปาล์มออก จะเหลือทะลายเปล่าคิดเป็นน้ำหนัก 25 กิโลกรัม หรือ 25เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหากปล่อยไว้จะเป็นการเพิ่มปริมาณขยะเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อม หากจำกัด

ทั้งจะทำให้สูญเสียทรัพยากรไปโดยเปล่าประโยชน์ เกษตรกรจึงนำทะเลาะปาล์มกลับไปคลุมรอบโคนต้นปาล์มที่ยังเล็กเพื่อช่วยรักษาความชื้น ป้องกันวัชพืช ซึ่งทำหน้าที่ในระยะเวลาสั้น และการขนส่งทะเลาะปาล์มเหลือทิ้งไปยังสวนของเกษตรกรนั้นมีราคาแพง การนำทะเลาะปาล์มคลุมโคนต้นหากใช้ปริมาณมากจะมีความร้อนที่เกิดจากการย่อยสลายวัสดุ ก่อให้เกิดใบไหม้ การทำปุ๋ยหมักจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุดในการนำของเหลือทิ้งทางชีวภาพกลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์

องค์ประกอบของทะเลาะปาล์มน้ำมัน ประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำ 70 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่เป็นของแข็ง 30 เปอร์เซ็นต์ โดยประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 แสดงสารประกอบอินทรีย์ในทะเลาะปาล์มน้ำมัน (Thambirajah, 1995)

สารประกอบอินทรีย์	เปอร์เซ็นต์ (%)
ไฮโดรคาร์บอน	65.5
ลิกนิน	21.2
ซีเถ้า	3.5
โปรตีน	5.6
ไขมัน	4.1

จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบทะเลาะปาล์มน้ำมันจะมีแร่ธาตุหลายอย่างโดยเฉพาะธาตุโพแทสเซียมสูงถึง 30 ถึง 35 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และมีแมกนีเซียม 3 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (พรชัย เหลืองอากาศ, 2549)

2.11 การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก

การปรับปรุงกระบวนการหมักปุ๋ยโดยการใส่แหล่งจุลินทรีย์ ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของวัสดุอินทรีย์และแหล่งจุลินทรีย์ที่นำมาทำปุ๋ยหมัก โดยขึ้นอยู่กับความความสามารถของแหล่งจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในวัสดุหมัก เช่น ไขมัน โปรตีน โดยเฉพาะลิกโนเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบหลักในเซลล์พืชที่นำมาทำปุ๋ยหมัก (Vargas-García, 2007) นอกจากแหล่งจุลินทรีย์แล้ว อัตราส่วนคาร์บอนและไนโตรเจนที่มีอยู่ในวัสดุอินทรีย์ และอากาศ ก็เป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดอัตราการย่อยสลายในกระบวนการหมักปุ๋ย ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น

2.12 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

Thambirajah และ Kuthubutheen (1989) ได้ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักจากกากผลปาล์ม กากผลปาล์มร่วมกับมูลเปิด-ไก่ แบบ layer deep-litter ผสมยูเรีย และกากผลปาล์มร่วมกับมูลเปิด-ไก่ แบบ broiler floor-litter ผสมยูเรีย หมักเป็นเวลา 8

สัปดาห์ เมื่อหมักเสร็จสมบูรณ์แล้วพบว่า มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงเป็น 26:1 17:1 และ 16:1 ตามลำดับ ทุกชุดการทดลองอัตราส่วนของราชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic fungi) และราชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic fungi) เพิ่มขึ้นระหว่างการหมัก และที่ระยะคงที่ (cooling phase) ราชอบอุณหภูมิสูงยังคงมีจำนวนมาก แบคทีเรียชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic bacteria) ยังคงมีจำนวนมากเมื่ออยู่ที่ thermophile เมื่อการหมักเสร็จสมบูรณ์ ปริมาณคาร์บอน และเซลลูโลสลดลง สำหรับไนโตรเจนมีปริมาณเพิ่มขึ้น

Thambirajah และคณะ (1995) ได้ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันโดยใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่แตกต่างกัน ได้แก่ ปุ๋ยคอกแพะ ปุ๋ยคอกโค และปุ๋ยคอกไก่ โดยใส่ปุ๋ยคอกต่อเศษทะเลายปาล์ม 25 กิโลกรัม ต่อ 90 กิโลกรัม หมักเป็นเวลา 60 วัน เมื่อหมักเสร็จสมบูรณ์แล้ว พบว่าปุ๋ยหมักทะเลายปาล์มที่ใส่ปุ๋ยคอกแพะ ปุ๋ยคอกโค และปุ๋ยคอกไก่ มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงเป็น 14:1 18:1 และ 12:1 ตามลำดับ ในขณะที่ ปุ๋ยหมักทะเลายปาล์มที่ไม่ใส่ปุ๋ยคอกมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงเป็น 24:1 สำหรับไนโตรเจนมีปริมาณเพิ่มขึ้น

Gestel และคณะ (2003) ได้ศึกษาจุลินทรีย์ที่พบเป็นจำนวนมากสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดีเซลที่ปนเปื้อนในดิน โดยการหมัก ซึ่งใช้ดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดีเซลร่วมกับวัสดุอินทรีย์ ได้แก่ เศษผัก เศษผลไม้ ของเหลือทิ้งจากสนามหญ้า ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 หมักเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยมีชุดการทดลองคือ วัสดุอินทรีย์ วัสดุอินทรีย์ที่ใส่ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซล ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลบ่มที่อุณหภูมิห้อง ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลบ่มที่อุณหภูมิเดียวกับในกองปุ๋ยหมักซึ่งเหมือนกับ 2 ชุดการทดลองแรก พบว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ที่ใส่ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซล สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด เมื่อศึกษาจุลินทรีย์ที่พบเป็นจำนวนมากในปุ๋ยหมักชุดนี้ ในระยะแรกของการหมักจนถึงระยะอุณหภูมิสูง (thermophilic phase) พบแบคทีเรียรูปท่อนพวก *Bacillus* sp. ระยะคงที่และกระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์ (cooling and maturation phase) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Gordona* sp. *Micrococcus* sp. และ *Actinomadura* sp. แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Acinetobacter* sp. *Pseudomonas* sp. และ *Ochrobactrum* สำหรับราที่พบเป็นจำนวนมาก ได้แก่ *Gliocladium* sp. *Mucor* sp. *Scopulariopsis* sp. และ *Trichoderma* sp. พบว่าในปุ๋ยหมักที่มีเศษไม้ (wood chips) อุณหภูมิสูงที่สามารพบ *Trichoderma* sp. ได้

Goyal และคณะ (2005) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยเพื่อเลือกพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการพิจารณาระยะเวลาการหมักปุ๋ย โดยการหมักปุ๋ยหมักจากวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 4 ต่อ 1 ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปุ๋ยหมักดินหม้อกรองน้ำตาล ปุ๋ยหมักมูลเป็ดไก่ และปุ๋ยหมักผักตบชวา เก็บตัวอย่างในวันที่ 0 7 14 21 28 30 45 60 และ 90 วัน เพื่อวิเคราะห์อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น คาร์บอนละลายน้ำ และสารฮิวมัส พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ในวันที่ 90 ของการหมัก ลดลงจากวันแรกในทุกวัสดุอินทรีย์ ยกเว้นมูลเป็ดไก่เนื่องจากการสูญเสียไนโตรเจนไปในรูปของแอมโมเนีย และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในทุกวัสดุอินทรีย์มีคุณสมบัติตามมาตรฐานคือเท่ากับหรือน้อยกว่า 20 ต่อ 1 ยกเว้นปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโค อัตราส่วน 4 ต่อ 1 ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น ในวันที่ 28 ของการหมัก ในปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโค อัตราส่วน 4 ต่อ 1 มีค่าสูงที่สุดถึง 55 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปุ๋ย 100 กรัม ทำให้ทราบว่ากระบวนการหมักยังไม่สมบูรณ์ คาร์บอนละลายน้ำจากวันแรกจนถึงวันที่ 90 ของการหมัก มีแนวโน้มลดลงในทุกวัสดุอินทรีย์ และพบสารฮิวมัสในปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโค อัตราส่วน 4 ต่อ 1 สูงที่สุด ถึง 91 มิลลิกรัมต่อปุ๋ยหมัก 1 กิโลกรัมและหากต้องการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดินควรใช้กากอ้อยผสมมูลโค อัตราส่วน 4 ต่อ 1 เป็นแหล่งฮิวมัส จากการวิเคราะห์ทำให้ทราบว่าต้องใช้พารามิเตอร์หลายชนิดดังกล่าวข้างต้นเพื่อการพิจารณาระยะเวลาการหมักปุ๋ยจากวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งชนิดต่างๆ

Albuquerque และคณะ (2006) ได้ศึกษาการทำปุ๋ยหมักโดยใช้ bulking agent เพื่อเพิ่มพื้นที่ของการถ่ายเทอากาศในการหมัก alperujo ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันมะกอก โดยศึกษาและเปรียบเทียบ bulking agent 2 ชนิด คือ ก้านองุ่น และใบมะกอก โดยหมักปุ๋ยเป็นเวลา 34 สัปดาห์ ติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักโดยใช้พารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้ การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ สภาพความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณอินทรีย์วัตถุทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน อินทรีย์คาร์บอนละลายน้ำ คาร์โบไฮเดรต ฟีนอล ไซมัน และความชื้นต่อพืช พบว่า ก้านองุ่นสามารถเพิ่มพื้นที่ของการถ่ายเทอากาศในกระบวนการหมัก alperujo ได้ดีกว่าใบมะกอก ปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์แล้วทั้งสองชนิด ไม่เป็นพิษต่อพืช และพารามิเตอร์อื่นๆ ให้ผลใกล้เคียงกันอย่างมีนัยสำคัญ

Chikae และคณะ (2006) ได้ศึกษาการประเมินระยะเวลาในการหมักปุ๋ยจากเศษอาหารและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ร่วมกับแหล่งจุลินทรีย์ทางการค้า 2 ชนิด และใช้วิธีการหมัก 2 แบบ คือ หมักในถังหมักใส่อากาศ และหมักแบบกลับกอง การประเมินนี้ใช้พารามิเตอร์ในการ

ทดสอบ 32 พารามิเตอร์พบว่า การประเมินระยะเวลาในการหมักปุ๋ยที่สมบูรณ์นั้นมีเพียงการทดสอบโดยใช้ สารละลายปุ๋ยหมัก (water extract) ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณแอมโมเนีย และปริมาณไนเตรท ซึ่งการประเมินนี้สามารถนำไปใช้กับปุ๋ยหมักทางการค้าได้

Mayende และคณะ (2006) ได้ศึกษาการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุโดยเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส โดยศึกษาในกองปุ๋ยหมักจากพืชตระกูลถั่ว (lucerne) และปุ๋ยหมักจากของเหลือทิ้งจากสนามหญ้า (refuse garden) จำแนกชนิดของจุลินทรีย์โดยการวิเคราะห์ลำดับเบสของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA (16S rDNA sequence analysis) พบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เป็น *Bacillus* sp.



ศูนย์วิทยพัทยาการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งแบบละเอียด (digital scale) บริษัท Sartorius, Germany
- เครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก (magnetic stirrer) บริษัท Barnstead, U.S.A.
- เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อความดันสูง (autoclave) บริษัท Ta Chang Medical instrument, Taiwan
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) รุ่น Clean บริษัท Lab service Ltd., Part.
- ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven) Mammert รุ่น D06063 บริษัท Jebsen and Jessen, Germany)
- เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking incubator) บริษัท Vision Scientific Co., Ltd
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา (compound microscopes) รุ่น BX51 บริษัท Olympus optical Co., Ltd. Japan
- กล้องสเตอริโอ (stereoscope) รุ่น SZ60 บริษัท Olympus optical Co., Ltd. Japan
- เครื่องปั่นเหวี่ยงปรับความเย็น (micro refrigerated centrifuge) รุ่น 3700 บริษัท Kubota Corporation, Tokyo Japan)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (Micro centrifuge) รุ่น CM-610T บริษัท Hslangtai
- เครื่องกำเนิดรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV – Transilluminator) รุ่น TM-10E ของบริษัท
- เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Authorized thermal cycler) รุ่น TP 600 ของบริษัท TaKaRa
- เครื่องตรวจสอบดีเอ็นเอในสนามไฟฟ้า (Electrophoresis chamber set) รุ่น Mupid-ex บริษัท Avance
- เครื่องปั่นผสม (Vortex Mixer) รุ่น VX-100 บริษัท Labnet International, Inc.
- เครื่อง Digital Dry Bath บริษัท Labnet International, Inc.
- ตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำ (deep freezer) – 20 องศาเซลเซียส บริษัท Sharp
- ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส บริษัท Sanyo
- เครื่อง Microwave รุ่น MW-2020 บริษัท Turborwa
- เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดตั้งโต๊ะ บริษัท Phillips
- เครื่องย่อยปฏิกิริยา (Kjeldahltherm) บริษัท Gerhardt, Germany
- เครื่อง Micro Kjeldahl บริษัท Gerhardt, Germany

- Kjeldahl flask บริษัท Gerhardt, Germany
- หลอดย่อย (Kjeldatherm tube) บริษัท Gerhardt, Germany
- เทอร์มิเตอร์ (Thermometer) รุ่น CT-260 บริษัท Custom, China
- เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter) รุ่น Twin pH meter B-212 บริษัท Horiba, Japan
- โถดูดความชื้น (Desicators)
- ถ้วยโลหะ (moister can)
- หลอดทดลอง (test tube) บริษัท Pyrex, USA
- หลอดฝาเกลียว (Screw cap) บริษัท Pyrex, USA
- กระบอกตวง (Cylinder) บริษัท Pyrex, USA
- ขวดรูปหม้อ (Flask) บริษัท Scott Duran, Germany
- ขวดฝาเกลียว (Vial) บริษัท Pyrex, USA
- ไมโครปิเปตต์ (Automatic adjustable micropipette) P2 (0.1-2 µl) P10 (0.5-10 µl) P20 (5-20 µl) P200 (20-200 µl) P1000 (0.1-1 ml) บริษัท Gilson France
- ไมโครปิเปตต์ (Automatic adjustable micropipette) P (10 ml) บริษัท Lio lab Ltd., Part.
- ปิเปตต์ทีป (Pipette tip) บริษัท Axygen Scientific, Inc. USA
- หลอดไมโครเซนตริฟิวส์ (Micro centrifuge tubes) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร บริษัท Axygen Scientific, Inc. USA
- หลอดพีซีอาร์ (PCR tubes) ขนาด 200 ไมโครลิตร บริษัท Axygen Scientific, Inc. USA
- จานอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสติก (Petridish) บริษัท greiner bio-one GmbH, Austria
- ตัวกรอง (Acrodisc® syringe filters) pore size 0.2 ไมโครเมตร บริษัท Pall Corporation, USA
- เครื่องตัดจุกคอร์ก เบอร์ 7 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร (cork borer)

3.2 สารเคมี

- แบคโต-ทริบโตน (bacto-tryptone) บริษัท Difco Laboratories, U.S.A.
- แบคโต-เปปโตน (bacto-peptone) บริษัท Difco Laboratories, U.S.A.
- เนื้อสกัด (beef extract) บริษัท Hi media, India
- สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) บริษัท Hi media, India
- สารสกัดจากมอลต์ (malt extract) บริษัท Hi media, India

- โซเดียมคาซิเนต (Sodium caseinate) บริษัท Fluka, Switzerland
- คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethylcellulose) บริษัท Fluka, Switzerland
- หางนมผง (Powdered skim milk)(nonfat) บริษัท Scharlau, Spain
- น้ำตาลกลูโคส (glucose) บริษัท Hi media, India
- น้ำตาลแมนนิทอล (D-mannitol) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โฟสเฟอรัสไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) บริษัท Merck, Germany
- ไดโพสเฟอรัสไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) บริษัท Merck, Germany
- โซเดียมไนเตรต (NaNO_3) บริษัท Merck, Germany
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Merck, Germany
- โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โรดามีน บี (rhodamine B) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- 2-โพรพานอล (2-propanol: CH_3CHOH) บริษัท Lab scan, Ireland
- ไตรตอน เอกซ์-100 (triton x-100) บริษัท Scharlau, Spain
- ทริปส์ (tris-HCl) บริษัท Scharlau, Spain
- คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- โพแทสเซียมไดโครเมต ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- กรดฟอสฟอริก (conc. H_3PO_4) บริษัท JT Baker
- โซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- methylene blue บริษัท Fluka, Switzerland
- methyl red บริษัท Fluka, Switzerland
- แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ บริษัท Ajax Finechem, Australia
- คองโก เรด (Congo red) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- เฟอร์รัสคลอไรด์ (FeCl_3) บริษัท Ajax Finechem, Australia
- แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) บริษัท Fluka, Switzerland
- Rose Bengal บริษัท Fluka, Switzerland

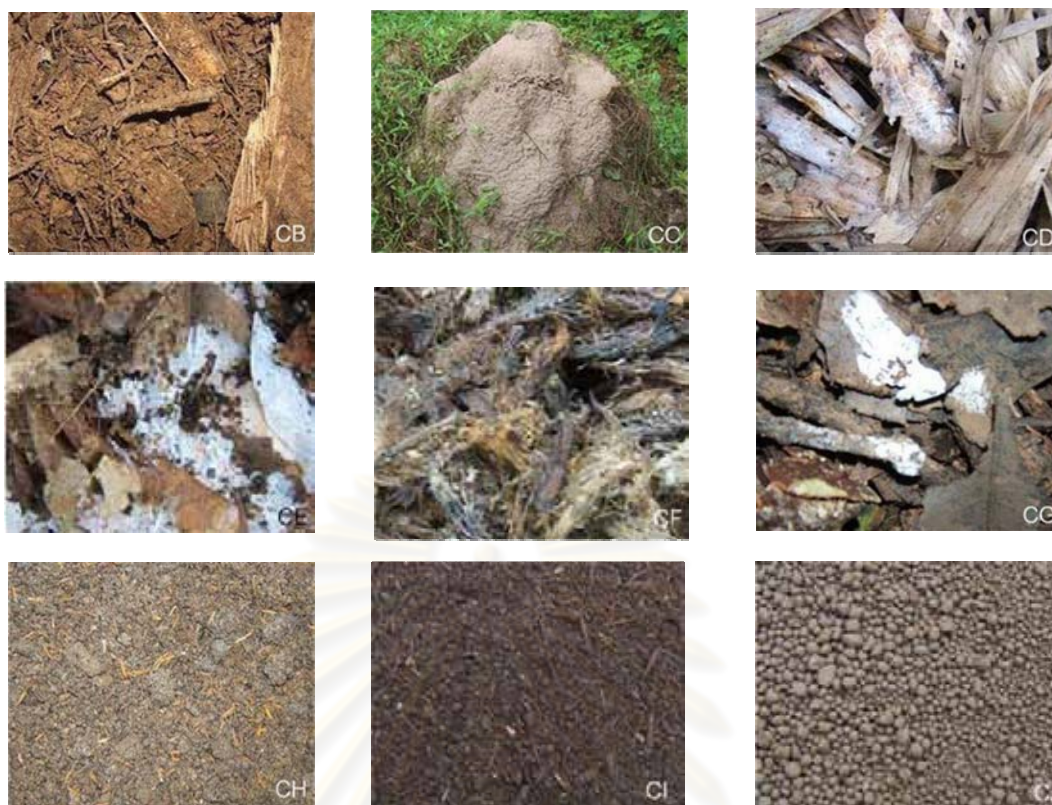
3.3 เก็บตัวอย่างดินและปุ๋ยหมักเพื่อใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์

ทำการเก็บตัวอย่างดินที่มีการทับถมของอินทรีย์วัตถุ และปุ๋ยหมักจากแหล่งต่างๆ จำนวน 9 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับการทำปุ๋ยหมัก ประกอบด้วย ดินที่มีการทับถมของอินทรีย์วัตถุ 6 ตัวอย่าง และปุ๋ยที่หมักสมบูรณ์แล้ว 3 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.1

การเก็บตัวอย่างดินกระทำโดย ดายหญ้า หรือเก็บกวาดเศษพืชชอกก่อน แล้วใช้เสียมขุดเจาะดินลงไปเป็นหลุมรูปตัววี (V) ให้ลึกประมาณ 6 นิ้ว จากผิวดิน แล้วใช้เสียมแซะดินข้างหลุมข้างใดข้างหนึ่งหนาประมาณ 1 นิ้ว จากผิวดิน ขนानลงไปตามหน้าดินที่ขุดจนถึงก้นหลุม นำดินใส่ในถุงพลาสติกใหม่และสะอาด รักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับปุ๋ยหมัก เก็บตัวอย่างจากปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด

ตารางที่ 3.1 แสดงแหล่งที่มาของตัวอย่างดินและปุ๋ยหมักที่ใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	รหัส
เศษใบปาล์มน้ำมันทับถม	จ.ชุมพร	CB
ดินรังปลวก	จ.ชุมพร และจ.นครศรีธรรมราช	CC
เศษใบไม้ทับถม	จ.นครศรีธรรมราช	CD
เศษใบลองกองทับถม	จ.นครศรีธรรมราช	CE
ทะเลาะปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง	จ.นครศรีธรรมราช	CF
เศษใบมังคุดทับถม	จ.ชุมพร	CG
ปุ๋ยหมักมูลไก่	จ.นครศรีธรรมราช	CH
ปุ๋ยหมักของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา	กรุงเทพมหานคร	CI
ปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	กรุงเทพมหานคร	CJ



รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะของตัวอย่างดินและปุ๋ยหมักที่ใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์

หมายเหตุ

CB คือ ลักษณะเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ลักษณะดินร่วนปนทราย

CD คือ ลักษณะเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ลักษณะเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ลักษณะทะเลาะปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ลักษณะเศษใบมังคุดทับถม

CH คือ ลักษณะปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ลักษณะปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์สวนจิตรลดา

CJ คือ ลักษณะปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษ ทะลายปาล์มน้ำมัน

หมักเศษทะลายปาล์มน้ำมันที่เอาผลออกและทำให้เป็นเศษเล็กๆ ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม ร่วมกับรำข้าว และแหล่งจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3.3 โดยมีชุดการทดลองทั้งหมด 10 ชุดการทดลองดังรายละเอียดต่อไปนี้

ชุดการทดลองควบคุม (CA) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว อัตราส่วน 9: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 2 (CB) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ เศษใบปาล์มน้ำมันทับถม อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 3 (CC) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ดินร้งปลวก อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 4 (CD) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ เศษใบไม้ทับถม อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 5 (CE) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ เศษใบลองกองทับถม อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 6 (CF) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 7 (CG) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ เศษใบมังคุดทับถม อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 8 (CH) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักมูลไก่ อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 9 (CI) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 10 (CJ) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

คลุกเคล้าส่วนผสมในแต่ละชุดการทดลอง น้ำหนัก 10 กิโลกรัม ให้เข้ากันรดน้ำให้มีความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ บรรจุส่วนผสมดังกล่าว ลงในกล่องโฟมขนาด 40 X 55 X 26 เซนติเมตร คลุมด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องกันแมลงและการระเหยของน้ำ ทำการหมักส่วนผสม

ดังกล่าวเป็นเวลา 35 วัน กลับส่วนผสมปุ๋ยหมักทุก 3 วัน และรักษาความชื้นในกองปุ๋ยหมักโดยการรดน้ำให้มีความชื้นอยู่ในช่วง 60 เปอร์เซ็นต์ตลอดการหมัก ทำการเก็บผลการทดลองโดยเก็บตัวอย่างส่วนผสมทุกสัปดาห์จนกระทั่งหมักเสร็จสมบูรณ์ โดยในแต่ละชุดการทดลองจะสุ่มเก็บตัวอย่างปุ๋ยหมัก 3 ตำแหน่ง ที่ความลึก 6 นิ้ว จุดละประมาณ 300 กรัม แยกเก็บแต่ละจุดใส่ถุงพลาสติกซิปล็อค แล้วทำการแบ่งตัวอย่างปุ๋ยหมักจากแต่ละตำแหน่ง ใน 3 ตำแหน่ง มารวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพดังนี้

3.4.1 ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างกระบวนการหมัก

3.4.1.1 อุณหภูมิ

ใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิปุ๋ยหมักในกล่องโฟม วัดที่ความลึก 6 นิ้ว กลางกองปุ๋ยหมัก วัดอุณหภูมิของปุ๋ยทุกวันตลอดการหมัก บันทึกผล

3.4.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง

วัดความเป็นกรดต่างของแต่ละชุดการทดลอง จากตัวอย่างปุ๋ยหมัก 3 ตำแหน่ง ทุกสัปดาห์ โดยใช้ pH meter

3.4.1.3 ความชื้น

วัดความชื้น ของแต่ละชุดการทดลอง จากตัวอย่างปุ๋ยหมัก 3 ตำแหน่ง ทุกสัปดาห์ โดยชั่งภาชนะโลหะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างปุ๋ยหมัก ซึ่งผ่านการอบที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (น้ำหนัก A กรัม) จากนั้นชั่งตัวอย่างปุ๋ย 5 กรัม ลงในภาชนะโลหะและชั่งน้ำหนักรวมปุ๋ยและภาชนะ (น้ำหนัก B กรัม) นำตัวอย่างไปอบที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นและเก็บรักษาไว้ในโหลดูความชื้น ชั่งน้ำหนักรวมภาชนะและปุ๋ยที่ผ่านการอบให้แห้งแล้ว (น้ำหนัก C กรัม) คำนวณหา เปอร์เซ็นต์ของความชื้นของปุ๋ยที่ได้ผ่านการอบให้แห้งแล้ว โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \left(\frac{C - A}{B - A} \right) \times 100$$

3.4.1.4 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon)

การหาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนโดยใช้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่อาศัยความร้อนจากกรดซัลฟูริกเข้มข้น โดยวิธีวอล์คเลย์-แบลค (Walkley-Black method) ตามวิธีของ Pepper และคณะ (1995) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองที่ได้จากการนำตัวอย่างปุ๋ยหมักที่เก็บ 3 ตำแหน่งมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่าง ในวันแรก และวันที่หมักสมบูรณ์ ในวันที่ 35 โดยมีวิธีการดังนี้

อบตัวอย่างปุ๋ยที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร ซึ่งตัวอย่างปุ๋ยหนัก 0.1 กรัม ของน้ำหนักแห้ง ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมท ($K_2Cr_2O_7$) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 13 มิลลิลิตร ลงในขวดตัวอย่างแกว่งขวดเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างและสารละลายผสมกัน (ในดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูงไดโครเมทไอออนส่วนใหญ่ซึ่งมีสีส้ม จะถูกใช้ในการออกซิไดซ์คาร์บอน แล้วเปลี่ยนเป็นโครเมียม (III) ไอออน (Cr^{3+}) จึงทำให้สารตัวอย่างมีสีเขียว ซึ่งแสดงว่าไดโครเมทถูกใช้ไปมากหรือหมดไป ดังนั้นควรเพิ่มโพแทสเซียมไดโครเมททั้งในแบบลงค์และในตัวอย่าง) ใส่กรดซัลฟูริกเข้มข้น ($conc.H_2SO_4$) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร โดยพยายามล้างตัวอย่างให้ลงไปอยู่ในกรดให้หมดอย่าให้ตัวอย่างเหลือเกาะอยู่ตามข้างขวด แกว่งขวดค่อนข้างแรงประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที หรือจนกระทั่งสารละลายตัวอย่างเย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง ใส่น้ำกลั่นลงไป 100 มิลลิลิตรใส่ กรดฟอสฟอริกเข้มข้น ($Conc. H_3PO_4$) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่โซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) 0.2 กรัม หยอด redox indicator (ภาคผนวก ก) ลงไป 5 หยด แกว่งขวดจนสารละลายตัวอย่างเข้ากันดี (สีของสารละลายตัวอย่างจะเป็นสีม่วงปนน้ำเงินหรือม่วงแดง) ทำแบบลงค์ (blank) ซึ่งไม่มีตัวอย่างควบคุมไปด้วยกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยมีจำนวนซ้ำทั้งตัวอย่างและแบบลงค์ 3 ซ้ำ แล้วไตเตรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_6 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล (ภาคผนวก ก) สีของสารละลายตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงเข้มขึ้น ไตเตรตต่อไปเรื่อยๆ จนสารละลายตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน และเมื่อถึงจุดยุติ (end point) จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวจัด (brilliant green) เพื่อให้ได้จุดยุติที่ถูกต้อง ใส่สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมท ความเข้มข้น 1 นอร์มอล ลงไปอีก 0.5 มิลลิลิตร เพื่อให้มีไดโครเมทเหลือในสารละลายตัวอย่างอีก สีของสารละลายตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงปนน้ำเงินอีกครั้ง ค่อย ๆ ไตเตรตต่อโดยหยดสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล ลงไปที่ละหยดจนถึงจุดยุติอีกครั้ง บันทึกปริมาตร ของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ในการไตเตรตแบบลงค์ และตัวอย่าง จากนั้นคำนวณปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (C)} = \frac{13.5 \times (B-S) \times 12 \times 100}{B \times G \times 4000 \times 0.77}$$

B คือ ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรตแบลงค์ (มิลลิเมตร)

S คือ ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิเมตร)

G คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

3.4.1.5 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยการกลั่นหาปริมาณแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ใช้วิธี (เจลดาล) Kjeldahl ตามวิธีของ Pepper และคณะ (1995) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองที่ได้จากการนำตัวอย่างปุ๋ยหมักที่เก็บ 3 ตำแหน่งมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่าง ในวันแรก และวันที่หมักสมบูรณ์ในวันที่ 35 มีวิธีการดังนี้

อบตัวอย่างปุ๋ยที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำมาบด และร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร ซึ่งตัวอย่างปุ๋ยหนัก 2 กรัม (dry weight) ใส่ในหลอดย่อย (Kjeldahltherm tube) ใส่ โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 9 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) 0.6 กรัม และ กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 20 มิลลิเมตร เขย่าหลอดย่อยเพื่อให้ตัวอย่างและกรดผสมเข้าด้วยกัน นำไปวางบนเตาย่อย (Kjeldahltherm) ใช้อุณหภูมิเริ่มต้น 200 องศาเซลเซียส ในระยะแรกประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิไปที่ 400 องศาเซลเซียส ย่อยสลายตัวอย่างจนกระทั่งเป็นสารละลายใส (เขี้ยวอมฟ้า) และตะกอนมีสีขาว ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง หยุดให้ความร้อนแล้วรอจนควันในหลอดระเหยออกหมด (ถ้าเย็นสารจะจับตัวกันเป็นของแข็ง) ทำแบลงค์ซึ่งไม่มีตัวอย่างควบคุมไปด้วยกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง โดยมีจำนวนซ้ำทั้งตัวอย่าง และแบลงค์ 3 ซ้ำ นำหลอดย่อยออกจากเตาแล้วใส่น้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิเมตร เขย่าจนตะกอนละลาย เทสารจากหลอดย่อยลงใน kjedahl flask ทิ้งไว้ให้เย็น ใส่โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 35% (w/v) (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 90 มิลลิเมตร (ค่อย ๆ ใส่เพราะเกิดความร้อนสารจะเดือด) นำ kjedahl flask ไปต่อกับเครื่องกลั่น (Micro Kjeldahl) ปิดเตาสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 25 มิลลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิตร หยด methyl red (ภาคผนวก ก) ลงไป 5 หยด แล้วนำไปวางที่ใต้ก้านหล่อเย็นของเครื่องกลั่น ให้ความร้อนเบอร์ 2 กลั่นนานประมาณ 20 นาที หรือจนสารละลายในขวดรูปชมพู่ ควบแน่นมีปริมาตรเพิ่มขึ้นเป็น 100 มิลลิตร นำขวดรูปชมพู่ออกจากก้านหล่อเย็น แล้วนำไปไตเตรตกลับ (back titrate) ของเหลวที่กลั่นได้ด้วยสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ภาคผนวก ก) สีของของเหลวจะเปลี่ยนจากสีแดง

เป็นสีเหลือง บันทึกปริมาณต่างที่ใช้ไตเตรตแบลงค์ และตัวอย่าง จากนั้นคำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total N)} = \frac{(B - S) \times N \times 0.01401 \times 100}{W}$$

B คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

S คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรตกลับกับสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

3.4.1.6 อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด

นำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์หาอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนทั้งหมดมาหาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด (C/N ratio) (Pepper และคณะ, 1995) จากสูตร

$$\text{อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์อินทรีย์คาร์บอน}}{\text{เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมด}}$$

3.4.1.7 ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก

สังเกตลักษณะของปุ๋ยหมักที่เกิดขึ้นหลังจากทำการหมักเสร็จสิ้นเป็นเวลา 35 วัน โดย การสังเกตสี ลักษณะของทะเลาะปาล์มที่เปลี่ยนแปลงไป และกลิ่น

3.4.2 ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ โดยติดตามจำนวนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก

ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักนั้นทำได้โดยการ นับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total count) ได้แก่ แบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีต โดยวิธี dilution plate method ตามวิธีของ Pepper และคณะ(1995) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองนั้นทำได้โดยนำตัวอย่างปุ๋ยหมักที่เก็บ 3 ตำแหน่งมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่างจากนั้น ซึ่งตัวอย่างจำนวน 5

กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตร 45 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันบนเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที ได้สารแขวนลอยปุ๋ยหมักระดับการเจือจางที่ 10^{-1} จากนั้นเพิ่มระดับการเจือจางเท่ากับ 10^{-2} - 10^{-8} (serial ten fold dilution)

3.4.2.1 การนับจำนวนแบคทีเรีย ดูดสารแขวนลอยปุ๋ยหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-6} - 10^{-8} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในแต่ละระดับความเข้มข้น เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)(ภาคผนวก ข) ที่มีอุณหภูมิ 42-44 องศาเซลเซียส ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมสารแขวนลอยปุ๋ยหมักเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันโดยหมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปรอบๆ อย่างเบาๆ ตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา และ reciprocal อย่างละ 6 รอบ ปลอ่ยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.4.2.2 การนับจำนวนรา ดูดสารแขวนลอยปุ๋ยหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-3} - 10^{-5} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Streptomycin Rose Bengal Agar (SRBA) (ภาคผนวก ข) ที่มีอุณหภูมิ 42-44 องศาเซลเซียส ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมสารแขวนลอยปุ๋ยหมักเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันโดยหมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปรอบๆ อย่างเบาๆ ตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา และ reciprocal อย่างละ 6 รอบ ปลอ่ยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.4.2.3 การนับจำนวนแอกติโนมัยซีต ดูดสารแขวนลอยปุ๋ยหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-4} - 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ย (spread) บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Sodium caseinate Agar (SCA) (ภาคผนวก ข) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อหนึ่งความเจือจาง จากนั้นคำนวณปริมาณของจุลินทรีย์แต่ละชนิด ซึ่งมีหน่วยเป็น CFU (Colony Forming Unit) ต่อกรัมของน้ำหนักร ตัวอย่างแห้ง ดังสูตร

จำนวนจุลินทรีย์แต่ละชนิด (แบคทีเรีย รา แอคติโนมัยซีต) ทั้งหมด
 = จำนวนเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้ X ความเจือจาง (เท่า)

3.5 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1

ศึกษาผลของวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักปุ๋ย ได้แก่ รำข้าว และมูลไก่ โดยหมักเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันที่เอาผลออกและทำให้เป็นเศษเล็กๆ ร่วมกับแหล่งไนโตรเจนแหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักเสร็จสมบูรณ์ในข้อ 3.4 ซึ่งคัดเลือกจากปุ๋ยหมักที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนใกล้เคียง 20:1 หมักปุ๋ยในอัตราส่วนของทะเลลายปาล์มน้ำมัน แหล่งไนโตรเจน (รำข้าว และมูลไก่) และแหล่งจุลินทรีย์ โดยมีรายละเอียดของชุดการทดลองดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองควบคุม (CG1) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษใบมังคุดทับถม (CG) อัตราส่วน 9: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 2 (CGC1) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ มูลไก่ ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษใบมังคุดทับถม (CG) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 3 (CGR1) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษใบมังคุดทับถม (CG) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองควบคุม (CJ1) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (CJ) อัตราส่วน 9: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 5 (CJC1) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ มูลไก่ ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (CJ) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 6 (CJR1) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (CJ) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

คลุกเคล้าส่วนผสม น้ำหนัก 10 กิโลกรัม ให้เข้ากันรดน้ำให้มีความชื้นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ บรรจุส่วนผสมดังกล่าว ลงในกล่องโฟมขนาด 40X55X26 เซนติเมตร คลุมด้วยผ้าขาวบางเพื่อป้องกันแมลงและการระเหยของน้ำ ทำการหมักส่วนผสมดังกล่าวเป็นเวลา 35 วัน กลับส่วนผสมปุ๋ยหมักทุก 3 วัน และรักษาความชื้นในกองปุ๋ยหมักโดยการรดน้ำให้มีความชื้นอยู่ในช่วง

60 เปอร์เซ็นต์ตลอดการหมัก ทำการเก็บผลการทดลองโดยเก็บตัวอย่างส่วนผสมทุกสัปดาห์ จนกระทั่งหมักเสร็จสมบูรณ์ โดยในแต่ละชุดการทดลองจะสุ่มเก็บตัวอย่างปุ๋ยหมัก 3 ตำแหน่ง ที่ความลึก 6 นิ้ว จุดละประมาณ 300 กรัม แยกเก็บแต่ละจุดใส่ถุงพลาสติกซิปล็อค แล้วทำการแบ่งตัวอย่างปุ๋ยหมักจากแต่ละตำแหน่ง ใน 3 ตำแหน่ง มารวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงตามรายละเอียดในข้อ 3.4

3.6 การคัดแยกและหาจำนวนจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักปุ๋ย

เนื่องจากทะเลาะปาล์มที่นำมาทำปุ๋ยหมัก ประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน และเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก เพื่อให้สารอินทรีย์เหล่านี้ถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ เป็นปุ๋ยหมักที่เสร็จสมบูรณ์ จึงจำเป็นต้องศึกษาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสารอินทรีย์เหล่านี้

3.6.1 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic microbes)

ในการคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซีต โดยวิธี dilution plate method ตามวิธีของ Leboffe และ Pierce (2002) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองนั้นทำได้โดยนำตัวอย่างปุ๋ยหมักที่เก็บ 3 ตำแหน่งมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่างจากนั้น ชั่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตร 45 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันบนเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที ได้สารแขวนลอยปุ๋ยหมักระดับการเจือจางที่ 10^{-1} จากนั้นเพิ่มระดับการเจือจางเท่ากับ 10^{-2} - 10^{-8} (serial ten fold dilution)

3.6.1.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ดูดสารแขวนลอยปุ๋ยหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-7} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในแต่ละระดับความเข้มข้น เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ภาคผนวก ข) ที่มีอุณหภูมิ 42-44 องศาเซลเซียส ที่ผสม 0.8% skim milk ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมสารแขวนลอยปุ๋ยหมักเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันโดยหมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปรอบๆ อย่างเบาๆ ตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา และ reciprocal อย่างละ 6 รอบ ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วนำไปป้อนที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 18 - 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดวงใส (clear zone) ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยนับแยกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เจียโคโลนีที่มีวงใสที่โคโลนีมีลักษณะต่างกัน มาใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ใหม่ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำซ้ำๆ กัน หลายๆ ครั้งจนได้จุลินทรีย์ที่เป็นโคโลนีเดี่ยว แล้วทดสอบการเกิดวงใสอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Milk Agar ที่ผสม 0.8% skim milk

3.6.1.2 การคัดแยกและหาปริมาณราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้จากการนับจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยนำจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3 มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ โดยทำการคัดเลือกโคโลนีของราที่มีลักษณะต่างกัมาแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวและทำให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำราที่คัดเลือกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Milk Agar (ภาคผนวก ข) ที่ผสม 0.8% skim milk และ 50 ppm streptomycin แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สังเกตลักษณะโคโลนีที่มีที่เกิดวงใส (clear zone) เก็บจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยโปรตีนเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.6.1.3 การคัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ดูดสารแขวนลอยปุ๋ยหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-7} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ในแต่ละระดับความเข้มข้น เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ภาคผนวก ข) ที่มีอุณหภูมิ 42-44 องศาเซลเซียส ที่ผสม 0.8% skim milk ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมสารแขวนลอยปุ๋ยหมักเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันโดยหมุนจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปรอบๆ อย่างเบาๆ ตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา และ reciprocal อย่างละ 6 รอบ ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เกิดวงใส (clear zone) ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยนับแยกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เจียโคโลนีที่มีวงใสที่โคโลนีมีลักษณะต่างกัน มาใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ SCA ใหม่ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำซ้ำๆ กัน หลายๆ ครั้งจนได้จุลินทรีย์ที่เป็นโคโลนีเดี่ยว แล้วทดสอบการเกิดวงใสอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Milk Agar ที่ผสม 0.8% skim milk

3.6.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน (Lipolytic microbes)

ในการคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีต โดยวิธี dilution plate method ตามวิธีของ Kouker และ Jaeger (1987) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองนั้นทำได้โดยนำตัวอย่างปุ๋ยหมักที่เก็บ

3 ตำแหน่งมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่างจากนั้น ซึ่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตร 45 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันบนเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที ได้สารแขวนลอยปฏีหมักระดับการเจือจางที่ 10^{-1} จากนั้นเพิ่มระดับการเจือจางเท่ากับ 10^{-2} - 10^{-8} (serial ten fold dilution)

3.6.2.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ดูดสารแขวนลอยปฏีหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-7} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ย (spread) บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA ที่ผสมด้วยโรดามีน บี (Rhodamine B) 0.001% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และน้ำมันมะกอก 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ภาคผนวก ข) แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนโคโลนี ที่มีความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยนับแยกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน เชี่ยวโคโลนีที่มีความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่โคโลนีมีลักษณะต่างกัน มาใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ใหม่ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำซ้ำๆ กัน หลายๆ ครั้งจนได้จุลินทรีย์ที่เป็นโคโลนีเดี่ยว แล้วทดสอบความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรดามีน บี

3.6.2.2 การคัดแยกและหาปริมาณราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ได้จากการนับจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยนำจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3 มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ โดยทำการคัดเลือกโคโลนีของราที่มีลักษณะต่างกันมาแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวและทำให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำราที่คัดเลือกได้มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA ที่ผสมด้วยโรดามีน บี 0.001% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร น้ำมันมะกอก 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ 50 ppm streptomycin (ภาคผนวก ข) แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สังเกตลักษณะโคโลนีที่มีความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร เก็บจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยไขมันเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.6.2.3 การคัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ดูดสารแขวนลอยปฏีหมักที่ถูกทำการเจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-5} - 10^{-7} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ย (spread) บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA ที่ผสมด้วยโรดามีน บี 0.001%

โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และน้ำมันมะกอก 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ภาคผนวก ข) แล้วนำไปบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นับจำนวนโคโลนี ที่มีความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยนับแยกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกัน เชื้อโคโลนีที่มีความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตที่โคโลนีมีลักษณะต่างกัน มาใส่ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ SCA ใหม่ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำซ้ำๆ กัน หลายๆ ครั้งจนได้จุลินทรีย์ที่เป็นโคโลนีเดี่ยว แล้วทดสอบความสามารถในการเรืองแสงสีส้ม ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรดามีน บี

3.6.3 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส (Cellulolytic microbes)

ในการคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีต ได้จากการนับจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยนำจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3 มาแยกและทำให้บริสุทธิ์ โดยทำการคัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียที่มีลักษณะต่างกัมาแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวและทำให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ส่วนรา แยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวและทำให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ส่วนแอกติโนมัยซีต แยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวและทำให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SCA นำแบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีตที่คัดเลือกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Carboxymethylcellulose (CMC) (ภาคผนวก ข) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสโดยการย้อมสีคองโกเรด ตามวิธีของ Chikae และคณะ (2006) โดยทดสอบละลายสีคองโก เรด ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก) ลงบนโคโลนีงานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วทดสอบละลายทิ้ง ใส่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร (ภาคผนวก ก) ตามลงไป ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเททิ้ง จะเห็นบริเวณใสสีเหลืองรอบโคโลนี เก็บจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยเซลลูโลสเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อหนึ่งความเจือจาง จากนั้นคำนวณปริมาณของจุลินทรีย์แต่ละชนิด ซึ่งมีหน่วยเป็น CFU (Colony Forming Unit) ต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้งดังสูตร

จำนวนจุลินทรีย์แต่ละชนิด (แบคทีเรีย รา แอกติโนมัยซีต) ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์แต่ละชนิด = จำนวนเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้ X ความเจือจาง (เท่า)

3.7 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ ครั้งที่ 2

ทำการหมักเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันครั้งที่ 2 โดยมีอัตราส่วนผสมเหมือนกับข้อ 3.5 ซึ่งใช้ปุ๋ยที่ได้จากการหมักเสร็จสมบูรณ์ร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนจากข้อ 3.5 เป็นแหล่งจุลินทรีย์ หมักปุ๋ยในอัตราส่วนของทะเลลายปาล์มน้ำมัน แหล่งไนโตรเจน (รำข้าว และมูลไก่) และแหล่งจุลินทรีย์ โดยมีรายละเอียดของชุดการทดลองดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองควบคุม (CG2) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะเลลายปาล์มน้ำมัน ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองควบคุม (CG1) อัตราส่วน 9: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 2 (CGC2) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะเลลายปาล์มน้ำมัน ต่อ มูลไก่ ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษใบมังคุดทับถมใส่มูลไก่ (CGC1) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 3 (CGR2) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะเลลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษใบมังคุดทับถมใส่รำข้าว (CGR2) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองควบคุม (CJ2) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะเลลายปาล์มน้ำมัน ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองควบคุม (CJ1) อัตราส่วน 9: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 5 (CJC2) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะเลลายปาล์มน้ำมัน ต่อ มูลไก่ ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยใส่ มูลไก่ (CJC1) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

ชุดการทดลองที่ 6 (CJR2) ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักประกอบด้วย ทะเลลายปาล์มน้ำมัน ต่อ รำข้าว ต่อ ปุ๋ยหมักที่ได้จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยใส่ รำข้าว (CJR1) อัตราส่วน 8: 1: 1 โดยน้ำหนัก

3.8 การเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้

แบคทีเรีย

ซัดแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ผิวเยือก (ภาคผนวก ข) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการ subculture บนอาหาร NA ใหม่ทุกเดือน

แอกติโนมายซีต

ซิดแอกติโนมายซีตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar ผิวเฉียง (ภาคผนวก ข) นำไปป่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 1-2 เดือน สำหรับการเก็บรักษาเป็นเวลานาน เมื่อเชื้อสร้างสปอร์บนอาหารมากพอ ใส่สารละลาย 20% กลีเซอรอล ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหาร ใช้ลูบชูดสปอร์ให้หลุดออก แล้วกรองสปอร์แขวนลอยด้วยสำลีปลอดเชื้อ บีบอัดสารแขวนลอยสปอร์ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวป์ (micro tube) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

รา

ใช้เข็มเย็บเชื้อที่ผ่านการเผาไฟและทิ้งไว้ให้เย็น เย็บเส้นใยราที่บริสุทธิ์ วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผิวเฉียง (ภาคผนวก ข) นำไปป่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลา 1-2 เดือน สำหรับการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน นำราที่แยกได้ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันแล้วใช้เครื่องตัดจุกคอorkเบอร์ 7 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร เจาะลงบนวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีราเส้นใยเจริญอยู่ แล้วนำชิ้นวุ้นดังกล่าวไปเก็บในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.9 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทดสอบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างการหมักแต่ละชุดการทดลอง ซึ่งใช้ Anova และ Duncan's multiple range test และเปรียบเทียบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ในวันเริ่มต้นหมักและวันสิ้นสุดการหมักในแต่ละชุดการทดลองซึ่งใช้ Student's *t* tests โดยใช้โปรแกรม SPSS

3.10 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลาะปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ

3.10.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย

ทำการตรวจสอบแบคทีเรียที่แยกได้และพบเป็นจำนวนมากจากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งมาจำแนกสกุล โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมีบางประการตามวิธีรายงานใน Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Williams และคณะ, 1989)

3.10.1.1 ลักษณะการเจริญของแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียที่แยกได้ จากข้อ 3.6 และ 3.7 มาขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน วัน สังเกตรูปร่าง ขนาด สี ของโคโลนีที่แยกเป็นโคโลนีเดี่ยว

3.10.1.2 การย้อมแกรม (Gram' stain)

นำแผ่นสไลด์จุ่มแอลกอฮอล์ 70% และเผาไฟ หยดน้ำกลั่น 1 หยดลงบนสไลด์ นำแบคทีเรียที่ได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งบ่มนาน 18-24 ชั่วโมง มากระจาย (smear) บนแผ่นสไลด์ ผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง หยด crystal violet (ภาคผนวก ก) ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างสีด้วยน้ำแล้วย้อมด้วย Gram iodine (ภาคผนวก ก) 1 นาที ล้างสีด้วยน้ำ จากนั้นล้างสีส่วนเกินออกด้วย 95 % ethyl- alcohol ทิ้งไว้ 20 วินาที ล้างน้ำทันที ย้อมต่อด้วย Safranin O (ภาคผนวก ก) ทิ้งไว้ 10 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย X40 และ X100 ตามลำดับ บันทึกการติดสีย้อม และรูปร่างของโคโลนี

3.10.1.3 การทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility test)

การทดสอบการเคลื่อนที่ ทำโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อแตะเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งบ่มนาน 18-24 ชั่วโมง ปัก (stab) ลงในอาหารทดสอบกึ่งแข็ง (NA ที่มีผงวุ้น 0.5%) (ภาคผนวก ข) เป็นแนวตั้งตรงและยกเข็มเขี่ยเชื้อออกจากอาหารทดสอบตามแนวเดิมนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง หากแบคทีเรียเคลื่อนที่ได้ (motile) อาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นทั้งหลอด ไม่เห็นรอยที่ stab เข็ม หรือเจริญกระจายรอบๆ รอยที่ stab เข็ม บันทึกผลเป็น บวก แบคทีเรียเคลื่อนที่ไม่ได้ (nonmotile) จะเห็นรอย stab เข็มเป็นแนวขุ่นชัดเจน เฉพาะตามรอยที่ stab อาหารทดสอบจะใส บันทึกผลเป็น ลบ สำหรับเชื้อที่เคลื่อนที่ได้ไม่ดี ให้เลี้ยงเชื้อต่อที่ 21-25 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน

3.10.1.4 การทดสอบคาทาเลส (Catalase test)

การทดสอบคาทาเลส เป็นการทดสอบการใช้เอนไซม์ที่ใช้ในการหายใจ จุลินทรีย์ที่เป็นโอซิเลต aerobe และ facultive anaerobe จะสร้างเอนไซม์คาทาเลส เพื่อย่อยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่เป็นผลผลิตสุดท้ายของการเกิด aerobic respiration ไม่เช่นนั้นจุลินทรีย์จะตายจากการสะสมของ H_2O_2 เอนไซม์คาทาเลสจะมีอยู่ในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น ดังนั้นในการทดสอบต้องให้เชื้อที่อายุ 18-24 ชั่วโมง จุลินทรีย์ที่เป็นโอซิเลต anaerobe จะไม่สามารถสร้างเอนไซม์คาทาเลส ได้ทำให้ไม่สามารถเจริญได้ในบรรยากาศที่มีออกซิเจนได้ ซึ่งมีวิธีทดสอบโดย

หยด 3 % H₂O₂ ลงบนแบคทีเรียที่ได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งบ่มนาน 18-24 ชั่วโมง หากเกิดฟองก๊าซ บันทึกลงผลเป็นบวก ไม่เกิดฟองก๊าซ บันทึกลงผลเป็นลบ

3.10.1.5 การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test)

การทดสอบออกซิเดส เป็นการทดสอบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตไซโทโครมออกซิเดส (cytochrome C oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ ตัวสุดท้ายในระบบ cytochrome C ซึ่งพบในแบคทีเรียไอโซเลต aerobe และ facultive anaerobe จะให้ผลบวกในการทดสอบ ส่วนพวก obligate anaerobe ไม่มี cytochrome C oxidase จึงไม่สามารถเจริญในที่ที่มีออกซิเจน และให้ผลลบในการทดสอบ ซึ่งการทดสอบทำได้โดยใช้ลูปที่ปราศจากเชื้อ แต่แบคทีเรียที่ได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งบ่มนาน 18-24 ชั่วโมง ขีดลงบนกระดาษกรองที่ชุบน้ำยาออกซิเดสไว้แล้ว ดูการเปลี่ยนสีตรงรอยขีด หากเป็นสีม่วง บันทึกลงผลเป็นบวก หากไม่เปลี่ยนสี บันทึกลงผลเป็นลบ

3.10.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซีต

ทำการตรวจสอบแอกติโนมัยซีตที่แยกได้และพบเป็นจำนวนมากจากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งมาจำแนกสกุล โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการของแอกติโนมัยซีต ตามวิธีที่รายงานใน Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Williams และคณะ, 1989)

3.10.2.1 ลักษณะการเจริญของแอกติโนมัยซีต

นำแอกติโนมัยซีตที่แยกได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 มาขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Mannitol Mungbean Agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน บันทึกการเจริญสีและลักษณะของเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ การสร้างสปอร์ของโคโคไนด์ที่แยกเป็นโคโคไนด์เดี่ยว

3.10.2.2 การใช้เทคนิค slide culture

ทำได้โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2-5 วัน เพื่อศึกษาลักษณะของเส้นใยอากาศ เส้นใยอาหาร และจำนวนวันที่มีการสร้างสปอร์ จากนั้นนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscopes) บันทึกลักษณะการแตกออกของเส้นใยอาหาร ลักษณะของสายสปอร์ การเรียงตัวของสายสปอร์ และจำนวนสปอร์

3.10.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา

ทำการคัดเลือกราที่แยกได้และพบเป็นจำนวนมากจากข้อ 3.6 และ 3.7 ซึ่งมาจำแนกสกุลทำโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามวิธีของ Barmett และ Hunter (1987)

3.10.3.1 ลักษณะการเจริญของรา

นำราที่คัดแยกได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 ตรวจสอบลักษณะโคโลนี สีของโคโลนี ขอบของโคโลนี ความหนาของเส้นใย ซึ่งเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ป่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

3.10.3.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา

นำราที่คัดแยกได้จากข้อ 3.6 และ 3.7 มาการศึกษาลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยเทคนิค slide culture ตามวิธีของ Molla และคณะ (2002) โดยใช้มีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการเผาไฟจนร้อนแดงแล้วรอให้เย็น แล้วนำมีดผ่าตัดดังกล่าวมาตัดบนวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA ให้เป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร แล้วนำไปวางบนสไลด์ในจานแก้ว (plate) ที่มีแท่งแก้วสามเหลี่ยมและน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำเข็มเย็บที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการเผาไฟจนร้อนแดงแล้วรอให้เย็น จึงนำไปเขียนบนโคโลนีราแล้วนำมาสัมผัสที่ด้านขอบของชิ้นวุ้นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตรดังกล่าวข้างต้นและปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงบนชิ้นวุ้น ปิดฝาจานแก้วแล้วนำไปป่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-3 วัน แล้วตรวจสอบทุกวันโดยนำสไลด์ที่มีการเจริญของเส้นใยรามาย้อมสีแลคโตฟีนอล คอตตอนบลู (Lactophenol cotton blue) แล้วนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์และบันทึกภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.11 การศึกษาอนุพันธุศาสตร์เพื่อระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ

ทำการตรวจสอบสายพันธุ์ของแบคทีเรีย และเอกติโนมัยซีตที่แยกได้โดยศึกษาลำดับเบสที่ประมวลรหัสของยีน 16S rRNA โดยมีวิธีการดังนี้

3.11.1 การสกัดดีเอ็นเอ

3.11.1.1 การสกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากโคโลนีของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้โดยใช้เข็มเย็บเชื้อ (loop) ที่ผ่านการเผาไฟและทิ้งให้เย็น ชีด (streak) แบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA แล้วป่มที่

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ loop ตะโกลนนี้แบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA 1 ครั้ง ละลายในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ (Micro centrifuge tubes) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 50 ไมโครลิตร นำมาต้มในน้ำเดือด อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที นำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำ (deep freezer) - 20 องศาเซลเซียสทันที ประมาณ 2 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ดูดส่วนใสไว้ใน หลอดไมโครเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.11.1.2 การสกัดดีเอ็นเอจากแอกติโนมัยซีต

ทำ การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยของแอกติโนมัยซีตโดยวิธี Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) ของ Zhou และคณะ (1999) โดยเลี้ยงแอกติโนมัยซีตในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว GYMB (ภาคผนวก ข) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ปั่นเหวี่ยงเก็บเส้นใยที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที นำเส้นใยประมาณ 30 กรัม บดด้วยโกรงจนละเอียด ใส่สารละลาย washing buffer (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ถ่ายส่วนผสมลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เทของเหลวส่วนบนทิ้งเหลือเพียงตะกอน ใส่สารละลาย washing buffer ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงซ้ำเพื่อล้างตัวอย่างจนของเหลวส่วนบนใส ใส่สารละลาย 2X CTAB (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที ใส่สารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิล แอลกอฮอล์ (chloroform / isoamyl alcohol) ในอัตราส่วน 24 : 1 (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที ถ่ายส่วนใสที่อยู่ชั้นบนใสใน หลอดไมโครเซนตริฟิวส์หลอดใหม่ ใส่สารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิล แอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 24: 1 ปริมาตร 700 ไมโครลิตร อีกครั้งผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าผสมสารปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที ถ่ายส่วนใสที่อยู่ชั้นบนใสในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์หลอดใหม่ใส่สารละลาย 2-โพรพานอล (isopropanol) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร แช่น้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาทีปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง ให้เหลือเพียงตะกอน ใส่เอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทิ้งตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ใส่น้ำกลั่นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ RNase ความเข้มข้น 10 mg/mL ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เพื่อทำ ดีเอ็นเอ ให้บริสุทธิ์ ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ใส่สารละลาย Polyethylene glycol ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์

(ภาคผนวก ข) ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งให้เหลือเพียงตะกอนของดีเอ็นเอ ใส่เอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ออก ทิ้งตะกอนให้แห้งในอุณหภูมิห้อง ใส่น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพื่อละลายตะกอนดีเอ็นเอ เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.11.2 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ

3.11.2.1 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีต ที่ประมวลรหัสของยีน 16S rRNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชัน (Polymerase Chain Reaction, PCR)

ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีตที่ประมวลรหัสของยีน 16S rRNA ซึ่งมีขนาดประมาณ 1400 คู่เบส โดยใช้ไพรเมอร์ (primer) ดังนี้

Forward primer EUB8F (5' AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') (Amann และคณะ, 1995)

Forward primer EUB27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') (Amann และคณะ, 1995)

Reward primer U1490R (5' GGTTACCTTGTTACGACTT 3') (Weisburg และคณะ, 1991)

นำดีเอ็นเอของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีตที่สกัดได้ ไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันที่ประมวลรหัสของยีน 16S rRNA โดยมีส่วนประกอบของปฏิกิริยาปริมาตร 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอประมาณ 10-100 นาโนกรัม PCR buffer $MgCl_2$ dNTP primer (Forward primer และ Reward primer) และ Taq polymerase (Fermentas) ส่วนผสมที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาแสดงในตารางที่ 3.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 สาร ความเข้มข้น และปริมาตรที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

สาร	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
10X PCR buffer without MgCl ₂	1x	1.0
2 mM dNTP mix	0.2 mM	1.0
5u/μl <i>Taq</i> DNA polymerase	0.05 units/μl	0.1
25 mM MgCl ₂	2.5 mM	0.6
20 μM Primer (EUB8F หรือ EUB27F)	2.0 μM	0.5
20 μM Primer (U1490R)	2.0 μM	0.5
DNA template	-	1.0
Sterilized distilled water	-	5.3
ปริมาตรรวม		10

การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอทำในเครื่อง Thermocycler (Takara PCR thermal cycler Model TP600, Japan) โดยได้กำหนดสภาวะไว้ดังต่อไปนี้

Initial denaturation	95	องศาเซลเซียส	5 นาที	
Amplification				
Denaturation	95	องศาเซลเซียส	40 วินาที	} 30 รอบ
Annealing	55	องศาเซลเซียส	1 นาที	
Extension	72	องศาเซลเซียส	2 นาที	
Final Extension	72	องศาเซลเซียส	7 นาที	
Holding	4	องศาเซลเซียส		

ตรวจสอบผลการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่ประมวลรหัสของยีน 16s rRNA ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) โดยการแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอบนอะกาโรสเจล 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก) ใน 0.5X TBE buffer ที่ใส่เอธิเดียมโบรไมด์ 1 ไมโครลิตร (ภาคผนวก ก) ต่ออะกาโรสเจล 30 มิลลิลิตร โดยผสมผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) กับสีติดตาม (tracking dye) ในอัตราส่วน 5:2 หยดตัวอย่างลงในหลุมอะกาโรสเจล จากนั้นนำไปทำอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที เปรียบเทียบขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 bp + 1.5 kb DNA ladder ตรวจสอบขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ความยาวคลื่น 312 นาโนเมตร

3.11.3 การวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA sequencing)

นำชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีต และส่งไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจสอบลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing) ที่บริษัทมาโครเจน (macrogen) ณ ประเทศเกาหลี จากนั้นนำลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้ เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับลำดับเบสของ 16S rRNA ที่ได้มีรายงานไว้ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้ โปรแกรม BLAST version 2.1 ที่จัดทำโดย DDBJ (www.ddbj.nig.ac.jp)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษ ทะลายปาล์มน้ำมัน

4.1.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างกระบวนการหมัก

4.1.1.1 อุณหภูมิ

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักทะลายปาล์มในชุด
การทดลองควบคุมที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์ (CA) ปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์เศษใบปาล์มน้ำมัน
ทับถม (CB) ดินร้งปลวก (CC) เศษใบไม้ทับถม (CD) เศษใบลองกองทับถม (CE) ทะลายปาล์ม
ที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง (CF) เศษใบมังคุดทับถม (CG) ปุ๋ยหมักมูลไก่ (CH) ปุ๋ยหมักของ
โครงการสวนพระองค์สวณจิตรลดา (CI) และปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
แห่งประเทศไทย (CJ) ให้ผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วันแสดงดัง
ตารางที่ 1 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิเริ่มต้น (0 วัน) ของทุกชุดการ
ทดลองอยู่ระหว่าง 32 ถึง 34 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิของปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองจะ
เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่
ระหว่าง 70 ถึง 74 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิจะค่อยๆ ลดลงและเพิ่มขึ้นเมื่อมีการกลับกอง
ปุ๋ยและให้น้ำในวันต่อมา เป็นเช่นนี้ในระยะเวลา 2 สัปดาห์แรกของการหมักปุ๋ย หลังจากนั้นพบว่าการ
กลับกองปุ๋ยและให้น้ำไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักจะค่อยๆ ลดลง
จนเกือบคงที่โดยอุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองในวันสุดท้ายของการหมัก (35 วัน)
อยู่ระหว่าง 28 ถึง 31 องศาเซลเซียส

4.1.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง

การติดตามการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก
ทะลายปาล์ม ได้แก่ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ ให้ผล
การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างทุกๆ 7 วัน ตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วันแสดงดังตารางที่ 2
(ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.2 จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรด-ด่างกับ
ระยะเวลาการหมักปุ๋ยพบว่าความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเริ่มต้นมีค่าอยู่

ระหว่าง 5.0 ถึง 5.7 จากนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนคงที่และลดลงในช่วงสัปดาห์สุดท้ายของการหมัก โดยจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างของชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดการหมัก (35 วัน) อยู่ระหว่าง 7.3 ถึง 7.9

4.1.1.3 ความชื้น

การติดตามความชื้นของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก ได้แก่ CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ ทุกๆ 7 วันเป็นเวลา 35 วันให้ผลแสดงดังตารางที่ 3 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.3 โดยทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักมีความชื้นเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 51 ถึง 59 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 7 วันแรกของการหมักความชื้นในเกือบทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักมีแนวโน้มลดลงยกเว้นความชื้นในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CC และ CF ที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น หลังจากนั้นความชื้นของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นจนคงที่หรือลดลงในบางชุดการทดลอง อย่างไรก็ตามความชื้นของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดการหมักจะมีค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงกว่าเมื่อเริ่มต้นโดยมีความชื้นอยู่ระหว่าง 62 ถึง 68 เปอร์เซ็นต์

4.1.1.4 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon)

ผลการหาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดยมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนอยู่ระหว่าง 33.75 ถึง 45.73 เปอร์เซ็นต์ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CD มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นการหมักมากที่สุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CC มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นต่ำที่สุด (ตารางที่ 4.1) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.4) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 22.83 ถึง 38.54 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CF มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนมากที่สุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนน้อยที่สุด (ตารางที่ 4.1)

4.1.1.5 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

ผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เมื่อเริ่มต้นการหมัก (0 วัน) และสิ้นสุดการหมัก (35 วัน) แสดงดังตารางที่ 4.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นการหมักในทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันโดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ระหว่าง 1.08 ถึง 1.73 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CF มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นการหมักมากที่สุดและปริมาณ

ไนโตรเจนทั้งหมดในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CC มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นการหมักน้อยที่สุด เมื่อสิ้นสุดการหมักปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นจากเมื่อเริ่มต้นการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ระหว่าง 1.30 ถึง 2.17 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.5) ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CF มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงสุดเมื่อสิ้นสุดการหมัก และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักต่ำสุด

4.1.1.6 อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด

เมื่อคำนวณหาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ พบว่าอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นหมักปุ๋ยอยู่ระหว่าง 26:1 ถึง 34:1 จะลดลง ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CB มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดมากที่สุด ส่วนชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CF มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดน้อยที่สุด (ตารางที่ 4.1) เมื่อสิ้นสุดการหมักอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองลดลงอยู่ระหว่าง 14:1 ถึง 20:1 (รูปที่ 4.6) โดยอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดการหมักมีอัตราส่วนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นการหมัก (รูปที่ 4.6) ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CE มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดสูงสุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำที่สุด (ตารางที่ 4.1)

4.1.1.7 ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมักทะเลาะปาล์มน้ำมันที่ได้จากชุดการทดลองที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เมื่อหมักเสร็จสมบูรณ์เป็นเวลา 35 วัน มีลักษณะของปุ๋ยที่ได้คล้ายกันทุกชุดการทดลอง คือ มีสีน้ำตาลปนดำ ลักษณะเปื่อยยุ่ย และมีกลิ่นคล้ายก้นดิน ลักษณะของปุ๋ยหมักที่ได้แสดง ดังรูปที่ 4.7

4.1.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างกระบวนการหมัก

4.1.2.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

จากการตรวจนับแบคทีเรียทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วันของชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ให้ผลการเปลี่ยนแปลง

ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 4 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.8 ซึ่งปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเริ่มต้นการหมักของทุกชุดการทดลองปฏิกิริยาสูงสุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ของการหมักโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(8.34 \pm 0.56) \times 10^8$ ถึง $(208.28 \pm 4.45) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลองปฏิกิริยา CD มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดน้อยที่สุดและชุดการทดลองปฏิกิริยา CH มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมากที่สุด จากนั้นปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมีแนวโน้มแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองดังนี้คือชุดการทดลองปฏิกิริยา CH ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงในช่วง 14 วันแรกของการหมักจากนั้นปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนเพิ่มสูงสุดในวันสุดท้ายของการหมักโดยมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักเท่ากับ $(1.83 \pm 0.07) \times 10^8$ และ $(17.51 \pm 0.73) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ชุดการทดลองปฏิกิริยา CB CC และ CD มีแนวโน้มปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงในช่วง 14 วันแรกของการหมักจากนั้นปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดจะเพิ่มสูงขึ้นจนเพิ่มสูงสุดในวันที่ 28 ของการหมักเป็น $(20.91 \pm 1.30) \times 10^8$ $(1.61 \pm 0.07) \times 10^8$ และ $(13.26 \pm 0.96) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ และลดลงเมื่อการหมักสิ้นสุด 35 วัน ส่วนชุดการทดลองปฏิกิริยา CE และ CG ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงในช่วง 7 วันแรกของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นและเพิ่มสูงสุดในวันที่ 21 ของการหมักเป็น $(1.81 \pm 0.11) \times 10^8$ และ $(2.20 \pm 0.06) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองปฏิกิริยา CF มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วง 7 วันแรกเป็น $(17.87 \pm 0.15) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งและลดลงในวันที่ 14 ของการหมักและค่อยๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้งจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ชุดการทดลองปฏิกิริยา CI มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงจนถึงวันที่ 14 ของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 21 ของการหมัก ลดลงอีกครั้งในวันที่ 28 ของการหมักและเพิ่มสูงสุดเมื่อวันที่ 35 ของการหมักเป็น $(12.31 \pm 0.65) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนชุดการทดลองปฏิกิริยา CJ มีปริมาณแบคทีเรียลดลงในช่วง 7 วันแรกจากนั้นเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 ของการหมักและลดลงอีกครั้งในวันที่ 21 ของการหมักเพิ่มสูงสุดในวันที่ 35 ของการหมักโดยมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่เพิ่มสูงสุดเป็น $(9.51 \pm 0.74) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากตารางที่ 4 (ภาคผนวก ค.) จะเห็นได้ว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่สูงที่สุดเกือบทุกชุดการทดลองในขณะที่มีการดำเนินการหมักในวันสิ้นสุดการหมักมีปริมาณน้อยกว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นหมัก (0 วัน)

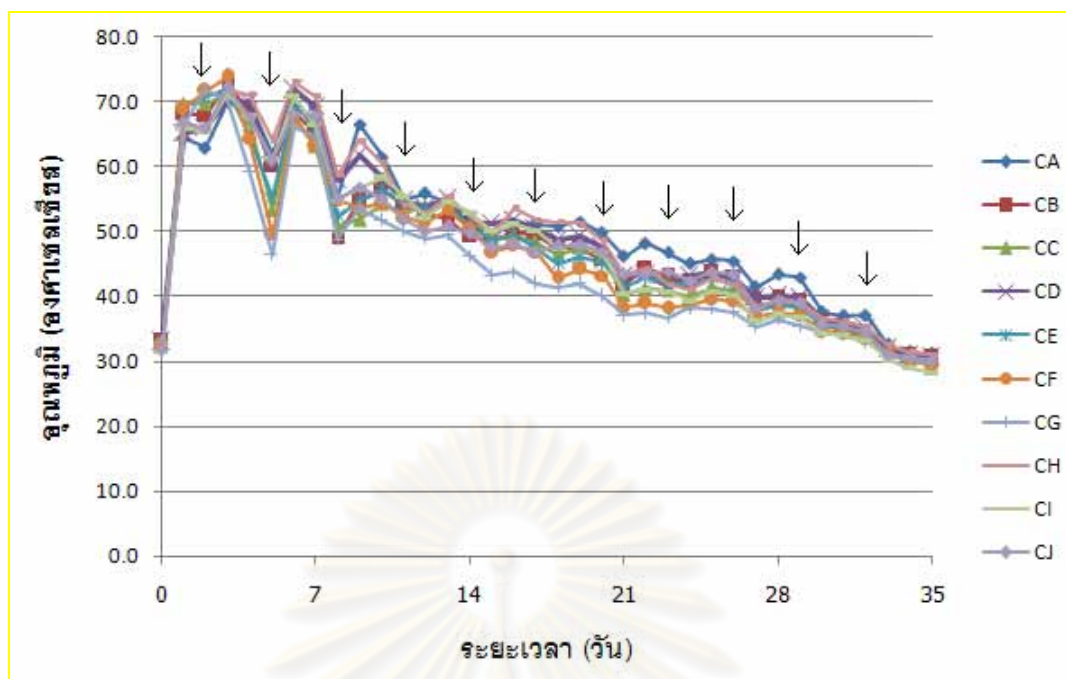
4.1.2.2 ปริมาณราทั้งหมด

การติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดของชุดการทดลองปฏิกิริยาที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทุกๆ 7 วันตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วันให้ผลแสดงดังตารางที่ 5 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.9 ปริมาณราทั้งหมดแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดย

ปริมาณราทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองมีปริมาณราทั้งหมดสูงที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมักโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(10.20 \pm 0.80) \times 10^6$ ถึง $(22.3 \pm 0.60) \times 10^6$ โคลิเน็ตอกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG มีปริมาณราทั้งหมดเริ่มต้นน้อยที่สุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CA มีปริมาณราทั้งหมดเริ่มต้นมากที่สุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันโดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในทุกชุดการทดลองลดลงในช่วง 7 วันแรกของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 ของการหมักและค่อยๆ เพิ่มขึ้น และลดลงเล็กน้อยหรือค่อยๆ เพิ่มขึ้นลดลงและเพิ่มขึ้นอีกครั้งเมื่อสิ้นสุดการหมักพบในบางชุดการทดลอง ปริมาณราทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่าง $(1.26 \pm 0.10) \times 10^6$ ถึง $(2.56 \pm 0.10) \times 10^6$ โคลิเน็ตอกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CF มีปริมาณราทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักน้อยที่สุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CB มีปริมาณราทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักมากที่สุด

4.1.2.3 ปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมด

การติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทุกๆ 7 วันตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วันให้ผลแสดงดังตารางที่ 6 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.10 ซึ่งปริมาณแอกติโนมัยซีดมีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดยปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่าง $(0.19 \pm 0.01) \times 10^8$ ถึง $(0.88 \pm 0.08) \times 10^8$ โคลิเน็ตอกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CB มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเริ่มต้นน้อยที่สุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเริ่มต้นมากที่สุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเกือบทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 14 ของการหมัก หรือเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 ของการหมักจากนั้นปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดจะค่อยลดลงยกเว้นชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG ที่ปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดลดลงเล็กน้อยในช่วง 7 วันแรกของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 ของการหมัก ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CB มีปริมาณแอกติโนมัยซีดสูงสุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่นๆ ในวันที่ 14 ของการหมักเป็น $(16.4 \pm 1.30) \times 10^8$ โคลิเน็ตอกรัมน้ำหนักแห้ง ในวันที่ 14 ของการหมักปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักของทุกชุดการทดลองสูงกว่าเริ่มต้นการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดอยู่ระหว่าง $(1.33 \pm 0.10) \times 10^8$ ถึง $(6.76 \pm 0.29) \times 10^8$ โคลิเน็ตอกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CC มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักน้อยที่สุดและชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักมากที่สุด



รูปที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงจุดหน้ำมันในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน ลูกศร (↓) แสดงวันที่กลับกองปุ๋ยหมัก

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

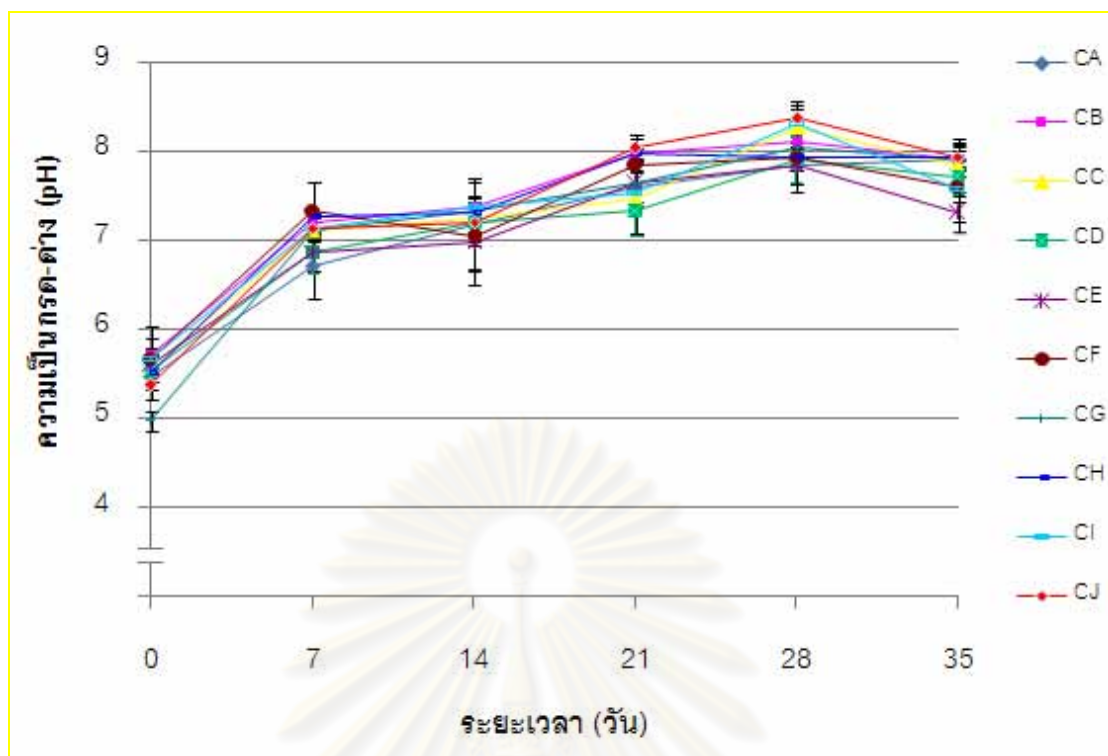
CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ย จากทะเลาะปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะเลาะปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

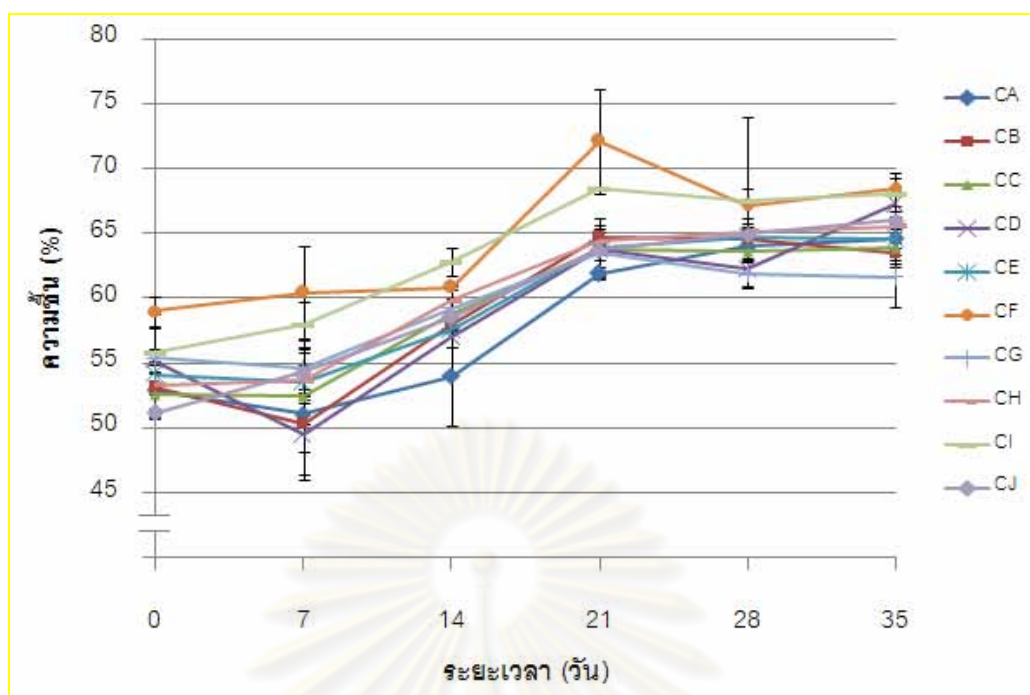
CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะลายปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

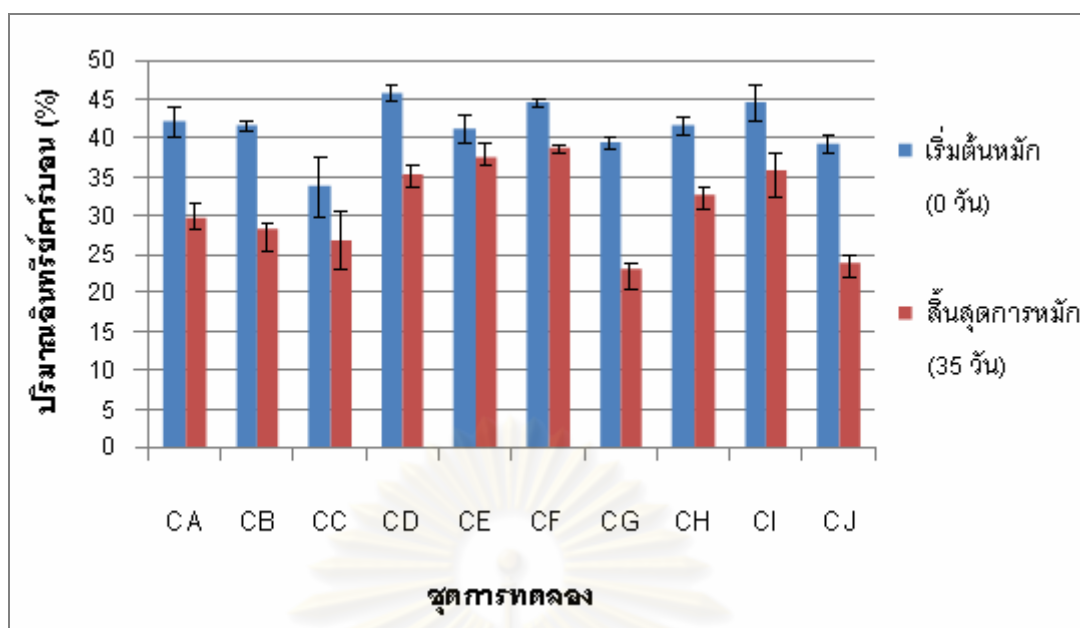
CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.4 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

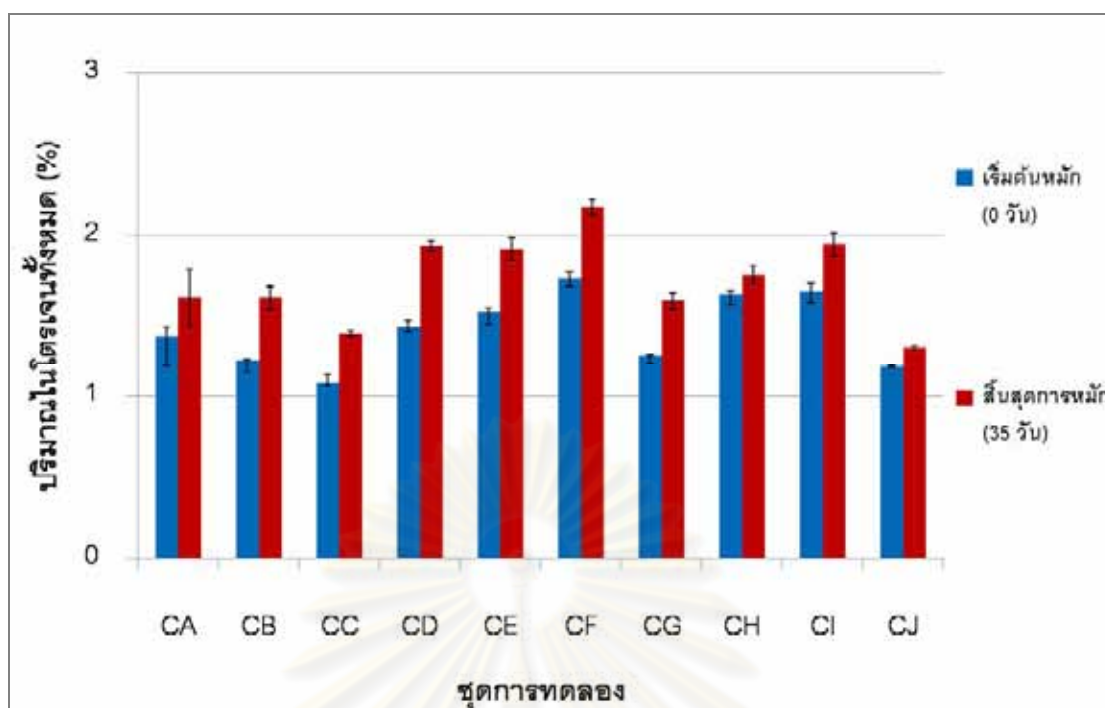
CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

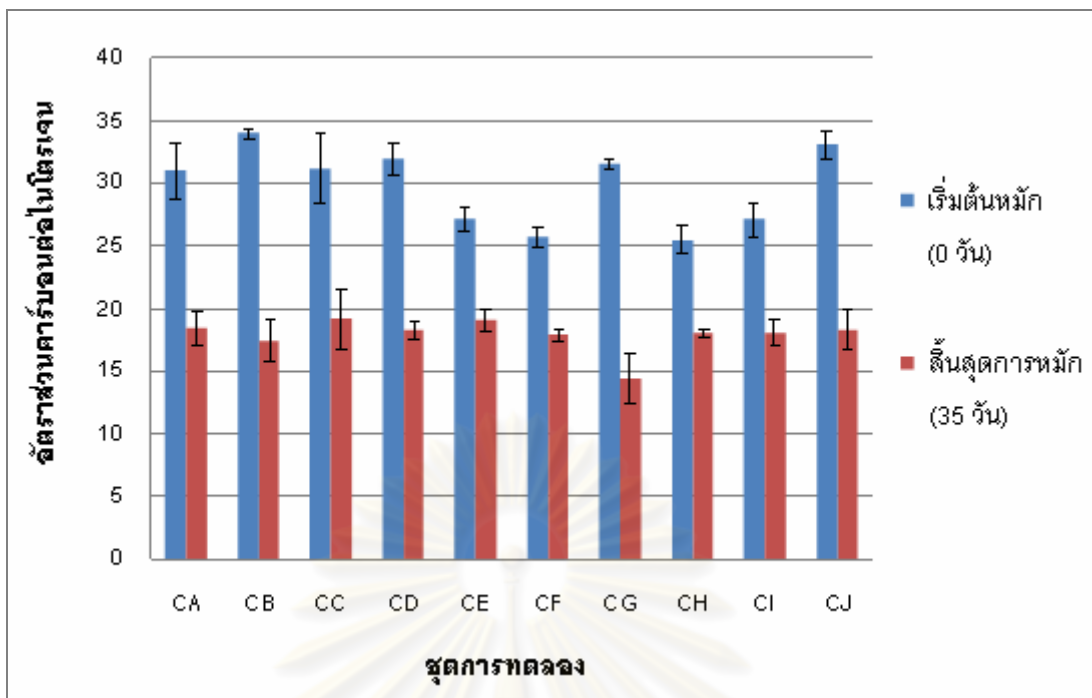
CF คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

CH คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุยหมักของโครงการสวนพระองค์
สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.6 แสดงการเปรียบเทียบอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะเลลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (%)		ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%)		อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (%)	
	0 วัน	35 วัน	0 วัน	35 วัน	0 วัน	35 วัน
CA	42.02 ^(bcd)	29.48 ^(bc)	1.37 ^(c)	1.61 ^(cd)	31:1 ^(b)	18:1 ^(b)
CB	41.45 ^(bcd)	27.95 ^(abc)	1.22 ^(b)	1.61 ^(cd)	34:1 ^(b)	17:1 ^(a)
CC	33.75 ^(a)	26.49 ^(ab)	1.08 ^(a)	1.39 ^(ab)	31:1 ^(b)	19:1 ^(b)
CD	45.73 ^(d)	35.17 ^(de)	1.43 ^(cd)	1.93 ^(f)	32:1 ^(b)	18:1 ^(b)
CE	41.08 ^(bc)	37.33 ^(de)	1.52 ^(d)	1.91 ^(ef)	27:1 ^(a)	20:1 ^(b)
CF	44.33 ^(cd)	38.54 ^(e)	1.73 ^(f)	2.17 ^(g)	26:1 ^(a)	18:1 ^(b)
CG	39.27 ^(b)	22.83 ^(a)	1.25 ^(b)	1.59 ^(cd)	32:1 ^(b)	14:1 ^(a)
CH	41.45 ^(bcd)	32.37 ^(cd)	1.63 ^(e)	1.75 ^(de)	25:1 ^(a)	18:1 ^(b)
CI	44.50 ^(cd)	35.72 ^(de)	1.65 ^(ef)	1.94 ^(f)	27:1 ^(a)	18:1 ^(b)
CJ	39.09 ^(b)	23.75 ^(a)	1.18 ^(b)	1.30 ^(a)	33:1 ^(b)	18:1 ^(b)

หมายเหตุ อักษรต่างกันในแต่ละแถวแสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์

CA คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่เศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ดินร่วนปลวก

CD คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่เศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ทะเลสาบปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ใบมังคุดทับถม

CH คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักมูลไก่

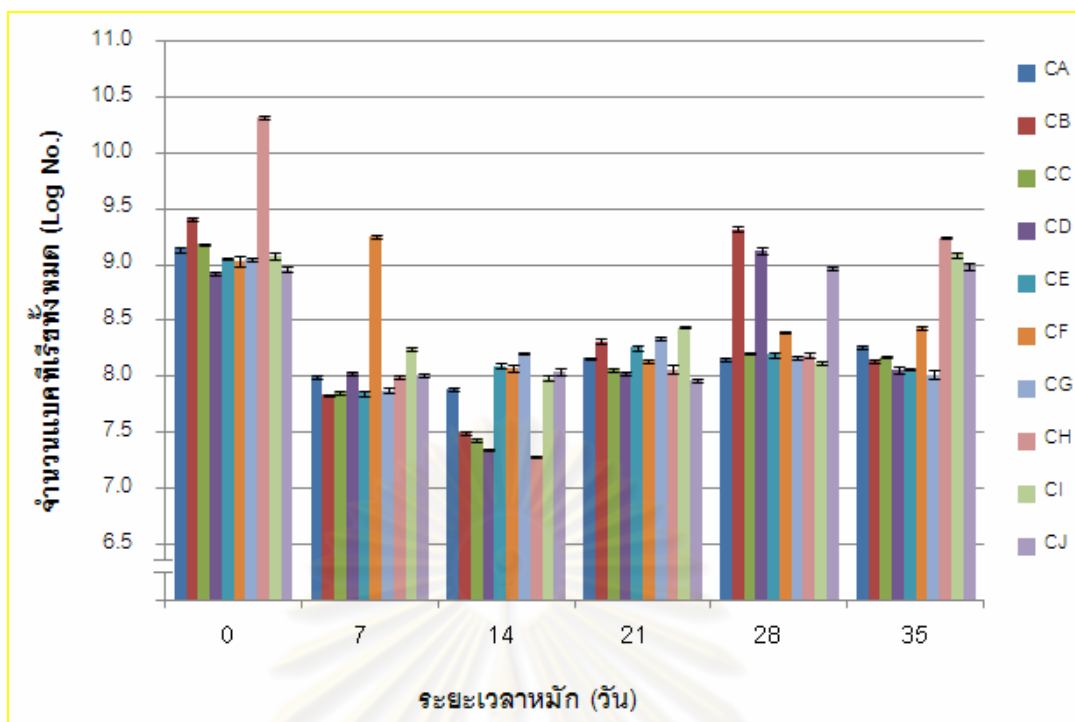
CI คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองต่างๆ เมื่อเริ่มต้น 0 วัน (แถวที่1 และ3) และเมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน (แถวที่2 และ4)

- CA คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์ CB คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่เศษใบปาล์มน้ำมันทับถม CC คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ดินร้งปลวก
 CD คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ใบไม้ทับถม CE คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่เศษใบลองกองทับถม CF คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ทะเลลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง
 CG คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ใบมังคุดทับถม CH คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักมูลไก่ CI คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์สวนจิตรลดา
 CJ คือ ชุตปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์



รูปที่ 4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลาะปลาสดน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะเลาะปลาสดที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

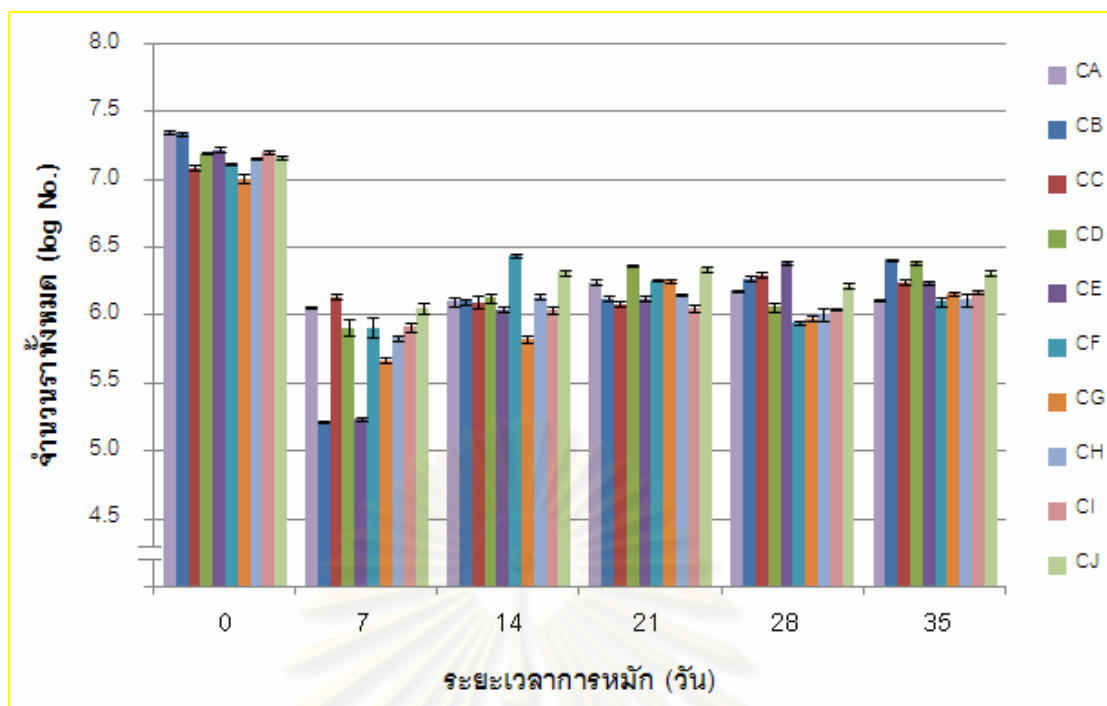
CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักน้ยมัจากทะเลลายปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินร้งปลวก

CD คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบลองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะเลลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

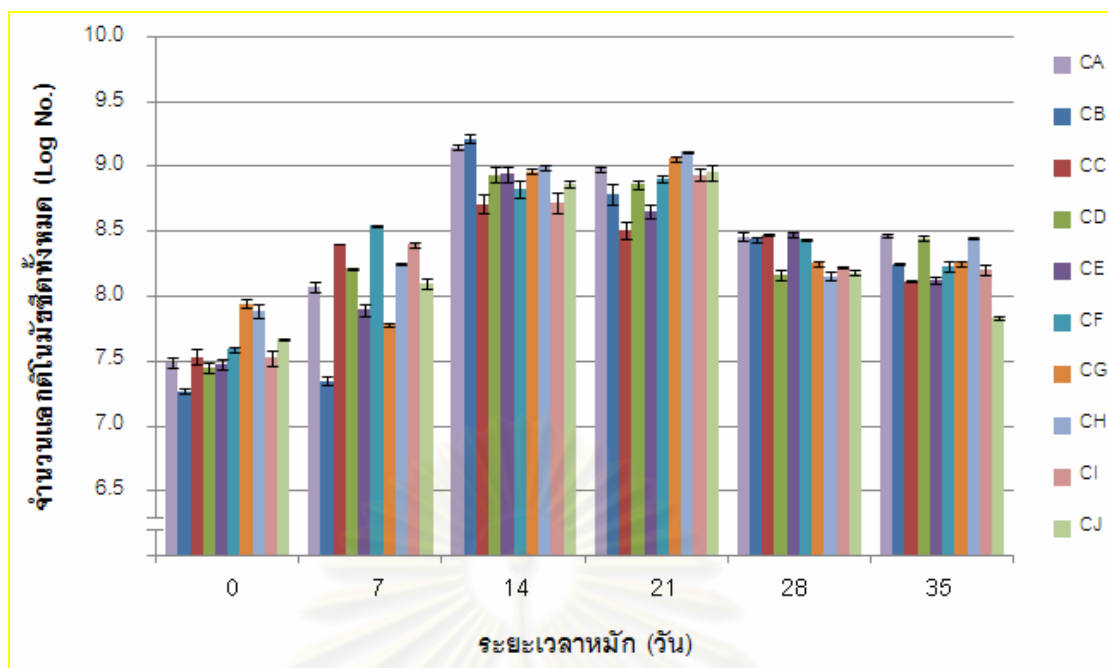
CH คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากน้ยมัมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากน้ยมัของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองน้ยมัที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากน้ยมัของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CA คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์

CB คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบปาล์มน้ำมันทับถม

CC คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากดินรังปลวก

CD คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบไม้ทับถม

CE คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบดองกองทับถม

CF คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง

CG คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถม

CH คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักมูลไก่

CI คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของโครงการสวนพระองค์

สวนจิตรลดา

CJ คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์

และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

4.2 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1

จากการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุด (CG) ให้ค่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำที่สุดและดีที่สุด รองลงมาเป็นปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (CJ) ดังนั้นปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG และ CJ จึงถูกคัดเลือกนำมาใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์ในการทดลองการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ได้แก่ มูลไก่ และรำข้าวให้ผลการศึกษาดังมีรายละเอียดดังนี้

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างกระบวนการหมัก

4.2.1.1 อุณหภูมิ

จากติดตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มในชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CG1) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่ (CGC1) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว (CGR1) ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CJ1) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่ (CJC1) และชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว (CJR1) ให้ผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วันแสดงดังตารางที่ 7 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.11 ซึ่งจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิเริ่มต้น (0 วัน) ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่าง 33 ถึง 35 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิของปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ระหว่าง 72-74 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิจึงค่อยๆ ลดลงและเพิ่มขึ้นเมื่อมีการกลับกองปุ๋ยและให้น้ำในวันต่อมา เป็นเช่นนี้ในระยะเวลา 9 วันแรกของการหมักปุ๋ยหลังจากนั้นพบว่าการกลับกองปุ๋ยและให้น้ำไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักจะค่อยๆ ลดลงจนเกือบคงที่โดยอุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองในวันสุดท้ายของการหมัก (35 วัน) อยู่ระหว่าง 39 ถึง 40 องศาเซลเซียส จากกราฟในรูปที่ 4.11 จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมักเศษ

ทะเลสาบปาล์มที่มีการใส่แหล่งไนโตรเจนทั้งมูลไก่หรือรำข้าวจะมีคุณภาพน้ำในกองปุ๋ยหมักสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่มีการใส่แหล่งไนโตรเจน

4.2.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง

การติดตามการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในชุดการทดลองปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มในชุดการทดลอง CG1 CGC1 CGR1 CJ1 CJC1 และ CJR1 ให้ผลการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างทุกๆ 7 วัน ตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วัน แสดงดังตารางที่ 8 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.12 จากความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรด-ด่างกับระยะเวลาการหมัก พบว่าความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเริ่มต้นมีค่าอยู่ระหว่าง 5.4 ถึง 5.8 จากนั้นความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 7 ของการหมักแล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 14 ของการหมัก จากนั้นความเป็นกรด-ด่างลดลงในวันที่ 21 ของการหมักและคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการหมักโดยจะมีความเป็นกรด-ด่างของชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดการหมัก (35 วัน) อยู่ระหว่าง 6.7 ถึง 7.3

4.2.1.3 ความชื้น

การติดตามการเปลี่ยนแปลงความชื้นในชุดการทดลองปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มในชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 CGR1 CJ1 CJC1 และ CJR1 ให้ผลการเปลี่ยนแปลงความเป็นความชื้นทุกๆ 7 วัน ตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วัน แสดงดังตารางที่ 9 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.13 ซึ่งทุกชุดการทดลองมีความชื้นเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 46-55 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 จะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเพิ่มขึ้นเป็น 59-70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหมักต่อไปอีกระยะหนึ่ง พบว่าทุกชุดการทดลองเปอร์เซ็นต์ความชื้นเพิ่มขึ้นและลดลงสลับกัน เป็นเช่นนี้ตลอดการหมักจนกระทั่งเมื่อการหมักเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 เปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงทุกชุดการทดลอง ยกเว้นชุดการทดลอง CG1 มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งการหมักเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 โดยเปอร์เซ็นต์ความชื้นของทุกชุดการทดลองในวันที่ 35 คือ 52-61 เปอร์เซ็นต์

4.2.1.4 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon)

ผลการหาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของชุดการทดลองปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองทั้งที่ไม่ใส่และใส่แหล่งไนโตรเจนรำข้าวหรือมูลไก่เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณคาร์บอนทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง โดยมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 อยู่ระหว่าง 46.21 ถึง 50.39 เปอร์เซ็นต์ โดย

ชุดการทดลอง CG1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลอง CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลอง CGC1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่าชุดการทดลอง CG1 และ CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในทุกชุดการทดลองปฏิกูลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.14) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของทุกชุดการทดลองปฏิกูลเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 39.43 ถึง 44.73 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CGC1 และ CGR1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่าชุดการทดลอง CG1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและชุดการทดลอง CGC1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่าชุดการทดลอง CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

ส่วนผลการหาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของชุดการทดลองปฏิกูลหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 49.55 ถึง 50.77 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CJ1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นการหมักมากกว่าชุดการทดลอง CJC1 และ CJR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในทุกชุดการทดลองปฏิกูลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.14) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของทุกชุดการทดลองปฏิกูลเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 39.43 ถึง 44.28 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CJC1 และ CJR1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่าชุดการทดลอง CJ1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลอง CJC1 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่ากับชุดการทดลอง CJR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

4.2.1.5 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

ผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปฏิกูลหมักในทุกชุดการทดลองทั้งที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนและใส่แหล่งไนโตรเจนรำข้าวหรือมูลไก่เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง โดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นในชุดการทดลองปฏิกูลหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 อยู่ระหว่าง 1.03 ถึง 1.42 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CG1 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักน้อยกว่าชุดการทดลอง CGC1 และ CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปฏิกูลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.15) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปฏิกูลเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 1.85 ถึง 2.10 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CGC1 และ CGR1 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลอง CG1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและชุดการทดลอง

CGC1 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลอง CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

ส่วนผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 1.12 ถึง 1.40 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักน้อยกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC1 และ CJR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.15) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 1.81 ถึง 2.17 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CJR1 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลอง CJ1 และ CJC1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนชุดการทดลอง CJC1 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกับชุดการทดลอง CJ1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

4.2.1.6 อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด

ผลการหาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองทั้งที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนและใส่แหล่งไนโตรเจนรำข้าวหรือมูลไก่เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 อยู่ระหว่าง 36:1 ถึง 48:1 โดยชุดการทดลอง CG1 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักมากกว่าชุดการทดลอง CGC1 และ CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.16) อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 19:1 ถึง 24:1 โดยชุดการทดลอง CGC1 และ CGR1 อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำกว่าชุดการทดลอง CG1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและชุดการทดลอง CGC1 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำกว่าชุดการทดลอง CGR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

ส่วนผลการหาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 36:1 ถึง 45:1 โดยชุดการทดลอง CJ1 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักสูงกว่าชุดการทดลอง CJC1 และ CJR1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วัน พบว่าอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการ

ทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.16) อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 20:1 ถึง 24:1 โดยชุดการทดลอง CJC1 และ CJR1 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ต่ำกว่าชุดการทดลอง CJ1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

4.2.1.7 ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก

เมื่อการหมักปุ๋ยเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 ลักษณะของปุ๋ยหมักจากทุกชุดการทดลองที่ได้มีลักษณะคล้ายกัน คือ มีสีน้ำตาลปนดำ ลักษณะเปื่อยยุ่ย และมีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน เมื่อเทียบกับปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ใส่แหล่งไนโตรเจนมีความแตกต่างกันคือ ปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ใส่แหล่งไนโตรเจนมีสีน้ำตาลเข้มปนดำ ลักษณะเปื่อยยุ่ยและขนาดเล็กกว่าปุ๋ยหมักชุดการทดลองควบคุมไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ลักษณะของปุ๋ยหมักที่ได้แสดง ดังรูปที่ 4.17

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพโดยติดตามปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 แสดงดังตารางที่ 10 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.18 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมักโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(44.74 \pm 1.05) \times 10^8$ ถึง $(51.70 \pm 0.97) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CG1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CGR1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในทุกชุดการทดลองลดลงในช่วง 7 วันแรกของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นแล้วลดลงเมื่อสิ้นสุดการหมัก โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลอง CG1 เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น $(35.56 \pm 1.78) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก ชุดการทดลอง CGC1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(32.60 \pm 1.01) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 28 ของการหมัก และชุดการทดลอง CGR1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(22.69 \pm 0.88) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 21 ของการหมัก

ผลการติดตามจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 แสดง

ดังตารางที่ 10 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.19 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมัก โดยมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ระหว่าง $(40.04 \pm 0.55) \times 10^8$ ถึง $(54.82 \pm 0.34) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลอง CJ1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CJR1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในทุกชุดการทดลองลดลงในช่วง 7 วันแรกของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นแล้วลดลงเมื่อสิ้นสุดการหมัก โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลอง CJ1 เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็นปริมาณ $(21.71 \pm 1.74) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก ชุดการทดลอง CJC1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(51.13 \pm 2.62) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 28 ของการหมัก และชุดการทดลอง CJR1 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(47.68 \pm 1.52) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก

4.2.2.2 ปริมาณราทั้งหมด

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 แสดงดังตารางที่ 11 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.20 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณราทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมัก โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(9.09 \pm 0.22) \times 10^6$ ถึง $(145.28 \pm 5.73) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CGR1 มีปริมาณราทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CGC1 มีปริมาณราทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือแนวโน้มปริมาณราทั้งหมดในทุกชุดการทดลองค่อยๆ ลดลงและเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันสุดท้ายของการหมัก โดยปริมาณราทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักอยู่ระหว่าง $(0.25 \pm 0.01) \times 10^6$ ถึง $(1.38 \pm 0.12) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

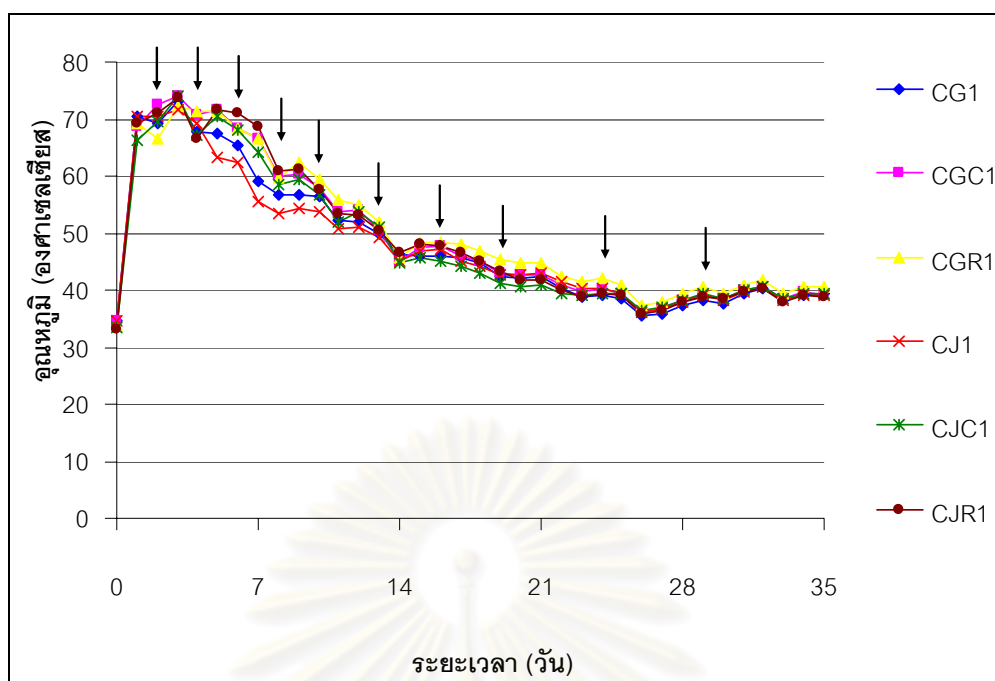
ผลการติดตามจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 แสดงดังตารางที่ 11 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.21 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณราทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(0.79 \pm 0.02) \times 10^6$ ถึง $(222.17 \pm 0.85) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลอง CJ1 มีปริมาณราทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CJC1 มีปริมาณราทั้งหมดสูงสุด การเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของชุดการทดลอง CJ1 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงสูงสุดในวันที่ 14 ของการหมัก โดยมีปริมาณราทั้งหมดเป็น $(2.50 \pm 0.22) \times$

10^6 โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณราจะลดลงจนสิ้นสุดการหมัก ส่วนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของชุดการทดลอง CJC1 มีแนวโน้มลดลงตลอดการหมักและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของชุดการทดลอง CJR1 ลดลงในช่วง 7 วันแรกของการหมักและปริมาณราทั้งหมดเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 14 ของการหมักเป็น $(1.90 \pm 0.18) \times 10^6$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งและลดลงจนสิ้นสุดการหมัก

4.2.2.3 ปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมด

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 แสดงดังตารางที่ 12 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.22 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าแอกติโนมัยซีดมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(0.02 \pm 0) \times 10^8$ ถึง $(0.04 \pm 0.01) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CG1 มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CGC1 มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนสุดประมาณวันที่ 14 ของการหมักและลดลงจนสิ้นสุดการหมัก โดยปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดของชุดการทดลอง CG1 เพิ่มสูงสุดเป็น $(7.51 \pm 0.14) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 21 ของการหมัก ชุดการทดลอง CGC1 เพิ่มสูงสุดเป็น $(15.79 \pm 0.77) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก และชุดการทดลอง CGR1 เพิ่มสูงสุดเป็น $(22.21 \pm 1.77) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก

ผลการติดตามจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 แสดงดังตารางที่ 12 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.23 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นของทุกชุดการทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(0.01 \pm 0) \times 10^8$ ถึง $(0.02 \pm 0.01) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CJR1 มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CJC1 มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนสุดในวันที่ 14 ของการหมักและลดลงจนสิ้นสุดการหมัก โดยปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดของชุดการทดลอง CJ1 เพิ่มสูงสุดเป็น $(13.38 \pm 1.32) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก ชุดการทดลอง CJC1 เพิ่มสูงสุดเป็น $(23.50 \pm 1.64) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJR1 เพิ่มสูงสุดเป็น $(11.62 \pm 1.55) \times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 21 ของการหมัก



รูปที่ 4.11 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน ลูกศร (↓) แสดงวันที่กลับกองปุ๋ยหมัก

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

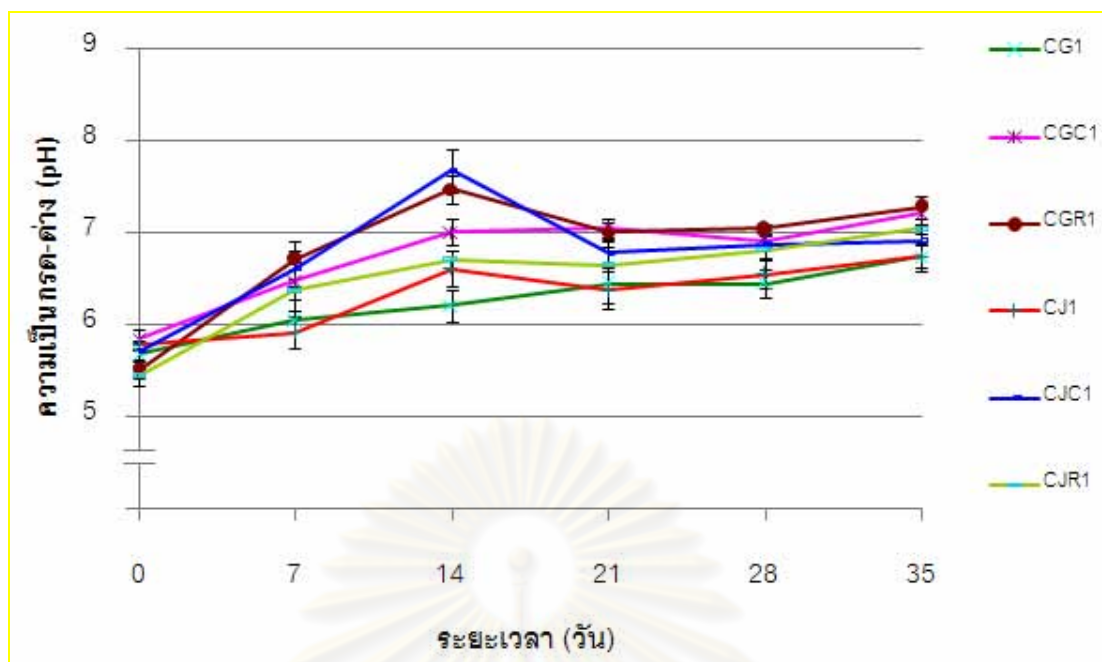
CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.12 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

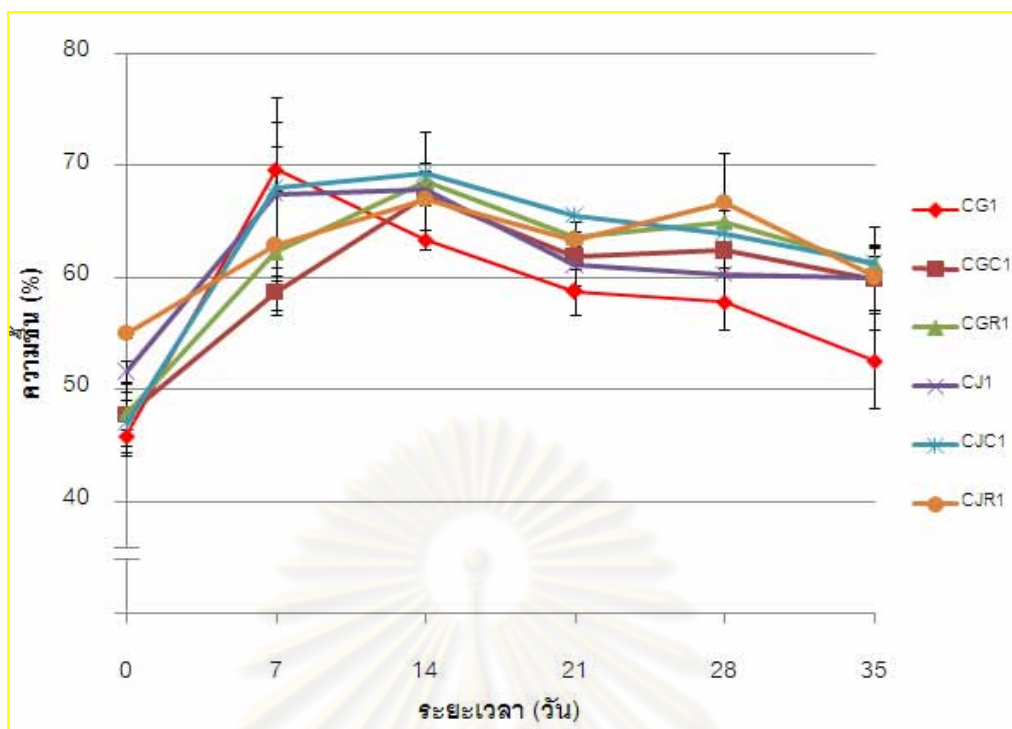
CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.13 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

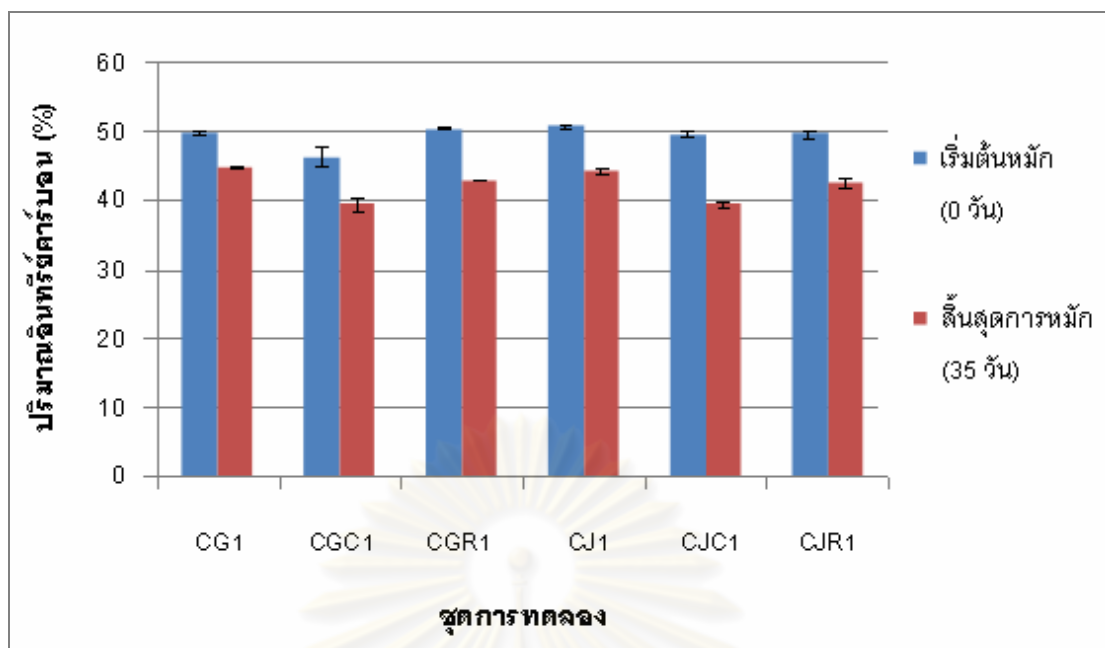
CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.14 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

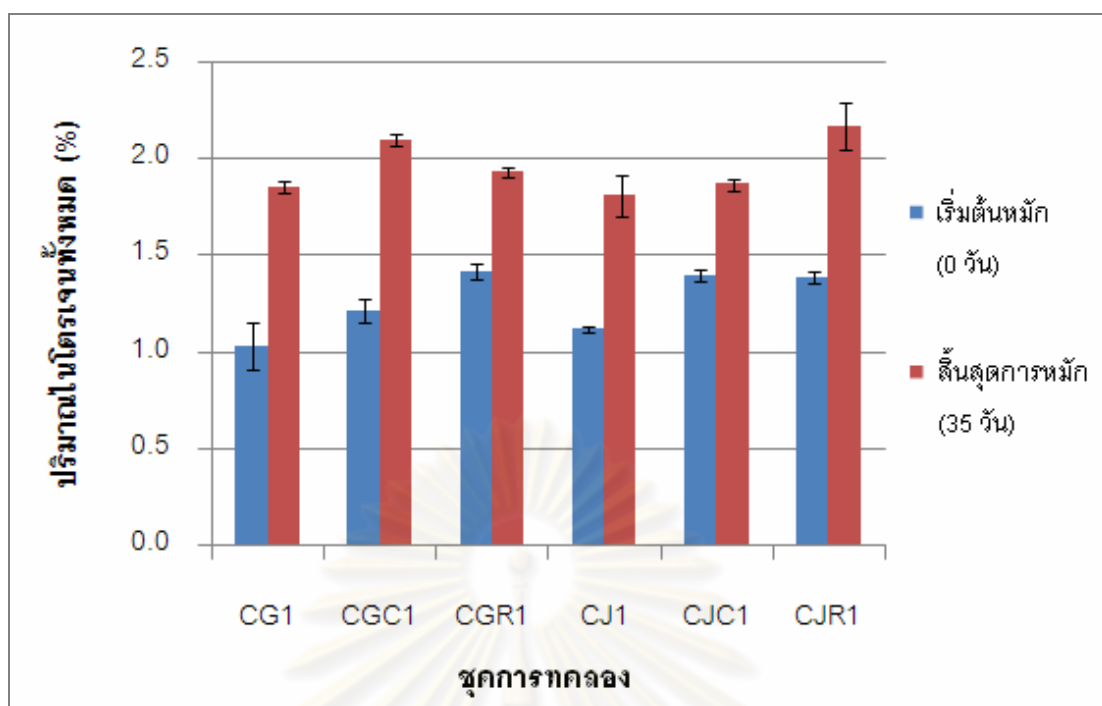
CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.15 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

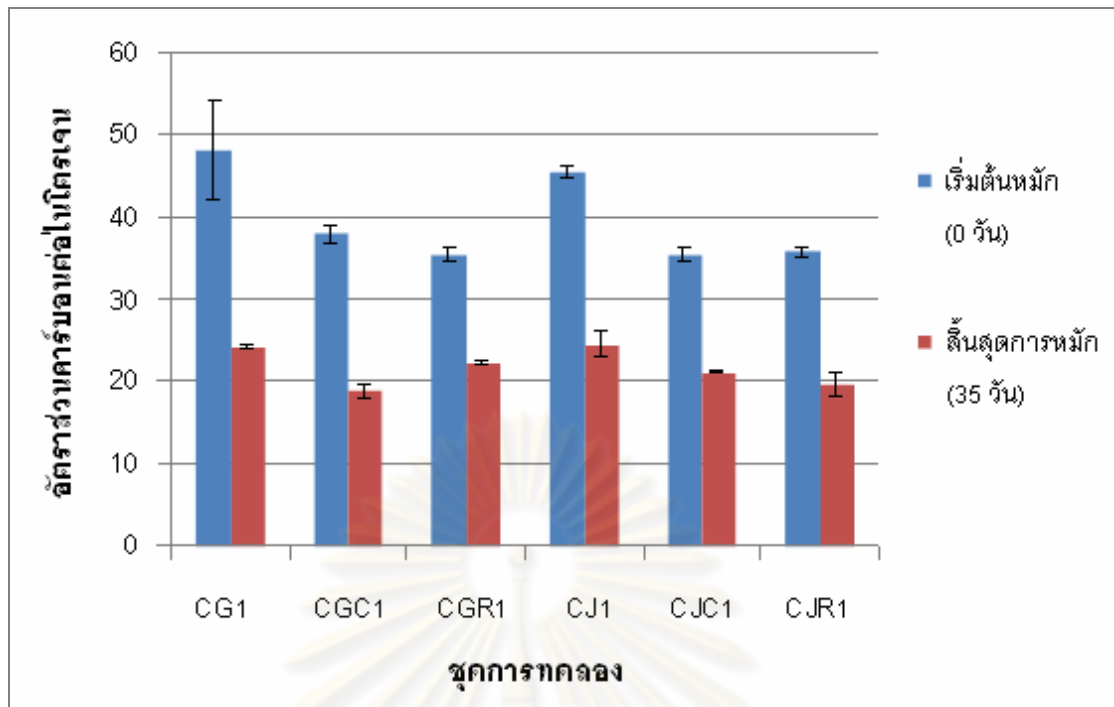
CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.16 แสดงการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (%)		ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%)		อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	
	0 วัน	35 วัน	0 วัน	35 วัน	0 วัน	35 วัน
CG1	49.68 ^(b)	44.73 ^(c)	1.03 ^(a)	1.85 ^(a)	48:1 ^(b)	24:1 ^(c)
CGC1	46.21 ^(a)	39.43 ^(a)	1.22 ^(b)	2.10 ^(c)	38:1 ^(a)	19:1 ^(a)
CGR1	50.39 ^(b)	42.92 ^(b)	1.42 ^(c)	1.93 ^(b)	35:1 ^(a)	22:1 ^(b)
CJ1	50.77 ^(b)	44.28 ^(c)	1.12 ^(a)	1.81 ^(a)	45:1 ^(a)	24:1 ^(a)
CJC1	49.55 ^(a)	39.43 ^(a)	1.40 ^(b)	1.87 ^(a)	36:1 ^(b)	21:1 ^(b)
CJR1	49.68 ^(a)	42.53 ^(b)	1.39 ^(b)	2.17 ^(b)	36:1 ^(b)	20:1 ^(b)

หมายเหตุ อักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะของปุ๋ยหมักที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เมื่อเริ่มต้น 0 วัน (แถวที่1 และ3) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน (แถวที่2 และ4)

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

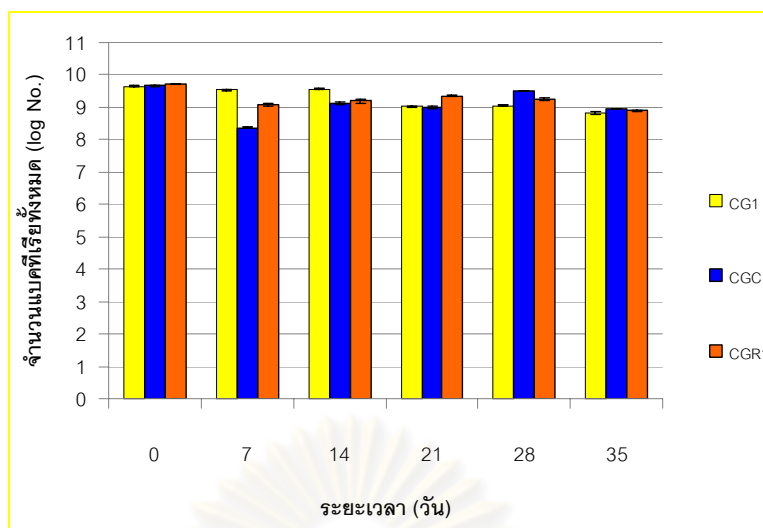
CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว



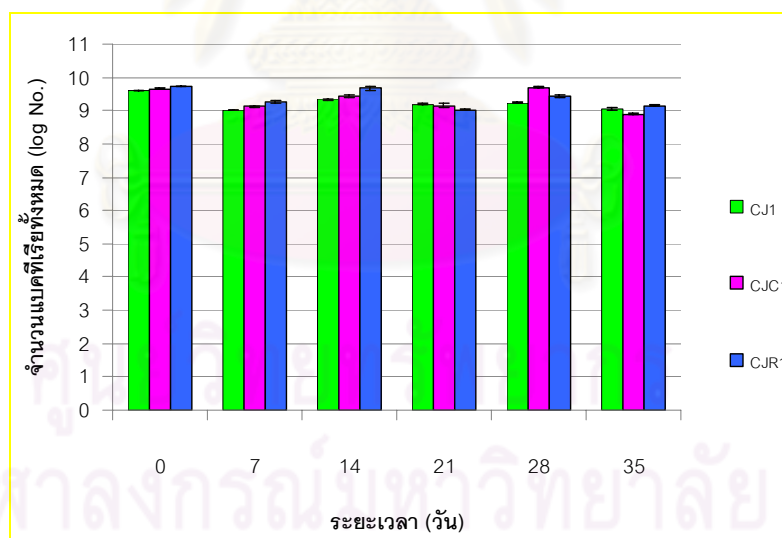
รูปที่ 4.18 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาดิมน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว



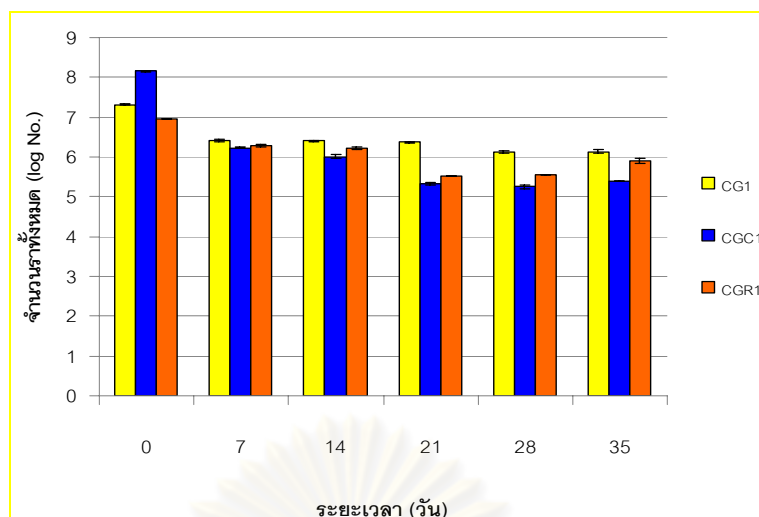
รูปที่ 4.19 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาดิมน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว



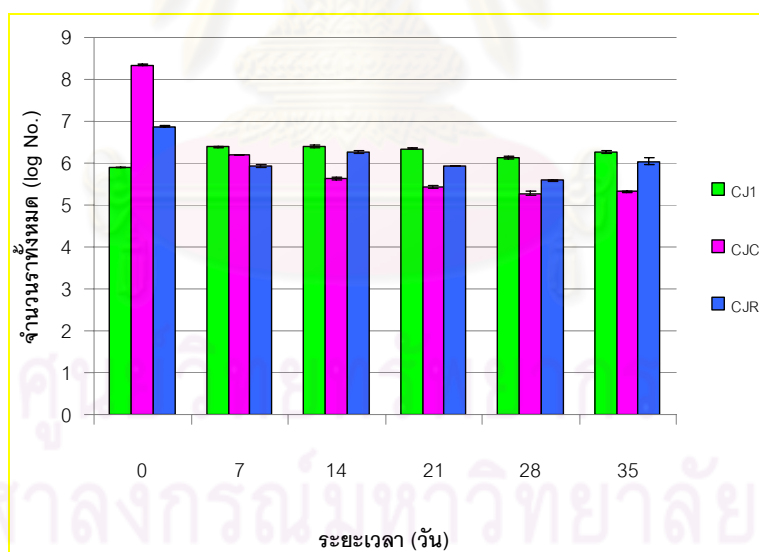
รูปที่ 4.20 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว



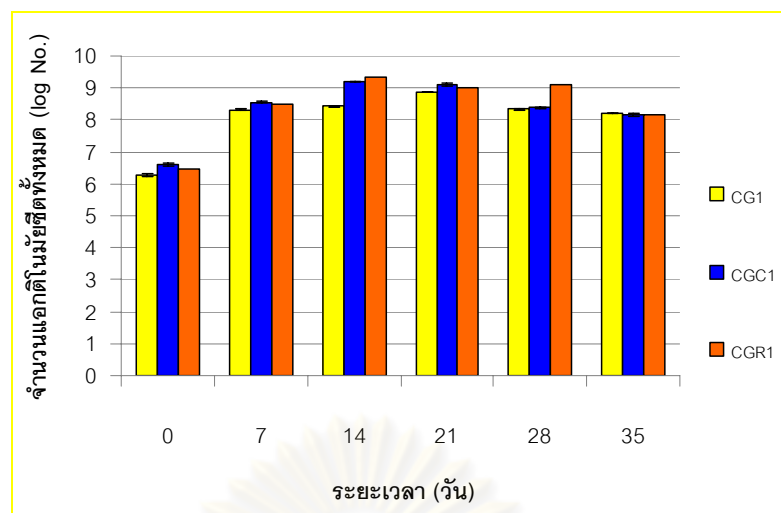
รูปที่ 4.21 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว



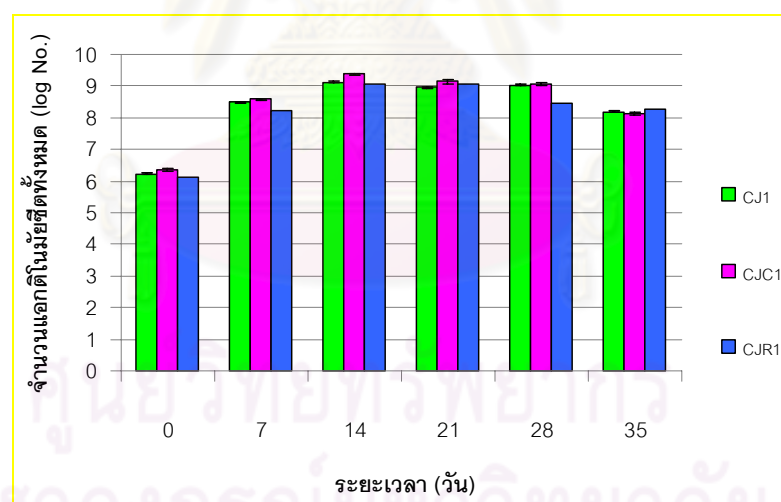
รูปที่ 4.22 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.23 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

4.3 การคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1

4.3.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ได้แก่ แบคทีเรีย ราและแอกติโนมัยซีตจากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 CGR1 CJ1 CJC1 และ CJR1 ซึ่งแบคทีเรียและราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมัก โดยมีแบคทีเรียอยู่ระหว่าง $(1.72 \pm 0.19) \times 10^8$ ถึง $(4.75 \pm 0.62) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยมีราอยู่ระหว่าง $(2.50 \pm 0.22) \times 10^6$ ถึง $(222.17 \pm 8.51) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนแอกติโนมัยซีตมีปริมาณมากที่สุดอยู่ในช่วง 14 ถึง 35 วัน โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(0.80 \pm 0.11) \times 10^8$ ถึง $(11.43 \pm 0.27) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังตารางที่ 4.3

4.3.1.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน โดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จำนวนทั้งสิ้น 56 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งมีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.24

จากตารางที่ 4.5 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน โดยพบไอโซเลต MPB1 นี้ในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MPB2 พบอยู่ในช่วงเริ่มต้นการหมัก ถึง 28 วัน ไอโซเลต MPB4 พบอยู่ในช่วง 21 ถึง 35 วันของการหมักยกเว้นชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 และ CJC1 ซึ่งไม่พบไอโซเลต MPB4 สำหรับไอโซเลต MPB6 พบอยู่ในช่วง 21 ถึง 35 วันของการหมักยกเว้นชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 และ CJ1 ที่ไม่พบไอโซเลต MPB6 และสำหรับไอโซเลต MPB7 พบอยู่ในช่วงเริ่มต้นหมักถึง 35 วันของการหมัก

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลาะปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน (โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)		
	แบคทีเรีย	รา	แอกติโนมัยซีต
CG1	$(3.52 \pm 1.33) \times 10^8$ (7 วัน)	$(20.95 \pm 0.46) \times 10^6$ (0 วัน)	$(0.80 \pm 0.11) \times 10^8$ (35 วัน)
CGC1	$(1.72 \pm 0.19) \times 10^8$ (0 วัน)	$(145.28 \pm 5.73) \times 10^6$ (0 วัน)	$(11.43 \pm 0.27) \times 10^8$ (28 วัน)
CGR1	$(3.01 \pm 0.40) \times 10^8$ (0 วัน)	$(9.09 \pm 0.22) \times 10^6$ (0 วัน)	$(0.93 \pm 0.09) \times 10^8$ (28 วัน)
CJ1	$(4.75 \pm 0.62) \times 10^8$ (0 วัน)	$(2.50 \pm 0.22) \times 10^6$ (7 วัน)	$(5.48 \pm 0.48) \times 10^8$ (14 วัน)
CJC1	$(2.94 \pm 0.65) \times 10^8$ (7 วัน)	$(222.17 \pm 8.51) \times 10^6$ (0 วัน)	$(4.98 \pm 0.50) \times 10^8$ (14 วัน)
CJR1	$(4.67 \pm 1.02) \times 10^8$ (0 วัน)	$(7.63 \pm 0.71) \times 10^6$ (0 วัน)	$(1.46 \pm 0.04) \times 10^8$ (35 วัน)

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

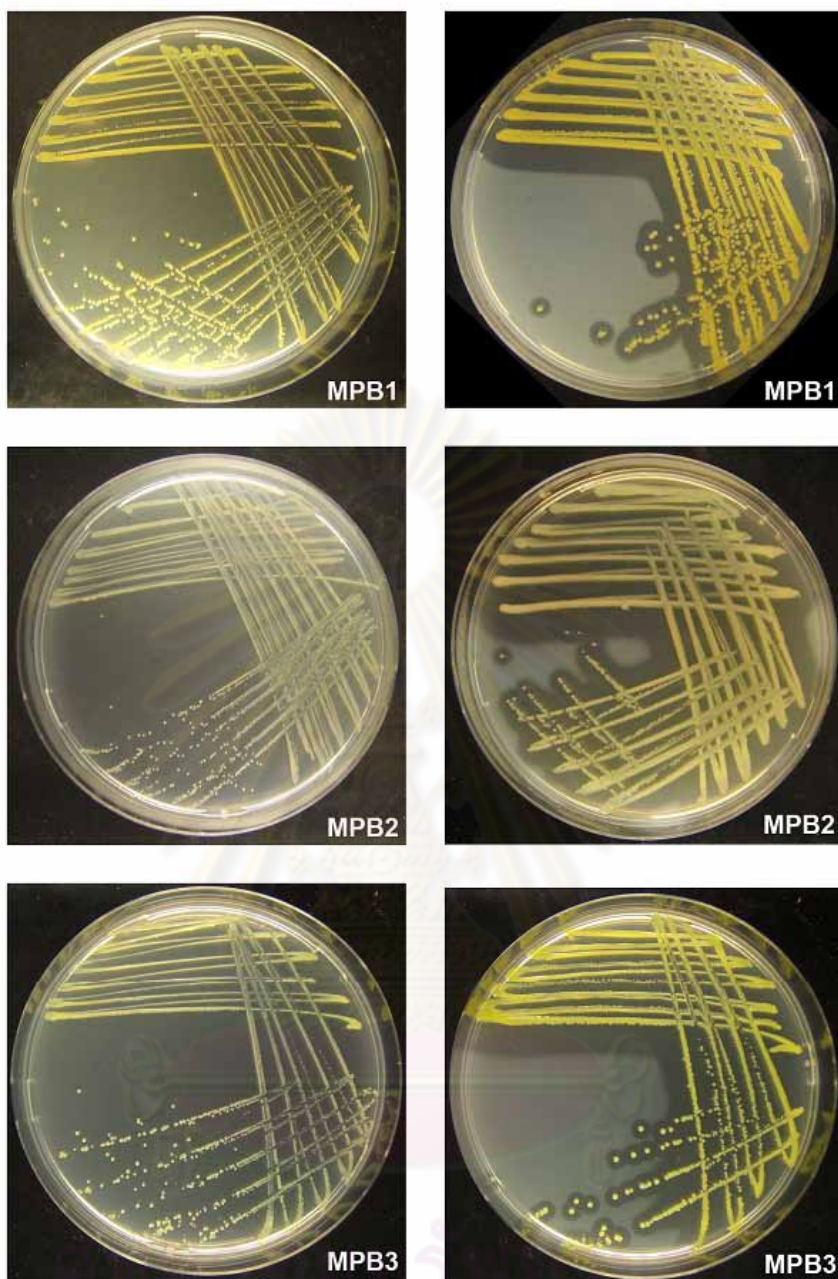
CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

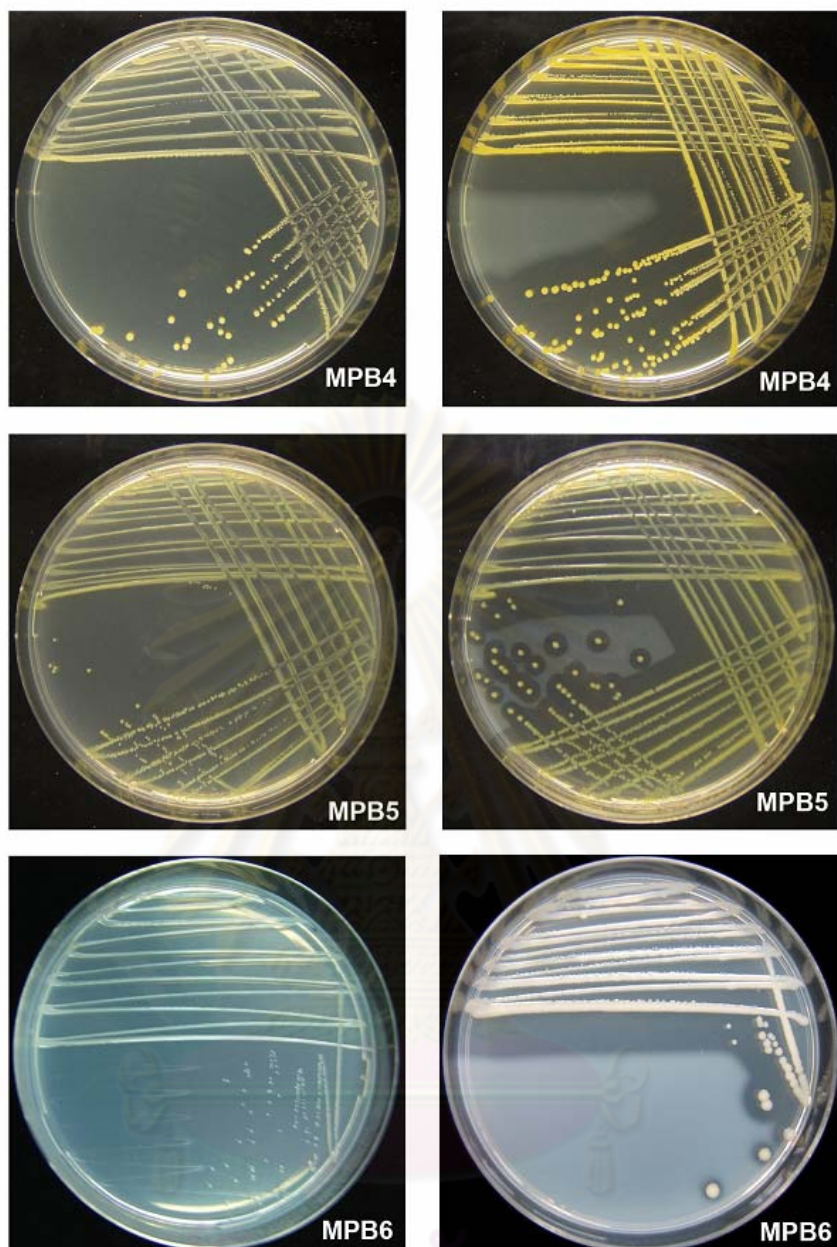
ตารางที่ 4.4 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี
MPB1	สีเหลืองเข้ม กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MPB2	สีเหลืองอ่อน กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MPB3	สีเหลือง กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MPB4	สีส้ม กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MPB5	สีเหลือง กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MPB6	ไม่มีสี กลม หนูนมาก มันวาว ขอบเรียบ ทึบ
MPB7	สีน้ำตาล กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MPB8	สีน้ำตาลอ่อน กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MPB9	สีเหลืองอ่อน กลม หนูนมาก มันวาว ขอบเรียบ ใส
MPB10	สีครีม กลม มันวาว หนูนมาก ขอบเรียบ ใส

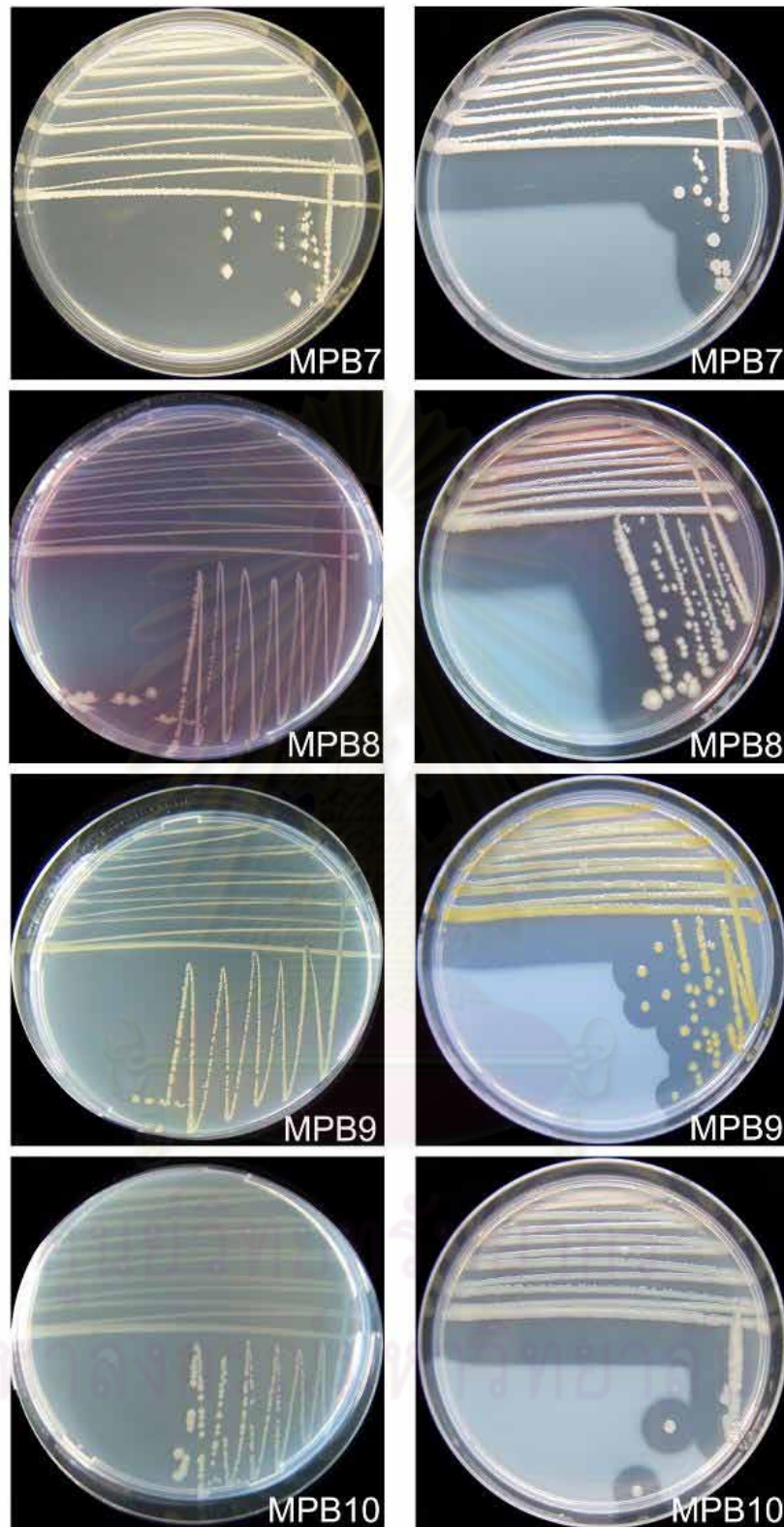
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.24 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ที่ได้จาก
 ปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็น
 ระยะเวลา 2 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ซ้าย) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ขวา)



รูปที่ 4.24 (ต่อ) ศูนย์วิทยาศาสตร์การ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.24 (ต่อ)

ตารางที่ 4.5 แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MPB1	0, 7	0, 7	0, 7	0, 7	0, 7	0, 7
MPB2	0, 7, 28	14	7, 14, 28	28	7	7, 21
MPB3	-	7	-	7	14	7
MPB4	28	21	21	-	-	21, 35
MPB5	-	-	-	14	-	14
MPB6	-	28	21	-	21, 28, 35	28
MPB7	21, 28	0, 21	35	21, 28, 35	0, 21	21, 28
MPB8	0	-	0	0	-	-
MPB9	-	7	7	-	-	-
MPB10	14	-	-	-	14	-

หมายเหตุ – คือ ไม่พบแบคทีเรียในช่วงวันทดลอง

CG1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJ1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CJC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

4.3.1.2 การคัดแยกและหาปริมาณราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการคัดเลือกราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Streptomycin Rose Bengal Agar จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้ร่าทั้งสิ้น 112 ไอโซเลตเมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar พบว่าร่าทั้ง 112 ไอโซเลตมีความสามารถการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จากร่าจำนวน 112 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตของราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งมีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและลักษณะการเกิดของสปอร์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.25

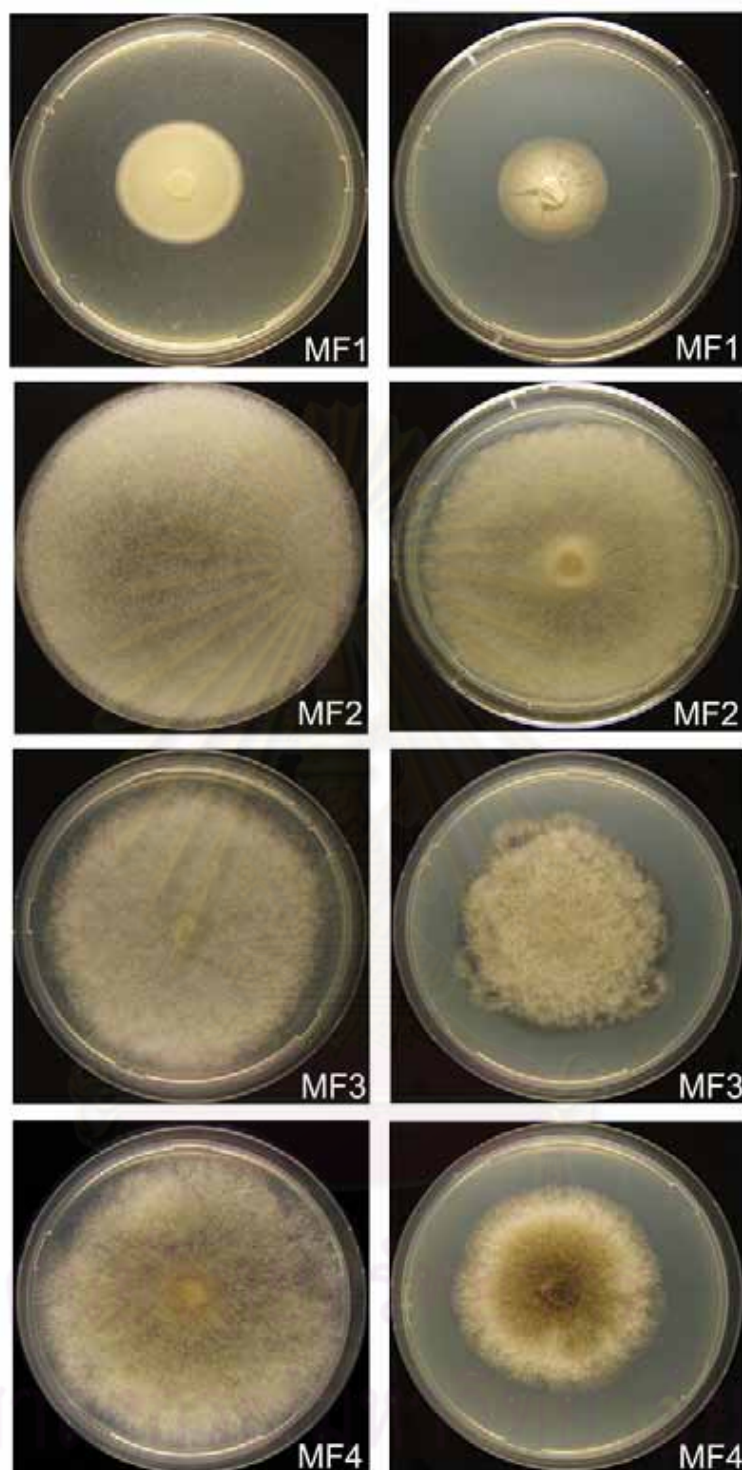
จากตารางที่ 4.7 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนไอโซเลต MF1 พบได้ในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MF4 และ MF5 พบอยู่ในช่วง 7 วัน ถึง 35 วันของการหมัก และไอโซเลต MF6 พบอยู่ในช่วง 14 วัน ถึง 35 วันของการหมัก

ตารางที่ 4.6 แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

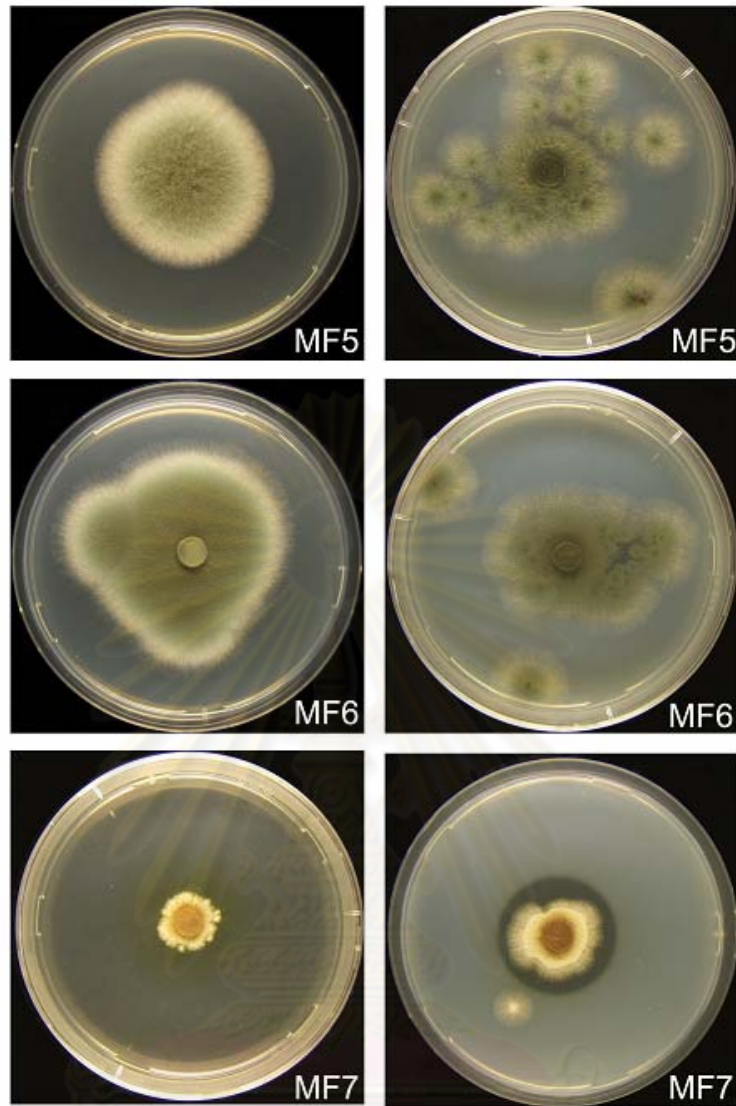
ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	อัตราการเจริญ
MF1	เส้นใยสีขาว รากับผิวหน้าอาหาร	+
MF2	เส้นใยสีเทา สปอร์สีดำ โตเร็ว เส้นใยหยาบ	+++
MF3	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทา เส้นใยหยาบ	+++
MF4	เส้นใยสีเหลืองแกมครีม สปอร์สีเหลืองแกมครีม ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	++
MF5	เส้นใยสีเขียว สปอร์สีเขียว ขอบสีขาว เส้นใย	+++
MF6	เส้นใยสีเขียวเข้ม สปอร์สีเขียวเข้ม	+++
MF7	เส้นใยสีน้ำตาลเหลือง สปอร์สีน้ำตาลเหลือง	+++

หมายเหตุ

- +++ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว
- ++ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง
- + คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตช้า



รูปที่ 4.25 ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ขวา)



รูปที่ 4.25 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MF1	0, 7	0	0, 7	0, 7	0	0
MF2	-	14	0, 21, 28	0, 14, 21	-	0, 14, 28
MF3	7, 35	7, 35	7, 21, 28, 35	-	7, 14, 21	7
MF4	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MF5	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	7, 14, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MF6	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35
MF7	-	35	35	35	-	-

หมายเหตุ – คือ ไม่พบราในช่วงวันทดลอง

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

4.3.1.3 การคัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการคัดแยกแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากปุ๋ยหมักทะเลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จำนวนทั้งสิ้น 25 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตของแอกติโนมายซีตที่มีเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ และสปอร์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.8

จากตารางที่ 4.9 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนไอโซเลต MPA1 ในช่วง 14 วันถึง 35 วันของการหมัก และไอโซเลต MPA2 พบอยู่ในวันที่ 7 วัน และ 35 วันของการหมัก

ตารางที่ 4.8 แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar
MPA1	เส้นใยอาหารสีเหลือง เส้นใยอากาศสีครีม สปอร์สีครีม		
MPA2	เส้นใยอาหารสีขาว เส้นใยอากาศสีเทา สปอร์สีเทา		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.9 แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MPA1	14, 21, 28	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 28, 35	14, 28
MPA2	35	7	7, 35	35	7	7, 35

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ โรดามิน บี และน้ำมันมะกอก ได้แก่ แบคทีเรีย ราและแอกติโนมัยซีตจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 CGR1 CJ1 CJC1 และ CJR1 ให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.10 ซึ่งปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันของทุกชุดการทดลองมีมากที่สุดในวันที่ 7 14 21 และ 28 ของการหมัก โดยมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ระหว่าง $(4.25 \pm 1.06) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนรามีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมัก โดยมีราอยู่ระหว่าง $(2.50 \pm 0.22) \times 10^6$ ถึง $(222.17 \pm 8.51) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยไม่สามารถตรวจพบแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันทุกชุดการทดลองตลอดการหมัก

4.3.2.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันโดยเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่ โรดามิน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตรจำนวนทั้งสิ้น 58 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนของแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.26

จากตารางที่ 4.12 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันไอโซเลต MLB1 พบในช่วงเริ่มต้นการหมักและพบอีกครั้งในวันที่ 21 วัน ถึง 35 วันของการหมัก ไอโซเลต MLB2 MLB3 MLB4 MLB5 และ MLB6 พบเฉพาะตอนเริ่มต้นการหมักและพบเฉพาะบางชุดการทดลองปุ๋ยหมักเท่านั้น ไอโซเลต MLB7 พบเฉพาะช่วง 7 วัน และ 14 วันของการหมักและพบเฉพาะบางชุดการทดลองปุ๋ยหมักเท่านั้น ไอโซเลต MLB8 พบเฉพาะช่วง 7 วันของการหมักและพบเฉพาะบางชุดการทดลองปุ๋ยหมักเท่านั้น ไอโซเลต MLB9 พบเด่นมากอยู่ในช่วง 7 ถึง 35 วันของการหมักในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมัก และไอโซเลต MLB 10 และ MLB 11 พบเฉพาะช่วง 14 วันของการหมักและพบเฉพาะบางชุดการทดลองปุ๋ยหมักเท่านั้น

ตารางที่ 4.10 แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน (โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	แบคทีเรีย	รา	แอกติโนมัยซีต
CG1	$(5.06 \pm 0.69) \times 10^8$ (7 วัน)	$(20.95 \pm 0.46) \times 10^6$ (0 วัน)	-
CGC1	$(4.25 \pm 1.06) \times 10^8$ (28 วัน)	$(145.28 \pm 5.73) \times 10^6$ (0 วัน)	-
CGR1	$(12.81 \pm 2.02) \times 10^8$ (7 วัน)	$(9.09 \pm 0.22) \times 10^6$ (0 วัน)	-
CJ1	$(31.58 \pm 1.60) \times 10^8$ (21 วัน)	$(2.50 \pm 0.22) \times 10^6$ (7 วัน)	-
CJC1	$(14.51 \pm 0.82) \times 10^8$ (14 วัน)	$(222.17 \pm 8.51) \times 10^6$ (0 วัน)	-
CJR1	$(6.08 \pm 1.23) \times 10^8$ (21 วัน)	$(7.63 \pm 0.71) \times 10^6$ (0 วัน)	-

หมายเหตุ

– คือ ไม่พบแอกติโนมัยซีตที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

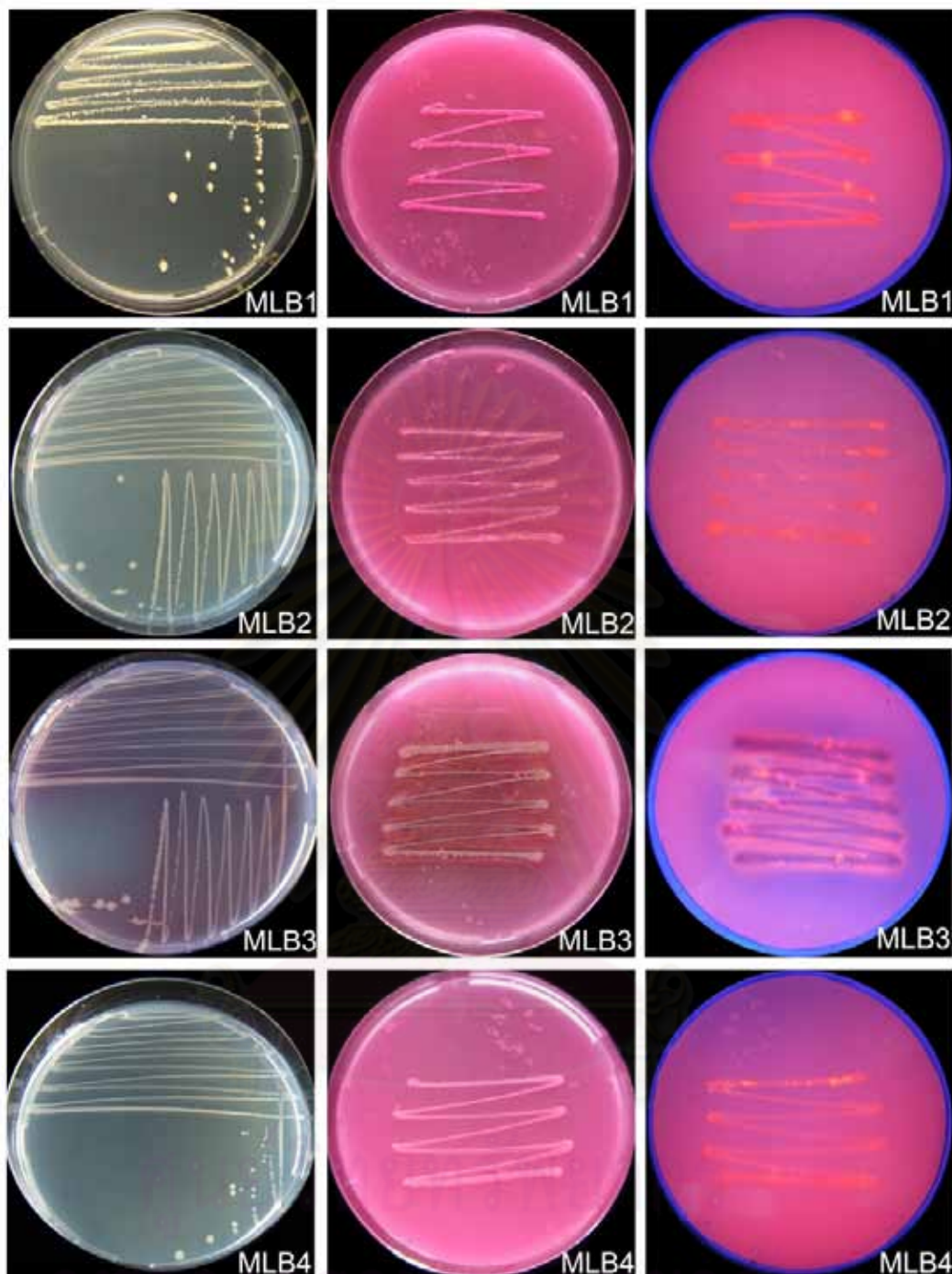
CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

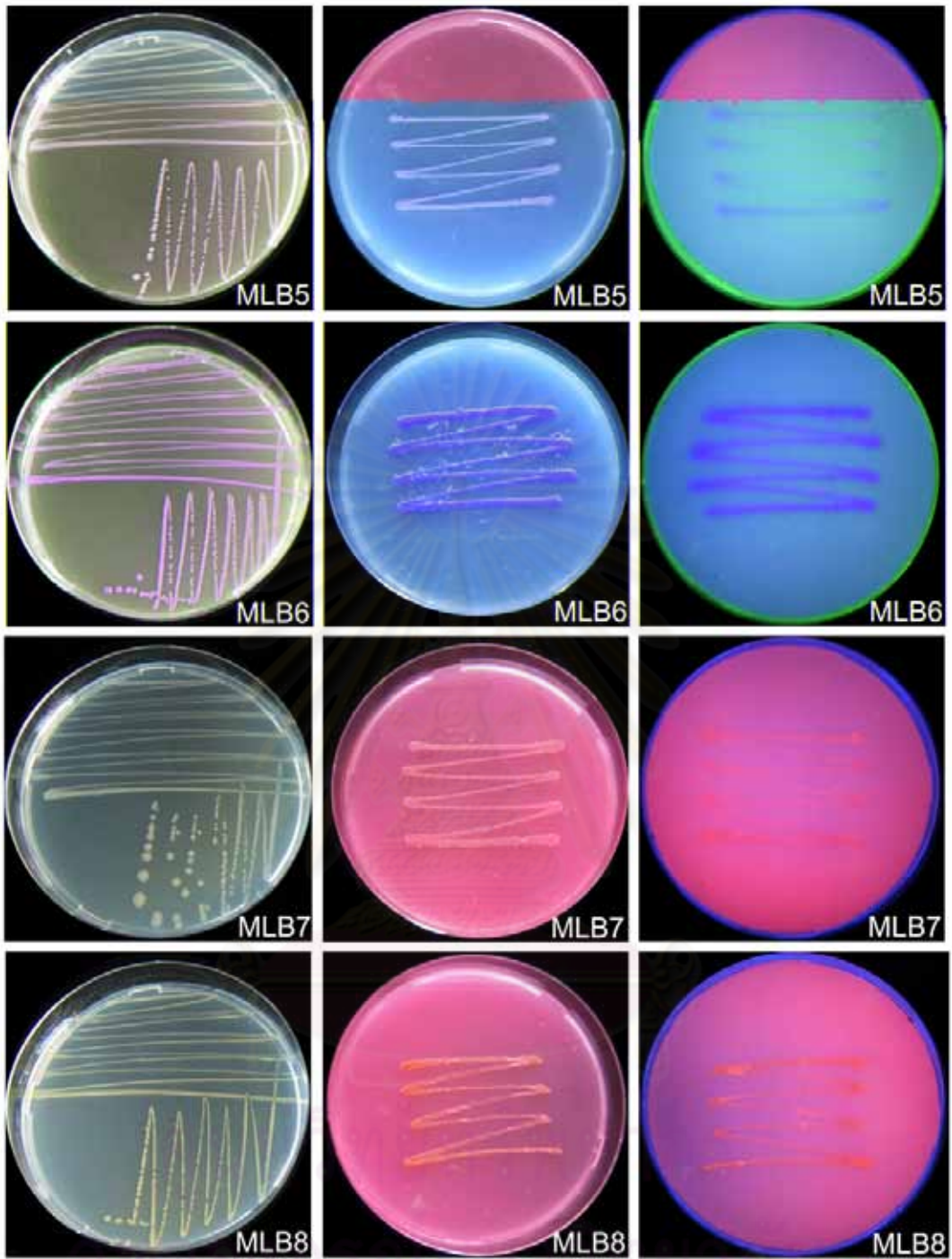
ตารางที่ 4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี
MLB1	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MLB2	สีเหลืองอ่อน กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB3	สีน้ำตาลอ่อน กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB4	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB5	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB6	สีเหลืองเข้ม กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MLB7	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB8	สีเหลืองอ่อน กลม นูนมาก มันวาว ขอบเรียบ ใส
MLB9	สีเหลือง ผิวหน้าย่น ด้าน ขอบหยัก ใส
MLB10	สีครีม กลม มันวาว นูนมาก ขอบเรียบ ใส
MLB11	สีเหลือง กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส

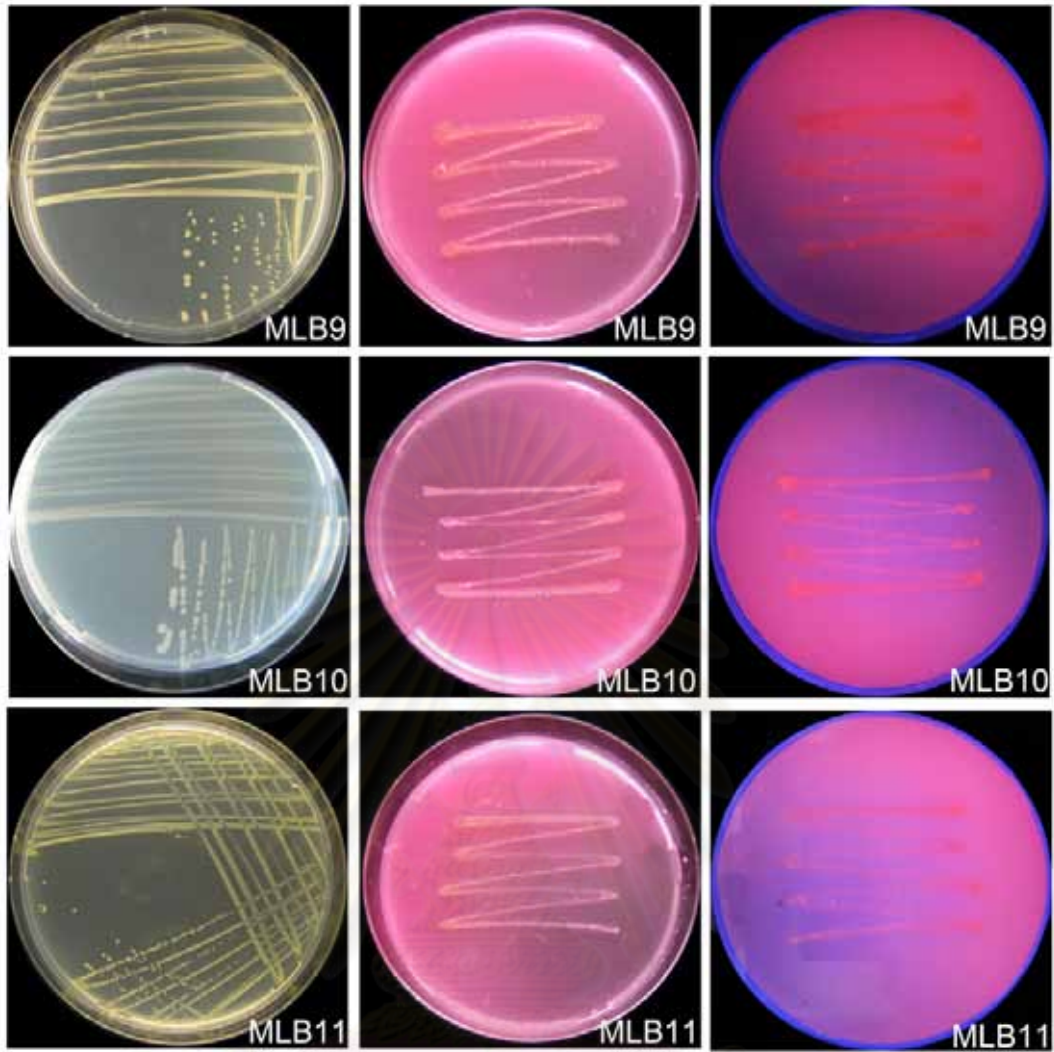
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.26 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี(กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ขวา)



รูปที่ 4.26 (ต่อ)



รูปที่ 4.26 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.12 แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันของแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MLB1	21, 28	0, 21	35	21, 28, 35	0, 21	21, 28
MLB2	-	-	-	-	0	0
MLB3	0	-	0	0	-	-
MLB4	0	-	-	0	-	0
MLB5	-	-	-	0	-	-
MLB6	-	-	-	-	-	0
MLB7	7	7, 14	14	14	-	14
MLB8	-	7	7	-	-	-
MLB9	7,14, 21, 28, 35	7,14, 21, 28, 35	7,14, 21, 28, 35	7,14, 21, 28, 35	7,14, 21, 28, 35	7,14, 21, 28, 35
MLB10	14	-	-	-	14	-
MLB11	-	-	-	14	-	14

หมายเหตุ – คือ ไม่พบแบคทีเรียในช่วงวันทดลอง

CG1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJ1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CJC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.2.2 การคัดแยกกราฟที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการคัดเลือกกราฟที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Streptomycin Rose Bengal Agar จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนได้รา ทั้งสิ้น 112 ไอโซเลตเมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี พบว่ารา 109 ไอโซเลตที่มีความสามารถการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันซึ่งเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตกราฟที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะสัญญาณวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและลักษณะการเกิดของสปอร์แตกต่างกัน ดังแสดงใน ตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.27

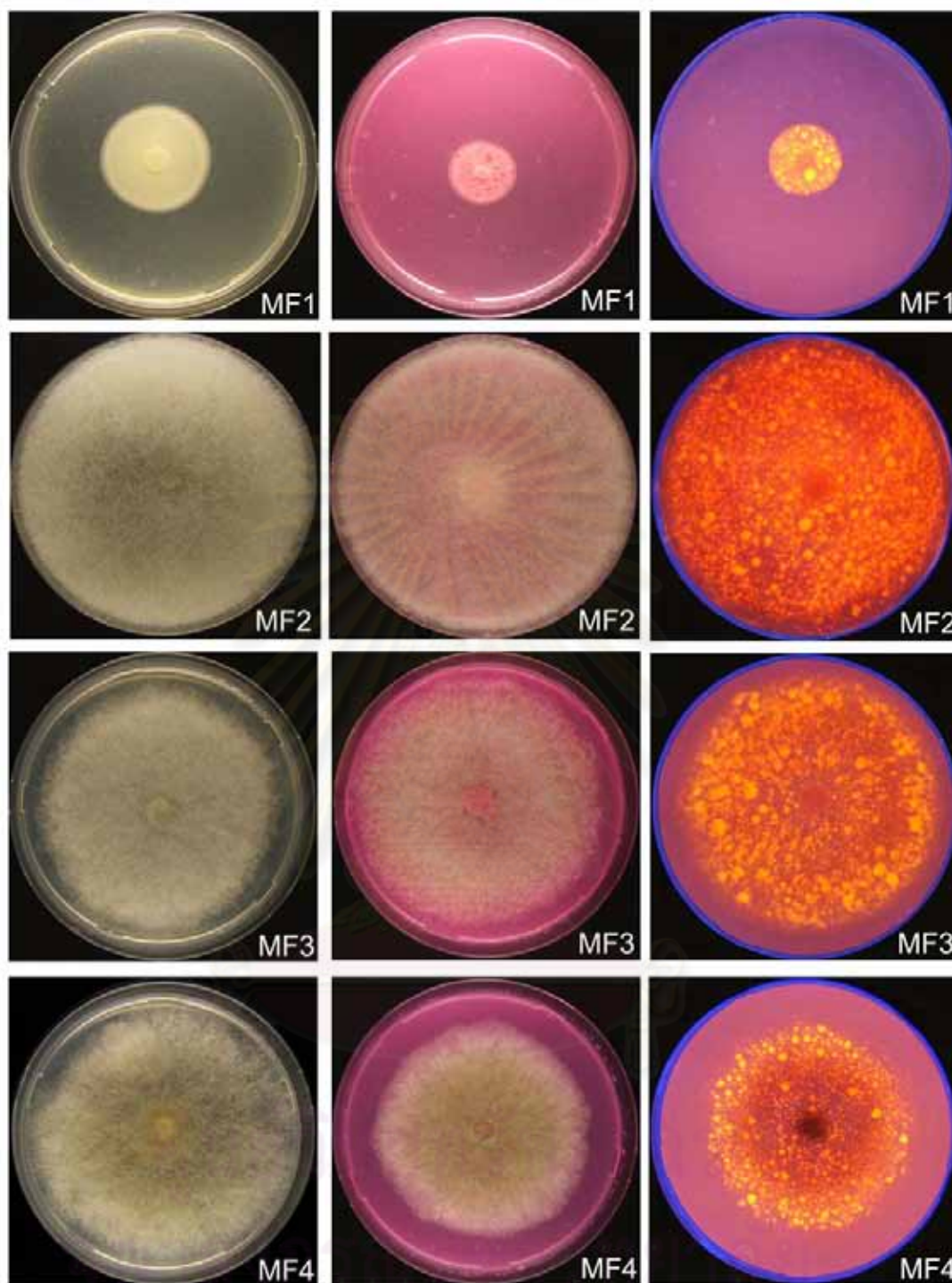
จากตารางที่ 4.14 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันไอโซเลต MF1 พบว่าไอโซเลตนี้ได้ในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MF4 และ MF5 พบอยู่ในช่วง 7 วัน ถึง 35 วันของการหมัก และไอโซเลต MF6 พบอยู่ในช่วง 14 วัน ถึง 35 วันของการหมัก

ตารางที่ 4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

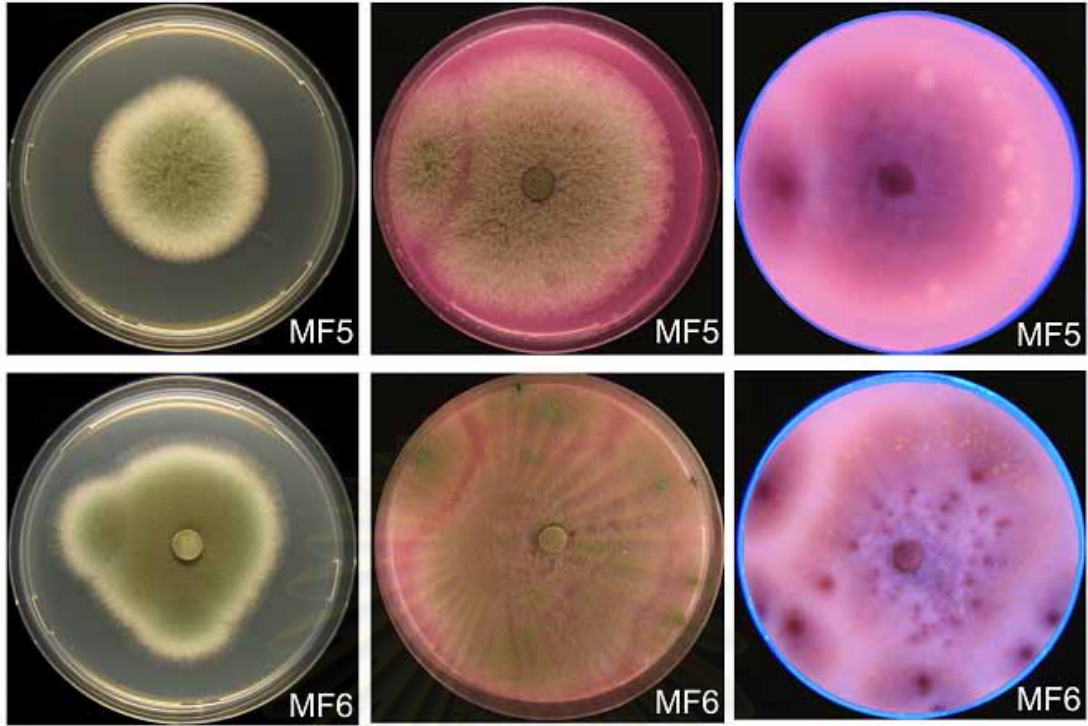
ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	อัตราการเจริญ
MF1	เส้นใยสีขาว รากับผิวหน้าอาหาร	+
MF2	เส้นใยสีเทา สปอร์สีดำ โตเร็ว เส้นใยหยาบ	+++
MF3	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทา เส้นใยหยาบ	+++
MF4	เส้นใยสีเหลืองแกมครีม สปอร์สีเหลืองแกมครีม ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	++
MF5	เส้นใยสีเขียว สปอร์สีเขียว ขอบสีขาว เส้นใย	+++
MF6	เส้นใยสีเขียวเข้ม สปอร์สีเขียวเข้ม	+++

หมายเหตุ

- +++ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว
- ++ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง
- + คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตช้า



รูปที่ 4.27 ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี (กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ขวา)



รูปที่ 4.27 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.14 แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MF1	0, 7	0	0, 7	0, 7	0	0
MF2	-	14	0, 21, 28	0, 14, 21	-	0, 14, 28
MF3	7, 35	7, 35	7, 21, 28, 35	-	7, 14, 21	7
MF4	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MF5	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	7, 14, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MF6	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35

หมายเหตุ – คือ ไม่พบราในช่วงวันทดลอง

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

4.3.2.3 การคัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการทดลองไม่สามารถตรวจพบแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มในทุกชุดการทดลอง

4.3.3 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

จากการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ CMC ได้แก่ แบคทีเรีย ราและแอกติโนมายซีตจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 CGR1 CJ1 CJC1 และ CJR1 ให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.15 ซึ่งปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของทุกชุดการทดลองมีมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมัก 14 21 และ 28 วันของการหมัก โดยมีแบคทีเรียอยู่ระหว่าง $(1.66 \pm 0.11) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนราที่มีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมัก โดยมีราอยู่ระหว่าง $(2.50 \pm 0.22) \times 10^6$ ถึง $(222.17 \pm 8.51) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งและแอกติโนมายซีตมีปริมาณมากที่สุดในช่วง 14 และ 21 วันของการหมัก โดยมีแอกติโนมายซีตอยู่ระหว่าง $(7.51 \pm 0.14) \times 10^8$ ถึง $(23.50 \pm 1.64) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.3.3.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 19 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.16

จากตารางที่ 4.17 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสไอโซเลต MCB1 พบแบคทีเรียไอโซเลตนี้ในช่วงเริ่มต้นการหมักและพบอีกครั้งในวันที่ 21 วัน ถึง 35 วันของการหมัก และไอโซเลต MCB2 พบเฉพาะวันที่ 7 และ 14 วันของการหมัก ยกเว้นชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC1 ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียไอโซเลตนี้

ตารางที่ 4.15 แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลาะปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส (โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	แบคทีเรีย	รา	แอกติโนมัยซีต
CG1	$(2.13 \pm 0.24) \times 10^8$ (28 วัน)	$(20.95 \pm 0.46) \times 10^6$ (0 วัน)	$(7.51 \pm 0.14) \times 10^8$ (21 วัน)
CGC1	$(1.66 \pm 0.11) \times 10^8$ (0 วัน)	$(145.28 \pm 5.73) \times 10^6$ (0 วัน)	$(15.79 \pm 0.77) \times 10^8$ (14 วัน)
CGR1	$(2.20 \pm 0.48) \times 10^8$ (21 วัน)	$(9.09 \pm 0.22) \times 10^6$ (0 วัน)	$(22.21 \pm 1.77) \times 10^8$ (14 วัน)
CJ1	$(4.74 \pm 0.84) \times 10^8$ (14 วัน)	$(2.50 \pm 0.22) \times 10^6$ (7 วัน)	$(13.38 \pm 1.32) \times 10^8$ (14 วัน)
CJC1	$(3.65 \pm 0.85) \times 10^8$ (0 วัน)	$(222.17 \pm 8.51) \times 10^6$ (0 วัน)	$(23.50 \pm 1.64) \times 10^8$ (14 วัน)
CJR1	$(4.84 \pm 0.30) \times 10^8$ (14 วัน)	$(7.63 \pm 0.71) \times 10^6$ (0 วัน)	$(11.62 \pm 1.55) \times 10^8$ (21 วัน)

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJ1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

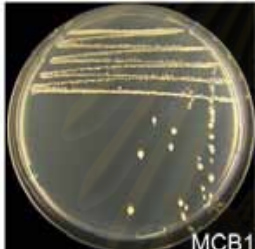
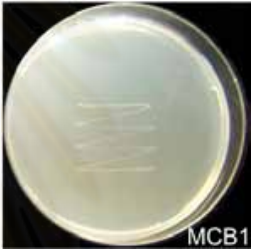




CJC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก
ชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปฏิกิริยาละลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่วัดด้วยคองโกเรด
MCB1	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ			
MCB2	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.17 แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส ในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MCB1	21, 28	0, 21	35	21, 28, 35	0, 21	21, 28
MCB2	7	7, 14	14	14	-	14

หมายเหตุ – คือ ไม่พบแบคทีเรียในช่วงวันทดลอง

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

4.3.3.2 การคัดแยกและหาปริมาณราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

จากการคัดแยกราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้ราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 112 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะพื้นฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้แก่ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและลักษณะการเกิดของสปอร์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.28

จากตารางที่ 4.19 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสไอโซเลต MF1 ในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MF4 และ MF5 พบอยู่ในช่วง 7 วัน ถึง 35 วันของการหมัก และไอโซเลต MF6 พบอยู่ในช่วง 14 วัน ถึง 35 วันของการหมัก

ตารางที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	อัตราการเจริญ
MF1	เส้นใยสีขาว รากับผิวหน้าอาหาร	+
MF2	เส้นใยสีเทา สปอร์สีดำ โตเร็ว เส้นใยหยาบ	+++
MF3	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทา เส้นใยหยาบ	+++
MF4	เส้นใยสีเหลืองแกมครีม สปอร์สีเหลืองแกม ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	++
MF5	เส้นใยสีเขียว สปอร์สีเขียว ขอบสีขาว เส้นใย	+++
MF6	เส้นใยสีเขียวเข้ม สปอร์สีเขียวเข้ม	+++
MF7	เส้นใยสีน้ำตาลเหลือง สปอร์สีน้ำตาลเหลือง	+++

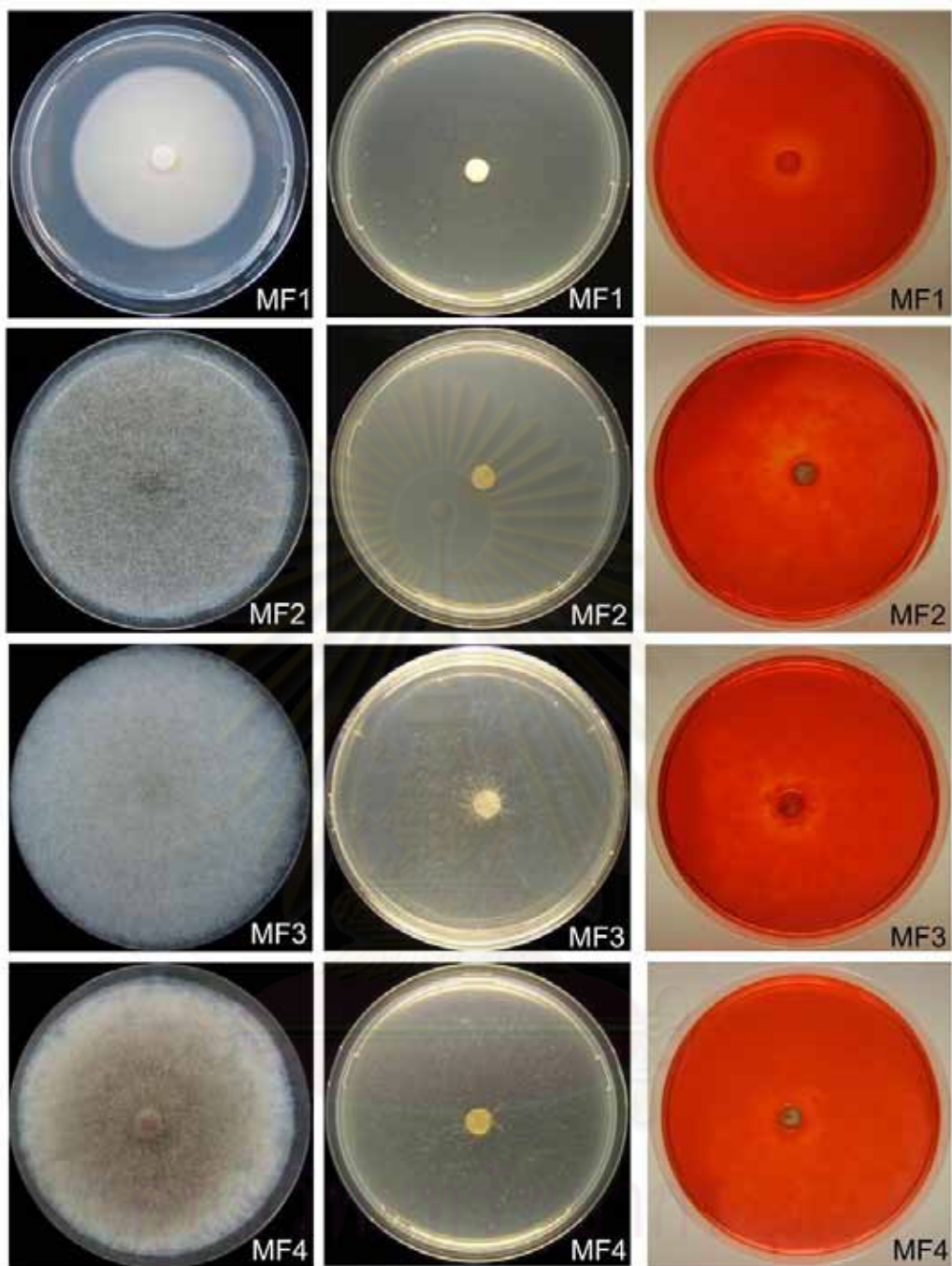
หมายเหตุ

+++ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว

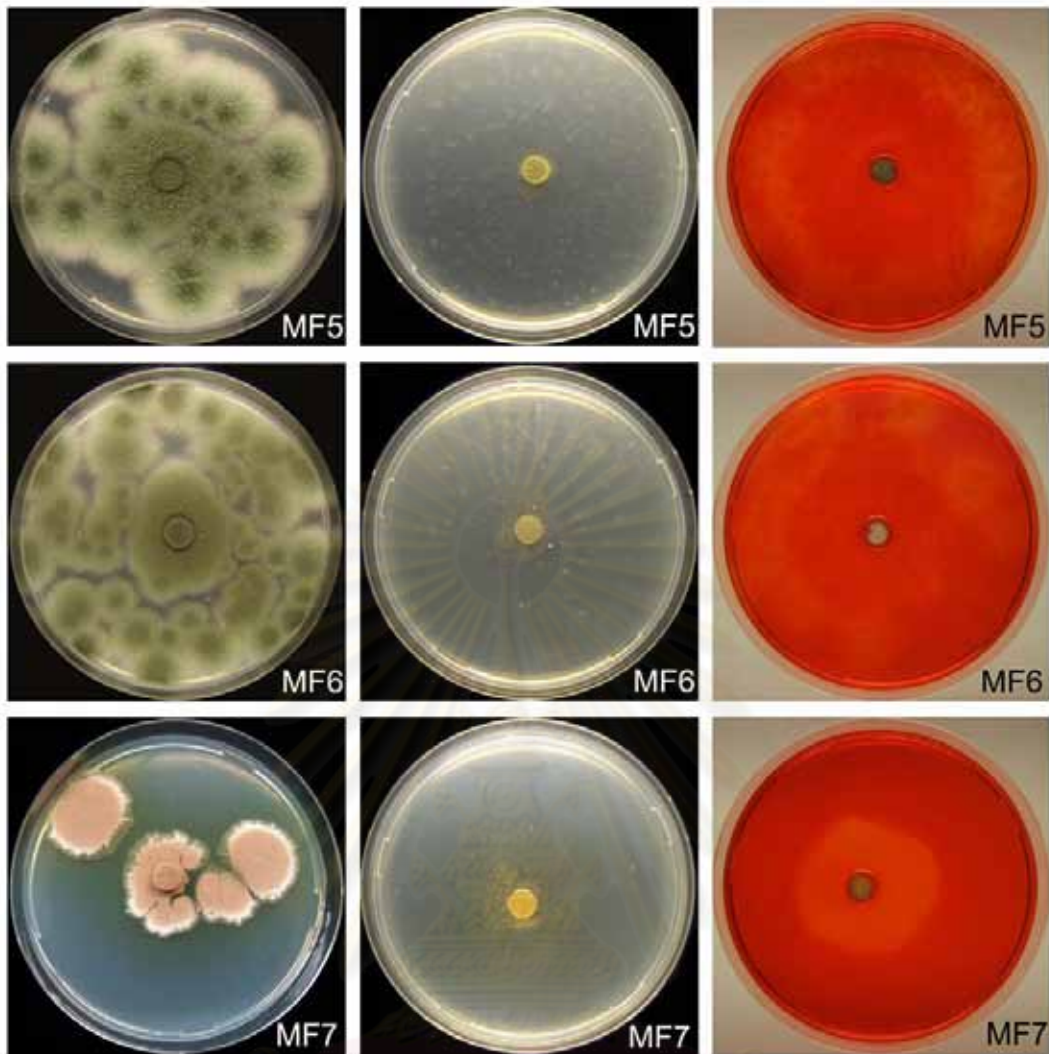
++ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง

+ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตช้า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.28 ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC (กลาง) และการสร้างวงใสดีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากกรดด้วยคองโกเรด (ขวา)



รูปที่ 4.28 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.19 แสดงวันที่ตรวจพบบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลทรายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MF1	0, 7	0	0, 7	0, 7	0	0
MF2	-	14	0, 21, 28	0, 14, 21	-	0, 14, 28
MF3	7, 35	7, 35	7, 21, 28, 35	-	7, 14, 21	7
MF4	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MF5	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	7, 14, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MF6	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35
MF7	-	35	35	35	-	-

หมายเหตุ – คือ ไม่พบบราในช่วงวันทดลอง

CG1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก

ชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJ1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก

ชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก

ชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CJC1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก

ชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก

ชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJR1 คือ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จาก

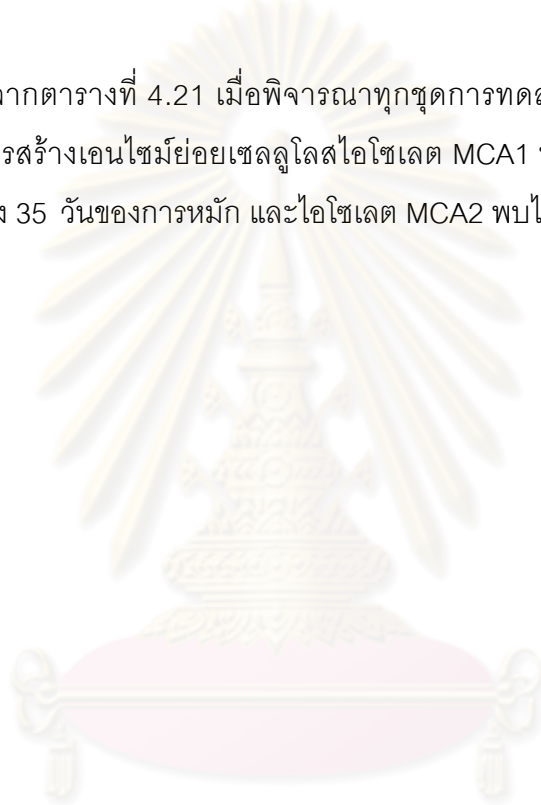
ชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3.3.3 การตัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้าง เอนไซม์ย่อยเซลลูโลส



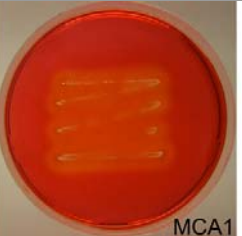


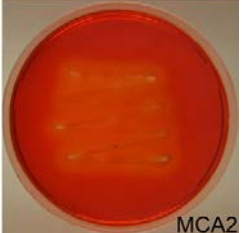
จากการตัดแยกแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อย
เซลลูโลสจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้
แอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบ
โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 126 ไอโซเลต โดย
แสดงตัวแทนแอกติโนมายซีตที่มีสีเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ และสปอร์ที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน
ตารางที่ 4.20

จากตารางที่ 4.21 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าแอกติโนมายซีตที่มี
ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสไอโซเลต MCA1 พบตลอดการหมักตั้งแต่ช่วง
เริ่มต้นการหมักจนถึง 35 วันของการหมัก และไอโซเลต MCA2 พบได้ในช่วง 7 วัน ถึง 35 วันของ
การหมัก



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยง CMC	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่วาดด้วยคองโกเรด
MCA1	เส้นใยอาหารสีเหลือง เส้นใยอากาศสีครีม สปอร์สีครีม			
MCA2	เส้นใยอาหารสีขาว เส้นใยอากาศสีเทา สปอร์สีเทา			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.21 แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมายซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแอกติโนมายซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
MCA1	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MCA2	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 ศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2

เพื่อตรวจสอบเสถียรภาพของปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 จึงนำปุ๋ยหมักที่ได้จากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 มาเป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 ให้ผลการศึกษาดังมีรายละเอียดดังนี้

4.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพระหว่างกระบวนการหมัก

4.4.1.1 อุณหภูมิ

จากติดตามการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CG2) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่ (CGC2) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว (CGR2) ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน หรือชุดการทดลองควบคุม (CJ2) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่ (CJC2) และชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว (CJR2) ให้ผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วันแสดงดังตารางที่ 13 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.30 ซึ่งจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิเริ่มต้น (0 วัน) ของทุกชุดการทดลองอยู่ระหว่าง 25 ถึง 27 องศาเซลเซียส จากนั้นอุณหภูมิของปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุดในวันที่ 3 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ระหว่าง 73 ถึง 74 องศาเซลเซียส ยกเว้นชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงสุด 72 องศาเซลเซียสในวันที่ 2 ของการหมัก จากนั้นอุณหภูมิของปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองจะค่อยๆ ลดลงและเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อมีการรดน้ำและให้น้ำในวันต่อมา เป็นเช่นนี้ในระยะ 6 วันแรกของการหมักปุ๋ยหลังจากนั้นพบว่าการรดน้ำและให้น้ำไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักจะค่อยๆ ลดลงจนเกือบคงที่โดยอุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองในวันสุดท้ายของการหมัก (35 วัน) อยู่ระหว่าง 33 ถึง 34 องศาเซลเซียส จากรูปที่ 4.29 จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมักเศษทะลายปาล์มที่มีการใส่แหล่งไนโตรเจนทั้งมูลไก่หรือรำข้าวจะมีอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการใส่แหล่งไนโตรเจน

4.4.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง

การติดตามการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ให้ผลการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างทุกๆ 7 วัน ตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วัน แสดงดังตารางที่ 14 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.30 จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรด-ด่างกับระยะเวลาการหมักปุ๋ยพบว่าความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเริ่มต้นมีค่าอยู่ระหว่าง 6.8 ถึง 7.2 จากนั้นความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 7 ของการหมักแล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 35 ของการหมัก เมื่อสิ้นสุดการหมัก (35 วัน) ความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมัก อยู่ระหว่าง 7.9 ถึง 8.5

4.4.1.3 ความชื้น

การติดตามการเปลี่ยนแปลงความชื้นในทุกชุดการปุ๋ยหมักที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ให้ผลการเปลี่ยนแปลงความเป็นความชื้นทุกๆ 7 วัน ตลอดระยะเวลาการหมัก 35 วัน แสดงดังตารางที่ 15 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.31 ทุกชุดการทดลองมีความชื้นเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 52-60 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 จะมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเพิ่มขึ้นเป็น 60-64 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหมักต่อไปอีกระยะหนึ่ง พบว่าทุกชุดการทดลองเปอร์เซ็นต์ความชื้นเพิ่มขึ้นและลดลงสลับกัน เป็นเช่นนี้ตลอดการหมักจนกระทั่งเมื่อการหมักเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 เปอร์เซ็นต์ความชื้นลดลงทุกชุดการทดลอง โดยเปอร์เซ็นต์ความชื้นของทุกชุดการทดลองในวันที่ 35 คือ 61 ถึง 64 เปอร์เซ็นต์

4.4.1.4 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon)

ผลการหาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณคาร์บอนทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดยมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นในชุดการทดลอง CG2 CGC2 และ CGR2 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 44.47 ถึง 48.91 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 และ CGR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วัน พบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.32) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 40.30 ถึง 44.41 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่ำกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 และ CGR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองปุ๋ย

หมัก CG2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22)

ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 46.15 ถึง 48.97 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลอง CJC2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นการหมักน้อยกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 และ CJR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.32) ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 40.23 ถึง 43.64 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 และ CJR2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักมากกว่า ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนสิ้นสุดการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22)

4.4.1.5 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen)

ผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองทั้งที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 1.10 ถึง 1.25 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC1 และ CGR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.33) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 1.68 ถึง 2.03 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGR2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 และ CGC2 และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22)

ผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 1.19 ถึง 1.39 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC2 และ CJR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.33)

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 1.56 ถึง 1.91 เปอร์เซ็นต์ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJR2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 และ CJC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลอง CJ2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22)

4.4.1.6 อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด

ผลการหาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองทั้งที่ไม่ใส่และใส่แหล่งไนโตรเจนรำข้าวหรือมูลไก่เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลองโดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 36:1 ถึง 44:1 โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 และ CGR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.34) อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 22:1 ถึง 26:1 โดยอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 และ CGR2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22)

สำหรับผลการหาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 35:1 ถึง 41:1 โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเริ่มต้นการหมักไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC2 และ CJR2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นระยะเวลา 35 วันพบว่าอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4.34) อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 23:1 ถึง 26:1 โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJR2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 และ CJC2 อย่างมีนัยสำคัญทาง

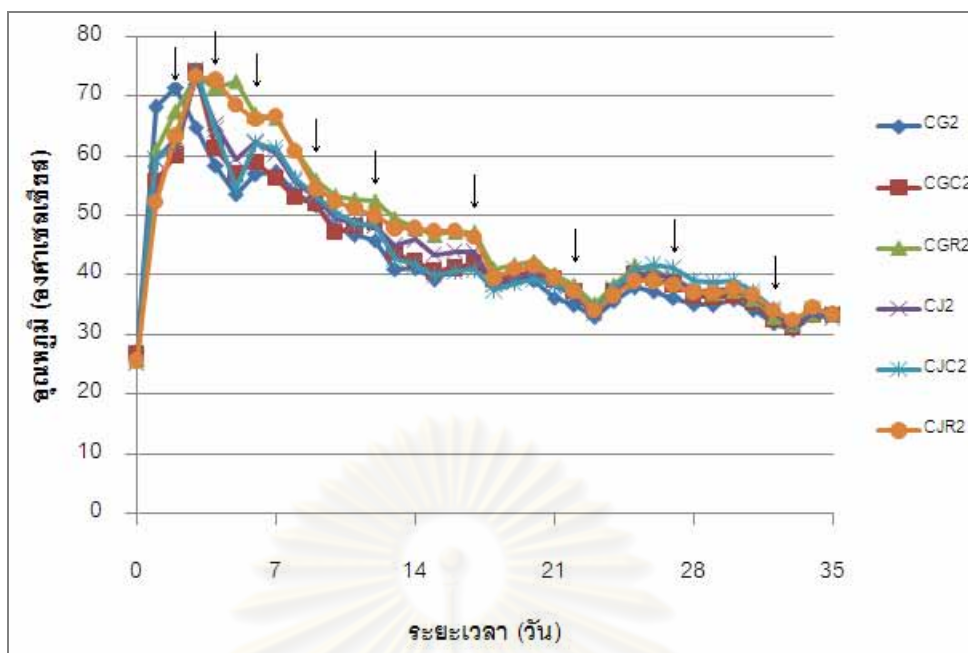
สถิติ โดยชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจน ทั้งหมดไม่แตกต่างกับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJC2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.22)

4.4.1.7 ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก

เมื่อการหมักปุ๋ยเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 ลักษณะของปุ๋ยหมักจากทุกชุดการทดลองที่ได้มีลักษณะคล้ายกัน คือ มีสีน้ำตาลปนดำ ลักษณะเปื่อยยุ่ย และมีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน เมื่อเทียบกับปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ใส่แหล่งไนโตรเจนมีความแตกต่างกันคือ ปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ใส่แหล่งไนโตรเจนมีสีน้ำตาลเข้มปนดำ ลักษณะเปื่อยยุ่ยและขนาดเล็กกว่าปุ๋ยหมักชุดการทดลองควบคุมไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ลักษณะของปุ๋ยหมักที่ได้แสดง ดังรูปที่ 4.35



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน ลูกศร (\downarrow) แสดงวันที่กลับกองปุ๋ยหมัก

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

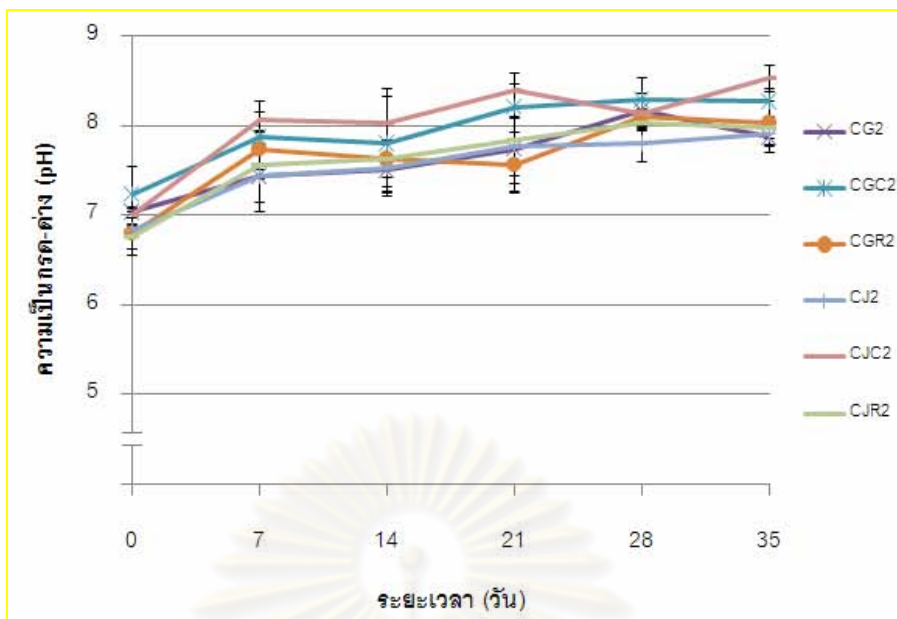
CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.30 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

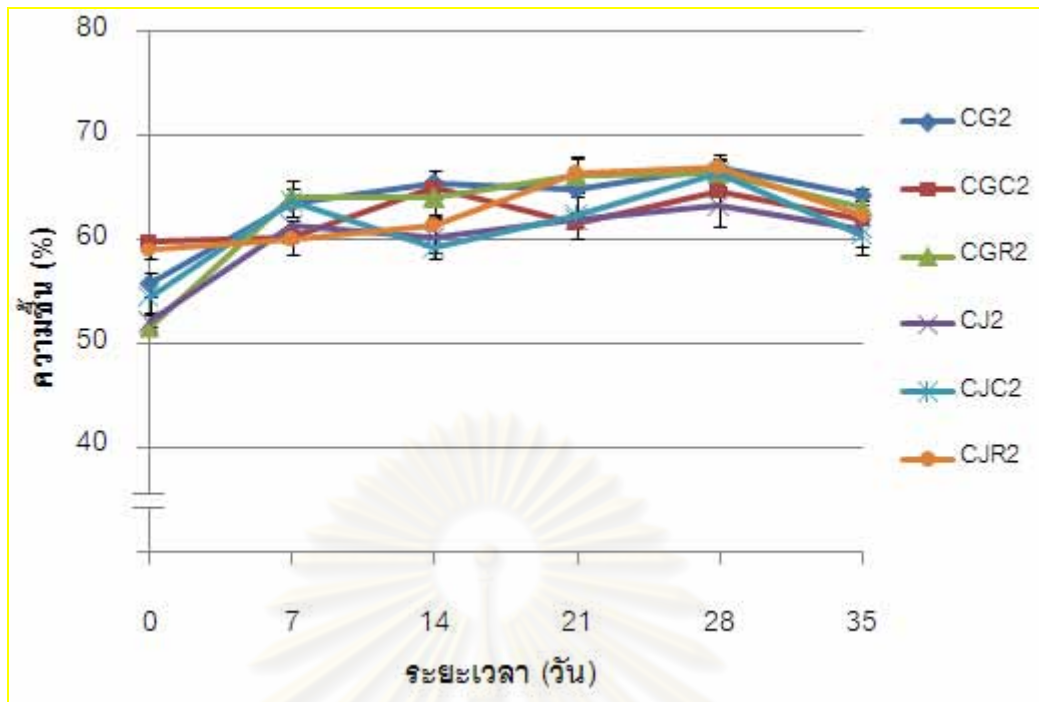
CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.31 แสดงการเปลี่ยนแปลงความชื้นในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลาะปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.22 แสดงปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (%)		ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%)		อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (%)	
	0 วัน	35 วัน	0 วัน	35 วัน	0 วัน	35 วัน
CG2	48.91 ^(b)	44.41 ^(b)	1.10 ^(a)	1.68 ^(a)	44:1 ^(a)	26:1 ^(b)
CGC2	44.47 ^(a)	40.30 ^(a)	1.25 ^(a)	1.69 ^(a)	36:1 ^(a)	24:1 ^(ab)
CGR2	48.72 ^(b)	43.70 ^(b)	1.21 ^(a)	2.03 ^(b)	40:1 ^(a)	22:1 ^(a)
CJ2	48.97 ^(b)	43.64 ^(b)	1.19 ^(a)	1.65 ^(a)	41:1 ^(a)	26:1 ^(b)
CJC2	46.15 ^(a)	40.23 ^(a)	1.30 ^(a)	1.56 ^(a)	36:1 ^(a)	26:1 ^(b)
CJR2	48.27 ^(b)	43.00 ^(b)	1.39 ^(a)	1.91 ^(b)	35:1 ^(a)	23:1 ^(a)

หมายเหตุ อักษรต่างกันในแต่ละแถวแสดงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

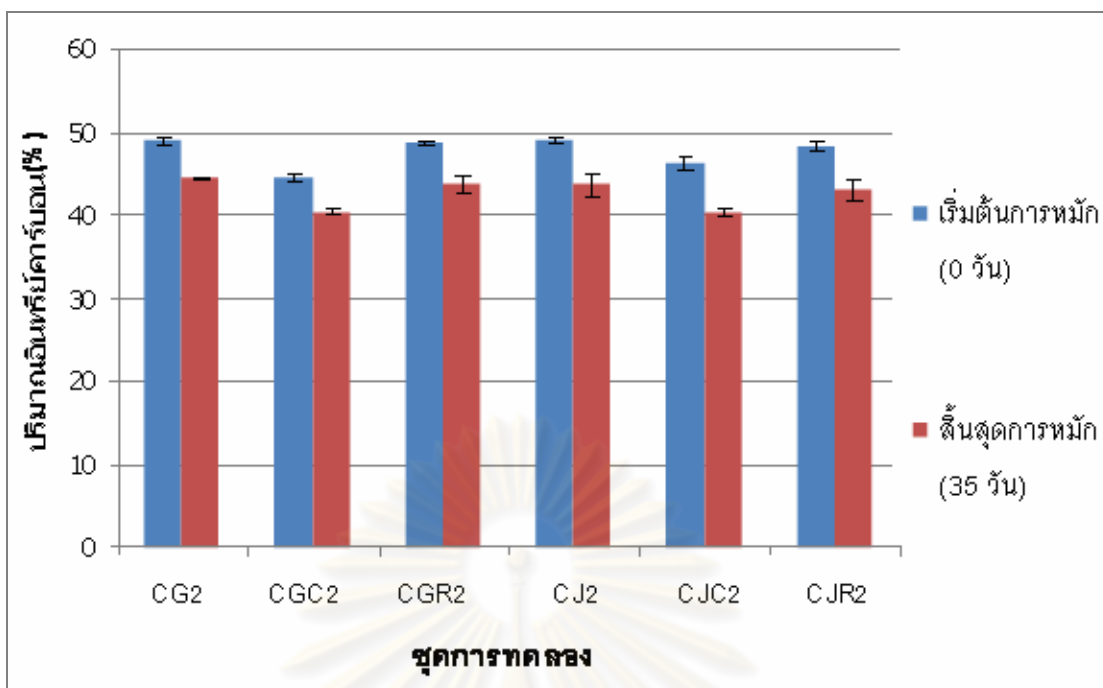
CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.32 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

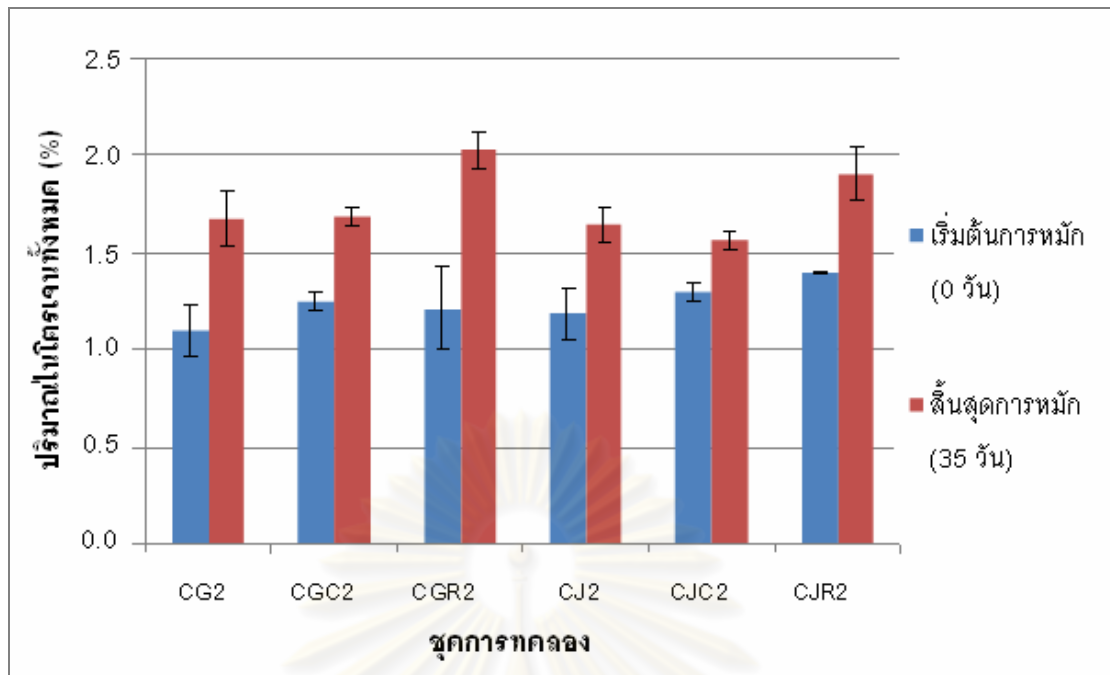
CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.33 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

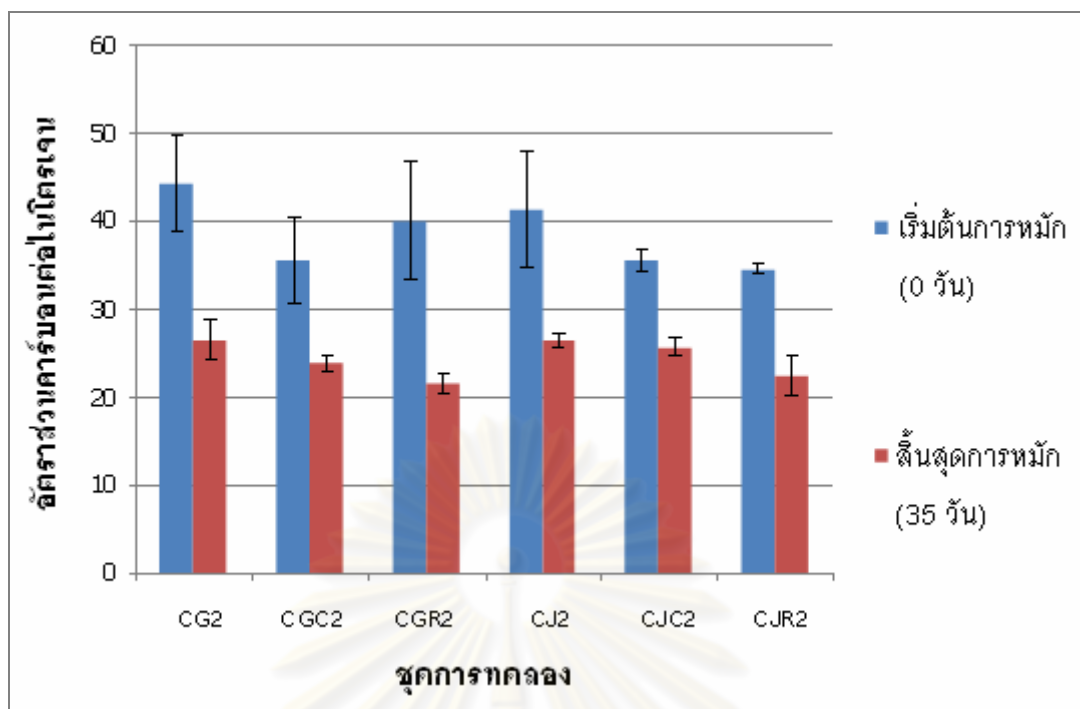
CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.34 แสดงการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะของปุ๋ยหมักที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เมื่อเริ่มต้น 0 วัน (แถวที่1 และ3) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน (แถวที่2 และ4)

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

4.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพโดยติดตามปริมาณจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก

4.4.2.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 แสดงดังตารางที่ 16 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.36 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ระหว่าง $(6.96 \pm 0.63) \times 10^8$ ถึง $(21.52 \pm 0.52) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CGR2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำสุด และชุดการทดลอง CGC2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงในช่วง 14 วันของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแล้วลดลงและเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมัก โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลอง CG2 เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็นปริมาณ $(21.92 \pm 0.75) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 21 ของการหมัก ชุดการทดลอง CGC2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(23.83 \pm 1.09) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 35 ของการหมัก และชุดการทดลอง CGR2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(12.98 \pm 0.45) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 28 ของการหมัก

ผลการติดตามจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 แสดงดังตารางที่ 16 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.37 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นอยู่ระหว่าง $(9.96 \pm 0.86) \times 10^8$ ถึง $(15.91 \pm 0.64) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลอง CJ2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุดและชุดการทดลอง CJR2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดลดลงในช่วง 14 วันของการหมักจากนั้นจะเพิ่มขึ้นแล้วลดลงแล้วเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมัก โดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลอง CJ2 เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็นปริมาณ $(24.57 \pm 0.80) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 21 ของการหมัก ชุดการทดลอง CJC2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(17.55 \pm 0.73) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งใน 7 วันแรกของการหมัก และชุดการทดลอง CJR2 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(11.44 \pm 1.48) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 35 ของการหมัก

4.4.2.2 ปริมาณราทั้งหมด

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 แสดงดังตารางที่ 17

(ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.38 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าปริมาณราทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(8.36 \pm 1.36) \times 10^6$ ถึง $(100.56 \pm 13.73) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CG2 มีปริมาณราทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CGC2 มีปริมาณราทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือ ปริมาณราทั้งหมดลดลงใน 7 วันแรกของการหมักจากนั้นจะและเพิ่มขึ้นจนถึงสิ้นสุดการหมัก ยกเว้นชุดการทดลอง CG2 มีปริมาณราทั้งหมดลดลงต่ำที่สุดในวันที่ 28 ของการหมัก โดยปริมาณราทั้งหมดในชุดการทดลอง CG2 เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็นปริมาณ $(9.85 \pm 0.72) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ใน 7 วันแรกของการหมัก ชุดการทดลอง CGC2 มีปริมาณราทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(1.12 \pm 0.05) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 14 ของการหมัก และชุดการทดลอง CGR2 มีปริมาณราทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(0.42 \pm 0.01) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 35 ของการหมัก

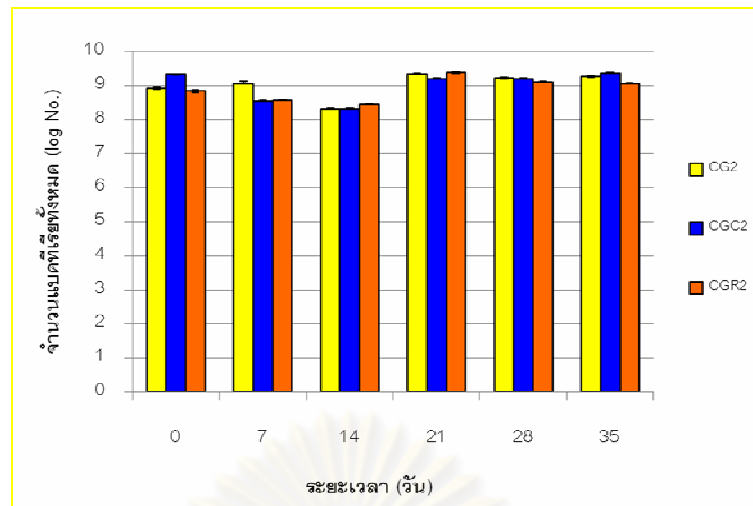
ผลการติดตามจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดทุกๆ 7 วัน จนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 แสดงดังตารางที่ 17 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.39 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมักโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(17.30 \pm 1.02) \times 10^6$ ถึง $(196.58 \pm 9.85) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ชุดการทดลอง CJR2 มีปริมาณราทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CJ2 มีปริมาณราทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดของทุกชุดการทดลองมีลักษณะคล้ายกันคือปริมาณราทั้งหมดลดลงใน 7 วันแรกของการหมัก จากนั้นจะเพิ่มขึ้นและลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก ยกเว้นชุดการทดลอง CJR2 มีปริมาณราทั้งหมดลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 28 ของการหมักและลดลงเมื่อสิ้นสุดการหมัก ปริมาณราทั้งหมดของชุดการทดลอง CJ2 มีปริมาณราทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(0.96 \pm 0.07) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 21 ของการหมัก ชุดการทดลอง CJC2 มีปริมาณราทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(0.40 \pm 0.01) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 28 ของการหมัก ชุดการทดลอง CJR2 มีปริมาณราทั้งหมดเพิ่มสูงสุดเป็น $(0.78 \pm 0.05) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งใน 7 วันแรกของการหมัก

4.4.2.3 ปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมด

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 แสดงดังตารางที่ 18 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.40 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมักโดยมีปริมาณอยู่

ระหว่าง $(0.03 \pm 0.01) \times 10^8$ ถึง $(0.07 \pm 0.02) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CG2 มีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CGC2 มีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดของชุดการทดลอง CG2 เพิ่มสูงสุดในวันที่ 14 ของการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดเป็น $(89.42 \pm 9.61) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดของชุดการทดลอง CGC2 มีแนวโน้มเพิ่มสูงสุดในวันที่ 21 วันของการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดเป็น $(8.25 \pm 0.66) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดของชุดการทดลอง CGR2 มีแนวโน้มเพิ่มสูงสุดในวันที่ 14 วันของการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดเป็น $(3.75 \pm 0.11) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก

ผลการติดตามจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดทุกๆ 7 วันจนถึงสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 35 วัน ของชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 แสดงดังตารางที่ 18 (ภาคผนวก ค) และรูปที่ 4.41 เมื่อเริ่มต้นการหมักพบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาอื่นๆ ในระหว่างการหมักโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง $(0.01 \pm 0.01) \times 10^8$ ถึง $(0.04 \pm 0.02) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง โดยชุดการทดลอง CJ2 มีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดต่ำสุดและชุดการทดลอง CJC2 มีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดสูงสุด แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดของชุดการทดลอง CJ2 เพิ่มสูงสุดในวันที่ 21 ของการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดเป็น $(10.75 \pm 1.20) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดของชุดการทดลอง CJC2 มีแนวโน้มเพิ่มสูงสุดในวันที่ 14 วันของการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดเป็น $(7.50 \pm 0.37) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดของชุดการทดลอง CJR2 มีแนวโน้มเพิ่มสูงสุดในวันที่ 14 วันของการหมักโดยมีปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดเป็น $(8.45 \pm 1.08) \times 10^8$ โคลีนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดจะลดลงจนถึงสิ้นสุดการหมัก



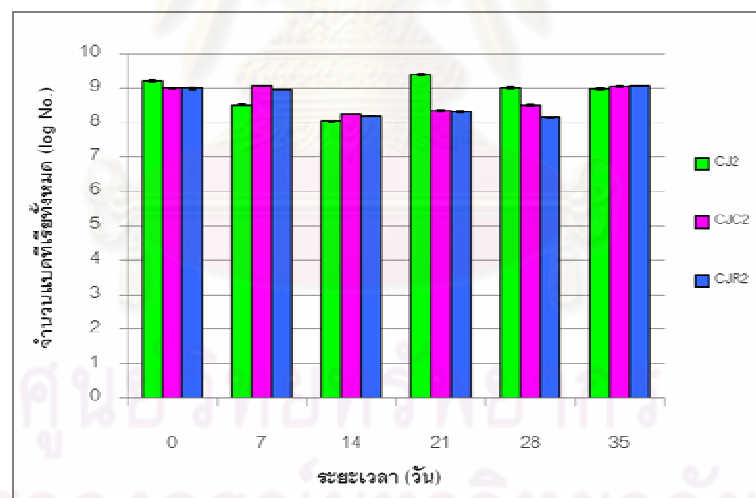
รูปที่ 4.36 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลาะลาย ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จาก ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 และ CGR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว



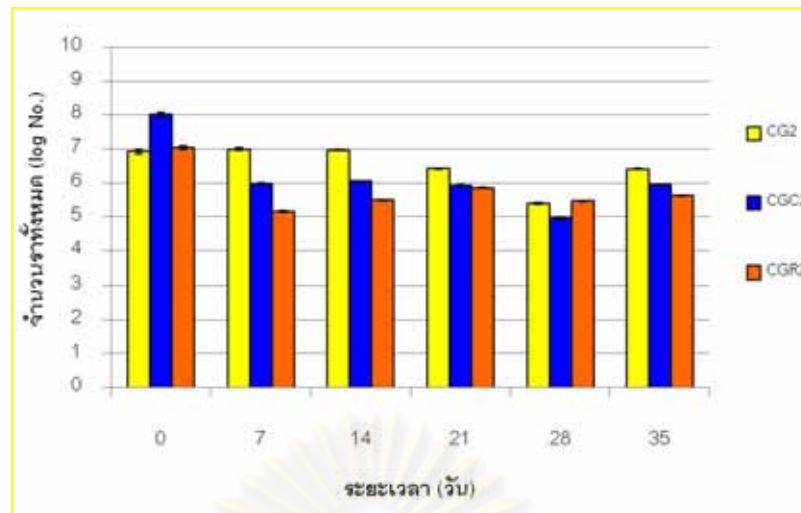
รูปที่ 4.37 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลาะลาย ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จาก ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 CJC1 และ CJR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

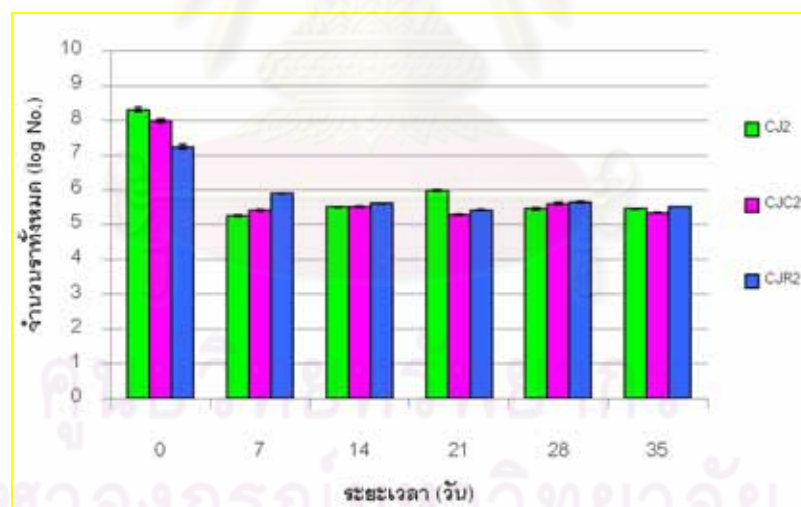
CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.38 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 และ CGR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

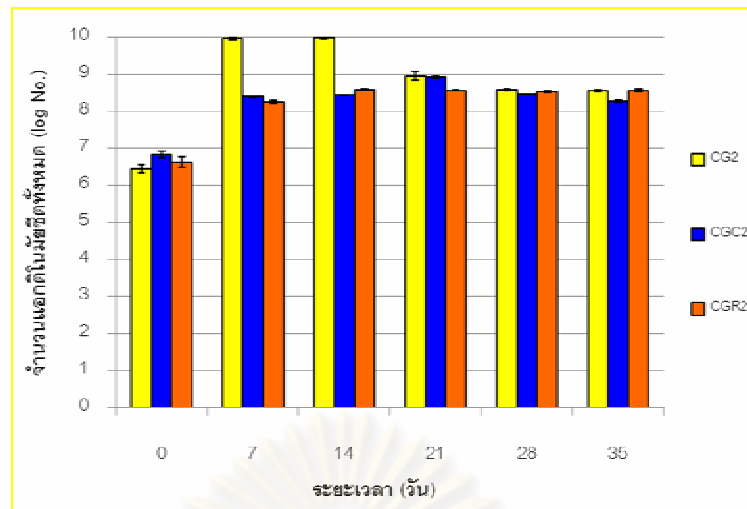
CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน
 CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่
 CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.39 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 CJC1 และ CJR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน
 CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่
 CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว



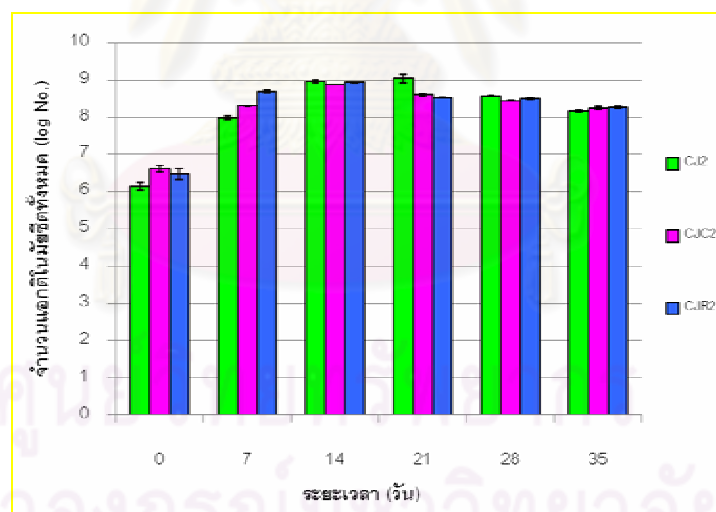
รูปที่ 4.40 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 CGC1 และ CGR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CG1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่

CGR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.41 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจาก ทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ ที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 CJC1 และ CJR1 ตามลำดับ เป็นเวลา 35 วัน

หมายเหตุ

CJ1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่

CJR1 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว

4.5 การคัดแยกและหาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2

4.5.1 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ได้แก่ แบคทีเรีย ราและแอกติโนมัยซีตจากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 CGR2 CJ2 CJC2 และ CJR2 ให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.23 ซึ่งแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมัก 7 หรือ 21 วันของการหมัก โดยมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ระหว่าง $(2.41 \pm 0.32) \times 10^8$ ถึง $(18.01 \pm 0.92) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมัก โดยมีปริมาณราอยู่ระหว่าง $(9.85 \pm 0.72) \times 10^6$ ถึง $(196.58 \pm 9.85) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สำหรับแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดอยู่ในช่วง 7 14 21 หรือ 35 วัน โดยมีปริมาณแอกติโนมัยซีตอยู่ระหว่าง $(11.26 \pm 1.34) \times 10^8$ ถึง $(87.59 \pm 7.27) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.5.1.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จำนวนทั้งสิ้น 52 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.24 และรูปที่ 4.42

จากตารางที่ 4.25 เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองพบว่าแบคทีเรียไอโซเลต MPB1 MPB3 MPB4 และ MPB8 จะพบในช่วงเริ่มต้นการหมัก ส่วนไอโซเลตแบคทีเรีย MPB7 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก

ตารางที่ 4.23 แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน (โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	แบคทีเรีย	รา	แอกติโนมัยซีด
CG2	$(14.99 \pm 1.00) \times 10^8$ (21 วัน)	$(9.85 \pm 0.72) \times 10^6$ (7 วัน)	$(87.59 \pm 7.27) \times 10^8$ (14 วัน)
CGC2	$(6.23 \pm 1.32) \times 10^8$ (0 วัน)	$(100.56 \pm 13.73) \times 10^6$ (0 วัน)	$(14.07 \pm 1.19) \times 10^8$ (21 วัน)
CGR2	$(2.41 \pm 0.32) \times 10^8$ (0 วัน)	$(11.16 \pm 1.45) \times 10^6$ (0 วัน)	$(18.93 \pm 2.66) \times 10^8$ (21 วัน)
CJ2	$(18.01 \pm 0.92) \times 10^8$ (21 วัน)	$(196.58 \pm 9.85) \times 10^6$ (0 วัน)	$(28.59 \pm 0.69) \times 10^8$ (21 วัน)
CJC2	$(6.87 \pm 0.82) \times 10^8$ (7 วัน)	$(95.25 \pm 1.27) \times 10^6$ (0 วัน)	$(16.41 \pm 0.57) \times 10^8$ (7 วัน)
CJR2	$(3.26 \pm 0.37) \times 10^8$ (0 วัน)	$(17.30 \pm 1.02) \times 10^6$ (0 วัน)	$(11.26 \pm 1.34) \times 10^8$ (35 วัน)

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

ตารางที่ 4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี
MPB1	สีเหลืองเข้ม กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MPB3	สีเหลือง กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MPB4	สีส้ม กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MPB7	สีน้ำตาล กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MPB8	สีน้ำตาลอ่อน กลม หนูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส

ตารางที่ 4.25 แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MPB1	0	0	-	-	-	-
MPB3	0	0	0	0	0	0
MPB4	-	-	-	0	0	0
MPB7	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MPB8	0	0	-	0	0, 35	-

หมายเหตุ – คือไม่พบแบคทีเรียในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

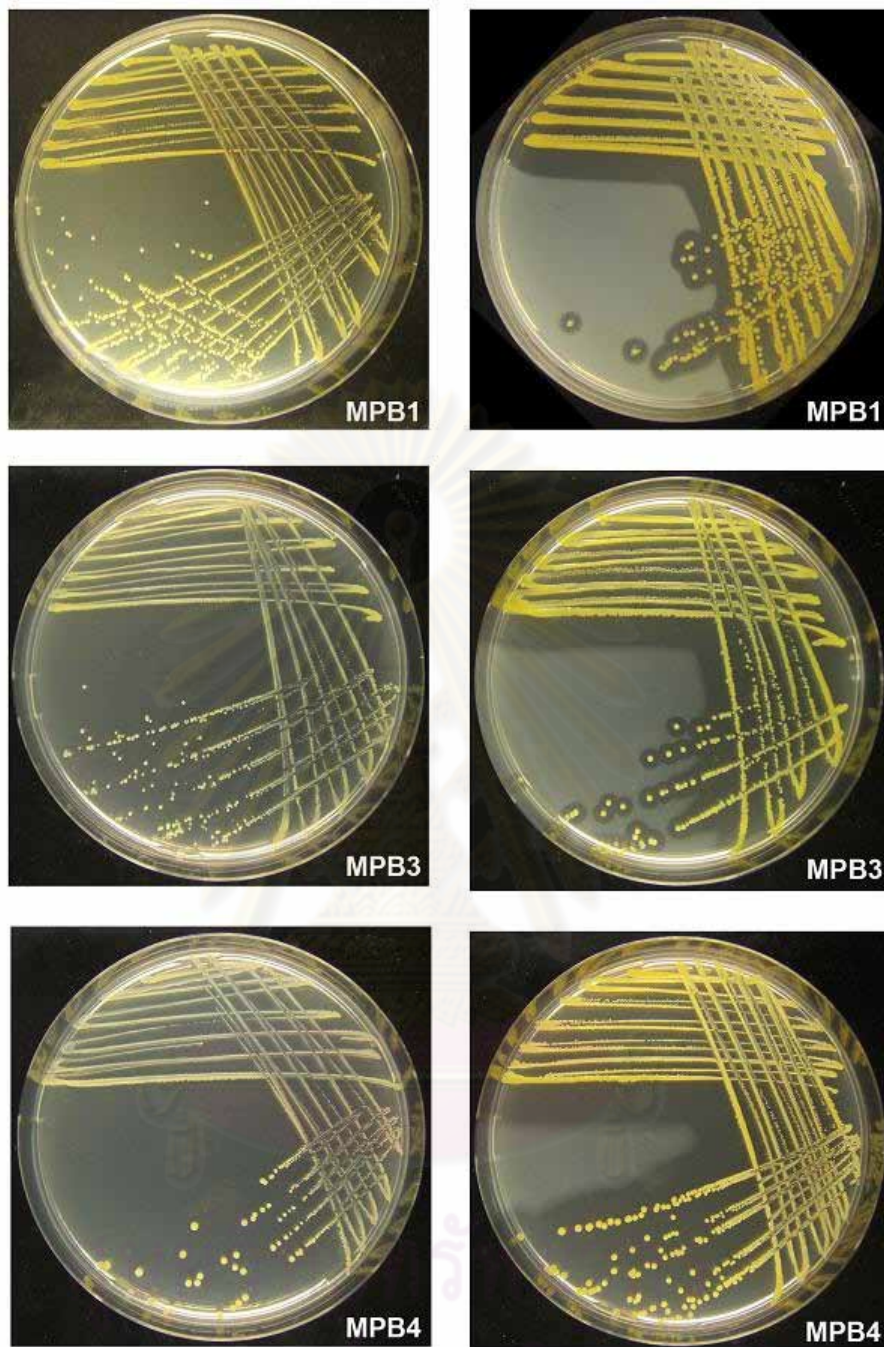
CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

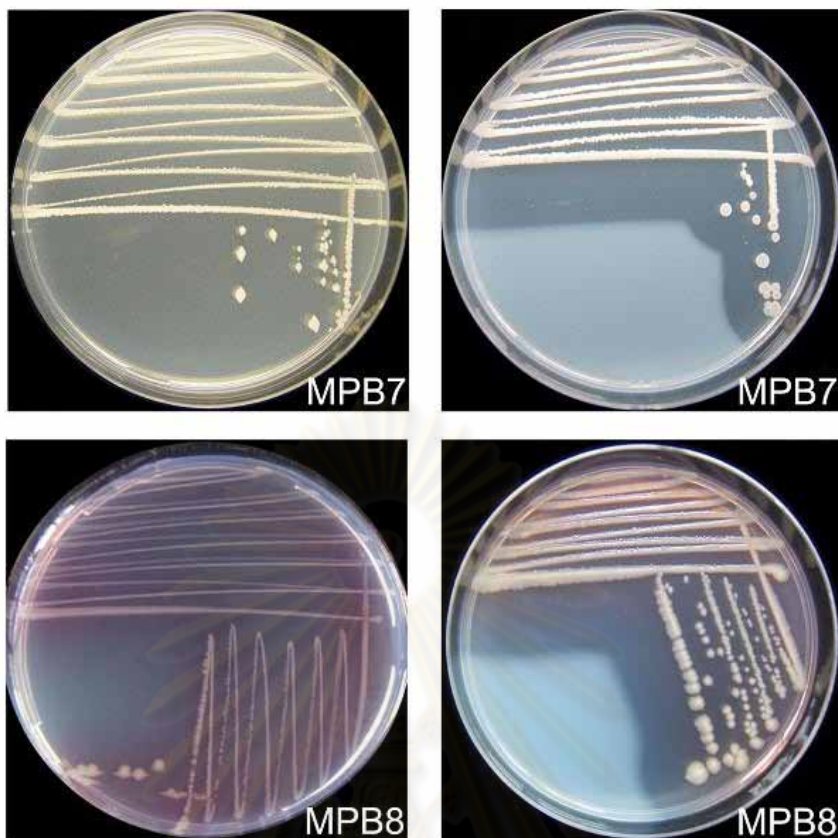
CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.42 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์ม น้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 2 วันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ซ้าย) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ขวา)



รูปที่ 4.42 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5.1.2 การคัดแยกกราฟที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการคัดเลือกกราฟที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Streptomycin Rose Bengal Agar จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้รา ทั้งสิ้น 118 ไอโซเลตเมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar พบว่าราทั้ง 118 ไอโซเลตมีความสามารถการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จากราจำนวน 118 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตกราฟที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะพื้นฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้แก่ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและลักษณะการเกิดของสปอร์ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.26 และรูปที่ 4.43

จากตารางที่ 4.27 พบว่าราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไอโซเลต MF1 พบได้ในตอนเริ่มต้นการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MF2 และ MF3 พบในวันที่ 7 ของการหมัก ไอโซเลต MF4 MF5 และ MF6 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ยกเว้นไอโซเลต MF4 สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 พบได้ในวันที่ 7 ของการหมักเท่านั้น และบางชุดการทดลองสามารถพบไอโซเลต MF7 ได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักโดยที่ไม่พบราไอโซเลตนี้ในวันที่ 14 ของการหมัก

ตารางที่ 4.26 แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

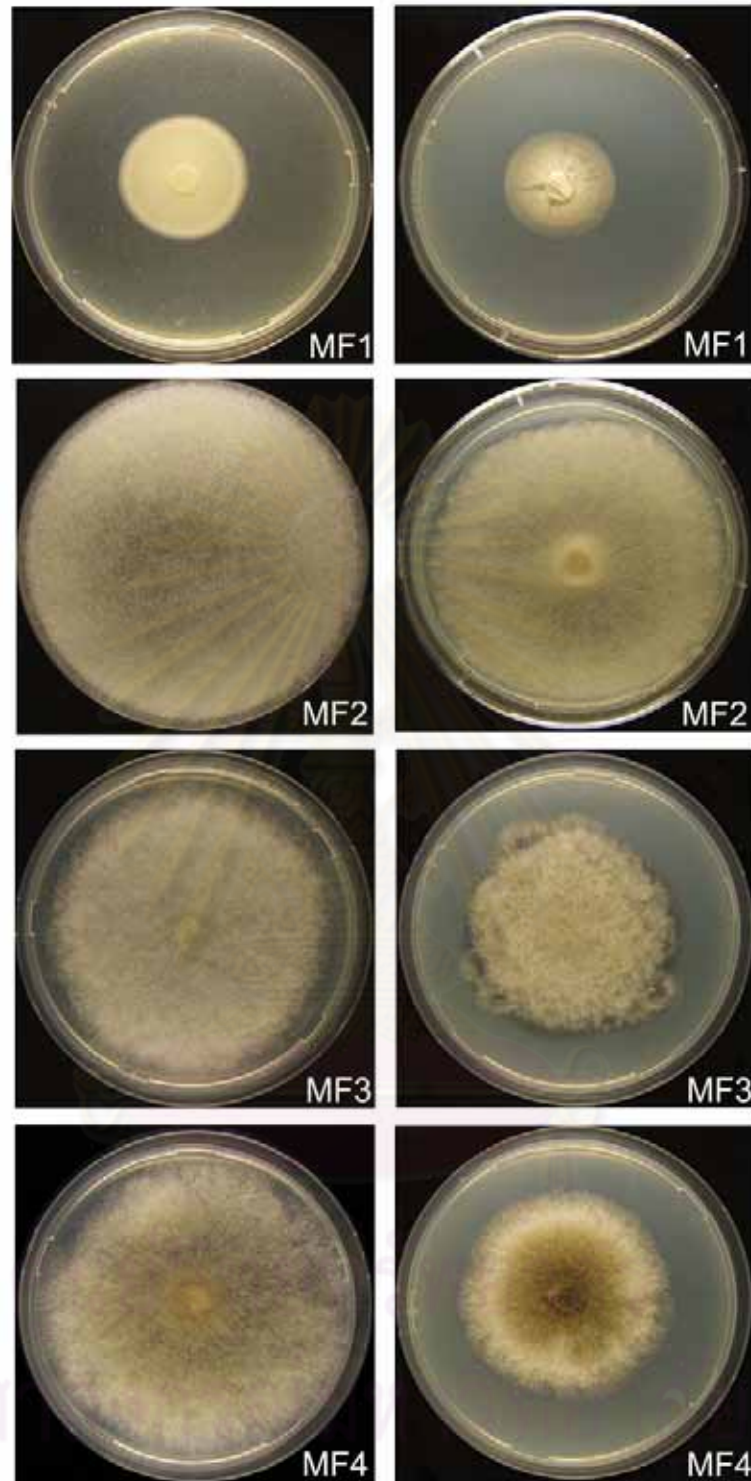
ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	อัตราการเจริญ
MF1	เส้นใยสีขาว รากับผิวหน้าอาหาร	+
MF2	เส้นใยสีเทา สปอร์สีดำ โตเร็ว เส้นใยหยาบ	+++
MF3	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทา เส้นใยหยาบ	+++
MF4	เส้นใยสีเหลืองแกมครีม สปอร์สีเหลืองแกมครีม ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	++
MF5	เส้นใยสีเขียว สปอร์สีเขียว ขอบสีขาว เส้นใย	+++
MF6	เส้นใยสีเขียวเข้ม สปอร์สีเขียวเข้ม	+++
MF7	เส้นใยสีน้ำตาลเหลือง สปอร์สีน้ำตาลเหลือง	+++

หมายเหตุ

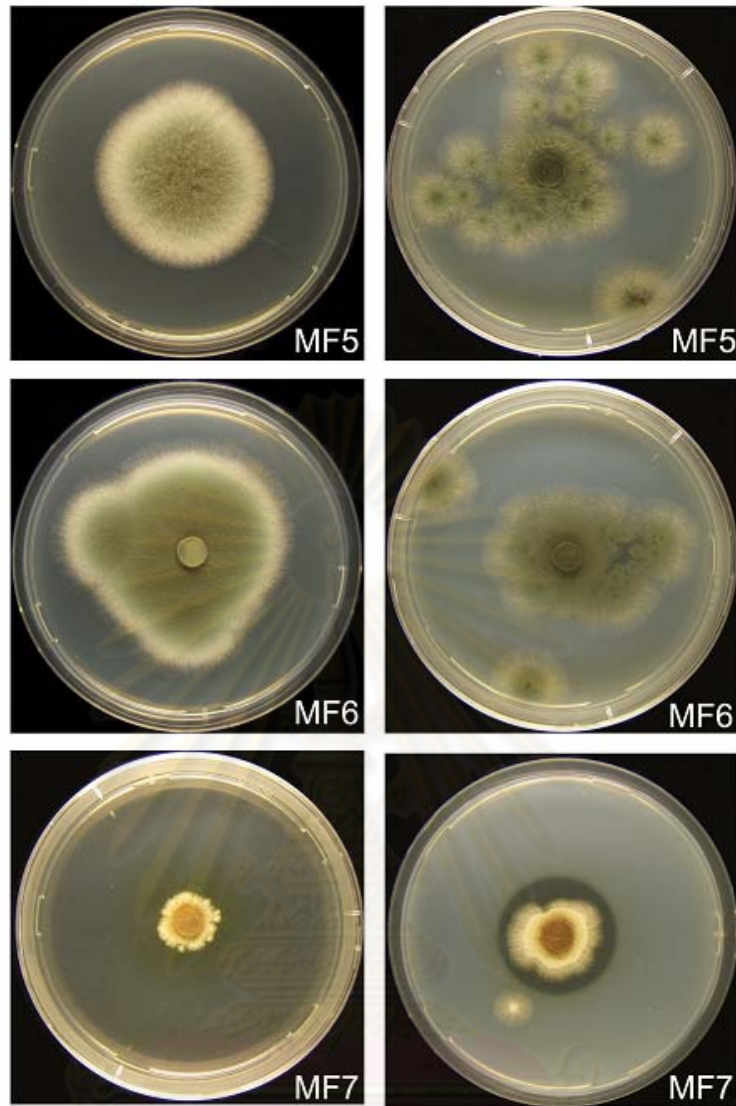
+++ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว

++ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง

+ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตช้า



รูปที่ 4.43 ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar (ขวา)



รูปที่ 4.43 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.27 แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบมากที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MF1	-	0	-	0	-	-
MF2	-	-	7	-	-	-
MF3	-	-	7	21	-	7
MF4	7	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28
MF5	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MF6	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 28, 35	0, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MF7	0, 7, 28	28	0, 21, 28, 35	35	0, 21, 28	21, 28, 35

หมายเหตุ – คือไม่พบราในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

4.5.1.3 การคัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

จากการคัดแยกแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จำนวนทั้งสิ้น 35 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตแอกติโนมัยซีดที่มีเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ และสปอร์แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.28

จากตารางที่ 4.29 ซึ่งพบว่าแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนไอโซเลต MPA1 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก และไอโซเลต MPA2 พบในวันที่ 14 วัน และวันสิ้นสุดการหมัก

ตารางที่ 4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar	ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar
MPA1	เส้นใยอาหารสีเหลือง เส้นใยอากาศสีครีม สปอร์สีครีม		
MPA2	เส้นใยอาหารสีขาว เส้นใยอากาศสีเทา สปอร์สีเทา		

ตารางที่ 4.29 แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแอกติโนมัยซีดที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MPA1	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MPA2	35	14	14	14	-	35

หมายเหตุ – คือไม่พบแอกติโนมัยซีดในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่โรดามีน บี และน้ำมันมะกอก ได้แก่ แบคทีเรีย ราและแอกติโนมัยซีตจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ ชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 CGR2 CJ2 CJC2 และ CJR2 ให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.30 ซึ่งแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันแรก และ 28 วันของการหมัก โดยมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ระหว่าง $(2.88 \pm 0.15) \times 10^8$ ถึง $(5.50 \pm 0.58) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมัก โดยมีปริมาณราอยู่ระหว่าง $(9.49 \pm 0.49) \times 10^6$ ถึง $(196.58 \pm 9.85) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง แอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในวันที่ 14 หรือ 21 วันของการหมัก โดยมีปริมาณแอกติโนมัยซีตอยู่ระหว่าง $(1.86 \pm 0.07) \times 10^8$ ถึง $(31.76 \pm 8.66) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.5.2.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันโดยการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร จำนวนทั้งสิ้น 77 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.31 และรูปที่ 4.44

จากตารางที่ 4.32 พบว่าไอโซเลต MLB1 และ MLB9 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ส่วนไอโซเลต MLB3 MLB12 และ MLB13 จะพบในช่วงเริ่มต้นการหมัก

ตารางที่ 4.30 แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน (โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	แบคทีเรีย	รา	แอกติโนมัยซีต
CG2	$(4.90 \pm 1.24) \times 10^8$ (0 วัน)	$(9.49 \pm 0.49) \times 10^6$ (7 วัน)	$(31.76 \pm 8.66) \times 10^8$ (14 วัน)
CGC2	$(4.24 \pm 0.66) \times 10^8$ (0 วัน)	$(100.56 \pm 13.73) \times 10^6$ (0 วัน)	$(6.68 \pm 1.65) \times 10^8$ (14 วัน)
CGR2	$(3.71 \pm 0.85) \times 10^8$ (7 วัน)	$(12.26 \pm 1.99) \times 10^6$ (0 วัน)	$(2.43 \pm 0.18) \times 10^8$ (21 วัน)
CJ2	$(2.88 \pm 0.15) \times 10^8$ (28 วัน)	$(196.58 \pm 9.85) \times 10^6$ (0 วัน)	$(3.77 \pm 0.75) \times 10^8$ (14 วัน)
CJC2	$(5.50 \pm 0.58) \times 10^8$ (0 วัน)	$(91.58 \pm 1.27) \times 10^6$ (0 วัน)	$(3.27 \pm 0.10) \times 10^8$ (14 วัน)
CJR2	$(4.65 \pm 0.65) \times 10^8$ (0 วัน)	$(17.30 \pm 1.02) \times 10^6$ (0 วัน)	$(1.86 \pm 0.07) \times 10^8$ (14 วัน)

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

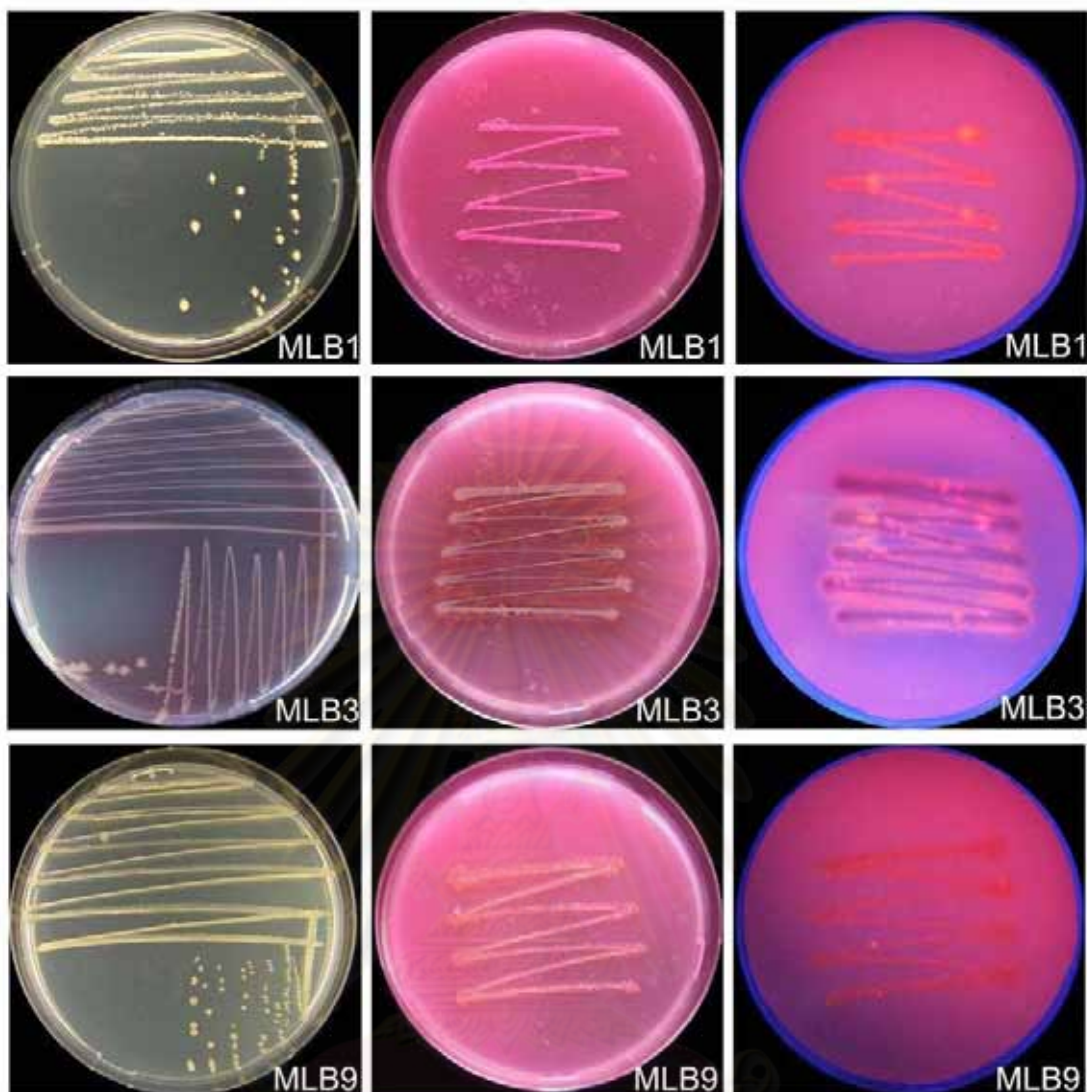
CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

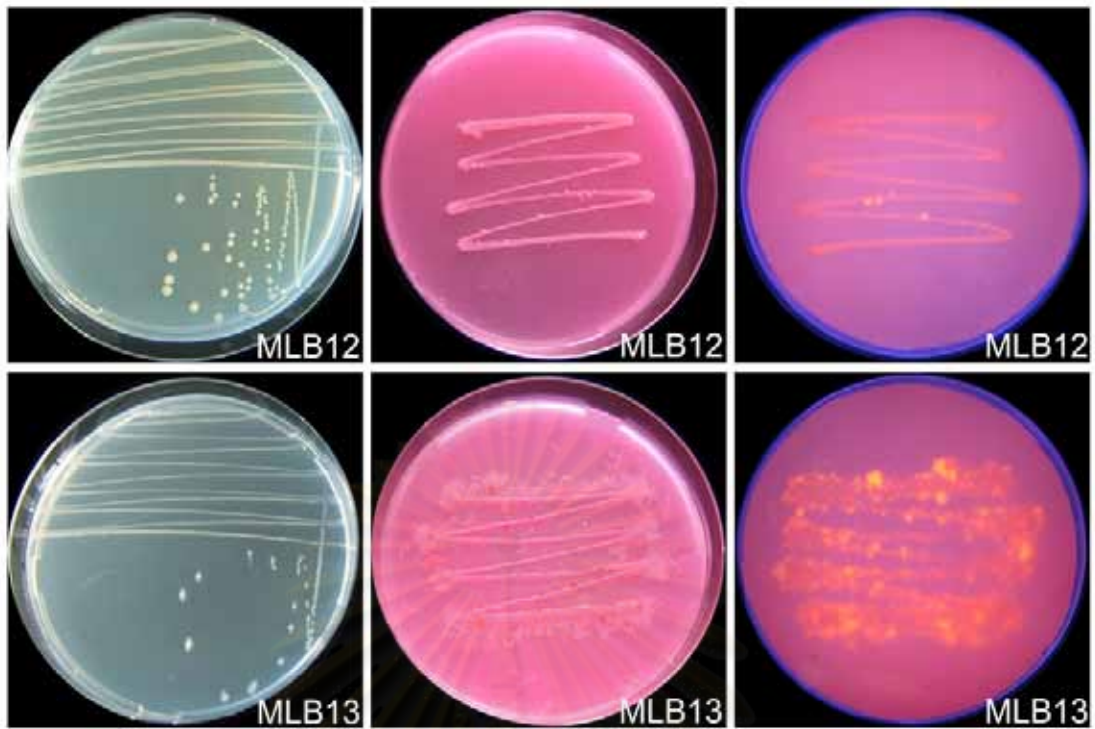
CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว



รูปที่ 4.44 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 3 วันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี (กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ต ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ขวา)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.44 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี
MLB1	สีน้ำตาล กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ
MLB3	สีน้ำตาลอ่อน กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB9	สีเหลือง ผิวหน้าย่น ด้าน ขอบหยัก ใส
MLB12	สีเหลือง กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส
MLB13	สีส้ม กลม นูน มันวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ใส

ตารางที่ 4.32 แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน					
	ในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MLB1	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MLB3	0	0	-	0	0, 35	-
MLB9	7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 21, 28	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MLB12	-	0	-	-	-	-
MLB13	0	-	0, 7	0	0	0

หมายเหตุ – คือไม่พบแบคทีเรียในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

4.5.2.2 การคัดแยกกราฟที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการคัดเลือกกราฟที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Streptomycin Rose Bengal Agar จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้รา ทั้งสิ้น 118 ไอโซเลตเมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี พบว่ารา 103 ไอโซเลตที่มีความสามารถการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันซึ่งเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้แก่ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและลักษณะการเกิดของสปอร์ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.33 และรูปที่ 4.45

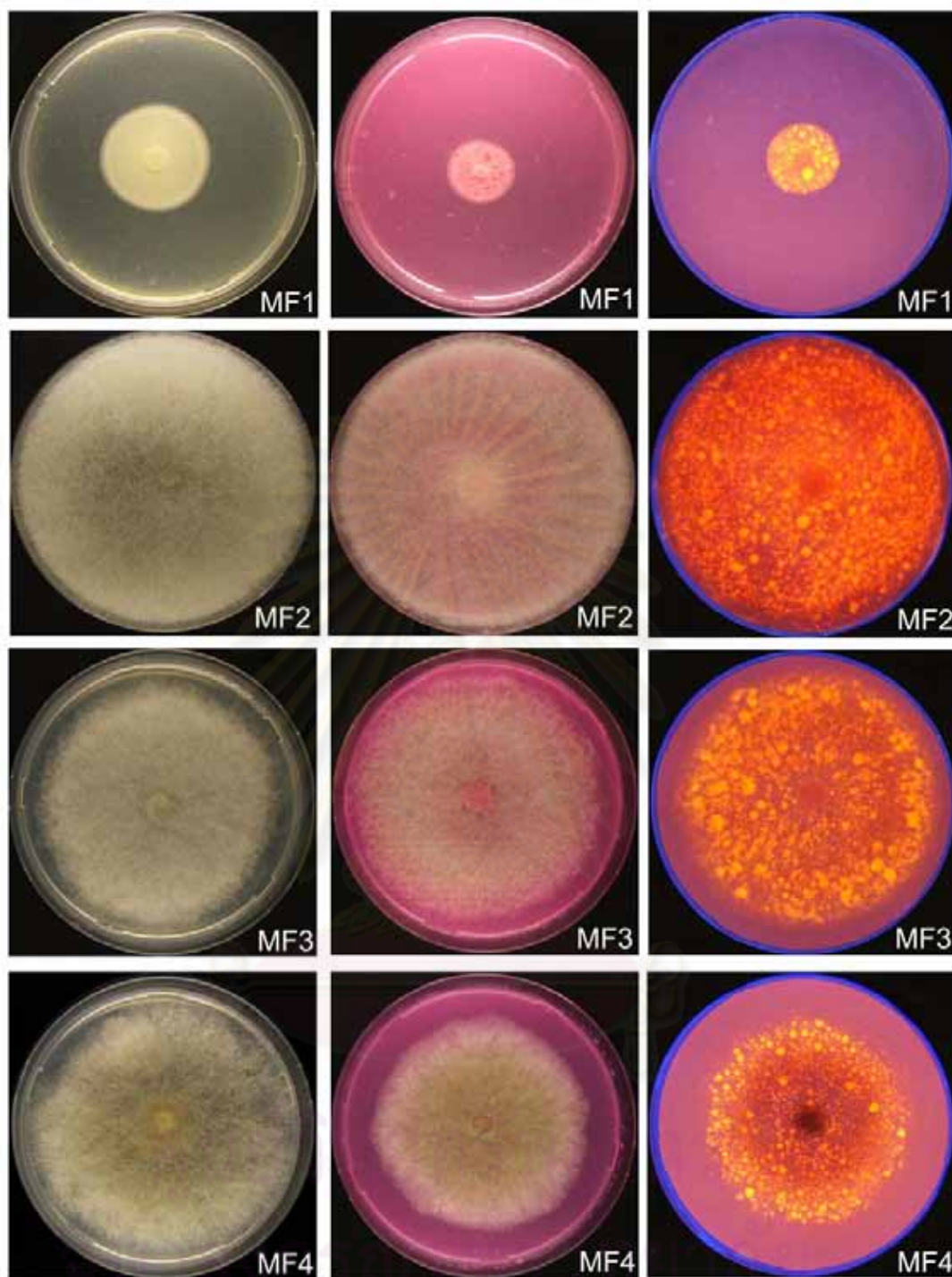
จากตารางที่ 4.34 พบว่าราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ไอโซเลต MF1 พบได้ในตอนเริ่มต้นการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MF2 และ MF3 พบในวันที่ 7 ของการหมัก และไอโซเลต MF4 MF5 และ MF6 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ยกเว้นไอโซเลต MF4 สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 พบได้ในวันที่ 7 ของการหมักเท่านั้น

ตารางที่ 4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

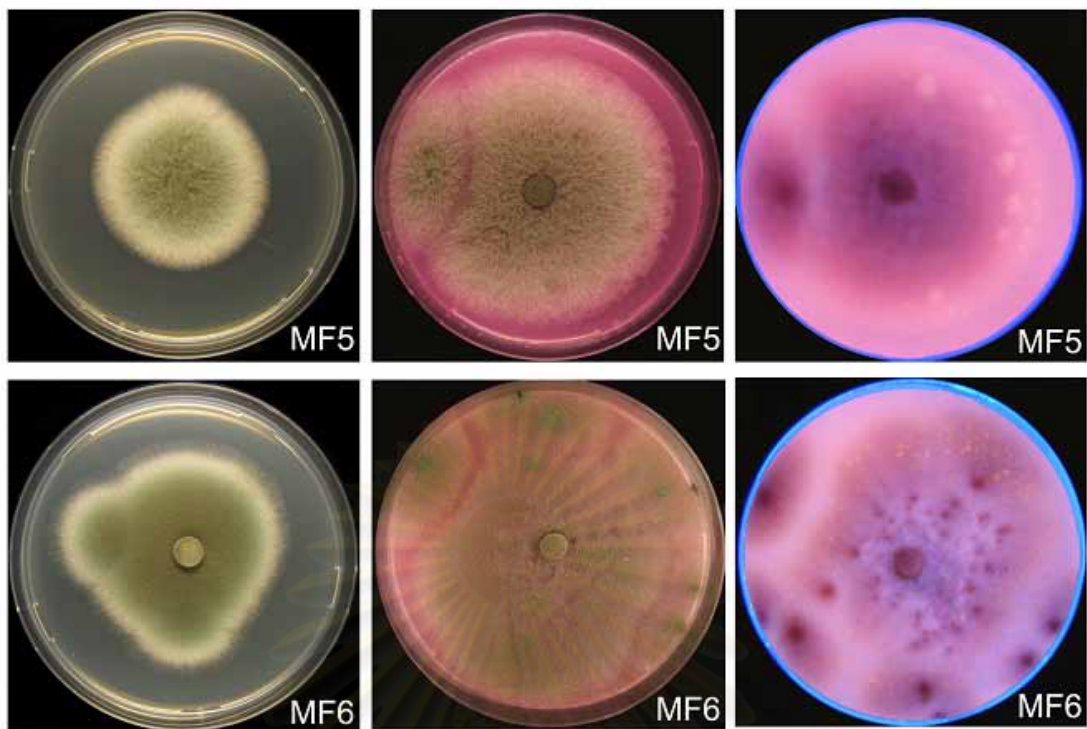
ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	อัตราการเจริญ
MF1	เส้นใยสีขาว ราบกับผิวหน้าอาหาร	+
MF2	เส้นใยสีเทา สปอร์สีดำ โตเร็ว เส้นใยหยาบ	+++
MF3	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทา เส้นใยหยาบ	+++
MF4	เส้นใยสีเหลืองแกมครีม สปอร์สีเหลืองแกมครีม ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	++
MF5	เส้นใยสีเขียว สปอร์สีเขียว ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	+++
MF6	เส้นใยสีเขียวเข้ม สปอร์สีเขียวเข้ม	+++

หมายเหตุ

- +++ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว
- ++ คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง
- + คือ รมีอัตราการเจริญเติบโตช้า



รูปที่ 4.45 ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 3 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี (กลาง) และการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร (ขวา)



รูปที่ 4.45 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.34 แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MF1	-	0	-	0	-	-
MF2	-	-	7	-	-	-
MF3	-	-	7	21	-	7
MF4	7	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28
MF5	0, 7, 14, 21, 28,	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MF6	0, 7, 14, 21, 28,	0, 7, 28, 35	0, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35

หมายเหตุ – คือไม่พบราในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

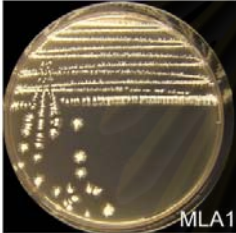

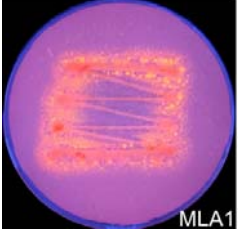


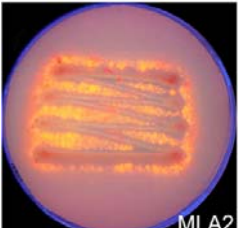
CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

4.5.2.3 การคัดแยกและหาปริมาณแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

จากการคัดแยกแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันโดยการเรืองแสงสีส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ใส่โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเล็ตความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร จำนวนทั้งสิ้น 34 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตที่มีสีเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ และสปอร์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.35

จากตารางที่ 4.36 พบว่าแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันไอโซเลต MLA1 พบได้ในวันที่ 7 ของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก และไอโซเลต MLA2 พบได้ในวันที่ 14 ของการหมักและวันสิ้นสุดการหมัก

ตารางที่ 4.35 แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลาย ปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ กัน เป็นระยะเวลา 7 ถึง 14 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rhodamine NA	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rhodamine NA ภายใต้UV
MLA1	เส้นใยอาหารสีเหลือง เส้นใยอากาศสีครีม สปอร์สีครีม			
MLA2	เส้นใยอาหารสีขาว เส้นใยอากาศสีเทา สปอร์สีเทา			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.36 แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมายซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่โรดามีน บี ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแอกติโนมายซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MLA1	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35
MLA2	35	-	35	35	-	14, 35

หมายเหตุ – คือ ไม่พบแอกติโนมายซีตในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5.3 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

จากการหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ CMC ได้แก่ แบคทีเรีย ราและแอกติโนมัยซีตจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ชุดการทดลอง CG2 CGC2 CGR2 CJ2 CJC2 และ CJR2 ให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.37 ซึ่งแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงวันที่ 7 หรือ 21 และ 28 วันของการหมัก โดยมีปริมาณแบคทีเรียอยู่ระหว่าง $(1.88 \pm 0.34) \times 10^6$ ถึง $(11.68 \pm 0.16) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงเริ่มต้นการหมักหรือ 7 วันของการหมัก โดยมีปริมาณราอยู่ระหว่าง $(9.85 \pm 0.72) \times 10^6$ ถึง $(196.58 \pm 9.85) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สำหรับแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของทุกชุดการทดลองมีปริมาณมากที่สุดในช่วงวันที่ 14 หรือ 21 วันของการหมัก โดยมีปริมาณแอกติโนมัยซีตอยู่ระหว่าง $(3.75 \pm 0.11) \times 10^8$ ถึง $(94.33 \pm 8.84) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.5.3.1 การคัดแยกและหาปริมาณแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 36 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาว ดังแสดงในตารางที่ 4.38

จากตารางที่ 4.39 พบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส ไอโซเลต MCB1 พบได้ตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.37 แสดงปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ชุดการทดลอง	ปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส (โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)		
	แบคทีเรีย	รา	แอกติโนมัยซีต
CG2	$(10.72 \pm 0.72) \times 10^8$ (21 วัน)	$(9.85 \pm 0.72) \times 10^6$ (7 วัน)	$(94.33 \pm 8.84) \times 10^8$ (14 วัน)
CGC2	$(11.68 \pm 0.16) \times 10^8$ (28 วัน)	$(100.56 \pm 13.73) \times 10^6$ (0 วัน)	$(8.25 \pm 0.66) \times 10^8$ (21 วัน)
CGR2	$(1.88 \pm 0.34) \times 10^8$ (28 วัน)	$(11.16 \pm 1.45) \times 10^6$ (0 วัน)	$(3.75 \pm 0.11) \times 10^8$ (14 วัน)
CJ2	$(8.22 \pm 0.55) \times 10^8$ (21 วัน)	$(196.58 \pm 0.85) \times 10^6$ (0 วัน)	$(10.75 \pm 1.20) \times 10^8$ (21 วัน)
CJC2	$(10.63 \pm 0.69) \times 10^8$ (7 วัน)	$(95.25 \pm 1.27) \times 10^6$ (0 วัน)	$(7.50 \pm 0.37) \times 10^8$ (14 วัน)
CJR2	$(7.92 \pm 0.52) \times 10^8$ (7 วัน)	$(17.30 \pm 1.02) \times 10^6$ (0 วัน)	$(8.45 \pm 1.08) \times 10^8$ (14 วัน)

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว


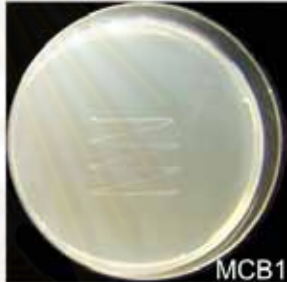

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.38 แสดงลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุยหมักทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ กัน เป็นระยะเวลา 5 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ราดด้วยคองโกเรด
MCB1	สีน้ำตาล กลม นูน มีนวาว ผิวหน้าเรียบ ขอบเรียบ ทึบ			

ตารางที่ 4.39 แสดงวันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MCB1	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5.3.2 การคัดแยกและหาปริมาณราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

จากการคัดแยกราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจากปุ๋ยหมักทะเลาปลาธรมน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้ราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 118 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ได้แก่ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและลักษณะการเกิดของสปอร์ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.40 และรูปที่ 4.46

จากตารางที่ 4.41 พบว่าราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส ไอโซเลต MF1 พบได้ในตอนเริ่มต้นการหมักเท่านั้น ไอโซเลต MF2 และ MF3 พบในวันที่ 7 ของการหมัก ไอโซเลต MF4 MF5 และ MF6 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ยกเว้นไอโซเลต MF4 สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 พบได้ในวันที่ 7 ของการหมักเท่านั้น และบางชุดการทดลองสามารถพบไอโซเลต MF7 ได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักโดยที่ไม่พบราไอโซเลตนี้ในวันที่ 14 ของการหมัก

ตารางที่ 4.40 แสดงลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลาปลาธรมน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

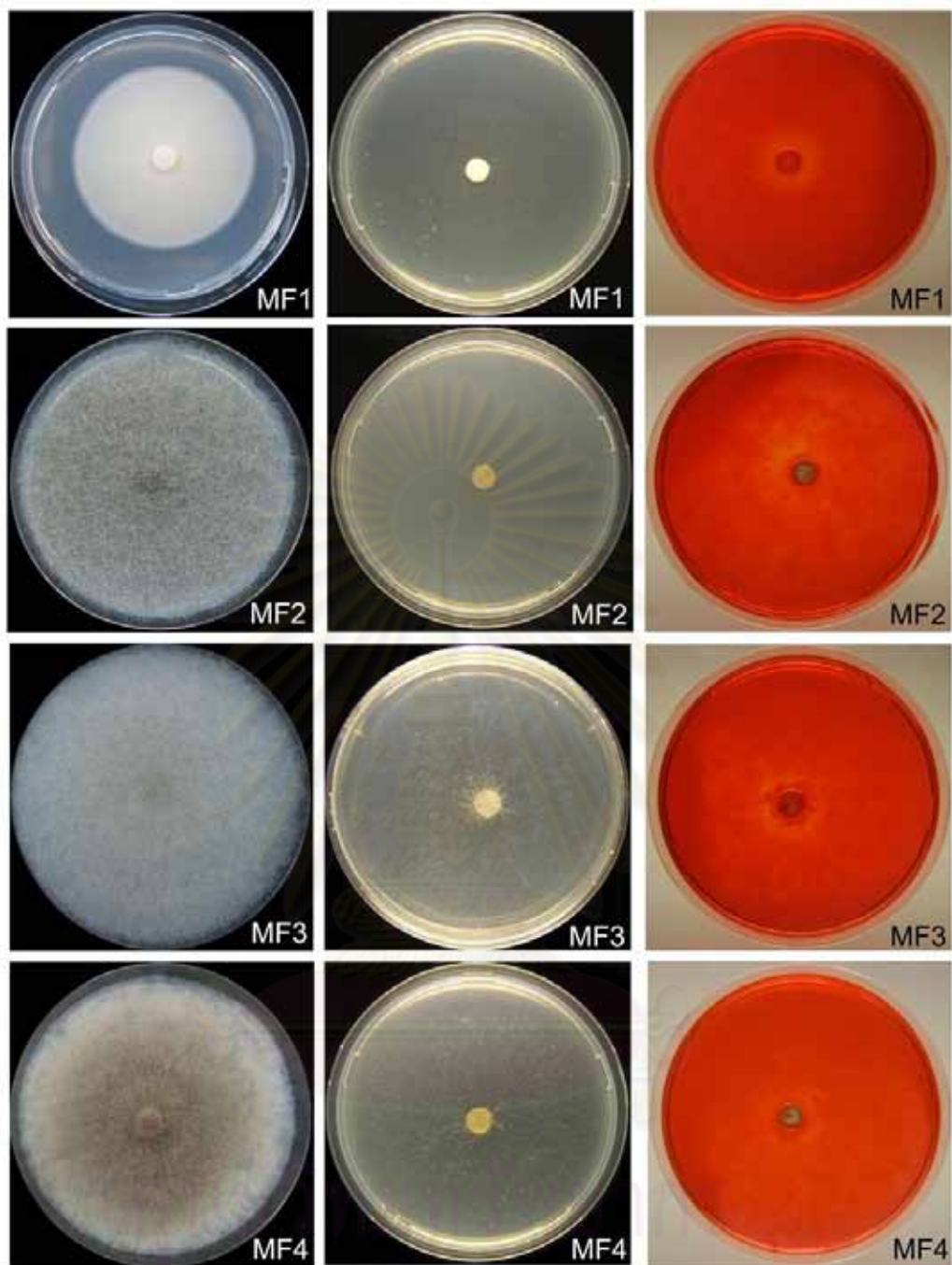
ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	อัตราการเจริญ
MF1	เส้นใยสีขาว รากับผิวหน้าอาหาร	+
MF2	เส้นใยสีเทา สปอร์สีดำ โตเร็ว เส้นใยหยาบ	+++
MF3	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทา เส้นใยหยาบ	+++
MF4	เส้นใยสีเหลืองแกมครีม สปอร์สีเหลืองแกมครีม ขอบสีขาว เส้นใยหยาบ	++
MF5	เส้นใยสีเขียว สปอร์สีเขียว ขอบสีขาว เส้นใย	+++
MF6	เส้นใยสีเขียวเข้ม สปอร์สีเขียวเข้ม	+++
MF7	เส้นใยสีน้ำตาลเหลือง สปอร์สีน้ำตาลเหลือง	+++

หมายเหตุ

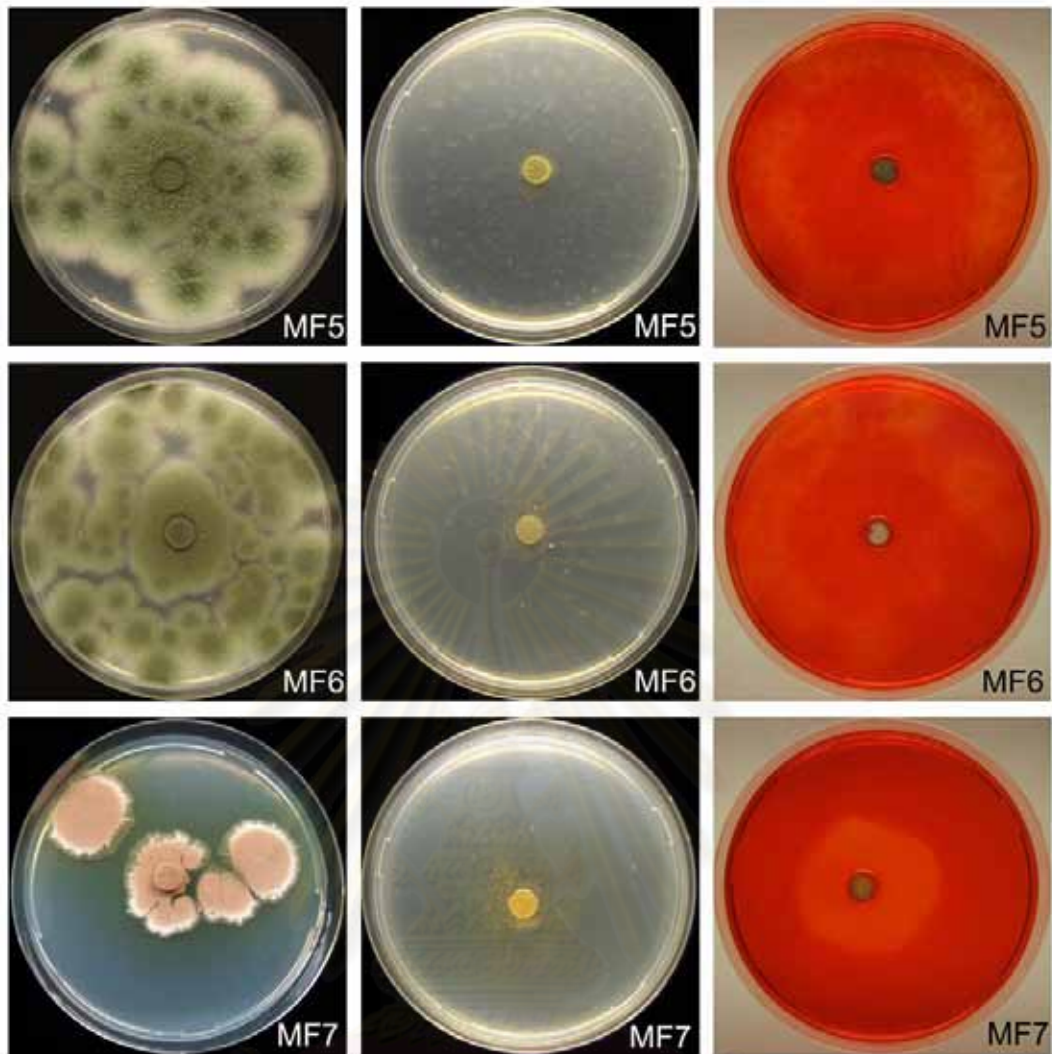
+++ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว

++ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตปานกลาง

+ คือ รามีอัตราการเจริญเติบโตช้า



รูปที่ 4.46 ลักษณะโคโลนีของราที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ซ้าย) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC (กลาง) และการสร้างวงใสดีเหลืองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากกรดด้วยคองโกเรด (ขวา)



รูปที่ 4.46 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.41 แสดงวันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบราที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MF1	-	0	-	0	-	-
MF2	-	-	7	-	-	-
MF3	-	-	7	21	-	7
MF4	7	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28
MF5	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MF6	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 28, 35	0, 14, 21, 28, 35	7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MF7	0, 7, 28	28	0, 21, 28, 35	35	0, 21, 28	21, 28, 35

หมายเหตุ – คือ ไม่พบราในช่วงวันทดลอง

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

4.5.3.3 การตัดแยกและหาจำนวนแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ย่อยเซลลูโลส


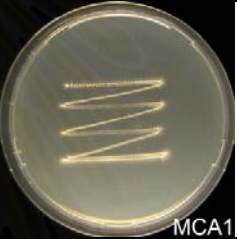



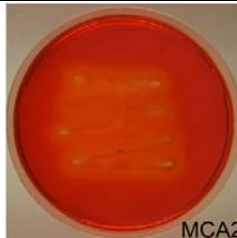
จากการตัดแยกแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจากปุ๋ยหมักทะเลาปาล์มน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ได้แอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 66 ไอโซเลต โดยแสดงตัวแทนไอโซเลตแอกติโนมายซีตที่มีสีเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ และสปอร์แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.42

จากตารางที่ 4.43 พบว่าแอกติโนมายซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสไอโซเลต MCA1 และ MCA2 พบได้ตั้งแต่ในเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.42 แสดงลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยซีดที่สร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นระยะเวลา 5 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ราดด้วยคองโกเรด
MCA1	เส้นใยอาหารสีเหลือง เส้นใยอากาศสีครีม สปอร์สีครีม			
MCA2	เส้นใยอาหารสีขาว เส้นใยอากาศสีเทา สปอร์สีเทา			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.43 แสดงวันที่ตรวจพบแอกติโนมายซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC ที่ได้จากปุ๋ยหมักทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ

ไอโซเลต	วันที่ตรวจพบแอกติโนมายซีตที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในแต่ละชุดการทดลอง					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
MCA1	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35
MCA2	0, 14, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 7, 14, 21, 28, 35	0, 14, 28, 35	0, 7, 14, 28, 35	0, 7, 14, 28, 35

หมายเหตุ

CG2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CGC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่

CGR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว

CJ2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน

CJC2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่

CJR2 คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่ปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.6 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัสดุคอกที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ

4.6.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย

จากแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัสดุคอกที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส จำนวนทั้งสิ้น 298 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 25 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน ซึ่งมาจำแนกสกุล โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมีบางประการดังนี้

4.6.1.1 การย้อมแกรม (Gram' stain)

ผลการย้อมแกรมซึ่งแสดงดังตาราง 4.44 พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ 25 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียแกรมบวก 5 ไอโซเลต โดยเป็นรูปท่อน 3 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลต MPB7 MLB1 และ MCB1 รูปกลม 2 ไอโซเลต ได้แก่ MPB4 และ MPB6 นอกจากนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนทั้ง 20 ไอโซเลต เมื่อศึกษาเอนโดสปอร์ (endospore) พบว่าไอโซเลต MPB7 MLB1 และ MCB1 มีเอนโดสปอร์ โดยจะเห็นเป็นส่วนสี่เหลี่ยมที่ติดสีย้อมแกรมอยู่ตรงกลางเซลล์ (central spores)

4.6.1.2 การทดสอบการเคลื่อนที่ (Motility test)

ผลการทดสอบการเคลื่อนที่ซึ่งแสดงดังตาราง 4.44 พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ 25 ไอโซเลตเป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ 5 ไอโซเลต ได้แก่ MPB1 MPB4 MLB4 MLB6 และ MLB13 นอกจากนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้ 20 ไอโซเลต

4.6.1.3 การทดสอบคาทาเลส (Catalase test)

ผลการทดสอบคาทาเลสซึ่งแสดงดังตาราง 4.44 พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ 25 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียที่ไม่มีความสามารถสร้างเอนไซม์คาทาเลสเพื่อย่อยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 2 ไอโซเลต ได้แก่ MPB10 และ MLB10 นอกจากนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์คาทาเลสเพื่อย่อยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เป็นผลผลิตสุดท้ายของการเกิด aerobic respiration ได้ทั้ง 23 ไอโซเลต

4.6.1.4 การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test)

ผลการทดสอบออกซิเดสซึ่งแสดงดังตาราง 4.44 พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ 25 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ไซโทโครมออกซิเดส 9 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลตแบคทีเรีย MPB2 MPB3 MPB4 MPB9 MLB2 MLB4 MLB8 MLB12 และ MLB13 นอกจากนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถผลิตเอนไซม์ไซโทโครมออกซิเดสได้ทั้ง 16 ไอโซเลต

ตารางที่ 4.44 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของไอโซเลตแบคทีเรียที่แยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส

ไอโซเลต	การติดสีแกรม	รูปร่าง	การทดสอบการเคลื่อนที่	การทดสอบคาทาเลส	การทดสอบออกซิเดส
MPB1	ลบ	ท่อน	-	+	+
MPB2	ลบ	ท่อน	+	+	-
MPB3	ลบ	ท่อน	+	+	-
MPB4	บวก	กลม	-	+	-
MPB5	ลบ	ท่อน	+	+	+
MPB6	บวก	กลม	+	+	+
MPB7	บวก	ท่อน	+	+	+
MPB8	ลบ	ท่อน	+	+	+
MPB9	ลบ	ท่อน	+	+	-
MPB10	ลบ	ท่อน	+	-	+
MLB1	บวก	ท่อน	+	+	+
MLB2	ลบ	ท่อน	+	+	-

หมายเหตุ

- การทดสอบการเคลื่อนที่ + หมายถึง แบคทีเรียเจริญกระจายรอบๆ รอยที่ stab เข็ม
- หมายถึง แบคทีเรียเจริญเป็นแนวขุ่นชัดเจนเฉพาะตามรอยที่ stab
- การทดสอบคาทาเลส + หมายถึง เกิดฟองก๊าซ
- หมายถึง ไม่เกิดฟองก๊าซ
- การทดสอบออกซิเดส + หมายถึง รอยขีดเป็นสีม่วง
- หมายถึง รอยขีดไม่เปลี่ยนสี

ตารางที่ 4.44 (ต่อ)

ไอโซ เลต	การติดสีแกรม	รูปร่าง	การทดสอบ การเคลื่อนที่	การทดสอบ คาทาเลส	การทดสอบ ออกซิเดส
MLB3	ลบ	ท่อน	+	+	+
MLB4	ลบ	ท่อน	-	+	-
MLB5	ลบ	ท่อน	+	+	+
MLB6	ลบ	ท่อน	-	+	+
MLB7	ลบ	ท่อน	+	+	+
MLB8	ลบ	ท่อน	+	+	-
MLB9	ลบ	ท่อน	+	+	+
MLB10	ลบ	ท่อน	+	-	+
MLB11	ลบ	ท่อน	+	+	+
MLB12	ลบ	ท่อน	+	+	-
MLB13	ลบ	ท่อน	-	+	-
MCB1	บวก	ท่อน	+	+	+
MCB2	ลบ	ท่อน	+	+	+

หมายเหตุ

- การทดสอบการเคลื่อนที่ + หมายถึง แบคทีเรียเจริญกระจายรอบๆ รอยที่ stab ขึ้น
 - หมายถึง แบคทีเรียเจริญเป็นแนวขุ่นชัดเจนเฉพาะตามรอยที่ stab
- การทดสอบคาทาเลส + หมายถึง เกิดฟองก๊าซ
 - หมายถึง ไม่เกิดฟองก๊าซ
- การทดสอบออกซิเดส + หมายถึง รอยขีดเป็นสีม่วง
 - หมายถึง รอยขีดไม่เปลี่ยนสี

ศูนย์วิจัยทางการแพทย์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

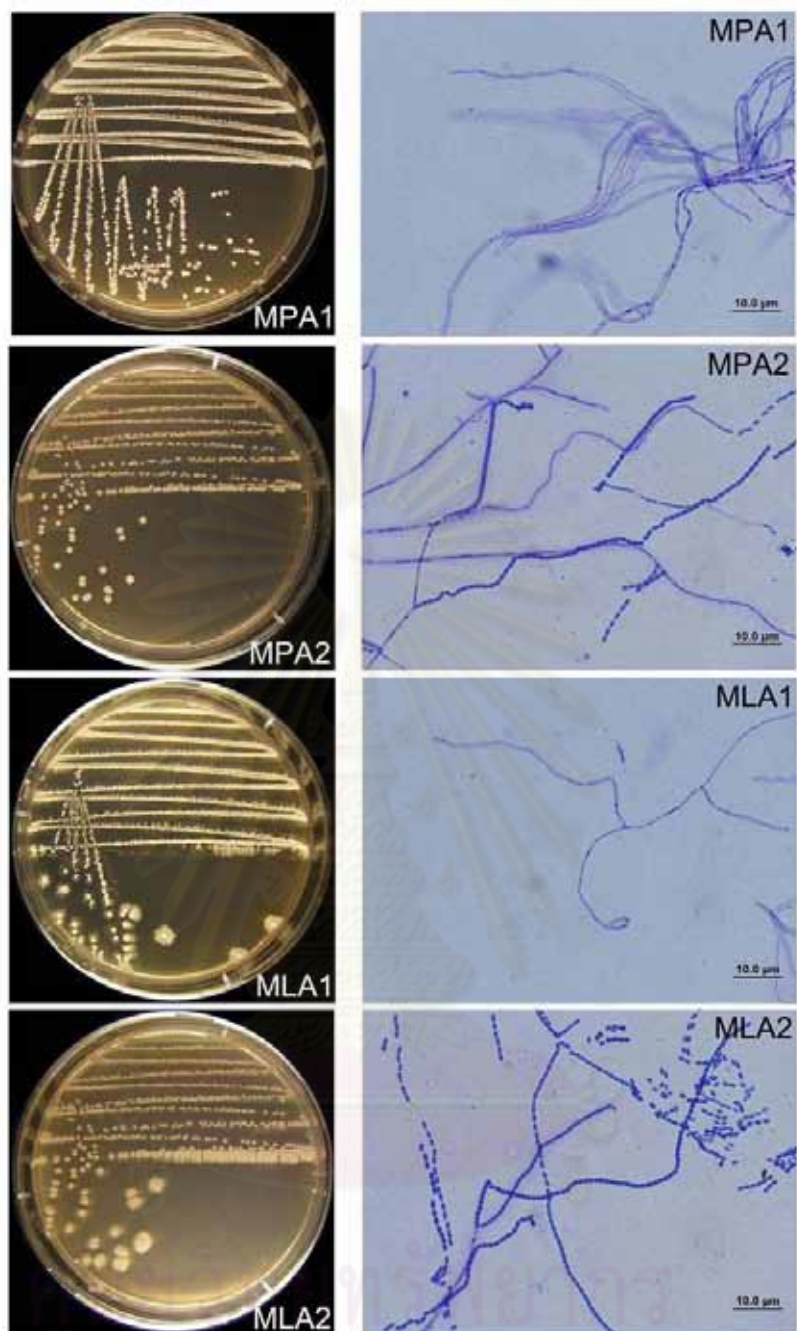
4.6.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซีต

จากแอกติโนมัยซีตที่แยกได้ทั้งหมดในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส จำนวนทั้งสิ้น 286 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 6 ไอโซเลตที่มีดีและลักษณะของเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ การสร้างสปอร์ของโคโลนีแตกต่างกัน ซึ่งมาจำแนกสกุล โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ผลดังได้กล่าวมาแล้วในตารางที่ 4.8 4.20 4.28 4.35 และ 4.42 และรูปที่ 4.51

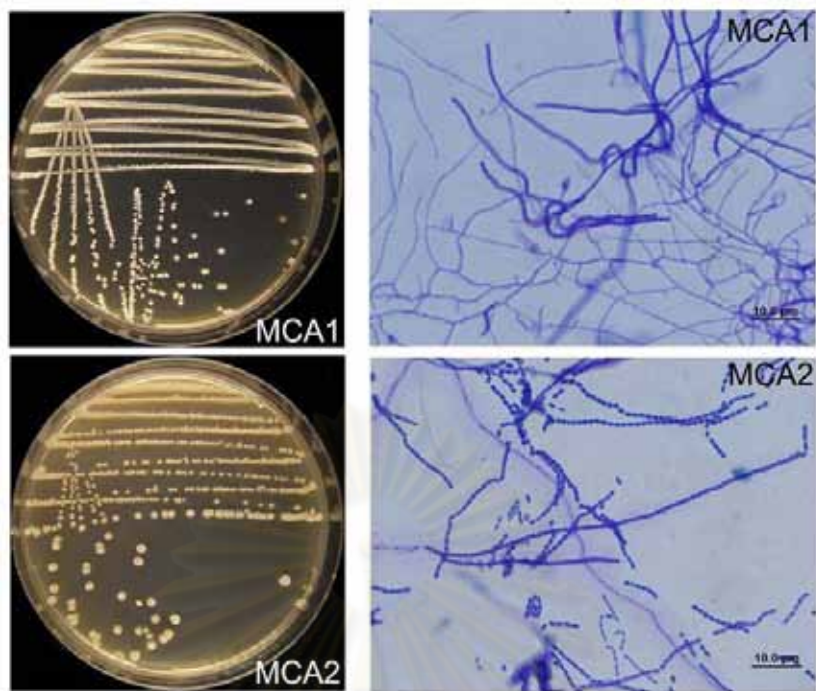
จากผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ คาดว่าน่าจะเป็นแอกติโนมัยซีตในสกุล *Streptomyces* sp.

4.6.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา

จากราที่แยกได้ทั้งหมดในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส จำนวนทั้งสิ้น 230 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 7 ไอโซเลตที่มีลักษณะ สี ขอบของโคโลนี ความหนาของโคโลนีแตกต่างกัน ซึ่งมาจำแนกสกุล โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ผลดังได้กล่าวมาแล้วในตารางที่ 4.6 4.13 4.18 4.26 4.33 และ 4.40 และรูปที่ 4.52

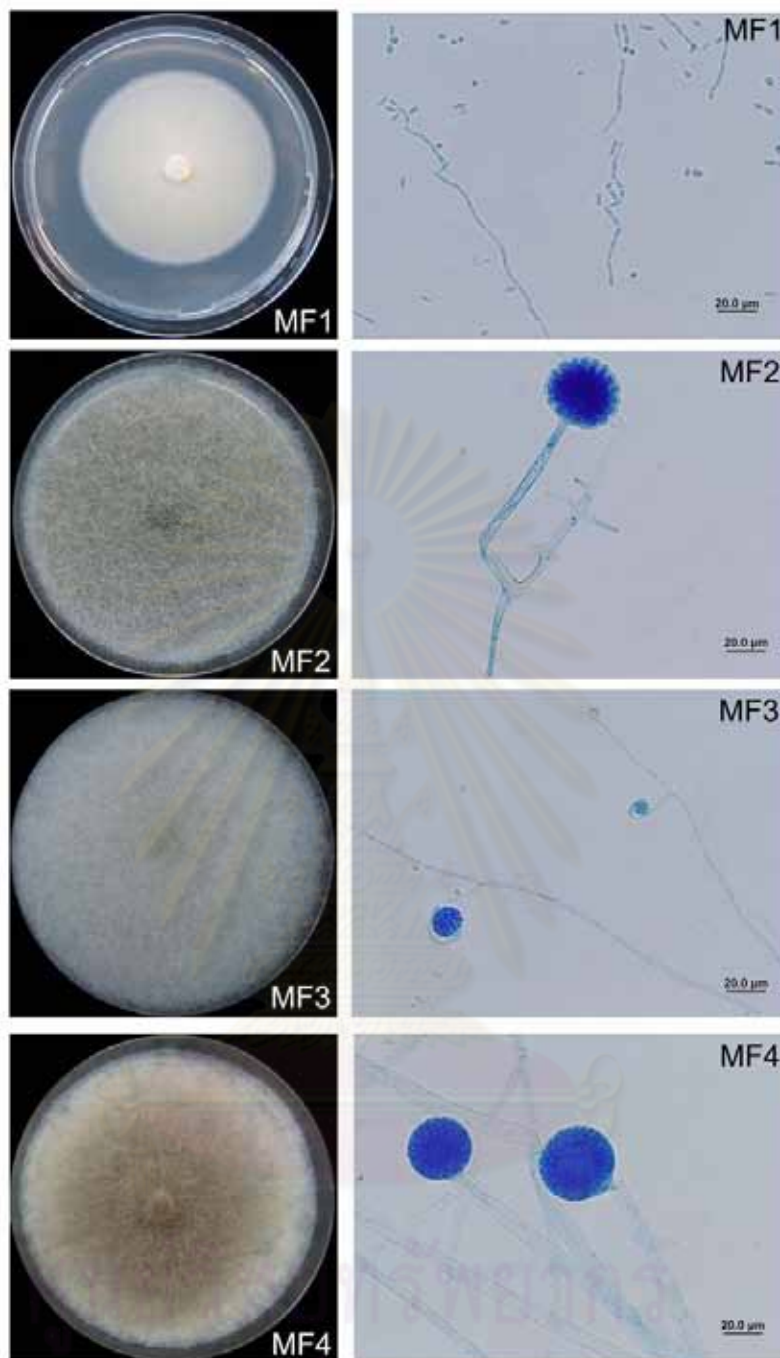


รูปที่ 4.47 ลักษณะโคโลนีสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยซีตที่แยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัสดุติดที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไชมัน และเซลลูโลส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Mungbean Agar (ซ้าย) และลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ขวา) เป็นเวลา 4 วัน

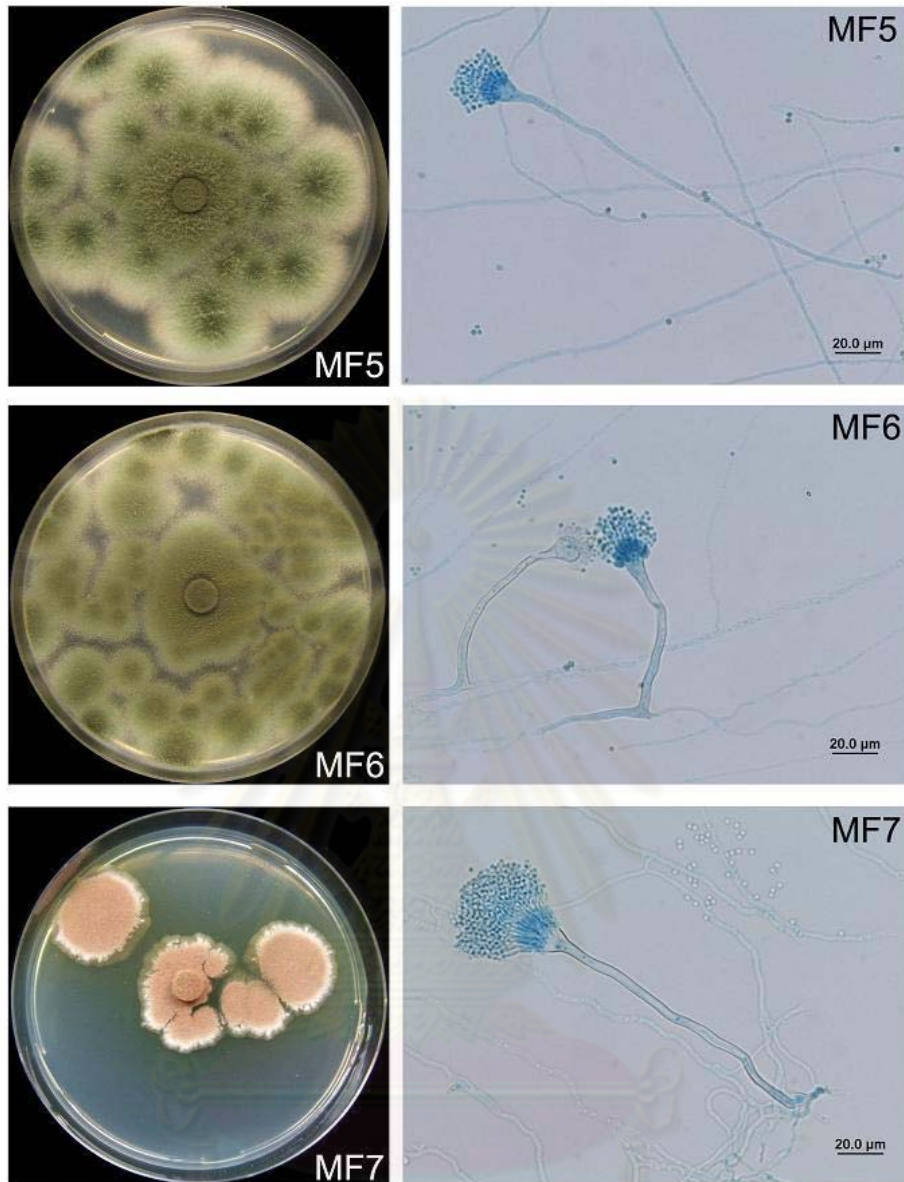


รูปที่ 4.47 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.48 ลักษณะสัณฐานวิทยาโคโลนีของราที่แยกได้ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลาย ปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 วัน (ซ้าย) และลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่เจริญบนชิ้นวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA (ขวา)



รูปที่ 4.48 (ต่อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.6.3.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF1

เส้นใยสีขาว เรียบ บ่อยครั้งมีลักษณะคล้ายเนยเหลว หรือมีลักษณะเป็นเยื่อ มีกลิ่น เส้นใยมีผนังกัน และมีการเจริญแยกออกเป็นสองแฉก ซึ่งเส้นใยกว้าง 7 ถึง 11 ไมโครเมตร ไม่มีก้านชูอับสปอร์ มีคอนนินเดียทรงกระบอก หรือทรงรีขนาด 6 ถึง 12 (ถึง 20) คูณ 3 ถึง 6 (ถึง 9) ไมโครเมตร มี 1 เซลล์ ซึ่งคอนนินเดียเกิดจากการหักของเส้นใยสืบพันธุ์ ลักษณะคล้ายสายโซ่ส่วนใหญ่เป็นเส้นใยอากาศ จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF1 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่ารา MF1 เป็นรา *Geotrichum* sp.

4.6.3.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF2

โคโลนีเจริญเร็ว เส้นใยสีแกมขาว เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยจะเป็นสีเทาแกมน้ำตาล เส้นใยสูงประมาณ 10 มิลลิเมตร สโตลอน (stolon) ผิวเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย เกือบจะไม่มีสีจนถึงสีน้ำตาลแกมเหลือง มีไรซอยด์ (rhizoids) สีแกมน้ำตาล ด้านตรงกันข้ามของก้านชูอับสปอร์ (sporangiopores) ที่เกิดจากสโตลอนจะไม่มีไรซอยด์ ก้านชูอับสปอร์อยู่เดี่ยว หรือเป็นไอโซเลต บางครั้งมีลักษณะคล้ายส้ม ผนังเรียบ สปอร์ทรงกลม ทรงรี บางครั้งมีรูปทรงไม่แน่นอน มีสีน้ำตาลตามซุ้มจนถึงสีน้ำตาลดำ คอลิวเมลลา (columella) ทรงกลม หรือครึ่งทรงกลม ผิวเรียบ หรือขรุขระเล็กน้อย สีน้ำตาล มีแอโพไฟซิส (apophysis) จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF2 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่ารา MF2 เป็นรา *Rhizopus* sp.

4.6.3.2.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF3

เส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกัน ก้านชูอับสปอร์อยู่เดี่ยว หรือแยกออกเป็นกิ่ง ปลายก้านชูอับสปอร์โพงออกเพื่อจับกับหัวของคอนนินเดีย คอนนินเดียโปร่งใส มี 1 เซลล์ เป็นทรงกลม จนถึงทรงรี ซึ่งถูกพองไว้เป็นไอโซเลต ไม่ได้อยู่ในลักษณะแถวคล้ายโซ่ ไม่มีสไปโรคลาเดีย (sporocladia) จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF3 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่ารา MF3 เป็นรา *Cunninghamella* sp.

4.6.3.2.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF4

เมื่อสังเกตในที่ที่มีแสงสว่างพบว่าเส้นใยสีเหลืองแกมครีม แต่เมื่อสังเกตในที่มืดเส้นใยสีแกมเทา ก้านชูอับสปอร์อยู่เดี่ยว หลังจากนั้นจะค่อยๆ แยกออกเป็นกิ่ง มีการพัฒนาของคอลิวเมลลาอย่างดี อับสปอร์มีขนาดต่างๆกัน เมื่ออับสปอร์แตกออกจะพบสปอร์อยู่ภายในจำนวนมาก สปอร์ผิวเรียบ ไฮโกสปอร์ (zygospore) ไม่มีระยะพัก ไม่มีแอโพไฟซิส จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF4 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่าเป็นรา MF4 รา *Mucor* sp.

4.6.3.2.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF5

โคโคนีเจริญค่อนข้างเร็ว เส้นใยสีเขียว ก้านชูอับสปอร์ไม่มีผนังกันยาว และไม่แยกออกเป็นกิ่ง เวสซีเคิล (vesicle) โป่งออก เพียไลด์ (phialides) อยู่บนเวสซีเคิลโดยตรง คอนนิตีเรียเรียงตัวกันเป็นสายโซ่แบบรัศมี ผิวเรียบ โปร่งใส จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF5 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่ารา MF5 เป็นรา *Aspergillus* sp.1

4.6.3.2.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF6

โคโคนีเจริญค่อนข้างเร็ว เส้นใยสีเขียวเข้ม ก้านชูอับสปอร์ (conidiophores) ไม่มีผนังกัน สั้น ผิวเรียบ และไม่แยกออกเป็นกิ่ง เวสซีเคิล (vesicle) โป่งออก เพียไลด์ (phialides) อยู่บนเวสซีเคิลโดยตรง คอนนิตีเรียเรียงตัวกันเป็นสายโซ่แบบรัศมี ทรงกลม ผิวขรุขระ โปร่งใส จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF6 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่ารา MF6 เป็นรา *Aspergillus* sp.2

4.6.3.2.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF7

โคโคนีเจริญค่อนข้างเร็ว เส้นใยสีน้ำตาลเหลือง ก้านชูอับสปอร์ไม่มีผนังกัน โปร่งใส ผิวเรียบและไม่แยกออกเป็นกิ่ง เวสซีเคิล (vesicle) โป่งออก เพียไลด์ (phialides) อยู่บนเวสซีเคิลโดยตรง คอนนิตีเรียทรงกลมเรียงตัวกันเป็นสายโซ่แบบรัศมี ผิวเรียบ โปร่งใส จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา MF7 ดังได้กล่าวข้างต้น พอสรุปได้ว่ารา MF7 เป็นรา *Aspergillus* sp.3

4.7 การศึกษาอนุพันธุศาสตร์เพื่อระบุสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ

4.7.1 การวิเคราะห์ลำดับเบส (DNA sequencing)

จากการนำชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีตส่งไปวิเคราะห์ลำดับเบสที่บริษัทมาโครเจน (macrogen) ณ ประเทศเกาหลี ให้ผลการวิเคราะห์หาลำดับเบสชิ้นส่วนดีเอ็นเอของแบคทีเรียทั้งหมด 25 ไอโซเลตลักษณะโคโคนีที่แตกต่างกัน และแอกติโนมัยซีตทั้ง 6 ไอโซเลตลักษณะโคโคนีที่แตกต่างกัน แสดงดังภาคผนวก ก พบว่าไอโซเลตแบคทีเรีย MPB1 และ MLB6 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Chryseobacterium* sp. ไอโซเลตแบคทีเรีย MPB2 และ MLB2 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกัน

ซึ่งใกล้เคียงกับลำดับ นิวคลีโอไทด์ของ *Stenotrophomonas maltophilia* ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Stenotrophomonas* sp.1 ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB4 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Staphylococcus sciuri* ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB5 และ MLB11 มีลำดับ นิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB6 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Arthrobacter keyseri* ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB7 MLB1 และ MCB1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Bacillus pumilus* ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB8 และ MLB3 มีลำดับ นิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Pseudomonas aeruginosa* ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB9 และ MLB8 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Stenotrophomonas* sp.2 ไอโซเลตแบบที่เรียก MPB10 และ MLB10 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Rheinheimera* sp. ไอโซเลตแบบที่เรียก MLB4 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Acinetobacter calcoaceticus* ไอโซเลตแบบที่เรียก MLB5 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Pseudomonas putida* ไอโซเลตแบบที่เรียก MLB7 และ MCB2 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Aeromonas punctata* ไอโซเลตแบบที่เรียก MLB9 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Pseudomonas* sp. ไอโซเลตแบบที่เรียก MLB12 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Enterobacter pyrinus* ไอโซเลตแบบที่เรียก MLB13 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA ใกล้เคียงกับ *Bacterium* SM4-6 หรือ *Acinetobacter* sp. ไอโซเลตแอกติโนมัยซีด MPA1 MLA1 และ MCA1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Streptomyces* sp. และไอโซเลตแอกติโนมัยซีด MPA2 MLA2 และ MCA2 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เหมือนกันซึ่งใกล้เคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Streptomyces thermocoprophilus*

เมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของแบบที่เรียกและแอกติโนมัยซีดที่แยกได้ซึ่งมีความสามารถในการย่อยเซลลูโลส โปรตีน และไขมัน กับที่ได้มีรายงานไว้ใน GenBank โดยใช้ โปรแกรม BLAST version 2.1 ที่จัดทำโดย DDBJ ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.45 ซึ่งจากผล

การเปรียบเทียบพบว่าแบคทีเรียที่แยกได้มีทั้งหมด 16 ไอโซเลต จาก 25 ไอโซเลตโดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 97 ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ และแอกติโนมัยซีดที่แยกได้มีทั้งหมด 2 ไอโซเลต จาก 6 ไอโซเลต โดยมีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 98 ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ สามารถสรุปสกุลของแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีดแสดงดังตารางที่ 4.46 พบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้แก่ *Stenotrophomonas* sp.1 *Staphylococcus sciuri* และ *Arthrobacter keyseri* แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ได้แก่ *Acinetobacter calcoaceticus* *Pseudomonas putida* *Pseudomonas* sp. *Enterobacter pyrinus* และ *Bacterium* SM4-6 หรือ *Acinetobacter* sp. แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน และไขมัน ได้แก่ *Chryseobacterium* sp. *Stenotrophomonas maltophilia* *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* *Pseudomonas aeruginosa* *Stenotrophomonas* sp.2 และ *Rheinheimera* sp. แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน และเซลลูโลส ได้แก่ *Aeromonas punctata* แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส ได้แก่ *Bacillus pumilus* และแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และ เซลลูโลส ได้แก่ *Streptomyces* sp. และ *Streptomyces thermocoprophilus*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.45 แสดงการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับเบสที่ตำแหน่ง 16S rRNA gene ของแบคทีเรียที่แยกได้ที่มีความสามารถในการย่อยเซลลูโลส โปรตีน และไขมันกับข้อมูลของชนิดแบคทีเรียที่มีอยู่ใน GenBank

ไอโซเลต	ความสามารถ ในการย่อย เซลลูโลส	ความสามารถ ในการย่อย โปรตีน	ความสามารถ ในการย่อย ไขมัน	ความเหมือนของลำดับเบสของแบคทีเรียใน GenBank และ Accession number	ความยาว (bp)	ความเหมือน (%)
MPB1	-	+	-	<i>Chryseobacterium</i> sp. (AB264127)	1367/1388	98
MPB2	-	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (DQ777866)	1405/1409	99
MPB3	-	+	-	<i>Stenotrophomonas</i> sp. (EU073089)	1383/1411	98
MPB4	-	+	-	<i>Staphylococcus sciuri</i> (EU095646)	1411/1416	99
MPB5	-	+	+	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (AP008229)	1387/1418	97
MPB6	-	+	-	<i>Arthrobacter keyseri</i> (AF256196)	1366/1383	98
MPB7	+	+	+	<i>Bacillus pumilus</i> (EU379276)	1410/1414	99
MPB8	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (EF362637)	1394/1395	99
MPB9	-	+	+	<i>Stenotrophomonas</i> sp. (AB180662)	1386/1415	97

หมายเหตุ + คือ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์
- คือ ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์

ตารางที่ 4.45 (ต่อ)

ไอโซเลต	ความสามารถ ในการย่อย เซลลูโลส	ความสามารถ ในการย่อย โปรตีน	ความสามารถ ในการย่อย ไขมัน	ความเหมือนของลำดับเบสของแบคทีเรียใน GenBank และ Accession number	ความยาว (bp)	ความเหมือน (%)
MPB10	-	+	+	<i>Rheinheimera</i> sp.(DQ874340)	1378/1386	99
MLB1	+	+	+	<i>Bacillus pumilus</i> (EU379276)	1410/1414	99
MLB2	-	+	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (DQ777866)	1405/1409	99
MLB3	-	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (EF362637)	1394/1395	99
MLB4	-	-	+	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (X81668)	1376/1394	98
MLB5	-	-	+	<i>Pseudomonas putida</i> (EF620456)	1367/1402	97
MLB6	-	-	+	<i>Chryseobacterium</i> sp. (AB264127)	1355/1373	98
MLB7	+	-	+	<i>Aeromonas punctata</i> (AY987725)	1402/1404	99
MLB8	-	+	+	<i>Stenotrophomonas</i> sp. (AB180662)	1386/1415	97
MLB9	-	-	+	<i>Pseudomonas</i> sp. (DQ813309)	1397/1398	99
MLB10	-	+	+	<i>Rheinheimera</i> sp.(DQ874340)	1378/1386	99

หมายเหตุ + คือ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์

- คือ ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์

ตารางที่ 4.45 (ต่อ)

ไอโซเลต	ความสามารถ ในการย่อย เซลลูโลส	ความสามารถ ในการย่อย โปรตีน	ความสามารถ ในการย่อย ไขมัน	ความเหมือนของลำดับเบสของแบคทีเรียใน GenBank และ Accession number	ความยาว (bp)	ความเหมือน (%)
MLB11	-	+	+	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (AP008229)	1387/1418	97
MLB12	-	-	+	<i>Enterobacter pyrinus</i> (EF059884)	1393/1413	98
MLB13	-	-	+	<i>Acinetobacter</i> (AY902243)	1394/1407	99
MCB1	+	+	+	<i>Bacillus pumilus</i> (EU379276)	1410/1414	99
MCB2	+	-	+	<i>Aeromonas punctata</i> (AY987725)	1417/1418	99
MPA1	+	+	+	<i>Streptomyces</i> sp. (AF345862)	1341/1350	99
MPA2	+	+	+	<i>Streptomyces thermocoprophilus</i> (AB249938)	1355/1380	98
MLA1	+	+	+	<i>Streptomyces</i> sp. (AF345862)	1341/1350	99
MLA2	+	+	+	<i>Streptomyces thermocoprophilus</i> (AB249938)	1355/1380	98
MCA1	+	+	+	<i>Streptomyces</i> sp. (AF345862)	1341/1350	99
MCA2	+	+	+	<i>Streptomyces thermocoprophilus</i> (AB249938)	1355/1380	98

หมายเหตุ + คือ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์

- คือ ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์

ตารางที่ 4.46 แสดงไอโซเลตแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีตที่แยกได้ซึ่งมีความสามารถในการย่อย
เซลลูโลส โปรตีน และไขมัน

ไอโซเลต	ไอโซเลต
MPB1 MLB6	<i>Chryseobacterium</i> sp.
MPB2 MLB2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
MPB3	<i>Stenotrophomonas</i> sp.1
MPB4	<i>Staphylococcus sciuri</i>
MPB5 MLB11	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>
MPB6	<i>Arthrobacter keyseri</i>
MPB7 MLB1 MCB1	<i>Bacillus pumilus</i>
MPB8 MLB3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MPB9 MLB8	<i>Stenotrophomonas</i> sp.2
MPB10 MLB10	<i>Rheinheimera</i> sp
MLB4	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
MLB5	<i>Pseudomonas putida</i>
MLB7 MCB2	<i>Aeromonas punctata</i>
MLB9	<i>Pseudomonas</i> sp.
MLB12	<i>Enterobacter pyrinus</i>
MLB13	<i>Acinetobacter</i> sp.
MPA1 MLA1 MCA1	<i>Streptomyces</i> sp.
MPA2 MLA2 MCA2	<i>Streptomyces thermocoprophilus</i>

หมายเหตุ

MPB และ MPA คือ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน

MLB และ MLA คือ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน

MCB และ MCA คือ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส

4.8 การศึกษาเปรียบเทียบของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลาะปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

4.8.1 การศึกษาเปรียบเทียบของแบคทีเรีย

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถมที่ไม่ใส่และแหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าว ในการหมักครั้งที่ 1 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.12 และในการหมักครั้งที่ 2 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.32 พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย มี 2 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas* sp. และ *Bacillus pumilus* เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 CGR1 CG2 CGC2 และ CGR2 จะพบ *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยเริ่มจากช่วงที่กำลังเกิดกระบวนการหมักในวันที่ 7 หรือ 14 ของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก สำหรับ *Bacillus pumilus* ในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 จะพบในวันเริ่มต้นหมัก หรือวันที่ 21 28 และในวันสิ้นสุดการหมักเท่านั้น สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 จะพบ *Bacillus pumilus* ตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองที่ใส่หัวเชื้อจากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ไม่ใส่และแหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าว ในการหมักครั้งที่ 1 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.12 และในการหมักครั้งที่ 2 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.32 พบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย มี 2 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas* sp. และ *Bacillus pumilus* เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 CJR1 CJ2 CJC2 และ CJR2 จะพบ *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยเริ่มจากช่วงที่กำลังเกิดกระบวนการหมักในวันที่ 7 ของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก สำหรับ *Bacillus pumilus* ในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 จะพบในวันเริ่มต้นหมัก หรือวันที่ 21 28 และในวันสิ้นสุดการหมักเท่านั้น สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 จะพบ *Bacillus pumilus* ตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก

4.8.2 การศึกษาเปรียบเทียบของรา

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถมที่ไม่ใส่และแหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าว ในการหมักครั้งที่ 1 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.19 และในการหมักครั้งที่ 2 ดังได้กล่าวแล้วในตาราง

ที่ 4.41 พบว่าราที่คัดแยกได้ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย มี 3 สายพันธุ์ คือ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 จะพบ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 เป็นราที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยเริ่มจากช่วงที่กำลังเกิดกระบวนการหมักในวันที่ 7 หรือ 14 ของการหมัก จนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 จะพบ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 ตั้งแต่เริ่มต้นการหมัก จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ยกเว้นชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 ไม่พบว่า *Mucor* sp. เป็นราที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ย

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองที่ใส่หัวเชื้อจากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ไม่ใส่และแหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าวตั้งได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.19 และในการหมักครั้งที่ 2 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.41 พบว่าราที่คัดแยกได้ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย มี 3 สายพันธุ์ คือ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 และ CJR1 จะพบ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 เป็นราที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยเริ่มจากช่วงที่กำลังเกิดกระบวนการหมักในวันที่ 7 หรือ 14 ของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 จะพบ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 ตั้งแต่เริ่มต้นการหมักหรือที่ 7 วันของการหมักจนกระทั่งที่ 28 วันของการหมักหรือสิ้นสุดการหมัก

4.8.3 การศึกษาเปรียบเทียบของแอกติโนมัยซีต

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองใส่แหล่งจุลินทรีย์จากเศษใบมังคุดทับถมที่ไม่ใส่และแหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าว ในการหมักครั้งที่ 1 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.21 และในการหมักครั้งที่ 2 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.43 พบว่าแอกติโนมัยซีตที่คัดแยกได้ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย มี 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces* sp. และ *Streptomyces thermocoprophilus* เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 CGR1 CG2 CGC2 และ CGR2 จะพบ *Streptomyces* sp. เป็นแอกติโนมัยซีตที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก สำหรับ *Streptomyces thermocoprophilus* เป็นแอกติโนมัยซีตที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 ซึ่งพบในช่วงที่กำลังเกิดกระบวนการหมักที่ 7 ของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก และ จะพบ *Streptomyces thermocoprophilus* เป็นแอกติโนมัยซีตที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการ

หมักปุ๋ยในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG2 CGC2 และ CGR2 ตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลองที่ใส่หัวเชื้อจากปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ไม่ใส่และแหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าว ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.21 และในการหมักครั้งที่ 2 ดังได้กล่าวแล้วในตารางที่ 4.43 พบว่าแอกติโนมัยซีดที่คัดแยกได้ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย มี 2 สายพันธุ์ คือ *Streptomyces* sp. และ *Streptomyces thermocoprophilus* เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ1 CJC1 CJR1 CJ2 CJC2 และ CJR2 จะพบ *Streptomyces* sp. เป็นแอกติโนมัยซีดที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก สำหรับ *Streptomyces thermocoprophilus* เป็นแอกติโนมัยซีดที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG1 CGC1 และ CGR1 ซึ่งพบในช่วงที่กำลังเกิดกระบวนการหมักที่ 7 ของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก และจะพบ *Streptomyces thermocoprophilus* เป็นแอกติโนมัยซีดที่เด่นและมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ2 CJC2 และ CJR2 ตั้งแต่เริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมัก ยกเว้นในวันที่ 21 ของการหมักจะไม่พบแอกติโนมัยซีด *Streptomyces thermocoprophilus*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

5.1.1 อุณหภูมิ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมัน ที่ไม่ใส่และใส่แหล่งจุลินทรีย์ ได้แก่ ปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์ (CA) ปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์เศษใบปาล์มน้ำมันทับถม (CB) ดินร้งปลวก (CC) เศษใบไม้ทับถม (CD) เศษใบลองกองทับถม (CE) ทะลายปาล์มที่ได้จากการเพาะเห็ดฟาง (CF) เศษใบมังคุดทับถม (CG) ปุ๋ยหมักมูลไก่ (CH) ปุ๋ยหมักของโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา (CI) และปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (CJ) จากนั้นได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 1 ได้แก่ ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CG1) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่มูลไก่ (CGC1) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG ใส่รำข้าว (CGR1) ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CJ1) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่มูลไก่ (CJC1) และชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ ใส่รำข้าว (CJR1) และทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 2 ซึ่งมีชุดการทดลองดังนี้ ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CG1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CG2) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGC1 ใส่มูลไก่ (CGC2) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CGR1 ใส่รำข้าว (CGR2) ชุดการทดลองที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJ1 ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน (CJ2) ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJC1 ใส่มูลไก่ (CJC2) และชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ได้ใส่แหล่งจุลินทรีย์จากปุ๋ยหมักที่ได้จากชุดการทดลอง CJR1 ใส่รำข้าว (CJR2) พบว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเป็นไปในทิศทางเดียวกันโดยที่อุณหภูมิทุกชุดการทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การที่อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักสูงขึ้น เนื่องจาก

พลังงานความร้อนที่ถูกปลดปล่อยออกมาหลังจากการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทุกชุดการทดลองอุณหภูมิสูงมากกว่า 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ถึง 10 วัน เนื่องจากคุณสมบัติการเก็บความร้อนของวัสดุอินทรีย์ ทำให้ความร้อนยังคงอยู่ไม่แพร่กระจายออกจากกองปุ๋ย เป็นลักษณะพิเศษของกระบวนการหมักปุ๋ย อุณหภูมิในช่วงนี้สามารถทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่อพืชและมนุษย์ (พิทยากร ลิ้มทอง, 2536 ;Ogunwandeและคณะ, 2008) อุณหภูมิสูงจะมีอัตราการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ได้เร็วกว่าบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำ (เกษมศรี ชับซ้อน, 2541) เมื่อการหมักเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 อุณหภูมิลดลงจนใกล้เคียงกับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเป็นไปตาม ระยะเวลาต่างๆ ของกระบวนการหมักปุ๋ย (Tuomela และคณะ, 2000) ที่กล่าวว่าระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) เป็นระยะแรกของการหมักปุ๋ย อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักจะใกล้เคียงกับในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25 ถึง 40 องศาเซลเซียส ต่อมาเป็นระยะชอบอุณหภูมิต่ำ (The thermophilic phase) ซึ่งอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 45 ถึง 65 องศาเซลเซียส และกิจกรรมของจุลินทรีย์พวกนี้จะสิ้นสุดลงเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 70-80 องศาเซลเซียส สุดท้ายเป็นระยะคงที่และกระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์ (The cooling and maturation phase) เป็นช่วงไม่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ หลังจากนั้นอุณหภูมิลดลงเป็นอุณหภูมิปานกลาง และลดลงเท่ากับอุณหภูมิกายนอก เป็นระยะที่กระบวนการหมักสมบูรณ์ สำหรับการวิจัยนี้จุลินทรีย์เริ่มทำกิจกรรมในกระบวนการหมักในวันที่ 1 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 52 ถึง 70 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นระยะชอบอุณหภูมิต่ำ (The thermophilic phase) จากนั้นอุณหภูมิลดลงในวันที่ 27 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 35 ถึง 41 องศาเซลเซียสเป็นระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) จนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในวันที่ 35 ของการหมักอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักจะใกล้เคียงกับในสิ่งแวดล้อมโดยมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 28 ถึง 41 องศาเซลเซียส ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมินี้สอดคล้องกับ Thambirajah และ Kuthubutheen (1989) ที่ศึกษาการทำปุ๋ยหมักจากกากปาล์มร่วมกับปุ๋ยคอกมูลเป็ดไก่และยูเรียโดยมีอัตราส่วนของส่วนผสมเป็น 250 ต่อ 50 ต่อ 0.5 กิโลกรัม รวมทั้ง Thambirajah และคณะ (1995) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพของปุ๋ยหมักจากทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับแหล่งอินทรีย์ในโตรเจนต่างๆ ได้แก่ มูลแพะ มูลโค และมูลไก่ โดยมีอัตราส่วนของส่วนผสมเป็น 90 ต่อ 25 กิโลกรัม อีกทั้ง Sanabria-León, R. และคณะ (2007) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพของปุ๋ยหมักจากของเสียจากโรงฆ่าสัตว์ร่วมกับเศษหญ้าจากสนามหญ้า ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ในถังหมักขนาด 0.91X 0.91 เมตร รวมทั้ง Ogunwande และคณะ (2008) ที่ศึกษาการหมักปุ๋ยจากมูลไก่ทับถมซึ่งประกอบด้วย ปุ๋ยคอกไก่ เศษอาหาร ขนไก่ และขี้เลื่อย โดยกองเป็นรูปพีระมิดขนาด 1.2 X 1.2 X 0.76 เมตร นอกจากนี้ งานวิจัยอื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงเริ่มต้นของกองปุ๋ยหมักนี้แตกต่างกันไปดังมี

รายงานโดย Albuquerque และคณะ (2006) ที่ศึกษาปุ๋ยหมักจากกากผลมะกอกโดยเปรียบเทียบกับ bulking agent 2 ชนิด คือ ก้านธูป และใบมะกอก โดยมีน้ำหนักรวม 2600 กิโลกรัม โดยมีอัตราส่วนของ กากผลมะกอก ต่อ bulking agent ต่อ ยูเรีย เป็น 94.6 ต่อ 5 ต่อ 0.4 เปอร์เซ็นต์ และกองปุ๋ยมีขนาด 2 X 3 X 2.5 เมตร พบว่าอุณหภูมิเริ่มต้นหมักอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) จนกระทั่งมีการกลับกองปุ๋ยในวันที่ 4 ของการหมัก อุณหภูมิจึงเพิ่มสูงขึ้นอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) ในวันถัดมา ทั้งนี้ Goyal และคณะ (2005) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ย โดยการทำปุ๋ยหมักจากวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 4 ต่อ 1 ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ปุ๋ยหมักดินหม้อกรองน้ำตาล ปุ๋ยหมักมูลเป็ดไก่ และปุ๋ยหมักผักตบชวา โดยกองปุ๋ยมีขนาด 0.6 X 0.6 X 0.6 เมตร พบว่าอุณหภูมิเริ่มต้นหมักอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) เป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์จนกระทั่งวันที่ 14 ของการหมักอุณหภูมิจึงเพิ่มสูงขึ้นอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) และอุณหภูมิลดลงอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) ตั้งแต่วันที่ 21 ของการหมัก จนกระทั่งสิ้นสุดการหมักที่ 90 วัน นอกจากนี้ Huang และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษากการทำปุ๋ยหมักจากปุ๋ยคอกมูลสุกรร่วมกับขี้เลื่อยในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 โดยมีขนาดกองปุ๋ยเป็น 8 X 8 X 8 เมตร พบว่าอุณหภูมิเริ่มต้นหมักอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) เป็นเวลา 3 วันจากนั้นอุณหภูมิจึงเพิ่มสูงขึ้นอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) และอุณหภูมิลดลงอยู่ในระยะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) อีกครั้งในวันที่ 45 ของการหมัก และลดลงอีกจนคงที่ในวันสิ้นสุดการหมักที่ 63 วัน จากรายงานผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าวัสดุที่ใช้ทำปุ๋ยหมัก การใส่แหล่งไนโตรเจน หรือขนาดกองปุ๋ยหมักส่งผลให้รูปแบบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิแตกต่างกัน จากผลการทดลองการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันทั้ง 3 ครั้งนี้จะเห็นว่าในช่วง 10 วันแรกของการหมักปุ๋ย อุณหภูมิลดลง ดังนั้นจึงพบว่าหลังจากกลับกองปุ๋ยและให้น้ำมีผลให้อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นอีก แสดงว่าจุลินทรีย์ยังคงดำเนินกิจกรรมการย่อยสลายเศษวัสดุต่อไปจนกระทั่งการกลับกองปุ๋ยและให้น้ำไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักจะค่อยๆ ลดลงจนเกือบคงที่ แสดงว่ากิจกรรมการย่อยสลายเกิดโดยสมบูรณ์แล้ว การที่อุณหภูมิลดลงอาจเนื่องจากการที่จุลินทรีย์ทำงานน้อยลง ความร้อนที่เกิดขึ้นจากการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้มีการระเหยของน้ำในกองปุ๋ยหมักมากขึ้นโดยเฉพาะที่บริเวณด้านบนกองปุ๋ยหมักทำให้ความชื้นในกองปุ๋ยลดลงอีกทั้งยังมีการสะสมความชื้นบริเวณกลางและด้านล่างกองปุ๋ยหมักทำให้การระบายอากาศลดน้อยลงจึงเป็นอุปสรรคต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ดังนั้นเมื่อมีการกลับกองปุ๋ยและให้น้ำเป็นการทำให้มีการระบายอากาศเพิ่ม

ออกซิเจนรวมทั้งปรับให้กองปุ๋ยมีความชื้นที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ (Ogunwande และคณะ, 2008)

5.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน ในปุ๋ยหมักชุดการทดลองควบคุม CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ จากนั้นทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเริ่มต้นมีค่าอยู่ระหว่าง 5.4 ถึง 7.2 เมื่อสิ้นสุดการหมัก (35 วัน) ความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมัก อยู่ระหว่าง 6.7 ถึง 8.5 หลังจากมีการระบายอากาศโดยกลับกองปุ๋ย จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศจะทำงานโดยปลดปล่อยสารประกอบอินทรีย์ออกมา ความเป็นกรด-ด่างก็จะเพิ่มสูงขึ้น หรือธาตุที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของอินทรีย์วัตถุ ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน และธาตุอื่นๆ เมื่อถูกจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน และไม่ต้องการออกซิเจน ย่อยสลายแล้วจะได้สารประกอบซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (Kutzner, 2000 อ้างถึงใน ทัศนวิมลแก้ว, 2544) ส่งผลให้ความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น ความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยที่หมักสมบูรณ์แล้วสำหรับการวิจัยนี้เป็นไปตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 มาตรา 55 ที่กรมวิชาการเกษตร กำหนดประกาศมาตรการปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548 ว่าปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพจะต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.5-8.5

5.1.3 ความชื้น

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน ในปุ๋ยหมักชุดการทดลองควบคุม CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ จากนั้นได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าอัตราการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์จะเกิดได้ดีที่ความชื้น 50-75 เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแปลงความชื้นทุกช่วงเวลาของการหมักปุ๋ยเนื่องจากการทำงานของจุลินทรีย์ เพราะน้ำเป็นองค์ประกอบหลักในโปรโตพลาสซึม (protoplasm) และช่วยในการพัฒนาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Alexander, 1977) ดังนั้นจึงต้องใส่น้ำให้กับกองปุ๋ยเพื่อรักษาระดับความชื้นที่เหมาะสมนี้ตลอดระยะเวลาหมักปุ๋ย

5.1.4 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน ในปุ๋ยหมักชุดการทดลอง CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ จากนั้นได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดการหมักลดลง การที่ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยหมักเมื่อสิ้นสุดการหมักลดลง เป็นไปตามหลักของการทำปุ๋ยหมักเนื่องจากจุลินทรีย์นำเอาคาร์บอนมาใช้สังเคราะห์สารประกอบที่เป็นโครงสร้างหลักของเซลล์ ใช้เป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์และปลดปล่อยออกมาในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ และความร้อน (Tuomela และคณะ, 2000) ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับ Goyal และคณะ, 2005 ที่รายงานว่าการทำปุ๋ยหมักจากวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 4ต่อ1 ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 1ต่อ1 ปุ๋ยหมักดินหม้อกรองน้ำตาล ปุ๋ยหมักมูลเป็ดไก่ และปุ๋ยหมักผักตบชวา มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักลดลง เนื่องจากคาร์บอนถูกปลดปล่อยออกมาในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นปริมาณอินทรีย์คาร์บอนที่ลดลงจะเป็นตัวบ่งบอกความสามารถของจุลินทรีย์ในการทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ หรือการใช้เศษวัสดุอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน เมื่อพิจารณาในแต่ละชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ พบว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CA ซึ่งไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักไม่แตกต่างกับบางชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโดยปกติการใส่แหล่งจุลินทรีย์เป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์เพื่อส่งเสริมการย่อยสลายอินทรีย์คาร์บอน แต่ในชุดการทดลอง CA มีจุลินทรีย์ธรรมชาติอยู่ในวัสดุเศษทะเลลายปาล์มอยู่แล้ว ดังนั้นบางครั้งแหล่งจุลินทรีย์ที่ใส่ไปในปุ๋ยหมักไม่มีความสามารถในการเจริญเติบโตแก่งแย่งกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติของวัสดุที่ใช้ในการทำปุ๋ยหมักได้ (วิศิษฐพร เพื่อนพิภพ, 2529) จากการทดลองนี้ใช้แหล่งจุลินทรีย์ 1 กิโลกรัมต่อทะเลลายปาล์ม 8 กิโลกรัม ปริมาณแหล่งจุลินทรีย์อาจน้อยเกินไปทำให้การเปรียบเทียบไม่ชัดเจน หากมีการทดลองเปรียบเทียบการใส่แหล่งจุลินทรีย์ในการทำปุ๋ยหมัก ควรจะใช้อัตราส่วนแหล่งจุลินทรีย์ให้มากกว่าการทดลองนี้ อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใส่แหล่งจุลินทรีย์มีผลต่อการย่อยสลายอินทรีย์คาร์บอนเมื่อพิจารณาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG ที่ไม่ใส่และใส่แหล่งไนโตรเจนมูลไก่ และรำข้าว และในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ ที่ไม่ใส่และใส่แหล่งไนโตรเจนมูลไก่ และรำข้าว พบว่ามีแนวโน้มปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักที่ลดลงในทิศทางเดียวกัน คือ ชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งไนโตรเจนมูลไก่ และรำข้าวมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อ

สิ้นสุดการหมักต่ำกว่าชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ซึ่งให้เห็นว่าการใส่แหล่งไนโตรเจนช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายอินทรีย์คาร์บอน

5.1.5 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน ในปุ๋ยหมักชุดการทดลอง CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ จากนั้นได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเริ่มต้นหมัก เนื่องจากความเข้มข้นของปุ๋ยหมักที่เพิ่มขึ้นซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากน้ำหนักของอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยหมักที่ลดลงเนื่องจากถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ (Ogunwande และคณะ 2008) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Albuquerque และคณะ (2006) ที่รายงานว่าปุ๋ยหมักจากกากผลมะกอกมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมัก เช่นเดียวกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพในระหว่างการหมักปุ๋ย โดยทำการหมักวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้งชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 4ต่อ1 ปุ๋ยหมักกากอ้อยผสมมูลโคอัตราส่วน 1ต่อ1 และปุ๋ยหมักดินหม้อกรองน้ำตาลมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมัก (Goyal และคณะ, 2005) นอกจากนี้การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันโดยใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่แตกต่างกันได้แก่ มูลแพะ มูลโค และมูลไก่ที่รายงานโดย Thambirajah และคณะ (1995) การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักจากกากผลปาล์มที่รายงานโดย Thambirajah และ Kuthubutheen (1989) และการศึกษาการหมักปุ๋ยมูลสุกรร่วมกับขี้เลื่อยที่รายงานโดย Huang และคณะ (2004) พบว่าเมื่อสิ้นสุดการหมักปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเช่นกัน บางครั้งเมื่อการหมักปุ๋ยสิ้นสุดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะลดลงเนื่องจากจุลินทรีย์นำไปใช้ ปุ๋ยหมักที่ถูกแสงแดดโดยตรงจะเร่งการย่อยสลายและสูญเสียสภาพโปรตีน อาจสูญเสียไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียหากเพิ่มอากาศมากขึ้น และบางครั้งไนโตรเจนที่สูญเสียไปเนื่องจากการขาดอากาศทำให้จุลินทรีย์สร้างสภาวะไร้ออกซิเจนขึ้นในกองปุ๋ยหมักทำให้เกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และก๊าซแอมโมเนีย (Ogunwande และคณะ 2008)

5.1.6 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมด

จากผลการศึกษาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักที่ลดลงและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักที่เพิ่มขึ้นของการปุ๋ยหมักในทุกชุดการทดลองของการหมักปุ๋ยทั้ง 3 ครั้งข้างต้น ส่งผลให้อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุด

การหมักลดลงเช่นกัน โดยในปุ๋ยหมักชุดการทดลอง CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดซึ่งตรงตามพระราชบัญญัติปุ๋ย พ.ศ. 2518 มาตรา 55 ที่กรมวิชาการเกษตรกำหนดประกาศมาตรฐานการปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548 ว่าปุ๋ยอินทรีย์ที่มีคุณภาพจะต้องมีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดไม่เกิน 20:1 จากการศึกษาปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG และ CJ ซึ่งมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการหมักต่ำที่สุด ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์ในการทดลองขั้นต่อไป เมื่อศึกษาอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดพบว่าสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้นคือชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CG ยังคงมีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำที่สุด แต่ในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CJ ไม่ใช่ชุดการทดลองที่มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดต่ำที่สุดเนื่องจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 พบว่ามีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักสูงกว่าการศึกษาในชุดการทดลองปุ๋ยหมักที่ยังไม่แปรผันแหล่งไนโตรเจน จากอุณหภูมิที่ได้กล่าวข้างต้นในวันสุดท้ายของการหมักยังคงสูงแสดงว่าอินทรีย์วัตถุในปุ๋ยหมักจะยังมีการย่อยสลายต่อไปได้อีกดังนั้นจึงควรใช้ระยะเวลาการหมักให้นานขึ้นจะทำให้อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดลดลงอีกเนื่องจากปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 ยังไม่เสถียรส่งผลให้เมื่อใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 ซึ่งอาจเกิดจากเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ไว้นานก่อนที่จะมีการหมักต่อไป เนื่องจากจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนการเก็บรักษาจุลินทรีย์ทำให้มีการถ่ายเทอากาศได้น้อย จุลินทรีย์อาจลดลงปริมาณลงและอ่อนแอลงดังนั้นประสิทธิภาพในการย่อยสลายในปุ๋ยหมักจึงลดลงเช่นกันส่งผลให้อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่ามาตรฐานคือ 20:1 ผลนี้สอดคล้องกับผลของอุณหภูมิโดยที่การหมักที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนและปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 รักษาอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสไว้ได้นาน 13 วัน แต่สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 รักษาอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสไว้ได้นานเพียง 9 วัน แสดงว่าประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายลดลง เมื่อพิจารณาปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนที่ได้จากแหล่งจุลินทรีย์ CG1 และ CJ1 มีอัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอน

ต่อไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าชุดการทดลองที่ใส่แหล่งไนโตรเจน ผลการทดลองนี้ทำให้ทราบว่า เมื่อทำการหมักปุ๋ยร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ 2 ครั้ง การใส่แหล่งไนโตรเจนจะช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดลดลงต่ำกว่าไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน สอดคล้องกับ Thambirajah และคณะ (1995) ที่ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันโดยใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่แตกต่างกันได้แก่ มูลแพะ มูลโค และมูลไก่ พบว่าการใส่แหล่งไนโตรเจนมูลไก่ส่งผลให้อัตราส่วนของปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อเริ่มต้นลดลงต่ำที่สุด

จากการทดลองทำปุ๋ยหมักทั้ง 3 ครั้ง คือ การทำปุ๋ยหมักที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน การทำปุ๋ยหมักจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เป็นการทำปุ๋ยหมักแบบต่อเชื้อ ซึ่งการต่อเชื้อทำได้เพียง 3 ครั้ง (ปรัชญา รัตมีธรรมวงศ์, 2537) สอดคล้องกับผลการทดลองปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดคุณภาพของปุ๋ยหมัก จำนวนครั้งในการต่อเชื้อจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักมากขึ้นปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักสูงขึ้นด้วยแสดงว่าจุลินทรีย์อาจอ่อนแอลงการย่อยสลายจึงเกิดได้น้อยลง นอกจากนี้อำนาจ ต้นโช (2549) ได้กล่าวว่า การทำเกษตรธรรมชาติแบบเกาหลี มีหลักการโดยจุลินทรีย์จะมีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ ซึ่งจะมีสมดุลในระบบนิเวศของชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่สมบูรณ์ เนื่องจากมีการปรับตัวตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงมานับเป็นเวลาหลายพันปี ดังนั้นจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในท้องถิ่นจึงเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพและปรับตัวทำงานได้ดีที่สุด นอกจากนี้ Vargas-García และคณะ(2006) ที่ศึกษาผลของการใส่แหล่งจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักปุ๋ยโดยการใส่แหล่งจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus shackletoni* *Streptomyces thermovulgaris* และ *Ureibacillus thermosphaericus* เพื่อปรับปรุงการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสในต้นพริกไทย ซึ่งแปรผันวัสดุอินทรีย์ที่เป็นส่วนผสมได้แก่ กากผลมะกอก เปลือกอัลมอนต์ เศษลูกพริก และฟางข้าว พบว่า แหล่งจุลินทรีย์มีความสำคัญ การใส่แหล่งจุลินทรีย์เป็นวิธีปรับปรุงการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุของปุ๋ยหมักซึ่งจุลินทรีย์ที่ใช้ต้องเหมาะสมกับลักษณะของวัสดุหมักด้วย

5.1.7 ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมักโดยพิจารณาลักษณะรูปร่าง สี และกลิ่นของปุ๋ยหมักนั้นในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลายปาล์มน้ำมัน ในปุ๋ยหมักชุดการทดลอง CA CB CC CD CE CF CG CH CI และ CJ พบว่าเมื่อหมักเสร็จสมบูรณ์เป็นเวลา 35 วัน ลักษณะของปุ๋ยที่ได้คล้ายกันทุกชุดการทดลอง คือ มีสีน้ำตาลปนดำ ลักษณะเปื่อยยุ่ย และมีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน หากใช้การสังเกตด้วยตาเปล่าไม่สามารถบอกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน

สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมักในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษ ทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 ได้แก่ ชุดการทดลอง CG1 CGC1 CGR1 CJ1 CJC1 และ CJR1 และทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทั่วไปของปุ๋ย หมักในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 ซึ่งมีชุดการทดลอง CG2 CGC2 CGR2 CJ2 CJC2 และ CJR2 พบว่าเมื่อการหมักปุ๋ย เสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 35 ลักษณะของปุ๋ยหมักจากทุกชุดการทดลองที่ได้มีลักษณะคล้ายกัน คือ มีสี น้ำตาลปนดำ ลักษณะเปียกชุ่ม และมีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน เมื่อเทียบกับปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ใส่ แหล่งไนโตรเจนมีความแตกต่างกันคือ ปุ๋ยหมักชุดการทดลองที่ใส่แหล่งไนโตรเจนมีสีน้ำตาลเข้ม ปนดำ ลักษณะเปียกชุ่มและขนาดเล็กกว่าปุ๋ยหมักชุดการทดลองควบคุมไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน แสดงว่าการใส่แหล่งไนโตรเจนมีผลให้จุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์เกิดได้ดีขึ้นโดย สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า

5.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ

5.2.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

โดยทั่วไปมีเกณฑ์การประเมินจุลินทรีย์ในปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์แล้วโดยแบคทีเรียจะมี ปริมาณทั้งหมดประมาณ $10^8 - 10^{10}$ เซลล์ต่อปุ๋ยหมักแห้ง 1 กรัม มีปริมาณราทั้งหมดประมาณ 10^3 ถึง 10^4 เซลล์ต่อปุ๋ยหมักแห้ง 1 กรัม และปริมาณแอกติโนมัยซีตทั้งหมดมีค่าประมาณ 10^6 ถึง 10^8 เซลล์ต่อปุ๋ยหมักแห้ง 1 กรัม ปริมาณดังกล่าวนี้ไม่แน่นอน อาจมีการผันแปรไปจากนี้ ขึ้นอยู่กับ สิ่งแวดล้อมและวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก (Bess, 1999 อ้างถึงใน กัญญา ม่วงแก้ว, 2544)

5.2.1.1 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด

จากการศึกษานี้ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดจากการทดลองทำปุ๋ยหมักทั้ง 3 ครั้ง ซึ่งเป็นการศึกษาในสภาวะที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) โดยบ่มเชื้อที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดไปในทิศทาง เดียวกันโดยแบคทีเรียมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับราและแอกติโนมัยซีต เนื่องจากแบคทีเรียมี ขนาดเล็กจึงมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากดังนั้นการดูดสารอาหารเข้าสู่เซลล์เกิดขึ้นได้ดีทำให้มีการเพิ่ม ปริมาณได้ดีกว่าราและแอกติโนมัยซีต (Tuomela และคณะ, 2000) ในวันเริ่มต้นหมักจะมีปริมาณ แบคทีเรียทั้งหมดสูงที่สุด แบคทีเรียค่อนข้างจะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายวัสดุ อินทรีย์และการเกิดความร้อนในกองปุ๋ยหมัก (ธงชัย มาลา, 2550) เมื่อหมักเป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะสูง 50 ถึง 70 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิ

ปานกลางลดลง อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักที่สูงถึง 70 องศาเซลเซียส ทำให้แบคทีเรียก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ (ธงชัย มาลา, 2550) การนับปริมาณแบคทีเรียในปุ๋ยหมักโดยวิธี dilution plate method บนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม แต่วิธีนี้จะนับปริมาณของแบคทีเรียได้ปริมาณต่ำกว่าความเป็นจริงอย่างมาก เพราะไม่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใดที่สามารถทำให้เชื้อในปุ๋ยหมักทุกชนิดเจริญได้หมด (Alexander, 1977; สุภัณฑิต นิมรัตน์, 2537 ; Pepper และคณะ, 1995) นอกจากนี้จะมีข้อผิดพลาดอันอาจเกิดขึ้นเนื่องจากเทคนิคการนับแล้ว การเก็บตัวอย่างก็นับว่ามีความสำคัญ เพราะแบคทีเรียในแต่ละจุดอาจแตกต่างกันตามความลึกของผิวหน้าตัดของปุ๋ยหมัก (สมศักดิ์ วงษ์, 2528) และสภาวะแวดล้อมขณะบ่มเชื้อ (Gray และ Williams, 1971) เมื่อสิ้นสุดการหมักสามารถตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียได้ทั้งหมด $(1.04 \pm 0.12) \times 10^8$ ถึง $(23.83 \pm 1.09) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งตรงตามเกณฑ์การประเมินจุลินทรีย์ในปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์

5.2.1.2 ปริมาณราทั้งหมด

สำหรับปริมาณราทั้งหมดจากการทดลองทำปุ๋ยหมักทั้ง 3 ครั้ง ซึ่งเป็นการศึกษาในสภาวะที่ทนอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณราทั้งหมดไปในทิศทางเดียวกันโดยรามีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับแบคทีเรียและแอกติโนมัยซีต ในวันเริ่มต้นหมักจะมีปริมาณราทั้งหมดสูงที่สุดโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 10^6 ถึง 10^8 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในวันเริ่มต้นการหมักความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างเป็นกรดจึงพบราเป็นปริมาณมาก (สุภัณฑิต นิมรัตน์, 2537) เมื่อหมักเป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะสูง 50 ถึง 70 องศาเซลเซียสปริมาณราจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักที่สูงถึง 70 องศาเซลเซียส ทำให้ร่าก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ (ธงชัย มาลา, 2550) และเมื่อสิ้นสุดการหมักมีปริมาณราทั้งหมดอยู่ระหว่าง 10^5 ถึง 10^6 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งปริมาณราทั้งหมดสูงกว่าเกณฑ์การประเมินจุลินทรีย์ในปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์แล้ว ความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักในวันสิ้นสุดการหมักมีสภาพค่อนข้างเป็นด่างดังนั้นจึงพบรามีปริมาณน้อยกว่าตอนเริ่มต้นหมัก ในการศึกษาของ Thambirajah และ Kuthubutheen (1989) และ Thambirajah และคณะ (1995) มีปริมาณราทั้งหมดสูงในวันเริ่มต้นหมักอยู่ระหว่าง 10^6 ถึง 10^7 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง แต่สำหรับการศึกษาของ Goyal และคณะ (2005) มีปริมาณราทั้งหมดสูงในวันเริ่มต้นหมักอยู่ระหว่าง 10^6 ถึง 10^7 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียสไม่สามารถตรวจพบราเลย (Thambirajah และคณะ, 1995) แต่ในการศึกษาของ Thambirajah และ Kuthubutheen (1989) ยังคงตรวจพบราแต่มีปริมาณลดลงและพบในช่วงระยะเวลาสั้น การศึกษาของ Goyal และคณะ (2005) เมื่ออุณหภูมิสูง 50 องศาเซลเซียส รามีปริมาณเพิ่มขึ้น และเมื่อสิ้นสุดการหมักมี

ปริมาณราทั้งหมด 10^4 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Thambirajah และคณะ, 1995) และในการศึกษาของ Thambirajah และ Kuthubutheen (1989) มีปริมาณราทั้งหมด 10^5 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สำหรับการศึกษาของ Goyal และคณะ (2005) มีปริมาณราทั้งหมดสูงชันกว่าตอนเริ่มต้นหมักเป็น 10^7 ถึง 10^8 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง จากรายงานการศึกษาที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าปริมาณราทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักแตกต่างกันตามชนิดของวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก

5.2.1.3 ปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมด

จากการศึกษาปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดจากการทดลองทำปุ๋ยหมักทั้ง 3 ครั้ง ซึ่งเป็นการศึกษาในสภาวะที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดไปในทิศทางเดียวกัน ในวันเริ่มต้นหมักจะมีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดต่ำที่สุด เนื่องจากในวันเริ่มต้นการหมักความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักมีสภาพค่อนข้างเป็นกรดจึงพบแอกติโนมัยซีดเป็นปริมาณค่อนข้างน้อยเนื่องจากแอกติโนมัยซีดไม่ทนต่อสภาพเป็นกรด รวมทั้งในวันเริ่มต้นมีอุณหภูมิ 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะชอบอุณหภูมิปานกลาง เมื่อหมักเป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะสูง 50 ถึง 70 องศาเซลเซียส ปริมาณแอกติโนมัยซีดจะเพิ่มมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่แบคทีเรียและรา มีปริมาณลดลงเชื้อแอกติโนมัยซีดสามารถเจริญได้ดีในช่วงสภาวะชอบอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) (ธงชัย มาลา, 2550; Goyal และคณะ, 2005) โดยมีปริมาณแอกติโนมัยซีดเพิ่มขึ้นเป็น 10^8 ถึง 10^9 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อสิ้นสุดการหมักความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักมีสภาพเป็นด่าง พบว่าปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดยังคงมีปริมาณมากถึง 10^8 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งตรงตามเกณฑ์การประเมินจุลินทรีย์ในปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์แล้ว ซึ่งมีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดในช่วงสภาวะอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) และเมื่อหมักเสร็จสมบูรณ์สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ Thambirajah และคณะ (1995) ที่ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพของปุ๋ยหมักจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันร่วมกับแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนต่างๆ ได้แก่ มูลแพะ มูลโค และมูลไก่ พบว่าปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดลดลงในระยะที่อุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักสูงที่สุด ซึ่งเป็นวันที่ 3 และ 7 ของการหมักมีอุณหภูมิ 57 ถึง 74 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมด 10^3 ถึง 10^7 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณแอกติโนมัยซีดจะเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิ 46 ถึง 52 องศาเซลเซียส และปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดจะคงที่จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก เมื่อหมักปุ๋ยเสร็จสมบูรณ์แล้ว มีปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมด 10^7 โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม้วัสดุหลักที่ใช้ในการทำปุ๋ยหมักเป็นทะเลสาบปาล์มเช่นเดียวกัน ปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดก็แตกต่างกัน ทั้งนี้

ขึ้นอยู่กับการใส่และไม่ใส่แหล่งจุลินทรีย์ แหล่งไนโตรเจนต่างๆ อัตราส่วนของส่วนผสมในการทำปุ๋ยหมัก ขนาดของวัสดุหมัก อากาศ ความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น

5.2.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส

5.2.2.1 แบคทีเรีย

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 สามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 16 สายพันธุ์ ได้แก่ *Stenotrophomonas* sp.1 *Staphylococcus sciuri* *Arthrobacter keyseri* *Bacillus pumilus* *Stenotrophomonas maltophilia* *Pseudomonas aeruginosa* *Acinetobacter calcoaceticus* *Pseudomonas putida* *Chryseobacterium* sp. *Aeromonas punctata* *Stenotrophomonas* sp.2 *Pseudomonas* sp. *Rheinheimera* sp. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *Enterobacter pyrinus* และ *Acinetobacter* sp. จากแบคทีเรียข้างต้น พบว่าแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Stenotrophomonas maltophilia* *Acinetobacter calcoaceticus* *Pseudomonas putida* *Chryseobacterium* sp. จะพบเฉพาะช่วงเริ่มต้นหมักเท่านั้น อาจเนื่องจาก *Stenotrophomonas maltophilia* และ *Acinetobacter calcoaceticus* ไม่สามารถทนอุณหภูมิสูงถึง 70 องศาเซลเซียสได้ (รัชชัย มาลา, 2550) นอกจากนี้ Subba Rao (1982) ได้รายงานว่าคุณสมบัติ 50 ถึง 60 องศาเซลเซียสสามารถทำลายเชื้อโรคได้ สำหรับ *P. putida* และ *Chryseobacterium* sp. เป็นแบคทีเรียชอบอุณหภูมิปานกลางซึ่งโดยทั่วไปแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลางจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส (Alexander, 1977) จึงไม่สามารถอยู่รอดและเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงได้ พบว่าแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Stenotrophomonas* sp.1 *A. punctata* *Stenotrophomonas* sp.2 *X. oryzae* pv. *oryzae* *E. pyrinus* *Acinetobacter* sp. และ *Rheinheimera* sp. พบเฉพาะช่วงสภาวะอุณหภูมิสูง (7 ถึง 14 วัน) เท่านั้น เมื่ออุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักอยู่ในสภาวะอุณหภูมิปานกลาง คุณภูมินี้ อาจไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต และแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์นี้ไม่สามารถแก่งแย่งกับ *Pseudomonas* sp. และ *B. pumilus* ในการทำหน้าที่ย่อยไขมันได้จึงไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียเหล่านี้ โดยแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์นี้เป็นแบคทีเรียชอบอุณหภูมิปานกลาง ซึ่งยังสามารถมีชีวิตรอดและเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูง (Droffner และคณะ, 1995) รวมทั้งแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่พบในวันเริ่มต้นหมักและพบอีกครั้งในวันสิ้นสุดการหมัก และพบว่าแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. sciuri* และ *A. keyseri* พบเฉพาะวันที่ 21 28 และวันสิ้นสุดการหมักเท่านั้นสำหรับบางชุดการทดลอง เนื่องจากแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์นี้เป็นแบคทีเรียชอบอุณหภูมิปานกลางซึ่งไม่สามารถ

เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงแต่ยังมีชีวิตรอด และเมื่ออุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักลดลงแบคทีเรียพวกนี้จึงกลับมาเจริญเติบโตอีกครั้ง

จากแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 16 สายพันธุ์ มีเพียง 2 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas* sp. และ *B. pumilus* ซึ่งเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยโดยจะพบได้ในทุกชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการหมักปุ๋ย 35 วัน และพบในปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัสดุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ซึ่งแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. และ *B. pumilus* เป็นแบคทีเรียชอบอุณหภูมิปานกลางที่สามารถรอดชีวิตจากสภาวะอุณหภูมิสูงและเจริญเติบโตได้ตลอดระยะเวลาการหมัก (Droffner และคณะ, 1995) สำหรับ *B. pumilus* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ถึง 45 องศาเซลเซียส (Hassen และคณะ, 2001) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ได้จึงทนต่อสภาวะที่อุณหภูมิสูง (Alexander, 1977) เนื่องจาก *Pseudomonas* sp. และ *B. pumilus* เป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้อินทรีย์คาร์บอนในรูปอย่างง่ายได้และเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการแก่งแย่งได้ดี (competitive saprophytic ability) (Gray and Williams, 1971) จึงเป็นแบคทีเรียที่เด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยสอดคล้องกับ Nakasaki และคณะ, 1985; Strom, 1985 a,b; Falcon และคณะ; 1987 อ้างถึงใน Tuomela และคณะ (2000) ที่รายงานว่า *Pseudomonas Klebsiella* และ *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วไปซึ่งแยกได้จากปุ๋ยหมักในสิ่งแวดล้อม

โดย *Pseudomonas* sp. และ *B. pumilus* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kouker and Jaeger (1987) ที่รายงานว่าแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ไลเปสโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA ที่ผสมด้วยโรดามีน บี โดยใช้ไขมันมะกอกเป็นสารตั้งต้น (substrate) ได้แก่ *P. aeruginosa* *Staphylococcus aureus* *Serratia marcescens* and *Bacillus subtilis* นอกจากนี้ Gray and Williams (1971) ได้รายงานว่า สำหรับพืชชนิดอื่นที่ไม่ใช่พืชน้ำมันซึ่งนิยมนำมาทำปุ๋ยหมักมีไขมันจากพืชอยู่ในรูปคิวทิน (*cutin*) *B. subtilis* และ *Mortierella marburgensis* สามารถสร้างเอนไซม์ย่อย *cutin* ได้ รวมทั้ง Gestel และคณะ (2003) ได้รายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่พบเป็นปริมาณมากสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดีเซลที่ปนเปื้อนในดินโดยการทำปุ๋ยหมัก ซึ่งใช้ดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดีเซลร่วมกับวัสดุอินทรีย์ ได้แก่ เศษผัก เศษผลไม้ ของเหลือทิ้งจากสนามหญ้า พบว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ที่ใส่ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด เมื่อศึกษาจุลินทรีย์ที่พบเป็นปริมาณมากในปุ๋ยหมักชุดนี้ในระยะแรกของการหมักจนถึงระยะอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) พบแบคทีเรียรูปท่อนพวก *Bacillus* sp. ระยะคงที่และกระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์ (cooling and maturation phase) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Gordona* sp. *Micrococcus* sp. และ *Actinomadura* sp.

แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Acinetobacter* sp. *Pseudomonas* sp. และ *Ochrobactrum* :โดยแบคทีเรียที่กล่าวมาแล้วข้างต้นเป็น *B.s pumilus* *A. calcoaceticus* และ *P.aeruginosa*

จากการทดลองนี้พบว่า *B. pumilus* เป็นแบคทีเรียที่เด่นที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน Gray and Williams (1971) รายงานว่า *B. subtilis* *Pseudomonas* sp. และ *Flavobacterium* sp. แบคทีเรียที่เด่นที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของอินทรีย์วัตถุในดิน นอกจากนี้ยังพบว่า *B. pumilus* เป็นแบคทีเรียที่เด่นที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส Gray and Williams (1971) รายงานว่า *Pseudomonas* sp. *Achromobacter* sp. *Bacillus* sp. และ *Clostridium* sp. แบคทีเรียที่เด่นที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของอินทรีย์วัตถุในดิน

5.2.2.2 รา

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 สามารถแยกราได้ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Geotrichum* sp. *Rhizopus* sp. *Cunninghamella* sp. *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 *Aspergillus* sp.2 และ *Aspergillus* sp.3 ซึ่งมีเพียง 3 สายพันธุ์ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 ที่เด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยโดยจะพบได้ในทุกชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการหมักปุ๋ย 35 วัน และพบในปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 จากราที่พบทั้งหมด 7 สายพันธุ์ พบว่ามีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลสยกเว้น *Aspergillus* sp.3 ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันได้ เมื่อพิจารณาวันที่ตรวจพบราในทุกชุดการทดลองพบว่า *Geotrichum* sp. เป็นราที่จะพบเฉพาะช่วงเริ่มต้นหมักหรือ 7 วันของการหมักเท่านั้น เนื่องจาก *Geotrichum* sp. เป็นราที่ชอบอุณหภูมิปานกลางและเด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ย (อานันท์ ต้นโช, 2549; Tuomela และคณะ, 2000) เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ถึง 27 องศาเซลเซียส (เมื่อแยกจากพืช) และอุณหภูมิ 30 ถึง 31 องศาเซลเซียส (Samson และคณะ, 2004) แม้จะตรวจพบราชนิดนี้ในวันที่ 7 ของการหมักสำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 ซึ่งมีอุณหภูมิ 55 ถึง 70 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณลดลง หลังจากวันที่ 14 จนกระทั่งสิ้นสุดการหมักในกองปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียสไม่สามารถตรวจพบราชนิดนี้ แสดงให้เห็นว่าราชนิดนี้สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ในระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น เช่นเดียวกับ ธงชัย มาลา (2550) ที่รายงานไว้ในระยะแรกซึ่งอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นมักจะตรวจพบราพวก *Geotrichum candidum* และ *Aspergillus fumigatus* เมื่อนำปุ๋ยที่หมักเสร็จสมบูรณ์เป็นไปแหล่งจุลินทรีย์สำหรับชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน

ร่วมกับวัฏดุบิที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 จะพบรา *Geotrichum* sp. เฉพาะในวันเริ่มต้นหมักและในชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGC2 และ CJ2 เท่านั้นแสดงให้เห็นว่า *Geotrichum* sp. มีอยู่แล้วในทะเลาะลายปาล์ม ในมูลไก่ หรือในแหล่งจุลินทรีย์ซึ่งอาจมีปริมาณน้อยจนไม่สามารถตรวจสอบได้ในปุ๋ยหมักจากเศษทะเลาะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัฏดุบิที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 Gestel และคณะ (2003) ได้รายงานว่พบ *Geotrichum* sp. เฉพาะในวันสิ้นสุดการหมักจากปุ๋ยหมักที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ที่ไสดินปนเป็อนน้ำมันดีเซล (55 ถึง 85 วันของการหมัก) แต่อย่างไรก็ตาม *Geotrichum* sp. ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับการผลิตปุ๋ยหมักจากทะเลาะลายปาล์มน้ำมันเนื่องจากไม่สามารถดำเนินกิจกรรมการย่อยสลายไขมันได้ตลอดระยะเวลาการหมัก เช่นเดียวกับ *Rhizopus* sp. *Cunninghamella* sp. และ *Aspergillus* sp.3 ที่ไม่เหมาะจะนำมาใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับการผลิตปุ๋ยหมักจากทะเลาะลายปาล์มน้ำมันเนื่องจากการศึกษาในปุ๋ยหมักจากเศษทะเลาะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัฏดุบิที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 อาจตรวจพบ *Rhizopus* sp. และ *Cunninghamella* sp. ในบางวันของการหมักปุ๋ยและในบางชุดการทดลองจะไม่พบราทั้งสองชนิดนี้ สำหรับ *Aspergillus* sp.3 จะพบเฉพาะวันสิ้นสุดการหมักเท่านั้น เมื่อนำจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นแหล่งจุลินทรีย์ในการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลาะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัฏดุบิที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 พบ *Rhizopus* sp. ในวันที่ 7 ของการหมักเฉพาะชุดการทดลองปุ๋ยหมัก CGR2 เท่านั้นพบ *Cunninghamella* sp. ในบางชุดการทดลองวันที่ 7 และ 21 ของการหมักเท่านั้นและพบ *Aspergillus* sp.3 ในวันเริ่มต้นการหมัก 0 7 21 28 35 วันของการหมักและในบางชุดการทดลองประกอบกับ *Aspergillus* sp.3 ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันได้ จากผลนี้แสดงให้เห็นว่า *Rhizopus* sp. และ *Cunninghamella* sp. และ *Aspergillus* sp.3 ไม่มีความสม่าเสมอในกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ในปุ๋ยหมักจากทะเลาะลายปาล์มน้ำมัน เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะเลาะลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัฏดุบิที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 พบ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 ในช่วงสภาวะอุณหภูมิสูง (7 ถึง 14 วันของการหมักซึ่งมีอุณหภูมิ 45 ถึง 70 องศาเซลเซียส) จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ผลของชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่เด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยสอดคล้องกับ ธงชัย มาลา (2550) ที่รายงานว่ปัจจัยต่างๆ ของสภาพแวดล้อมจะเป็นตัวควบคุมและคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญและดำเนินกิจกรรมในกองปุ๋ยหมัก เมื่ออุณหภูมิสูงถึงระดับ 45 ถึง 55 องศาเซลเซียสมักตรวจพบพวก *Cladosporium* sp. *Aspergillus* sp. และ *Mucor* sp. เมื่ออุณหภูมิสูงกว่านี้อาจจะพบพวก *Penicillium duponti* อย่างไรก็ตาม ชนิดของเชื้อราดังกล่าวนี้จะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและวัสดุที่ใช้ *Aspergillus* sp. เป็นราที่พบเด่นในกองปุ๋ยหมักหลังจากผ่านช่วงอุณหภูมิสูง (Nusbaumer และคณะ, 1996 อ้างถึงใน Tuomela และคณะ, 2000) สอดคล้องกับ Gestel และคณะ (2003) ที่ได้รายงานว่พบ *Mucor* sp. เ่นในปุ๋ยหมักที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ที่ไส

ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลในช่วงระยะคงที่และการหมักเสร็จสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังพบ *Gliocladium* sp. *Scopulariopsis* sp. และ *Trichoderma* sp. โดยพบ *Trichoderma* sp. เฉพาะชุดการทดลองที่ใส่ขี้เถ้าเท่านั้น พืชยากร และเสียงแจ่ว (2540) อ้างถึงใน ธงชัย มาลา (2550) รายงานเชื้อราที่พบได้เสมอๆ ในกองปุ๋ยหมักซึ่งเป็นราที่ชอบอุณหภูมิปานกลางได้แก่ *Alternaria tenius* *Aspergillus amstellodami* *Cephalosporium* sp. *Cladosporium herbarum* *Coprinus cinereus* *Geotrichum candidum* *Paecilomyces* sp. *Ployporus versicolor* *Scopulariopsis brevicantis* และ *Trichoderma viridae* ราที่ชอบอุณหภูมิสูงได้แก่ *Aspergillus fumigatus* *Chaetomium thermophilum* *Humicola insolens* *Humicola lanuginose* *Mucor pusillus* *Penicillium duponti* *Sporotrichum thermophile* *Talaromyces thermophilis* และ *Thermoascus aurantiacus* จากผลการทดลองและงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่า *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 เป็นราที่ชอบอุณหภูมิสูงดังนั้นจึงไม่พบราทั้ง 3 ชนิดนี้ในช่วงเริ่มต้นหมัก แต่จะพบในช่วงที่กองปุ๋ยหมักอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง การที่สามารถตรวจพบว่า *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 เด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยนั้นแสดงว่ารา 3 ชนิดนี้มีความสามารถในการแก่งแย่งได้ดีกว่าชนิดอื่นๆ รวมทั้ง *Mucor* sp. เป็นราที่ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโต (sugar fungi) จึงพบโคโคไลนของ *Mucor* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ก่อนจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Gray and Williams, 1971) และเมื่อทำการต่อเชื้อในการทำปุ๋ยหมักจากเศษทะเลสาบปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 จะพบราทั้ง 3 ชนิดนี้ในทุกชุดการทดลองส่วนใหญ่ตั้งแต่เริ่มต้นการ และเจริญเติบโตได้ดีจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าราที่เหมาะสมสำหรับการทำปุ๋ยหมักจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันควรเป็นราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส ได้แก่ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 นอกจากนี้ Gray and Williams (1971) รายงานว่า *Trichoderma* sp. *Chaetomium* sp. และ *Coprinus* sp. เป็นราที่เด่นที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของอินทรีย์วัตถุในดิน Tuomela และคณะ (2000) รายงานว่าพบ *Coprinus* sp. *Panaeolus* sp. *Corticium coronilla* และ *Mycena* sp. เป็นราที่เด่นที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในปุ๋ยหมักช่วงระยะคงที่และการหมักเสร็จสมบูรณ์

5.2.2.3 แยกดีโนมัยซีต

เมื่อพิจารณาชุดการทดลองปุ๋ยหมักจากเศษทะเลสาบปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 สามารถแยกแยกดีโนมัยซีตได้ทั้งหมด 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Streptomyces* sp. และ *Streptomyces thermocoprophilus* โดยทั้ง 2 สายพันธุ์เป็น

แอกติโนมัยซีดที่เด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยโดยจะพบได้ในทุกชุดการทดลองเกือบตลอดระยะเวลาการหมักปุ๋ย 35 วัน และพบในปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 และพบว่ามีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส เมื่อพิจารณาปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 พบว่า *Streptomyces* sp. สามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ในขณะที่ *Streptomyces thermocoprophilus* จะพบได้ตั้งแต่ช่วงที่มีอุณหภูมิสูง 7 วันของการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก จากผลนี้แสดงให้เห็นว่า *Streptomyces thermocoprophilus* เจริญได้ดีในที่มีอุณหภูมิสูง เมื่อศึกษาปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 พบว่า *Streptomyces* sp. ยังคงเจริญเติบโตได้ดีตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักสำหรับ *Streptomyces thermocoprophilus* พบได้ตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก ในบางชุดการทดลองไม่สามารถตรวจพบได้ในบางวันที่เก็บตัวอย่างแต่ในช่วงสิ้นสุดการหมักยังสามารถตรวจพบ *Streptomyces thermocoprophilus* ได้ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าจากปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 ที่ตรวจพบในวันสิ้นสุดการหมัก *Streptomyces thermocoprophilus* ยังสามารถเจริญเติบโตอยู่ได้จนกระทั่งวันเริ่มต้นการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 และยังคงดำเนินกิจกรรมการหมักปุ๋ยได้ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักอย่างไรก็ตาม *Streptomyces* sp. สามารถปรับตัวให้เหมาะสมกับการดำเนินกิจกรรมในกองปุ๋ยหมักได้ดีกว่า *Streptomyces thermocoprophilus* เมื่อพิจารณาอาหารเลี้ยงเชื้อ milk agar สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 พบว่า *Streptomyces* sp. ตรวจพบได้ในวันที่ 14 ของการหมัก เนื่องจากการตรวจสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนสำหรับแอกติโนมัยซีดกระทำพร้อมกับการตรวจสอบแบคทีเรีย ดังนั้นแอกติโนมัยซีดซึ่งเจริญเติบโตช้ากว่าแบคทีเรียและมักจะปรากฏโคโลนีหลังจากที่แบคทีเรียเจริญแล้ว (Alexander, 1977; สมศักดิ์ วังโน, 2528) และในวันที่ 7 ถึง 14 ของการหมักซึ่งอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักสูงเป็นสาเหตุให้แบคทีเรียลดปริมาณลง ส่งผลให้สภาวะเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนของแอกติโนมัยซีด *Streptomyces* sp. เมื่อพิจารณาอาหารเลี้ยงเชื้อ milk agar สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 พบ *Streptomyces* sp. ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักแสดงให้เห็นว่าแอกติโนมัยซีด *Streptomyces* sp. มีความสามารถในการแก่งแย่งได้ดีกว่าแบคทีเรียและ *Streptomyces thermocoprophilus* เนื่องจากจะพบ *Streptomyces thermocoprophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ milk agar สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ

ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ในวันที่ 7 14 และวันสิ้นสุดการหมักเท่านั้นแสดงให้เห็นว่า *Streptomyces thermocoprophilus* จะดำเนินกิจกรรมการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อ milk agar ได้ดีในสภาวะอุณหภูมิสูงหลังจากนั้น *Streptomyces thermocoprophilus* อาจชะลอการเจริญเติบโตอยู่ในรูป conidia เนื่องจากสภาวะในกองปุ๋ยหมัก เช่น ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง สารอาหารอาจจะไม่เหมาะสม (Alexander, 1977; สมศักดิ์ วังไฉน, 2528) โดยทั่วไปแอกติโนมัยซีตมักจะเลือกแหล่งอาหารที่ใช้ได้ง่ายมาใช้ในการเจริญก่อน โดยแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดได้แก่ กลูโคส มอลโตส เดกซ์ทริน แป้ง กลีเซอรอล กรดอินทรีย์ และโปรตีน รองลงมาได้แก่ ซูโครส และน้ำตาลประเภทอื่นๆ (Cohn, 1943 อ้างถึงใน ทิศนา นิธิสกุลกาญจน์, 2550) โดยทั่วไปแอกติโนมัยซีตมักใช้โปรตีนเป็นแหล่งคาร์บอนมากกว่าคาร์โบไฮเดรต และใช้โปรตีนเป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนก่อน (Waksman และ Lomaniz, 1925 อ้างถึงใน ทิศนา นิธิสกุลกาญจน์, 2550) ดังนั้นโปรตีนอาจถูกใช้หมดโดย *Streptomyces* sp. และแบคทีเรีย และเนื่องจากปุ๋ยหมักในช่วงสิ้นสุดการหมักจะเป็นสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายยากเช่น ไคติน และ เซลลูโลส ดังนั้นแอกติโนมัยซีต *Streptomyces thermocoprophilus* ที่มีความสามารถในการแก่งแย่งต่ำกว่า *Streptomyces* sp. และแบคทีเรีย จึงต้องปรับตัวให้สามารถใช้สารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนที่ย่อยสลายยากได้ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) เมื่อพิจารณาในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rhodamine NA สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 โดยการตรวจสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันสำหรับแอกติโนมัยซีตกระทำพร้อมกับการตรวจสอบแบคทีเรีย และใช้ระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน จึงไม่สามารถตรวจพบแอกติโนมัยซีตซึ่งเจริญเติบโตช้ากว่าแบคทีเรีย โดยแอกติโนมัยซีตอาจอยู่ในรูป conidia ซึ่งมีความทนทานต่อสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ดี เจริญเป็นโคโลนียาก (Alexander, 1977; สมศักดิ์ วังไฉน, 2528) จากผลการทดลองที่สามารถตรวจพบแอกติโนมัยซีตได้ในปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 โดยในขั้นตอนการแยกแอกติโนมัยซีตจากอาหารเลี้ยงเชื้อ Rhodamine NA โดยวิธี dilution plate method พบว่าแอกติโนมัยซีตที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันสามารถเรืองแสงสีส้มภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน แต่เมื่อแยกโคโลนีเดี่ยวแล้วนำไปบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ Rhodamine NA ใหม่ต้องใช้เวลาถึง 14 วัน จึงสังเกตเห็นการเรืองแสงจากผลนี้แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการบ่มแอกติโนมัยซีตมีผลต่อการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน และเมื่อพิจารณาปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 2 ซึ่งก่อนการหมักครั้งนี้แหล่งจุลินทรีย์ที่ได้จากปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมันร่วมกับวัตถุดิบที่เป็นแหล่งไนโตรเจนต่างๆ ครั้งที่ 1 ถูกเก็บไว้เป็นระยะเวลาานาน การถ่ายเทอากาศเกิดขึ้นน้อย ความชื้นลดลง ส่งผลให้แบคทีเรียลดปริมาณและอ่อนแอลง แอกติโนมัยซีตซึ่งมีความทนทานต่อสภาวะแห้งแล้งจึงมีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ยโดย

สร้างเอนไซม์ย่อยไขมันได้ดีขึ้น โดย *Streptomyces* sp. มีความสามารถในการแก่งแย่งได้ดีกว่า *Streptomyces thermocrophilus* ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น ผลของจุลินทรีย์ที่เด่นในกิจกรรมการหมักปุ๋ยสอดคล้องกับ Gestel และคณะ (2003) ที่ได้รายงานว่าพบ *Streptomyces* sp. เติบโตในปุ๋ยหมักที่ได้จากวัสดุอินทรีย์ที่ใส่ดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซล และ Gray and Williams (1971) ได้รายงานว่าสามารถแยก *Streptomyces* sp. ได้จากดินที่มีโปรตีนคีราติน (keratin) อุดมสมบูรณ์ซึ่งสามารถย่อยโปรตีนคีราตินในขณะแฉะได้ รวมทั้งพบว่า *Streptomyces* sp. สามารถย่อยคีวตินจากพืชในป่าสน นอกจากนี้ยังพบว่า *Streptomyces* sp. สามารถย่อยสลายเซลลูโลสในดินได้ Tuomela และคณะ (2000) รายงานว่าแอกติโนมัยซีตที่ชอบอุณหภูมิสูงซึ่งแยกได้จากกองปุ๋ยหมักประกอบด้วย *Nocardia* sp., *Streptomyces* sp. *Thermoactinomyces* sp. และ *Micromonospora* sp. โดยแอกติโนมัยซีตสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้และทนทานที่สภาวะอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างสูงได้ดีกว่ารา ถึงแม้ว่าแอกติโนมัยซีตสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีกว่าราและแบคทีเรีย แต่แอกติโนมัยซีตมีความสามารถในการแก่งแย่งต่ำที่สุด (Alexander, 1977)

จุลินทรีย์ (แบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีต) ที่คัดแยกได้มีบทบาทในการย่อยไขมันได้ดีกว่าย่อยเซลลูโลส ทั้งที่องค์ประกอบของทะเลาะปาล์มที่เป็นของแข็ง 30 เปอร์เซ็นต์ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ได้แก่ ไฮโดรเซลลูโลส ลิกนิน ซีไธ้า โปรตีน และไขมัน เป็น 65.5 21.2 3.5 5.6 และ 4.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Thambirajah, 1995) เนื่องจากสภาวะที่ใช้ในการบ่มเชื้อเป็นสภาวะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) ซึ่งอาจส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน โดยในการทำปุ๋ยหมักจากทะเลาะปาล์มน้ำมันแบคทีเรียมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน ดังนั้นหากต้องการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสในปุ๋ยหมักจากทะเลาะปาล์มน้ำมันต้องบ่มเชื้อที่สภาวะชอบอุณหภูมิสูง (The thermophilic phase) ดังที่มีรายงานโดย Mayende และคณะ (2006) ที่คัดแยกจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic microorganisms) ที่มีความสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจากปุ๋ยหมักจากพืชตระกูลถั่ว โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสของจุลินทรีย์โดยเปรียบเทียบที่สภาวะชอบอุณหภูมิปานกลาง (The mesophilic phase) พบว่าสามารถคัดแยกรวมที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสได้มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นชี้ให้เห็นว่ารามีบทบาทในกิจกรรมการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสที่อุณหภูมิปานกลางได้ดีกว่าแอกติโนมัยซีต

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

6.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าอุณหภูมิในทุกกองปุ๋ยหมักจะเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 3 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 70 ถึง 74 องศาเซลเซียส และเมื่อสิ้นสุดการหมักอุณหภูมิในทุกกองปุ๋ยหมักลดลงเป็น 28 ถึง 41 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองในวันเริ่มต้นหมักเป็น 5.4 ถึง 7.2 และเมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่าความเป็นกรด-ด่างของทุกชุดการทดลองปุ๋ยหมักอยู่ในช่วง 6.7 ถึง 8.5

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 โดยการเก็บตัวอย่างปุ๋ยหมักทุกสัปดาห์ พบว่าความชื้นของทุกชุดการทดลองตลอดระยะเวลาการหมักอยู่ในช่วง 46 ถึง 68 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในช่วงที่กิจกรรมของจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ดี

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์คาร์บอน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และอัตราส่วนอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปาล์ม น้ำมันในชุดการทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 โดยการเก็บตัวอย่างวันเริ่มต้นและวันสิ้นสุดการหมัก พบว่าการใส่แหล่งจุลินทรีย์และการใส่แหล่งไนโตรเจนรำข้าวและมูล

ไก่อมีผลในการส่งเสริมกิจกรรมการย่อยสลายอินทรีย์คาร์บอนโดยจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักจากเศษ ทะลายปาล์มน้ำมัน นอกจากนี้ปุ๋ยหมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันทั้งที่ไม่ใส่และใส่ แหล่งจุลินทรีย์จากแหล่งที่ต่างกัน และการไม่ใส่และใส่แหล่งไนโตรเจนมูลไก่และรำข้าว ส่งผลให้ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการหมักสูงขึ้น ดังนั้นการใส่แหล่งจุลินทรีย์และการใส่แหล่ง ไนโตรเจนรำข้าวและมูลไก่สามารถส่งเสริมกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในปุ๋ย หมักจากเศษทะลายปาล์มน้ำมัน โดยส่งผลให้อัตราส่วนปริมาณอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจน ลดลง ซึ่งปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์แล้วส่งผลให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นของปุ๋ย หมักที่ถูกทดลองต่ำที่สุด คือ ปุ๋ยหมักที่ใส่แหล่งจุลินทรีย์เศษใบมังคุดทับถม (14:1) และปุ๋ยหมักที่ใส่ แหล่งจุลินทรีย์ปุ๋ยหมักของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (18:1) สำหรับ ปุ๋ยหมักที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจน ใส่มูลไก่ และใส่รำข้าวมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นของ ทุกกองปุ๋ยหมักถูกทดลองเป็น 24:1 ถึง 26:1 19:1 ถึง 26:1 และ 20:1 ถึง 23:1 ตามลำดับ

6.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ปริมาณราทั้งหมด และปริมาณแอกติโนมัยซีด ทั้งหมดในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันที่ไม่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน จากนั้นศึกษาจุลินทรีย์ดังกล่าวในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการ ทดลองที่ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการหมักทุกชุดการ ทดลองปุ๋ยหมักมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเป็น $(1.04 \pm 0.12) \times 10^8$ ถึง $(23.83 \pm 1.09) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง มีปริมาณราทั้งหมดเป็น $(0.21 \pm 0.01) \times 10^6$ ถึง $(2.57 \pm 0.09) \times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณแอกติโนมัยซีดทั้งหมดเป็น $(1.31 \pm 0.02) \times 10^8$ ถึง $(6.76 \pm 0.29) \times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้งโดยปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในวันสิ้นสุดการหมักลดลง จากวันเริ่มต้นหมัก มีปริมาณราทั้งหมดในวันสิ้นสุดการหมักลดลงจากวันเริ่มต้นหมัก และปริมาณ แอกติโนมัยซีดทั้งหมดในวันสิ้นสุดการหมักเพิ่มขึ้นจากวันเริ่มต้นหมัก

การศึกษาจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองที่ ใส่และไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยสร้างวงใสล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Milk Agar จำนวน ทั้งสิ้น 108 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 10 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาว แตกต่างกัน จากการคัดแยกแบคทีเรียความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันโดยเรืองแสงสี ส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ใส่ โรดามีน บี ภายใต้รังสีอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 350

นาโนเมตรจำนวนทั้งสิ้น 135 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 13 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกันและแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสโดยสร้างวงใสสีเหลืองล้อมรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC หลังจากกรดด้วยคองโกเรด จำนวนทั้งสิ้น 55 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 2 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน เมื่อนำแบคทีเรียทั้งหมดที่คัดแยกได้ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการศึกษาทางอนุพันธุศาสตร์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบสของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เพื่อระบุสายพันธุ์พบว่าแบคทีเรียทั้งหมด 16 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chryseobacterium* sp. *Stenotrophomonas maltophilia* *Stenotrophomonas* sp.1 *Staphylococcus sciuri* *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* *Arthrobacter keyseri* *Bacillus pumilus* *Pseudomonas aeruginosa* *Stenotrophomonas* sp.2 *Rheinheimera* sp *Acinetobacter calcoaceticus* *Pseudomonas putida* *Aeromonas punctata* *Pseudomonas* sp. *Enterobacter pyrinus* และ *Acinetobacter* sp. ซึ่งแบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับเป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปลาดีมีน้ำมัน มีเพียง 2 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas* sp. และ *Bacillus pumilus* โดย *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน สำหรับ *Bacillus pumilus* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส

การศึกษจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปลาดีมีน้ำมันในชุดการทดลองที่ใสและไม่ใสแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่า สามารถคัดเลือกราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Streptomycin Rose Bengal Agar จากปุ๋ยหมักทะเลลายปลาดีมีน้ำมันในทุกชุดการทดลองที่ใสและไม่ใสแหล่งไนโตรเจนได้ราทั้งสิ้น 230 ไอโซเลต โดยสามารถจำแนกได้เป็น 7 ไอโซเลตตามที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและลักษณะลักษณะสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์แตกต่างกัน เมื่อศึกษาด้วยเทคนิค slide culture เพื่อระบุสายพันธุ์พบว่ามียีสต์ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Geotrichum* sp. *Rhizopus* sp. *Cunninghamella* sp. *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 *Aspergillus* sp.2 และ *Aspergillus* sp.3 ซึ่งราที่เหมาะสมสำหรับเป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับปุ๋ยหมักจากเศษทะเลลายปลาดีมีน้ำมัน มี 3 สายพันธุ์ คือ *Mucor* sp. *Aspergillus* sp.1 และ *Aspergillus* sp.2 โดยทั้ง 3 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส

การศึกษจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษทะเลลายปลาดีมีน้ำมันในชุดการทดลองที่ใสและไม่ใสแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าการคัดแยกแอกติโนมัยซีดที่มีความสามารถ

ในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนจำนวนทั้งสิ้น 60 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 2 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน จากการคัดแยกดีเอ็นเอที่มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมันจำนวนทั้งสิ้น 34 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 2 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน และแยกดีเอ็นเอที่มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ย่อยเซลลูโลสจำนวนทั้งสิ้น 192 ไอโซเลต โดยแบ่งเป็น 2 ไอโซเลตที่มีลักษณะรูปร่างโคโลนี สีและความเป็นมันวาวแตกต่างกัน เมื่อนำแยกดีเอ็นเอทั้งหมดที่คัดแยกได้ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการศึกษาทางอนุพันธุศาสตร์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบสของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA เพื่อระบุสายพันธุ์พบว่าดีเอ็นเอทั้งหมด 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Streptomyces* sp. และ *Streptomyces thermocoprophilus* ซึ่งแยกดีเอ็นเอทั้งหมด 2 สายพันธุ์นี้เหมาะสมสำหรับเป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับนุ้ยหมักจากเศษทะเลลายปาล์มน้ำมัน ซึ่งมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และ เซลลูโลส



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะในการวิจัย

1. จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลส จึงควรศึกษาการทำงานของเอนไซม์เพื่อประยุกต์ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม
2. จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในกิจกรรมการหมักปุ๋ย จึงควรพัฒนาให้เป็นแหล่งจุลินทรีย์สำหรับทำปุ๋ยหมักในทางการค้า
3. หากต้องการศึกษาประสิทธิภาพของการทำปุ๋ยหมักโดยเปรียบเทียบแหล่งแหล่งจุลินทรีย์และแหล่งไนโตรเจนควรกองปุ๋ยหมักขนาดใหญ่กว่า 10 กิโลกรัม และควรแปรผันอัตราส่วนของแหล่งจุลินทรีย์และแหล่งไนโตรเจนเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสม
4. ในการเก็บรักษาแหล่งจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการทำปุ๋ยหมักไม่ควรเก็บไว้นานเกินไป และควรเก็บในที่มื้อากาศถ่ายเทสะดวก



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กัญญา ม่วงแก้ว. 2544. การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและ
ตรึงไนโตรเจน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เกษมศรี ชับช้อน. 2541. ปฐพีวิทยา. กรุงเทพฯ: นานาสีพิมพ์.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทิตนา นิธิสกุลกาญจน์. 2550. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพผลิตโดยแอกติโนมัยซีดที่แยกจากมูลสัตว์
กินพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชา
จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. พิมพ์ครั้งที่ 2.
กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. 2537. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. กรุงเทพฯ: เพชรกระวีต.

พรชัย เหลืองอากาศพงศ์. 2549. คัมภีร์ปาล์มน้ำมัน พีชเศรษฐกิจเพื่ออุปโภคบริโภค. กรุงเทพฯ:
มติชน.

พิทยากร ลิมทอง. 2536. รายงานการวิจัย เรื่อง การวิเคราะห์การจัดการวัสดุเหลือใช้เพื่อผลิตปุ๋ย
หมักในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: งานจัดการวัสดุเหลือใช้ ไอโซเลตอินทรีย์วัตถุและวัสดุ
เหลือใช้ กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน

วิศิษฐพร เพื่อนพิภพ. 2529. การคัดเลือกเชื้อราเพื่อใช้ในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว. วิทยานิพนธ์
หลักสูตรจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2547. ปุ๋ยอินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : บ้านและสวน.

สุบัณฑิต นิมรัตน์. 2549. จุลชีววิทยาทางดิน. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สมศักดิ์ วงษ์ใน. 2528. จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช.

อานัฐ ตันโช. 2549. เกษตรกรรมชาติประยุกต์ แนวคิด หลักการ เทคนิคปฏิบัติในประเทศไทย.
กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

ภาษาอังกฤษ

- Alexander, M, 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons.
- Alburquerque, J.A., Gonza'lvez, J., Garcí'a, D., and Cegarra, J., 2004. Agrochemical characterization of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. Bioresource Technology. 91: 195-200.
- Alburquerque, J.A., Gonza'lvez, J., garcí'a, D., and Cegarra, J., 2006. Effects of bulking agent on the composting of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. Process Biochemistry. 41: 127-132.
- Barnett, H.L., and Hunter, B.B., 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th ed. New York: MacMillan.
- Chikae, M., Ikeda, R., Kerman, K., Morita, Y. and Tamiya, E., 2006. Estimation of maturity of compost from food wastes and agro-residues by multiple regression analysis. Bioresource Technology. 97: 1979-1985.
- Dresboll, D.B. and Kristensen, K.T., 2005. Structural differences in wheat (*Triticum aestivum*), hemp (*Cannabis sativa*) and *Miscanthus* (*Miscanthus ogiformis*) affect the quality and stability of plant based compost. Scientia Horticulture. 107: 81-89.
- Droffner, M.L., Brinton, W.F., Evans, J. and Evans, E., 1995. Evidence for the prominence of well characterized mesophilic bacteria in thermophilic (50-70 °C) composting environments. Biomass and Bioenergy. 8: 191-195.
- Gestel, K.V., Mergaert, J., Swings, J., Coosemans, J. and Ryckeboer, J., 2003. Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste. Environmental Pollution. 125: 361-368.
- Goyal, S., Dhull, S.K. and Kapoor, K.K., 2005. Chemical and biological changes during composing of different organic wastes and assessment of compost maturity. Bioresource Technology. 96: 1584-1591.
- Gray, T.R.G. and Williams, S.T., 1971. Soil Micro-organisms. the United States of America: Longman.

- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M. and Boudabous, A., 2001. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. Bioresource Technology. 80: 217-225.
- Huang, G.F., Wu, Q.T., Wong, J.W.C. and Nagar, B.B., 2004. Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust. Waste Management. 24: 805-813.
- Huang, G.F., Wu, Q.T., Wong, J.W.C. and Nagar, B.B., 2005. Transformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. Bioresource Technology. 97: 1834-1842.
- Ko, W.H., Wang, I.T. and Ann, P.J., 2005. A simple method for detection of lipolytic microorganisms in soils. Soil Biology and Biochemistry. 37: 597-599.
- Kouker, G. and Jaeger, K.E., 1987. Specific and Sensitive plate Assay for Bacterial Lipases. Applied and Environmental Microbiology. 53: 211-213.
- Leboff, M.J. and Pierce, B.E., 2002. Microbiology Laboratory Theory and Application. United States of America: Morton Publishing company.
- Mayende, L., Wilhelmi, B.S. and Pletschke, B.I., 2006. Cellulases (CMCases) and polyphenol oxidases from thermophilic *Bacillus* spp. Isolates from compost. Soil Biology and Biochemistry. 38: 2963-2966.
- Mohee, R. and Mudhoo, A., 2005. Analytical of the physical properties of an in-vessel composing matrix. Powder Technology. 155: 92-99.
- Ogunwande, G.A., Osunade, J.A., Adekalu, K.O. and Ogunjimi, L.A.O., 2008. Nitrogen loss in chicken litter compost as affected by carbon to nitrogen ratio and turning frequency. Bioresource Technology. 99: 7495-7503.
- Pepper, L.L., Gerba, C.P. and Brendecke, J.W., 1995. Environmental Microbiology A Laboratory Manual. the United States of America: Academic Press.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvas, J.C., 2004. Introduction to Food and Airborne Fungi. 7th ed. The Netherlands: CBS.
- Sanabria-León, R., Cruz-Arroyo, L.A., Rodriguze, A.A. and Alameda, M., 2007. Chemical and biological characterization of slaughterhouse wastes compost. Waste Management. 27:1800-1807.
- Sina, M.A., 2003. The Ecology of Soil Decomposition. CABI publishing. UK: Butterworth and Co (publishers) Ltd.

- Smith, O.L., 1982. Soil Microbiology: A Model of Decomposition and Nutrient Cycling. Florida: CRC Press.
- Subba Rao, N.S., 1982. Advances in Agricultural Microbiology. New Delhi: Butterworth.
- Tam, N.F.Y. and Vrijmoed, L.L.P., 1990. Effects of commercial bacterial products on nutrient transformations of pig manure in a pig-on-litter system. Waste Management and Research. 8: 363-373.
- Thambirajah, J.J. and Kuthubutheen, A.J., 1989. Composting of Palm Press Fibre. Biological Wastes. 27: 257-269.
- Thambirajah, J.J., Zulkali, M.D. and Hashim, M.A., 1995. Microbiological and biochemical changes during the composting of oil palm empty-fruit-bunches. Effect of nitrogen supplementation on the substrate. Bioresource Technology. 52: 133-144.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A. and Itavaara, M., 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. Bioresource Technology. 72: 169-183.
- Vargas-García, M.C., Suárez-Estrella, F., López, M.J. and Moreno, J., 2006. Influence of microbial inoculation and co-composting material on the evolution of humic-like substances during composting of horticultural wastes. Process Biochemistry. 41: 1438-1443.
- Vargas-García, M.C., Suárez-Estrella, F., López, M.J. and Moreno, J., 2007. In Vitro Studies on lignocelluloses degradation by microbial strains isolated from composting process. International Biodeterioration and Biodegradation. 59: 322-328.
- Williams, S.T., Goodfellow, M. and Alderson, G., 1989. Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Vol.4. U.S.A: The Williams and Wilkins.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมท ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

โพแทสเซียมไดโครเมท

ซึ่งอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง 49.04 กรัม

น้ำกลั่น 800.00 มิลลิลิตร

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมทให้เข้ากันกับน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2. Redox indicator

ไดเฟนนิลเอมีน 0.5 กรัม

น้ำกลั่น 20.0 มิลลิลิตร

กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 100.0 มิลลิลิตร

ละลายไดเฟนนิลเอมีน ให้เข้ากันกับน้ำกลั่น และกรดซัลฟิวริก

3. สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล

เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 196.0 กรัม

น้ำกลั่น 800.0 มิลลิลิตร

กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20.0 มิลลิลิตร

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ให้เข้ากันกับน้ำกลั่นซึ่งมีกรดซัลฟิวริกอยู่ 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ข้อควรระวัง

สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่เพิ่งเตรียมใหม่ ๆ จะมีสีเขียวอมฟ้าของเฟอร์รัสไอออน และหากเก็บไว้เกิน 10 วัน เฟอร์รัสไอออนจะถูกออกซิไดซ์เป็นเฟอริกไอออน ทำให้มีสีเขียวปนเหลือง (เสียสภาพ) และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สารละลายชนิดนี้จะต้องเก็บในขวดสีน้ำตาล เพื่อกันแสงและจะต้องปิดจุกให้แน่นเสมอเมื่อเก็บ

4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 35% น้ำหนักต่อปริมาตร (W / V)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 350.0 กรัม

ในน้ำที่ปราศจากไอออน 800.0 มิลลิลิตร

ค่อย ๆ ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide:NaOH) ให้เข้ากันกับ น้ำที่ปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

5. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

$$\text{สูตร} \quad X = \frac{N \times MW \times 100}{\text{Conc}(\%) \times \text{density}}$$

X คือ ปริมาตรของกรด (Conc.) ที่ต้องใช้ ต่อปริมาตรสารละลาย 1 ลิตร

N คือ นอร์มอล

MW คือ น้ำหนักโมเลกุล

Conc คือ เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น

Density คือ ความหนาแน่น

$$\text{แทนค่าจากสูตร} \quad X = \frac{0.1 \times 98.08 \times 100}{97 \times 1.84} = 5.495 \text{ มล.}$$

กรดซัลฟูริกเข้มข้น 5.5 มิลลิลิตร

น้ำปราศจากไอออน 994.5 มิลลิลิตร

ปิเปต กรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 5.5 มิลลิลิตร ละลายในน้ำปราศจากไอออน 994.5 มิลลิลิตร

6. methyl red indicator

เมธิว เรด 0.1 กรัม

โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ภาคผนวกข7) 3.7 มิลลิลิตร

ละลาย เมธิว เรด ใน โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล แล้วปรับ ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ขวดปรับปริมาตร

7. สารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

เตรียมสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 40.0 กรัม

น้ำที่ปราศจากไอออน 800.0 มิลลิลิตร

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้เข้ากันกับน้ำที่ปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางเป็น 10 เท่า โดยตวงสารละลาย สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ละลายในน้ำปราศจากไอออน 900 มิลลิลิตร

8. สารละลายสีคองโก เรด ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

สีคองโก เรด	1.0	กรัม
ในน้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

9. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร

โซเดียมคลอไรด์	58.4	กรัม
ในน้ำกลั่น	800.0	มิลลิลิตร

ค่อย ๆ ละลายโซเดียมคลอไรด์ให้เข้ากันกับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

10. crystal violet

สารละลาย A		
Crystal violet (85% dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol 95%	20.0	มิลลิลิตร
ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด		
สารละลาย B		
Ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A กับ B ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนการใช้ ถ้าสีเข้มเกินไปอาจเจือจางสารละลาย A ให้เป็น 1: 10 ก่อนผสมกับสารละลาย B

11. Gram iodine

Iodine (crystal)	1.0	กรัม
Potassium iodine (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

ละลาย Iodine และ Potassium iodine ในน้ำกลั่นปริมาตรน้อยๆ ก่อนแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 300 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

12. Safranin O

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	100.0	มิลลิลิตร

ถ้าจะใช้ในการย้อม ให้เจือจางเป็น 1:100 (stock safranin 10 มิลลิลิตร ผสมกับ น้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร) ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนใช้ทุกครั้ง

13. Washing buffer

PVP (polyvinylpyrrolidone)	2.00	กรัม
กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid)	1.76	กรัม
ทริสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ pH 8.0	20.0	มิลลิลิตร
2-เมอร์แคปโตเอทานอล (2-mercaptoethanol)	4.0	มิลลิลิตร

ใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจนได้ปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

14. 2X CTAB lysis buffer

CTAB	4.00	กรัม
ทริสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ pH 8.0	20.00	มิลลิลิตร
EDTA ความเข้มข้น 1 โมลาร์ pH 8.0	8.00	มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	16.36	กรัม
2-เมอร์แคปโตเอทานอล (2-mercaptoethanol)	1.00	มิลลิลิตร

ใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจนได้ปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่ อุณหภูมิห้อง

15. คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิล แอลกอฮอล์ (24: 1 v/v)

คลอโรฟอร์ม (chloroform)	192.0	มิลลิลิตร
ไอโซเอมิล แอลกอฮอล์ (isoamyl alcohol)	8.0	มิลลิลิตร

16. 20 % Polyethylene glycol 6000 (PEG)

PEG	20.00	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	14.61	กรัม

ใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่ อุณหภูมิห้อง

17. 1% Agarose gel (w/w)

อะกาโรส (agarose)	1.0	กรัม
0.5 X TBE	100.00	มิลลิลิตร

18. เอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide)

เอธิเดียมโบรไมด์	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	20.0	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

19. ทริสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ pH 8.0

ทริส เบส	121.0	กรัม
น้ำกลั่น	800.0	มิลลิลิตร

ละลาย ทริส เบส ให้เข้ากันกับน้ำกลั่น ปรับ pH ด้วย HCl ให้เท่ากับ 8.0 จากนั้นใส่น้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

20. EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

EDTA	186.10	กรัม
น้ำกลั่น	800.00	มิลลิลิตร

ละลาย EDTA ให้เข้ากัน ปรับ pH ด้วย NaOH ให้เท่ากับ 8 จากนั้นใส่น้ำกลั่นจนปริมาตรเป็น 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

21. Tris-EDTA buffer (TE buffer)

ทริสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ pH 8.0	10.0	มิลลิลิตร
EDTA ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	2.0	มิลลิลิตร

ใส่น้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1 ลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อโดยความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

22. Bovine serum albumin

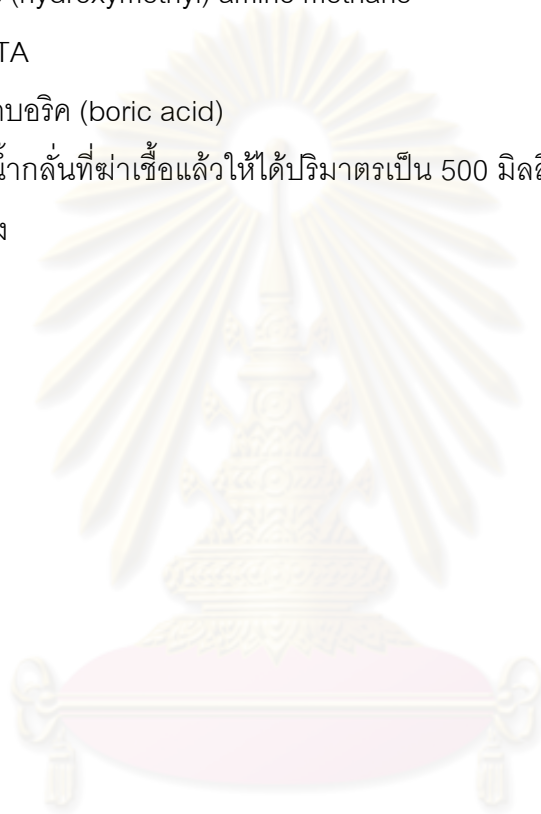
Bovine serum albumin	20.0	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1.0	มิลลิลิตร

เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

23. 10X Tris-boric acid EDTA (10X TBE)

Tris (hydroxymethyl) amino methane	54.00	กรัม
EDTA	4.65	กรัม
กรดบอริก (boric acid)	27.50	กรัม

ใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. กลูโคส ยีสต์ มอลต์ เอ็กซ์แทรกท บรอก (Glucose Yeast Malt Extract)

กลูโคส	4.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	4.0	กรัม
สารสกัดจากมอลต์	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
ปรับพีเอชเท่ากับ 7.2		
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน		

2. คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส อการ์ (Carboxymethyl Cellulose Agar)

คาร์บอกซีเมทิล เซลลูโลส	20.0	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.3	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	0.1	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$)	0.01	กรัม
โซเดียมโมลิบเดต ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$)	0.001	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน		

3. โซเดียม เคซีเนต อการ์ (Sodium Caseinate Agar)

โซเดียม เคซีเนต	2.0	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2	กรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$)	0.01	กรัม
วุ้นผง	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0		
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน		

4. นิวเทรียนท์ อการ์ (Nutrient Agar)

สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตเน (Bacto peptone)	5.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

หากต้องการทำ Nutrient Agar ผิวนึ่ง นำส่วนผสมทั้งหมดอุ่นให้วุ้นละลาย จากนั้นดูดอาหารปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดฝาเกลียว แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน จากนั้นนำหลอดฝาเกลียวมาวางเอียง ก่อนวุ้นแข็งตัว

5. นิวเทรียนท์ อการ์ ที่ใส่โรดามีน บี (Rhodamine B) และน้ำมันมะกอก

สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตเน (Bacto peptone)	5.0	กรัม
น้ำมันมะกอก	10	มิลลิลิตร
โรดามีน บี	0.01	กรัม
วุ้นผง	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

6. โปเตโต เดกซ์โตรส อการ์ (Potato Dextrose Agar)

มันฝรั่ง	200.0	กรัม
เดกซ์โทรส	20.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ต้มมันฝรั่งในน้ำจนเดือดประมาณ 20 นาที กรองเอาส่วนน้ำใสมาใช้

ปรับพีเอชเท่ากับ 5.6 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

หากต้องการทำ Potato Dextrose Agar ผิวนึ่ง นำส่วนผสมทั้งหมดอุ่นให้วุ้นละลาย จากนั้นดูดอาหารปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดฝาเกลียว แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน จากนั้นนำหลอดฝาเกลียวมาวางเอียง ก่อนวุ้นแข็งตัว

7. โปเตโต เดกซ์โทรส อการ์ ที่ใส่น้ำมันมะกอก และโรดามีน บี

มันฝรั่ง	200.0	กรัม
เดกซ์โทรส	20.0	กรัม
น้ำมันมะกอก	10	มิลลิลิตร
โรดามีน บี	0.01	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ต้มมันฝรั่งในน้ำจนเดือดประมาณ 20 นาที กรองเอาส่วนน้ำใสมาใช้

ใส่น้ำมันมะกอก และโรดามีน บี

หนึ่งช้อนช้อนที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

8. มิลค์ อการ์ (Milk Agar)

สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน	5.0	กรัม
นมผงพร่องมันเนย (Skim milk powder)	8.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายสารสกัดจากเนื้อ แบคโตเปปโตน และวุ้นผง ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร

นำไปหนึ่งช้อนช้อนที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน และละลายนมผงพร่องมันเนย ในน้ำ

กลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปหนึ่งช้อนช้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำ

สารละลายที่ช้อนแล้วทั้งสองส่วนมาผสมให้เข้ากัน ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ

9. แมนนิทอล มังปิ้ง อการ์ (Mannitol Mungbean Agar)

ถั่วเขียวบด	20.0	กรัม
แมนนิทอล (D-mannitol)	20.0	กรัม
วุ้นผง	18.0	กรัม
น้ำประปา	500	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

ต้มถั่วเขียวบดในน้ำประปาจนเดือด กรองเอาส่วนน้ำใสมาใช้ ใส่น้ำตาลแมนนิ

ทอล และน้ำกลั่น ปรับพีเอชเท่ากับ 7.0 หนึ่งช้อนช้อนที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

หากต้องการทำ Mannitol Mungbean Agar ผิดเอียง นำส่วนผสมทั้งหมดคุ่นให้
 คุ้นละลาย จากนั้นดูดอาหารปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดฝาเกลียว แล้วนำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่
 อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน จากนั้นนำหลอดฝาเกลียวมาวางเอียง ก่อนนึ่งแห้งตัว

10. สเตรปโตมัยซิน โรส เบงกอล อการ์ (Streptomycin Rose Bangal Agar)

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	0.5	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.5	กรัม
กลูโคส	10.0	กรัม
แบคโตเปปโตน	0.5	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	0.5	กรัม
โรส เบงกอล	0.05	กรัม
สเตรปโตมัยซิน	0.03	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน		

11. นิวเทรียนท์ อการ์ (Nutrient Agar) (ที่มีผงวุ้น 0.5%)

สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน (Bacto peptone)	5.0	กรัม
วุ้นผง	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน		

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

วันที่หมัก	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)									
	CA	CB	CC	CD	CE	CF	CG	CH	CI	CJ
0	33.3	33.6	33.6	33.1	32.7	32.6	32.9	32.6	31.6	31.7
1	64.4	68.1	69.9	65.1	69.1	69.0	66.5	66.7	65.9	66.8
2	62.9	68.0	69.6	66.0	70.9	71.7	71.8	65.9	65.5	65.8
3	69.9	72.6	71.2	70.5	71.8	73.9	70.3	71.8	71.3	72.2
4	69.9	68.7	67.3	69.8	64.9	64.3	59.3	71.1	67.8	67.7
5	61.9	60.1	53.3	60.1	55.2	49.5	46.5	64.1	61.1	61.0
6	71.6	68.4	67.8	71.9	69.7	67.5	66.2	73.1	70.9	68.2
7	69.3	65.3	63.1	69.3	65.8	63.1	64.8	70.9	66.4	67.8
8	55.2	49.1	50.8	57.9	52.2	54.9	48.8	58.7	54.9	55.0
9	66.6	54.7	51.8	61.8	54.8	53.5	53.7	64.1	56.5	56.9
10	61.6	56.4	54.2	58.5	56.5	54.3	51.7	60.6	58.4	55.0
11	54.9	54.2	52.8	54.9	54.2	52.1	50.0	54.1	55.5	51.8
12	55.9	52.8	54.1	53.6	53.4	51.5	49.0	52.8	52.1	50.0
13	54.4	52.0	54.4	55.0	54.2	53.4	49.5	55.5	54.6	50.9
14	51.2	49.2	52.4	51.5	50.7	50.4	46.3	52.4	52.9	49.8
15	49.5	48.7	48.9	51.2	48.7	46.8	43.2	49.8	50.0	47.6
16	51.3	50.0	49.3	51.9	49.5	47.8	43.8	53.7	51.1	48.1
17	51.2	49.5	48.4	50.4	47.6	46.9	42.0	51.9	50.2	46.8
18	50.8	47.6	46.4	48.8	45.0	42.8	41.5	51.5	47.4	47.8
19	51.6	47.6	47.6	49.4	46.0	44.2	42.0	51.3	48.0	47.9
20	49.8	45.6	46.0	47.7	45.2	43.3	40.1	48.7	46.7	46.9

ตารางที่ 1 (ต่อ)

21	46.2	41.8	40.2	43.2	41.5	38.2	37.2	43.4	40.5	43.4
22	48.2	44.3	41.3	43.4	42.9	39.0	37.4	44.3	41.0	43.5
23	46.7	43.1	40.9	41.6	41.8	38.2	36.7	41.9	40.7	43.8
24	45.1	42.3	40.0	43.2	41.9	38.6	38.3	41.0	39.3	42.4
25	45.7	43.6	41.4	43.8	42.8	39.7	38.1	42.8	40.8	43.8
26	45.5	42.9	40.9	42.7	41.8	39.2	37.6	41.8	40.2	43.4
27	41.4	39.6	38.1	39.9	37.9	36.9	35.4	37.9	36.2	38.2
28	43.4	39.8	39.0	40.1	38.5	37.6	36.5	39.6	37.3	39.3
29	43.0	39.2	38.5	39.8	38.2	37.2	35.5	39.2	36.7	38.9
30	37.6	36.0	35.7	36.5	35.5	34.7	34.4	36.6	34.3	35.7
31	37.0	35.4	34.7	36.0	35.0	34.4	33.9	36.2	34.0	35.4
32	37.1	34.7	34.2	35.2	34.0	33.6	33.0	35.4	33.2	34.5
33	32.5	31.4	31.5	32.0	31.4	31.0	30.7	32.5	30.2	31.1
34	31.4	30.9	30.2	31.1	30.5	30.0	30.3	31.4	28.9	30.6
35	31.2	30.6	30.1	30.8	30.0	29.4	29.8	31.0	28.3	30.2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ความเป็นกรด-ด่าง					
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
CA	5.5 ± 0.1	6.7 ± 0.4	7.2 ± 0.5	7.6 ± 0.5	7.8 ± 0.2	7.9 ± 0.0
CB	5.7 ± 0.2	7.2 ± 0.1	7.4 ± 0.3	8.0 ± 0.2	8.1 ± 0.2	7.9 ± 0.1
CC	5.6 ± 0.2	7.1 ± 0.1	7.2 ± 0.2	7.5 ± 0.4	8.3 ± 0.2	7.8 ± 0.3
CD	5.5 ± 0.1	6.9 ± 0.2	7.0 ± 0.2	7.3 ± 0.3	7.9 ± 0.3	7.7 ± 0.2
CE	5.6 ± 0.1	6.9 ± 0.2	7.0 ± 0.5	7.6 ± 0.2	7.8 ± 0.2	7.3 ± 0.2
CF	5.7 ± 0.1	7.3 ± 0.3	7.0 ± 0.4	7.8 ± 0.1	7.9 ± 0.2	7.6 ± 0.2
CG	5.0 ± 0.1	7.1 ± 0.2	7.3 ± 0.4	7.6 ± 0.2	8.0 ± 0.2	7.9 ± 0.2
CH	5.5 ± 0.0	7.3 ± 0.4	7.3 ± 0.2	8.0 ± 0.1	7.9 ± 0.4	7.9 ± 0.2
CI	5.7 ± 0.4	7.1 ± 0.1	7.4 ± 0.1	7.5 ± 0.4	8.3 ± 0.3	7.6 ± 0.4
CJ	5.4 ± 0.2	7.1 ± 0.2	7.2 ± 0.3	8.0 ± 0.2	8.4 ± 0.2	7.9 ± 0.1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้น ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์ความชื้น (%)					
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
CA	52.87 ± 0.30	51.07 ± 5.02	54.00 ± 3.86	61.87 ± 0.11	64.00 ± 1.23	64.60 ± 1.71
CB	53.13 ± 1.70	50.33 ± 2.14	58.00 ± 1.78	64.73 ± 0.64	64.60 ± 0.40	63.47 ± 0.83
CC	52.53 ± 1.67	52.40 ± 0.53	58.73 ± 0.99	63.70 ± 0.76	63.60 ± 1.74	63.87 ± 1.53
CD	55.20 ± 0.92	49.47 ± 3.08	57.00 ± 0.72	63.73 ± 0.31	62.27 ± 1.45	67.27 ± 1.33
CE	54.13 ± 1.01	53.53 ± 1.33	57.60 ± 0.00	63.87 ± 2.32	64.73 ± 0.76	64.60 ± 1.22
CF	59.00 ± 1.11	60.40 ± 3.65	60.80 ± 0.20	72.13 ± 4.04	67.13 ± 1.30	68.40 ± 1.31
CG	55.40 ± 2.30	54.60 ± 1.64	59.20 ± 0.72	63.53 ± 2.08	61.87 ± 1.10	61.60 ± 2.31
CH	53.27 ± 0.30	53.60 ± 3.29	59.80 ± 1.11	64.40 ± 0.35	65.13 ± 2.10	65.53 ± 0.50
CI	55.80 ± 2.96	57.93 ± 1.72	62.80 ± 1.04	68.40 ± 0.00	67.47 ± 6.51	68.00 ± 1.31
CJ	51.13 ± 0.42	54.33 ± 1.55	58.53 ± 1.14	63.73 ± 1.30	64.93 ± 1.21	66.00 ± 0.20

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ($\times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)											
	0		7		14		21		28		35	
CA	13.65	± 0.75	0.99	± 0.05	0.765	± 0.04	1.45	± 0.06	1.43	± 0.07	1.83	± 0.07
CB	25.63	± 0.43	0.69	± 0.02	0.311	± 0.01	2.06	± 0.10	20.91	± 1.30	1.36	± 0.07
CC	15.25	± 0.32	0.71	± 0.04	0.27	± 0.01	1.14	± 0.06	1.61	± 0.07	1.50	± 0.03
CD	8.34	± 0.56	1.07	± 0.03	0.221	± 0.01	1.07	± 0.07	13.26	± 0.96	1.15	± 0.11
CE	11.34	± 0.44	0.70	± 0.07	1.25	± 0.07	1.81	± 0.11	1.56	± 0.09	1.15	± 0.04
CF	10.82	± 1.47	17.87	± 1.15	1.182	± 0.09	1.37	± 0.08	2.52	± 0.09	2.73	± 0.14
CG	11.16	± 0.47	0.75	± 0.04	1.618	± 0.02	2.20	± 0.06	1.48	± 0.07	1.04	± 0.12
CH	208.28	± 4.45	1.00	± 0.06	0.192	± 0.01	1.15	± 0.11	1.55	± 0.08	17.51	± 0.73
CI	11.88	± 0.92	1.76	± 0.06	0.968	± 0.07	2.74	± 0.10	1.33	± 0.06	12.31	± 0.65
CJ	9.07	± 0.63	1.02	± 0.06	1.11	± 0.09	0.92	± 0.04	9.23	± 0.44	9.51	± 0.74

ตารางที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณราทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณราทั้งหมด ($\times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
CA	22.3 \pm 0.60	1.15 \pm 0.02	1.27 \pm 0.10	1.75 \pm 0.11	1.53 \pm 0.06	1.30 \pm 0.03
CB	21.8 \pm 0.30	0.16 \pm 0.01	1.26 \pm 0.08	1.32 \pm 0.07	1.86 \pm 0.10	2.56 \pm 0.10
CC	12.2 \pm 0.60	1.36 \pm 0.07	1.24 \pm 0.17	1.21 \pm 0.07	1.99 \pm 0.14	1.76 \pm 0.11
CD	15.7 \pm 0.70	0.81 \pm 0.01	1.34 \pm 0.11	2.31 \pm 0.10	1.15 \pm 0.11	2.43 \pm 0.08
CE	16.6 \pm 1.00	0.17 \pm 0.00	1.11 \pm 0.06	1.31 \pm 0.08	2.44 \pm 0.11	1.72 \pm 0.08
CF	13.00 \pm 0.50	0.81 \pm 0.15	2.75 \pm 0.09	1.81 \pm 0.08	0.87 \pm 0.02	1.26 \pm 0.10
CG	10.20 \pm 0.80	0.46 \pm 0.02	0.67 \pm 0.06	1.78 \pm 0.04	0.94 \pm 0.07	1.44 \pm 0.05
CH	14.30 \pm 0.50	0.68 \pm 0.03	1.36 \pm 0.07	1.41 \pm 0.04	1.02 \pm 0.14	1.30 \pm 0.16
CI	15.9 \pm 0.60	0.82 \pm 0.07	1.08 \pm 0.09	1.13 \pm 0.10	1.11 \pm 0.03	1.49 \pm 0.06
CJ	14.6 \pm 0.70	1.12 \pm 0.12	2.08 \pm 0.14	2.19 \pm 0.11	1.64 \pm 0.12	2.05 \pm 0.12

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมด ($\times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
CA	0.31 ± 0.03	1.17 ± 0.11	14.2 ± 0.8	9.62 ± 0.66	2.88 ± 0.21	2.96 ± 0.07
CB	0.19 ± 0.01	0.22 ± 0.02	16.4 ± 1.30	6.14 ± 1.28	2.73 ± 0.14	1.77 ± 0.06
CC	0.34 ± 0.06	2.49 ± 0.03	5.17 ± 0.98	3.24 ± 0.58	2.97 ± 0.06	1.31 ± 0.02
CD	0.28 ± 0.03	1.63 ± 0.06	8.62 ± 1.46	7.26 ± 0.57	1.48 ± 0.17	2.79 ± 0.15
CE	0.30 ± 0.03	0.78 ± 0.10	8.81 ± 1.38	4.53 ± 0.58	3.02 ± 0.20	1.33 ± 0.10
CF	0.39 ± 0.02	3.51 ± 0.14	6.72 ± 1.06	8.02 ± 0.73	2.74 ± 0.11	1.71 ± 0.19
CG	0.88 ± 0.08	0.60 ± 0.03	9.15 ± 0.62	11.63 ± 0.57	1.80 ± 0.12	1.79 ± 0.12
CH	0.77 ± 0.10	1.77 ± 0.03	9.87 ± 0.63	13.00 ± 0.40	1.43 ± 0.12	2.81 ± 0.13
CI	0.33 ± 0.06	2.50 ± 0.14	5.20 ± 1.12	8.68 ± 1.12	1.68 ± 0.06	1.58 ± 0.18
CJ	0.46 ± 0.01	1.26 ± 0.15	7.32 ± 0.70	9.11 ± 1.54	1.51 ± 0.09	6.76 ± 0.29

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักบิ๊ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการ
แปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

วันที่หมัก	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
0	34.7	34.6	33.8	34.5	33.4	33.1
1	70.5	68.8	69.3	70.5	66.4	69.3
2	69.3	72.6	66.5	70.3	69.7	71.0
3	73.2	73.9	72.3	71.5	74.1	73.6
4	67.9	70.6	71.2	69.2	67.3	66.6
5	67.4	71.7	71.3	63.2	70.3	71.6
6	65.5	68.4	68.5	62.4	68.0	70.9
7	59.0	66.5	66.7	55.5	64.3	68.6
8	56.7	60.0	59.6	53.3	58.4	60.9
9	56.8	60.4	62.3	54.4	59.5	61.3
10	56.4	58.0	59.3	53.7	56.7	57.7
11	52.3	53.8	55.7	50.7	51.8	53.3
12	52.0	53.9	55.0	50.9	53.8	53.2
13	49.8	50.5	51.8	49.3	51.1	50.3
14	46.3	45.2	45.6	45.2	44.7	46.7
15	46.0	47.5	48.5	47.0	45.7	48.2
16	46.0	47.7	48.5	47.2	45.1	47.8
17	45.6	45.9	48.0	45.0	44.3	46.7
18	44.8	45.2	46.9	44.2	42.9	45.2
19	42.5	43.0	45.3	42.7	41.3	43.4
20	42.1	42.6	44.9	42.7	40.7	41.7

ตารางที่ 7 (ต่อ)

วันที่หมัก	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
	CG1	CGC1	CGR1	CJ1	CJC1	CJR1
21	42.4	42.6	44.8	43.0	41.0	41.8
22	40.3	40.8	42.4	41.5	39.5	39.9
23	38.9	39.7	41.6	40.3	39.0	38.9
24	39.0	40.2	42.1	40.3	39.4	39.5
25	38.5	39.4	40.9	39.3	39.4	39.0
26	35.5	36.2	37.3	36.1	36.4	35.7
27	35.7	36.8	38.0	36.6	36.9	36.4
28	37.3	38.1	39.5	38.0	38.1	37.8
29	38.3	39.0	40.7	39.1	39.4	38.8
30	37.7	38.4	39.4	38.2	38.4	38.5
31	39.5	40.0	41.0	39.6	39.9	39.8
32	40.2	40.5	41.8	40.6	40.6	40.2
33	38.2	38.5	39.4	38.1	38.5	37.9
34	39.2	39.6	40.5	39.2	39.4	39.1
35	39.3	39.2	40.6	39.2	39.5	38.8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ความเป็นกรด-ด่าง					
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
CG1	5.7 ± 0.1	6.0 ± 0.1	6.2 ± 0.2	6.4 ± 0.2	6.4 ± 0.2	6.7 ± 0.1
CGC1	5.8 ± 0.1	6.5 ± 0.3	7.0 ± 0.2	7.0 ± 0.2	6.9 ± 0.3	7.2 ± 0.3
CGR1	5.5 ± 0.1	6.7 ± 0.2	7.5 ± 0.2	7.0 ± 0.1	7.0 ± 0.1	7.3 ± 0.1
CJ1	5.8 ± 0.1	5.9 ± 0.2	6.6 ± 0.2	6.4 ± 0.2	6.5 ± 0.2	6.7 ± 0.2
CJC1	5.7 ± 0.1	6.6 ± 0.2	7.7 ± 0.2	6.8 ± 0.2	6.9 ± 0.2	6.9 ± 0.2
CJR1	5.4 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.7 ± 0.1	6.6 ± 0.2	6.8 ± 0.1	7.0 ± 0.1

ตารางที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้น ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 1 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์ความชื้น (%)					
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
CG1	45.73 ± 1.36	69.60 ± 2.03	63.33 ± 0.81	58.67 ± 2.01	57.73 ± 2.47	52.47 ± 4.23
CGC1	47.67 ± 1.30	58.60 ± 1.56	67.27 ± 0.83	61.87 ± 0.64	62.33 ± 1.50	59.80 ± 2.75
CGR1	47.80 ± 2.82	62.20 ± 5.55	68.47 ± 1.01	63.53 ± 1.45	64.93 ± 1.03	61.00 ± 0.80
CJ1	51.53 ± 1.01	67.33 ± 6.46	67.73 ± 5.28	61.00 ± 1.78	60.20 ± 2.40	59.93 ± 4.57
CJC1	46.93 ± 2.84	67.87 ± 8.13	69.20 ± 1.04	65.47 ± 0.12	63.87 ± 1.01	61.27 ± 1.45
CJR1	55.00 ± 0.40	62.80 ± 0.20	66.93 ± 0.31	63.27 ± 0.81	66.60 ± 4.51	60.00 ± 2.95

ตารางที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะลายปาล์มน้ำมัน ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ($\times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
CG1	44.74 \pm 1.05	33.87 \pm 0.95	35.56 \pm 1.78	10.58 \pm 0.28	11.30 \pm 0.72	6.84 \pm 0.68
CGC1	45.62 \pm 0.67	2.28 \pm 0.12	13.45 \pm 1.10	9.97 \pm 1.39	32.60 \pm 1.01	8.90 \pm 0.29
CGR1	51.70 \pm 0.97	11.83 \pm 1.23	15.87 \pm 2.22	22.69 \pm 0.88	17.60 \pm 2.02	7.78 \pm 0.39
CJ1	40.04 \pm 0.55	10.14 \pm 1.01	21.71 \pm 1.74	15.75 \pm 1.04	17.21 \pm 2.04	11.17 \pm 0.77
CJC1	46.20 \pm 0.29	13.19 \pm 1.15	26.75 \pm 1.79	14.00 \pm 1.17	51.13 \pm 2.62	8.01 \pm 0.26
CJR1	54.82 \pm 0.34	18.46 \pm 0.94	47.68 \pm 1.52	10.71 \pm 2.69	26.50 \pm 1.26	14.05 \pm 1.15

ตารางที่ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลสาบปาล์มน้ำมัน ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณธาตุทั้งหมด ($\times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)											
	0		7		14		21		28		35	
CG1	20.95	± 0.46	2.58	± 0.12	2.53	± 0.14	2.34	± 0.13	1.34	± 0.11	1.38	± 0.12
CGC1	145.28	± 5.73	1.73	± 0.04	1.01	± 0.11	0.21	± 0.02	0.18	± 0.02	0.25	± 0.01
CGR1	9.09	± 0.22	1.91	± 0.16	1.70	± 0.12	0.33	± 0.00	0.36	± 0.01	0.81	± 0.14
CJ1	0.79	± 0.02	2.44	± 0.10	2.50	± 0.22	2.23	± 0.27	1.31	± 0.19	1.80	± 0.12
CJC1	222.17	± 8.51	1.57	± 0.14	0.43	± 0.02	0.28	± 0.02	0.19	± 0.00	0.21	± 0.01
CJR1	7.63	± 0.71	0.84	± 0.11	1.90	± 0.18	0.86	± 0.11	0.39	± 0.01	1.12	± 0.21

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนไมซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแอกติโนไมซีตทั้งหมด ($\times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)											
	0		7		14		21		28		35	
CG1	0.02	\pm 0.00	2.08	\pm 0.17	2.65	\pm 0.08	7.51	\pm 0.14	2.13	\pm 0.17	1.61	\pm 0.09
CGC1	0.04	\pm 0.01	3.63	\pm 0.19	15.79	\pm 0.77	12.94	\pm 1.84	2.40	\pm 0.15	1.41	\pm 0.17
CGR1	0.03	\pm 0.00	3.08	\pm 0.20	22.21	\pm 1.77	9.70	\pm 1.38	12.08	\pm 1.44	1.52	\pm 0.26
CJ1	0.02	\pm 0.00	3.07	\pm 0.20	13.38	\pm 1.32	8.99	\pm 1.18	10.75	\pm 0.63	1.55	\pm 0.03
CJC1	0.02	\pm 0.01	3.88	\pm 0.15	23.50	\pm 1.64	13.71	\pm 2.17	11.63	\pm 1.00	1.40	\pm 0.20
CJR1	0.01	\pm 0.00	1.71	\pm 0.15	11.39	\pm 1.22	11.62	\pm 1.55	3.02	\pm 0.15	1.92	\pm 0.06

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในกระบวนการหมักบิ๊ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการ
แปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

วันที่หมัก	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
0	27.4	26.9	25.9	25.3	25.2	25.7
1	68.1	55.7	61.1	59.3	59.5	52.3
2	71.5	60.1	67.4	63.0	62.0	63.3
3	64.8	74.0	73.3	73.1	74.3	73.3
4	58.4	61.3	71.4	65.4	64.4	72.7
5	53.6	56.9	72.5	59.5	54.6	68.6
6	56.9	58.9	66.8	62.3	62.0	66.2
7	57.2	56.3	66.4	60.4	61.4	66.7
8	53.9	53.1	61.1	55.6	56.1	60.8
9	51.8	52.0	56.0	53.0	53.3	54.5
10	48.0	47.2	53.2	49.5	50.7	52.4
11	46.8	48.2	52.7	48.6	48.6	51.2
12	45.9	48.8	52.6	48.2	48.4	50.0
13	41.1	43.7	49.6	44.9	42.8	47.8
14	41.2	42.4	47.8	46.0	41.7	47.8
15	39.3	40.6	46.8	43.4	39.9	47.3
16	41.0	41.2	47.3	44.0	40.6	47.4
17	41.9	42.1	47.0	43.8	40.9	46.3
18	39.4	39.1	40.9	38.3	37.4	39.6
19	40.1	39.8	41.8	39.5	38.7	41.0
20	39.2	40.6	42.3	39.9	39.3	41.5

ตารางที่ 13 (ต่อ)

วันที่หมัก	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)					
	CG2	CGC2	CGR2	CJ2	CJC2	CJR2
21	36.3	39.3	40.2	38.2	38.2	39.6
22	35.0	37.3	38.3	36.8	37.3	37.3
23	33.0	34.3	35.0	33.6	34.2	34.0
24	35.7	37.3	38.4	37.0	37.7	36.6
25	38.0	40.1	41.4	40.2	41.1	39.0
26	37.3	39.4	40.7	40.3	41.7	39.0
27	36.3	38.5	39.7	39.7	41.3	38.3
28	35.1	36.6	37.5	37.3	39.2	37.2
29	35.0	36.3	37.0	37.4	38.8	37.0
30	36.0	36.6	37.4	37.8	39.2	37.7
31	34.2	35.4	36.1	36.5	37.3	36.8
32	31.9	32.4	33.0	33.9	34.4	34.0
33	30.9	31.3	31.8	31.4	32.1	32.4
34	33.3	33.2	33.6	33.6	34.2	34.6
35	33.6	33.2	33.5	32.8	33.4	33.4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ความเป็นกรด-ด่าง					
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
CG2	7.0 ± 0.1	7.4 ± 0.3	7.5 ± 0.2	7.7 ± 0.4	8.2 ± 0.2	7.9 ± 0.2
CGC2	7.2 ± 0.3	7.9 ± 0.4	7.8 ± 0.5	8.2 ± 0.3	8.3 ± 0.3	8.3 ± 0.2
CGR2	6.8 ± 0.2	7.7 ± 0.2	7.6 ± 0.4	7.6 ± 0.3	8.1 ± 0.1	8.0 ± 0.3
CJ2	6.8 ± 0.2	7.4 ± 0.4	7.5 ± 0.3	7.8 ± 0.3	7.8 ± 0.2	7.9 ± 0.1
CJC2	7.0 ± 0.1	8.1 ± 0.1	8.0 ± 0.4	8.4 ± 0.2	8.1 ± 0.2	8.5 ± 0.2
CJR2	6.8 ± 0.2	7.6 ± 0.2	7.6 ± 0.2	7.8 ± 0.6	8.0 ± 0.1	8.0 ± 0.1

ตารางที่ 15 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้น ในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมันที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนครั้งที่ 2 ในชุดการทดลองต่างๆ เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์ความชื้น (%)					
	0 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน
CG2	55.73 ± 1.17	63.47 ± 0.31	65.33 ± 1.36	64.87 ± 0.70	66.93 ± 0.81	64.33 ± 0.50
CGC2	59.87 ± 1.17	60.20 ± 1.11	65.07 ± 0.50	61.47 ± 2.80	64.60 ± 1.00	61.93 ± 0.99
CGR2	51.60 ± 0.00	64.00 ± 1.71	64.00 ± 1.71	66.13 ± 1.68	66.33 ± 1.33	63.13 ± 0.64
CJ2	52.00 ± 1.00	61.33 ± 0.46	60.13 ± 1.92	61.87 ± 0.70	63.20 ± 1.97	61.00 ± 2.42
CJC2	54.47 ± 1.63	63.60 ± 1.31	59.13 ± 0.31	62.33 ± 2.20	66.40 ± 1.73	60.40 ± 1.11
CJR2	59.13 ± 1.01	60.00 ± 1.40	61.33 ± 1.01	66.33 ± 1.72	66.93 ± 0.31	62.40 ± 0.20

ตารางที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ($\times 10^8$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
CG2	8.21 \pm 0.91	11.68 \pm 1.51	2.10 \pm 0.07	21.92 \pm 0.75	16.64 \pm 1.32	18.51 \pm 0.84
CGC2	21.52 \pm 0.52	3.59 \pm 0.08	2.10 \pm 0.04	16.32 \pm 0.54	16.20 \pm 0.86	23.83 \pm 1.09
CGR2	6.96 \pm 0.63	3.73 \pm 0.07	2.87 \pm 0.12	1.64 \pm 0.07	12.98 \pm 0.45	11.76 \pm 0.56
CJ2	15.91 \pm 0.64	3.16 \pm 0.07	1.08 \pm 0.09	24.57 \pm 0.80	10.16 \pm 0.63	9.51 \pm 1.36
CJC2	9.96 \pm 1.04	11.55 \pm 0.73	1.78 \pm 0.06	2.21 \pm 0.03	3.19 \pm 0.08	11.12 \pm 2.01
CJR2	9.96 \pm 0.86	9.09 \pm 0.88	1.54 \pm 0.20	2.05 \pm 0.12	1.41 \pm 0.17	11.44 \pm 1.48

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณธาตุทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะลายปาล์มน้ำมัน ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณธาตุทั้งหมด ($\times 10^6$ โคโลนีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)						
	0	7	14	21	28	35	
CG2	8.36 \pm 1.36	9.85 \pm 0.72	9.24 \pm 0.29	2.64 \pm 0.10	0.25 \pm 0.02	2.57 \pm 0.09	
CGC2	100.56 \pm 13.73	0.94 \pm 0.08	1.12 \pm 0.05	0.84 \pm 0.07	0.09 \pm 0.01	0.87 \pm 0.03	
CGR2	11.16 \pm 1.45	0.14 \pm 0.01	0.31 \pm 0.01	0.71 \pm 0.02	0.29 \pm 0.01	0.42 \pm 0.01	
CJ2	196.58 \pm 9.85	0.18 \pm 0.01	0.32 \pm 0.01	0.96 \pm 0.07	0.28 \pm 0.01	0.28 \pm 0.02	
CJC2	95.25 \pm 1.27	0.26 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02	0.40 \pm 0.01	0.22 \pm 0.01	
CJR2	17.30 \pm 1.02	0.78 \pm 0.05	0.41 \pm 0.02	0.26 \pm 0.01	0.44 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01	

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมดในกระบวนการหมักปุ๋ยจากทะเลลายปาล์มน้ำมัน ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในชุดการทดลองต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 35 วัน

ชุดการทดลอง	ปริมาณแอกติโนมายซีตทั้งหมด ($\times 10^8$ โคลินีต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) (วัน)					
	0	7	14	21	28	35
CG2	0.03 \pm 0.01	89.42 \pm 9.61	94.33 \pm 8.82	8.83 \pm 2.85	3.76 \pm 0.17	3.60 \pm 0.19
CGC2	0.07 \pm 0.02	2.46 \pm 0.09	2.71 \pm 0.04	8.25 \pm 0.66	2.85 \pm 0.07	1.84 \pm 0.16
CGR2	0.04 \pm 0.02	1.76 \pm 0.17	3.75 \pm 0.11	3.60 \pm 0.09	3.40 \pm 0.14	3.59 \pm 0.27
CJ2	0.01 \pm 0.01	0.97 \pm 0.08	8.96 \pm 0.63	10.75 \pm 1.20	3.72 \pm 0.18	1.47 \pm 0.17
CJC2	0.04 \pm 0.02	2.02 \pm 0.10	7.50 \pm 0.37	3.95 \pm 0.16	2.78 \pm 0.19	1.75 \pm 0.08
CJR2	0.03 \pm 0.01	4.85 \pm 0.10	8.45 \pm 1.08	3.34 \pm 0.07	3.18 \pm 0.18	1.84 \pm 0.09

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลรหัสของ 16S rRNA

5' ACCATGCAGCCGAGCGGTAGAGTCTCTTCGGAGACTTGAGAGCGGCCTACGGGTGCGGAACACGTGT
 GCAACCTGCCTTTATCAGGGGATAGCCTTTCGAAAAGGAGATTAATACCCATAATATATTGAATGGC
 ATCATTGATATTGAAAACCTCCGGTGGATAGAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAA
 CGGCTCACCAAGTCTACGATCTTTAGGGGGCTGAGAGGGTGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGG
 ACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGACAATGGGTGGGAGCCTGATCCAGCCATCCC
 GCGTGAAGGACGACGGCCCTATGGGTTGTAAACTTCTTTTGTATAGGGATAAACCCAGATACGTGTATC
 TGGCTGAAGGTAATAACGAATAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTG
 CAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCTGATTTGTAAGTCAGTGGTGAATCTC
 ACAGCTTAACTGTGAAACTGCCATTGATACTGCAAGTCTTGAGTGTGTTGAAAGTAGCTGGAATAAGTA
 GTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACTTAGAACACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTAAGCAACAAC
 GACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGAT
 GCTAACTCGTTTTTGGGGCGCAAGTTTCAGAGACTAAGCGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTA
 CGAACGCAAGTTTGAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAAAT
 CGATGATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGTTTAGAAAATAGACTTTTCTTC
 GGACATTTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTGACCTCGTGCCTGAGGTGTTAGGTTAAGTCCTGCAA
 CGAGCGCAACCCCTGTCACTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGGACTCTAGTGAGACTGCCACGCAAGTA
 GAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCCACACACGTAATAACAATG
 GCCAGTACAGAGGGCAGCTACACGGTGACGTGCAAAATCTCGAAAGCTGGTCTCAGTTCGGATTGGA
 GTCTGCAACTCGACTCTATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCATGGCGCGGTGAATACG
 TTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGGAAGTCTGGGGTACCTGAAGTCGGTGNCCGAAC
 AGGAGC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 1 ไโซไซเลตแบคทีเรีย MPB1

5' TGCAGTCGACGGCAGCCAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACAT
 CGGAATCTACTTTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAACGCTACGGGTG
 AAAGCAGGGGACCTTTCGGCCCTTGC CGGATTGAATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAA
 AGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGG
 TCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATACC
 GCGTGGGTGAAGAAGGCCTTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAATCCAGCTGGCTAATACC
 CGGTTGGGATGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAA
 GGGTGAACGCTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTCTTTAAGTCCGTTGTGAA
 AGCCCTGGGCTCAACCTGGGAACTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGCGGAAT
 TCCTGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCA
 ACACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCCTAA
 ACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCGATATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCGCC
 TGGGGAGTACGGTTCGAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGTATGT
 GGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCGAGAACTTTCCAGAGATGGAT
 TGGTGCCTTCGGGAACTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCCGTGTCGTGAGATGTTGGGT
 TAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGAC
 CGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACA
 CACGTAATAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAGCCGGCGACGGTAAGCCAATCCCAGAAACCCATATC
 TCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATT
 GCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTTTGTGTCACCAGA
 AGCAGGTAGCTTAACTTTCGGGAGGGCG3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 2 ไโซไซเลตแบคทีเรีย MPB2

5' TGCAGTCGACGGCAGCACAGTAAGAGCTTGCTCTTACGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATG
 CATCGGAATCTACTCTATCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAACGCTACGG
 GTGAAAGCAGGGGACCTTTCGGGCTTTCGCGGATTGAATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGG
 TAAAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACA
 CGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCAT
 ACCGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAAGCAGTCCGCTAAT

ACCCGATTGTTCTGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
 GAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTTTGTAAAGTCTGCTGT
 GAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGCTGACTAGAATGTGGCAGAGGGTAGCGG
 AATTCTGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACATCCGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGG
 CCAACATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCC
 TAAACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCC
 GCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTA
 TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCACGGAACTTTCCAGAGATG
 GATTGGTGCCTTCGGGAACCGTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTG
 GGTAAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTTAAGGA
 GACCGCCGTTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAATGAGCCCTTACGCGCAGGGCT
 ACACACGTACTACAATGGTGGGGACAGAGGGCTGCAAGCCGCGACGTTAAGCCAAATCCAGAAACCC
 ATCTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAACTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGC
 ATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGACC
 AGAAGCAGGTAGCTTAACCTTCGGGAAGGGCG3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 3 ไโซโซเลตแบคทีเรีย MPB3

5' AGTCGAGCGAACAGATGAGAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGCGAGACGGGTGAGTAACACGTGG
 GTAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAAATTTTTGAACCGC
 ATGGTTCAATAGTGAAGACGGTTTCGGCTGTCACTTATAGATGGACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGG
 TAAGGTAAACGGCTTACCAAGGCGACGATACGTAGCCGACTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAACCTG
 AGACACGGTCCAGACTCATACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAACCTGACGGA
 GCAACGCCCGGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAATTTGTT
 AGTAACTGAACAAGTCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
 AATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTAATGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTCTTAAGTCT
 GATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAG
 AGTGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCT
 CTGGTCTGTAACCTGACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
 CGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGC
 ACTCCGCTGGGGAGTACGACCCGAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGACCCGCACAAGCGGTG
 GAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACCGCTCTAG
 AGATAGAGTCTTCCCTTCGGGGGACAAAAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGA
 GATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACCTCT
 AGGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAATCATCATGCCCCCTTATGATTT
 GGGCTACACACGTGCTACAATGGATAATAAAAAGGCGAGCAATCCGCGAGGCCAAGCAAATCCATAA
 AATTATTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGA
 TCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAGAGAGTTTGTAA
 CACCCGAAGCCGGTGGAGTACCTTTAGGAGCTAGCCTT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 4 ไโซโซเลตแบคทีเรีย MPB4

5' TGCAGTCGACGGCAGCACAGGGGAGCTTGCTCCCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATGCA
 TCGGAATCTACTCTGTGCTGGGGGATAACGTAGGGAAACTTACGCTAATACCGCATAACGACCTACGGGT
 GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCTTTCGCGGATTGAATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGGGGGTA
 AAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACG
 GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAC
 CGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAAAGCCATGGGTTAATAC
 CCTGTGGTTCTGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGA
 AGGGTGCAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTTGTTAAGTCTGCTGTGA
 AAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGTGGAA
 TTCCCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACATCTGTGGCGAAGGCGACTACCTGGACC
 AACACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCCTA
 AACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCGC
 CTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATG
 TGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAACTTTCCAGAGATGGA
 TTGGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGG
 TTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTTAAGGAGA
 CCGCCGGTGCACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAATCATGAGCCCTTACGACCAGGGCTAC
 ACACGTACTACAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAAACCGCGAGGGCTAGCCAATCCAGAAACCTAT

CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT
TGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGACCAG
AAGCAGGTAGCTTAANCCTTCGGGAGGGCGC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 5 ไนโซเลตแบคทีเรีย MPB5

5' TGCAGTCGACGATGATCCCTGGCTTGCTGGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGTA
ACCTGCCCTTGACTCTGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGACTTCTCATCGCATG
GTGGGGGTGAAAGCTTTTGTGGTTTTGGATGGACTCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAAATGG
CCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCC
AGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCG
TGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGTAGGGAAGAAGCCCTTCTGGGTGACGGTACT
TGCAGAAGAAGAGCCGGCTAACTACTTGGCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCGG
AATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGCTCTGCTGTGAAAGACCAGGGCTCATCTCCT
GTTCTGCAGTGGGTACGGCCAGACTACAGTGCAGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAA
TGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGGTCTCTGGGCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCG
AAAGCATGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGCACTAGGTGTG
GGGACATTCCACGTTTTCCGCGCCGTAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAA
GGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGCGGATTAATTTCGATGCAAC
GCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGGACCGGAAAGACCTGGAAACAGGTGCCCGCTTTCGGCCGG
TTTACAGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGC
AACCTCGTTCTATGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGACTCATAGGAGACTGCCGGGGTCAACTCGGAGG
AAGGTGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCCGGT
ACAAAGGTTGCGATACTGTGAGGTGGAGCTAATCCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTG
CAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGCTGCGGTGAATACGTTCCC
GGCCTTGACACACCGCCCGTCAAGTCACGAAAGTTGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCTTG
T3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 6 ไนโซเลตแบคทีเรีย MPB6

5' ATGGTAGTACATGCAGTCGAGCGGACAGAAAGGAGCTTGCTCCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGA
GTAACACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAGTT
CCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTTCGGCTGTCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCAT
TAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCA
TACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAA
AGTCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGA
ACAAGTGCAAGAGTAACTGCTTGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA
GCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTAATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGT
TTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTG
CAGAAGAGGAGAGTGGCAATTCCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAAGGAACACCAGTG
GCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAG
CTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGTGCAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCC
TCTGACAACCTTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAG
CTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTC
GTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGC
CCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAAACAAAGGGCTGCGAGACCCGAAGTTTTAG
CCAATCCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCAC
GAGAGTTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTATGGAGCCAGCGTAGAGCACC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 7 ไนโซเลตแบคทีเรีย MPB7

5' TGCAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGCTCCTGGATCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAA
TCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTCCGGAAACGGGCGCTAATACCGCATACTCCTGAGGGAGAAAGT
GGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCC
TACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCCACTGGAACCTGAGACACGGTCCAG
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTG

TGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCT
 GTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTG
 CAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCC
 CGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCCAAAACCTACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCCCT
 GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACT
 GACACTGAGGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT
 GTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACCGGATAAGTCGACCGCCCTGGGGA
 GTACGGCCGAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTA
 ATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGC
 CTTTCGGGAAGCTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTC
 CCGTAACAGACGCAACCCCTTGTCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACCTAAGGAGACTGCCCGGT
 GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCTCAGGGCTACACACGTC
 TACAATGGTTCGGTACAAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCC
 GGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGTCACGGT
 GAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCCATGGGAGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGCTA
 GTCTAACCGCAAGGGG3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 8 ไอโซเลตแบคทีเรีย MPB8

5' TGCAGTCGACGGCAGCACAGGAGAGCTTGTCTCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATGCA
 TCGGAATCTACTCTATCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAACGACTACGGGT
 GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCCTTGCAGGATGAATGAGCCGATGTCGATTAGCTAGTTGGCGGGGTA
 AAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACG
 GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAC
 CGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAAGCCCTTTTGTGGGAAAAGAAAAGCAGTCGGCTAATAC
 CCGATTGTTCTGACGGTACCCAAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGA
 AGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAAGCGTGCCTAGGTGGTTTTGTTAAGTCTGCTGTGA
 AAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGCTGACTAGAATGTGGCAGAGGGTAGCGGAA
 TTCCTGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACATCCGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGGCC
 AACATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTA
 AACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGAGTATCGAAGCTAACCGGTTAAGTTCGCCCGC
 CTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATG
 TGGTTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCACGGAACCTTCCAGAGATGGA
 TTGGTGCCTTCGGGAACCGTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGG
 TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGA
 CCGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTAC
 ACACGTAACAATGGTGGGGACAGAGGGCTGCAAGCCGGCGACGGTAAGCCAATCCAGAAACCCCAT
 CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT
 TGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCCATGGGAGTTTGTTCACCGAG
 AAGCAGTTAGCTTAACTTCGGGAGGGCGC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 9 ไอโซเลตแบคทีเรีย MPB9

5' GTCAGCGGGGTTTTTCGGACCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCGTAGGATGCTGCCCGATAGAGGG
 GGATAACAGTTGGAAAAGACTGTTAATACCGCATAATGTCTACAGACCAAAGTGTGGGACCTTCGGGCC
 ACATGCTATCGGATGCGCCTACTTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATC
 TCTAGCTGGTTTTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCA
 GCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAACAAGGCCTTC
 GGGTTGTAAAGCACTTTCATCGAGGAGGAAGGATGTATGTTAATAGCATGCATTTTTGACGTTACTCG
 CAGAAGAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATAAAGAGGGTGAAGCGTTAATTCGGAA
 TTACTGGGCGTAAAGCGCACGTTAGGCGGTTTTTAAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGA
 ATTGCATTTGAAACTGGGGAACCTAGAGTGTGTGAGAGGGGGGTAGAAATCCAAAGTGTAGCGGTGAAATG
 CGTAGAGATTTGGAGGAATACCAGTGGCGAAGGCGGCCCTGGCACAACTGACGCTCAGGTGCGAA
 AGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGCTACTAGCTGTTTCG
 TGTCTTGTGATGTGAGTAGCGCAGCTAACGCACTAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATT
 AAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGACGCAACGCGA
 AGAACCTTACCTACTCTTGACATCTACGGAAGACTGCAGAGATGCGGTTGTGCCCTTCGGGAACCGTAAG
 ACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGTCTGTTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAAC
 CCCTATCCTTAGTTGCCAGCGAGTTAAGTCGGGAACCTAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAA
 GGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTCGCTACAATGGTACGTCAC

AGAGGGAGGCAAGCTGGCGACAGTGAGCGGATCTCTTAAAGCGTATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCA
 ACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAAATCAGAATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGG
 CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGA
 GGCGCTTTCCAGAGT3 '

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 10 แบบที่เรีย MPB10

5 ' ATGGTAGTACATGCAGTCGAGCGGACAGAAAGGAGCTTGTCTCCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGA
 GTAACACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAGTT
 CCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTTTCGGCTGTCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCAT
 TAGCTAGTTGGTGAAGTAAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCA
 TACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAA
 AGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGA
 ACAAGTGCAAGAGTAAGTCTTGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA
 GCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTAATGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGT
 TTCTTAAAGTCTGATGTGAAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTG
 CAGAAGAGGAGAGTGGCAATTTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAAGGAACACCAGTG
 GCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
 ACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGTCTGCAG
 CTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGTGCAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
 CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGTCTTGACATCC
 TCTGACAACCCCTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGAG
 CTGTTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTCA
 GTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGC
 CCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAAACAAAGGGCTGCGAGACCGCAAGTTTTAG
 CCAATCCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCT
 AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAC
 GAGAGTTTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCGTAGAGCACC3 '

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 11 ไอโซเลตแบบที่เรีย MLB1

5 ' TGCAGTCGACGGCAGCACAGGAGAGCTTGTCTCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACA
 TCGGAATCTACTCTGTCTGGGGGATAACGTAGGAAAACCTTACGCTAATACCGCATAACGACTACGGGT
 GAAAGCAGGGGACCTTTCGGGCCCTTGC CGGATTGAATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTA
 AAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACG
 GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAC
 CGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTTCGGGTTGTAAGCCCTTTTTGTTGGGAAAGAAATCCAGCTGGCTAATAC
 CCGGTTGGGATGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGA
 AGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGTGGTTCGTTTTAAGTCCGTTGTGA
 AAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAACTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGAATGTGGTAGAGGGTAGCGGAA
 TTCCTGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACC
 AACATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCCTA
 AACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCAGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCCGC
 CTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATG
 TGGTTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATGTCGAGAACCTTCCAGAGATGGA
 TTGGTGCCTTCGGGAACTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGG
 TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGA
 CCGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTAC
 ACACGTACTACAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAGCCGGCGACGGTAAGCCAATCCAGAAACCCCTAT
 CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT
 TGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTTGTTGCACCAG
 AAGCAGGTAGCTTAACCTTTCGGGAAGGGCGC3 '

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 12 ไอโซเลตแบบที่เรีย MLB2

5 ' TGCAGTCGAGCGGATGAAGGGAGCTTGTCTCTGGATCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAA
 TCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGTCCGGAAACGGGCGCTAATACCGCATAACGCTCCTGAGGGAGAAAGT
 GGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCC
 TACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAG

ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTG
 TGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCT
 GTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTG
 CAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCC
 CGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCCAAAATACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCCCT
 GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACT
 GACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT
 GTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACCGGATAAGTCGACCGCCTGGGGGA
 GTACGGCCGAAGGTTAAAATACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTA
 ATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATGCTGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGC
 CTTCCGGAACCTCAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTC
 CCGTAACGAGCGCAACCCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACCTCGGGTGGGCACTAAGGAGACTGCCGGT
 GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGC
 TACAATGGTGGTACAAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCC
 GGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGTCACGGT
 GAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGCTA
 GTCTAACCGCAAGGGG3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 13 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB3

5' AGTCGAGCGGGGAAGGGTGTCTGCACCTGATTCCTAGCGGCGACGGGTGAGTAATGCTTAGGAATC
 TGCCTATTAGTGGGGGACAACGTTCCGAAAGGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAG
 GGGATCTTCGGACCTTGCGCTAATAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCA
 CCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGAC
 TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTG
 TGAAGAAGGCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTTACCTGGTTAATACCTGGGATA
 AGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGC
 AAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGCTAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCC
 GAGCTTAACTTGGGAATTGCATTGATACTGGTTAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCAGG
 TGTAGCGGTTGAAATGCGTAGAGATCTGGGAGGAATACCCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGGCCAAT
 TACTGGACTACTGGAGGTGCGAAAGCATGTGAAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCGT
 AAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCCTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACCGGATAAGTAGACCGC
 CTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAATACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATG
 TGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATACAGAGAACCTTTCCAGAGATGGA
 TTGGTGCCTTCGGGAACTCTGATACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGG
 TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTTTCTTATTTGCCAGCACTTCGGGTGGGAACTTTAAGGATAC
 TGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACA
 CACGTGCTACAATGGTCCGTACAAAGGGTGTACTGCGCGAGCAGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATC
 GTAGTCCGAGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCACTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATG
 CCGCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTGGTGTGCACCAGAA
 GTAGGTAGTCTAACCTTAGCGAGGACGCTATATAGAGCC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 14 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB4

5' CATAAGGTGACGAGCGGATGAAGTGGCTTGCCTGGATTACCGGAGGACGGGTGAGTAATGC
 CTAGGAATCTGCCTGGTAGTGCCGGGACAACGTTGCGAAAGGAACGCTAATACCGCGTACGTCCTACGA
 GGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCTATCACATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGGG
 GTAATGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAACTGGCCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAGAC
 ACGGTCAGACTCTACCGGAGGCAACAGTGGGGAATATTGGACAATGGCCGAAAGCCTGATCCAGCCA
 TGCCGCGAGTGTGAACAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGCCAA
 TACCTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATA
 CAGAGGGTGAAGCGCTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTCGTTAACTTGGATG
 TGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCCAAAGACTGGCGAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTG
 GAATTTCTGTGTAGCGTGCATGCGTAGATATAGGAATGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGG
 ACCGATACTGACACTGATGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCC
 GTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGGTCTTGAGACTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACC
 GCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAATACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCA
 TGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGCTTGACATGCAGAGAACCTTTCCAGAGATG
 GATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTG
 GGTAAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTAATGGTGGGCACTCTAAGGA

GA CTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGGCT
 ACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCACAAAACCG
 ATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGA
 ATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCA
 GAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGA3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 15 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB5

5' TGCAGCCGAGCGGTAGAGTCTCTTCGGAGACTTGAGAGCGGCGTACGGGTGCGGAACACGTGTGCAA
 CCTGCCTTTATCAGGGGATAGCCTTTTCGAAAAGGAAGATTAATACCCATAATATATTGAATGGCATCA
 TTTGATATTGAAAACCTCCGGTGGATAGAGATGGGCACGCGCAAGATTAGATAGTTGGTGAGGTAACGGC
 TCACCAAGTCTACGATCTTTAGGGGGCTGAGAGGGTGATCCCCACACTGGTACTGAGACACGGACCA
 GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAAGGAATATTGGACAATGGGTGGGAGCCTGATCCAGCCATCCCGCGT
 GAAGGACGACGGCCCTATGGGTTGTAAACTTCTTTTGTATAGGGATAAACCCAGATACGTGTATCTGGC
 TGAAGGTACTATACGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAG
 CGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGTCCGTAGGCTGATTTGTAAGTCAGTGGTGAATCTCACAG
 CTTAACTGTGAAACTGCCATTGATACTGCAAGTCTTGAGTGTGTTGAAGTAGCTGGAATAAGTAGTGT
 AGCGGTGAAATGCATAGATATTACTTAGAACACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTAAGCAACAACCTGACG
 CTGATGGACGAAAGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGCTA
 ACTCGTTTTTGGGGCGCAAGTTTCAGAGACTAAGCGAAAGTGATAAGTTAGCCACCTGGGGAGTACGAA
 CGCAAGTTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAAATTCGAT
 GATACGCGAGGAACCTTACCAAGGCTTAAATGGGAAATGACAGGTTTAGAAAATAGACTTTTTCTTCGGAC
 ATTTTTCAAGGTGCTGCATGGTTGTGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTTAGGTTAAGTCCCTGCAACGAG
 CGCAACCCCTGTCACTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGGACTCTAGTGAGACTGCCTACGCAAGTAGAGA
 GGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCACGGCCCTTACGCCTTGGGCCACACACGTAATACAATGGCCA
 GTACAGAGGGCAGCTACACGGTACGCTGATGCAAAATCTCGAAAAGCTGGTCTCAGTTCGGATTGGAGTCT
 GCAACTCGACTCTATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCATGGCGCGGTGAATACGTTCC
 CGGGCCTTGTACACACCCGCCGTCAAGCCATGGAAGTCTGGGGTACCTGAAGTCGGTGACC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 16 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB6

5' CTAACACATGCAGTCGAGCGGCAGCGGGGAAGTAGCTTGCTACTTTTTGCCGGCGAGCGGCGGACGGG
 TGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAAC
 GCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGGATATGCCAGGTGGGATTAGCTAG
 TTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGA
 ACTGAGACACCGCTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTGA
 TGCAGCCATGCCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTCA
 GTAGCTAATATCTGCTGGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCG
 CGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTA CTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAA
 GTTAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTAAAACCTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGA
 GGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG
 CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAG
 TCCACGCCGTAAACGATGTGATTTGGAGGCTGTGTCCTTGAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTA
 AATCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCG
 GTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTG
 CAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTCTGTG
 AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAC
 TCAAGGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGG
 CCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCCA
 AAAAGCGCGTCTGATCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGC
 AAATCAGAATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCCCTCACACCATGGGAGTGGG
 TTGCACCAGAAGTAGATAGCTTAAAC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 17 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB7

5' TGCAGTCGACGGCAGCACAGGAGAGCTTGCTCTCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATGCA
 TCGGAATCTACTCTATCGTGGGGGATAACGTAGGGAAACTTACGCTAATACCGCATAACGACCTACGGGT
 GAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC GCGATTGAATGAGCCGATGTCCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTA

AAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACG
 GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAC
 CGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAAAGCAGTCGGCTAATAC
 CCGATTGTTCTGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGA
 AGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTTTGTAAAGTCTGCTGTGA
 AAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGCTGACTAGAATGTGGCAGAGGGTAGCGGAA
 TTCCTGGTGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATCAGGAGGAACATCCGTGGCAGGAGGCGGCTACCTGGGCC
 AACATTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCCTA
 AACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGCAGTATCGAAGCTAACCGGTTAAGTTCGCCGC
 CTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGTATG
 TGGTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATGCACGGAACCTTCCAGAGATGGA
 TTGGTGCCTTCGGGAACCGTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGG
 TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTTAAGGAGA
 CCGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTAC
 ACACGTACTACAATGGTGGGGACAGAGGGCTGCAAGCCGGCGACGGTAAGCCAATCCAGAAACCCCAT
 CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT
 TGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCCGTCACACCATGGGAGTTTGTTCACCAG
 AAGCAGTTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 18 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB8

5' CACATGCAGTCGAGCGGATGAGTGGAGCTTGTCTCCATGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCT
 AGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGCTTACGGGAG
 AAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAA
 AGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACCTGAGACACGG
 TCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCC
 GCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACC
 TTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAA
 GGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTTCGTTAAGTTGGATGTGAA
 AGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCATCCAAAACCTGGCGAGCTAGAGTATGGCAGAGGGTGGTGGAA
 TTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGGCTA
 ATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAA
 ACGATGTGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTCGACCCGCT
 GGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
 GTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAGAGATGGATT
 GGTGCCTTCGGGAACCTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGT
 AAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTACCAGCACGTTAAGGTGGGCACTCTAAGGAGACT
 GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACAC
 ACGTGTACAATGGTTCGGTACAAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCATAAAACCGATCG
 TAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTCGCTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGT
 CACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCTCCAGAAG
 TAGCTAGTCTAACCTTCGGGGG3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 19 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB9

5' GTCAGCGGGGTTTTTCGGACCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCGTAGGATGCTGCCCGATAGAGGG
 GGATAACAGTTGGAAACGACTGTTAATACCGCATAATGTCTACAGACCAAAGTGTGGGACCTTCGGGCC
 ACATGCTATCGGATGCGCCTACTTGGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATC
 TCTAGCTGGTTTGGAGGATGATCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCA
 GCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCTGTGTGAACAAGGCCTTC
 GGGTTGTAAAGCACTTTCATCGAGGAGGAAGGGATGTATGTTAATAGCATGCATTTTTGACGTTACTCG
 CAGAAGAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAAAGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAA
 TTAAGTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGTTTTTTTTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGA
 ATTGCATTTGAAACTGGGGAACCTAGAGTGTGTGAGAGGGGGGTAGAATTCGAAGTGTAGCGGTGAAATG
 CGTAGAGATTTGGAGGAATACCAGTGGCGAAGGCGGCCCTGGCACAACTGACGCTCAGGTGCGAA
 AGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTAGCTGTTTCG
 TGTCTTGTGATGTGAGTAGCGCAGCTAACGCACTAAGTAGACCCGCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATT
 AAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGACGCAACGCGA
 AGAACCTTACCTACTCTTGACATCTACGGAAGACTGCAGAGATGCGGTTGTGCTTCGGGAACCGTAAG
 ACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA

CCCTATCCTTAGTTGCCAGCGAGTTAAGTCGGAACTCTAGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAA
GGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTACGTAC
AGAGGGAGGCAAGCTGGCGACAGTGAGCGGATCTCTTAAAGCGTATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCA
ACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAAATCAGAAATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGTAGGTAGCTTAACTTCCGGGA
GGCGCTTCCAGAGT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 20 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB10

5' TGCAGTCGACGGCAGCACAGGGGAGCTTGCTCCCTGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATGCA
TCGGAATCTACTCTGTGCTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCATAACGACCTACGGGT
GAAAGCAGGGGACCTTTCGGGCCCTTGC CGATTGAATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGGGGGGTA
AAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAACGAGACACG
GTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAC
CGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTTCGGGTTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAAGAAAAGCCATGGGTTAATAC
CCTGTGGTTCTGACGGTACCCAAAAGAATAAGCACC GGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGA
AGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTAAGTGGGCGTAAAAGCGTGCCTAGGTGGTTGTTTAAAGTCTGCTGTGA
AAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGAGTGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGTGGAA
TTCCCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACATCTGTGGCGAAGGCGACTACCTGGACC
AACACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTA
AACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCAGCAGTATCGAAGCTAACCGGTTAAGTTCCGCCGC
CTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATG
TGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAACCTTCCAGAGATGGA
TTGGTGCCTTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGG
TTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACCTTAAGGAGA
CCGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTAC
ACACGTACTACAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAAACCGGAGGGCTAGCCAATCCAGAAAACCTTAT
CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAT
TGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGTGCACCAG
AAGCAGGTAGCTTAANCCTTTCGGGAGGGCGC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 21 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB11

5' TAACACATGCAAGTCGAGCGGTAACAGGAAGTAGCTTGCTACTTTGCTGACGAGCGGCGGACGGGTG
AGTAATGTCTGGGAACTGCCCGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACG
TCTTCGGACCAAAGAGGGGGACCTTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTA
GGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAC
TGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATG
CAGCCATGCCCGGTGTATGAAGAAGGCCTTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAC
GGTTAATAACCGTGTGATTGACGTTACCCGCAAGAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCG
GTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGT
CGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGTAGTCTTGTAGAGG
GGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
CCCTGGACAAAGACTGACCCCTCAGGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATGTCTACTTTGGAGGCTGTTCCCTTGAGGAGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAG
TAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGTGACATCCAGAGAACCTTAGCA
GAGATGCTTTGGTGCCTTTCGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAA
ATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTGTCAGCGGTTTCGGCCGGGAACCTCA
AAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCATCATGGCCCTTACGAGTA
GGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAA
AGTGCCTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGGA
TCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTG
CAAAAAGAGTAGGTAGCTTAAACCCTTTCGGGAGGGCGCTT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 22 ไนโซเลตแบคทีเรีย MLB12

5' ATGCAGTCGAGCGGGGATAGGTAGCTTGCTACTGATTCCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTAG
GAATCTGCCTATTAGTGGGGGACAACGTTCCGAAAAGGACGCTAATACCGCATAACGTCCTACGGGAGAA

AGCAGGGGATCTTCGGACCTTGGCGTAATAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAG
 GCCTACCAAGGGCAGGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCC
 CAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGCAACCTGATCCAGCCATGCCGC
 GTGTGTGAAGAAGGCCCTTTTGGTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTTACCTGGATAATACCTG
 GGATAAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACC GGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAG
 GGTGCGAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAAGCGTGCCTAGGCGGCTGATTAAGTCGGATGTGAAA
 TCCCTGAGCTTAACTTAGGAATTGCATTCGATACTGGTCAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATT
 CCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCC TAA
 TACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCATGCCGTAAA
 CGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACCGGATAAGTAGACC GCGCTG
 GGGAGTACCGTTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAAATGACGAGGGGCCCCGCACAAGCTGGAGCATGTGG
 TTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATACTAAGAACTTTCTAGAGATAGATTG
 GTGCCTTCGGAACTTAGATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTA
 AGTCCC GCAACGAGCGCAACCTTTTCCCTTATTTGCCAGCGGGTTAAGCCGGGAACTTTAAAGGATACTG
 CCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACA
 CGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCTACCTAGCGATAGGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGT
 AGTCCGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGAATGCC
 GCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGACCAGAAGT
 AGGTAGTCTAACCTTAGGGAGGACGCTATCTTCGT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 23 ไอลิเซเลตแบคทีเรีย MLB13

5' ATGGTAGTACATGCAGTCGAGCGGACAGAAGGGAGCTTGCTCCCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGA
 GTAACACGTGGGTAACTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAGTT
 CCTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAAGACGGTTTCGGCTGTCACTTACAGATGGACCCGCGGCAT
 TAGCTAGTTGGTGGAGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCA
 TACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAA
 AGTCTGACGGAGCAACGCCGCTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGA
 ACAAGTGCAAGAGTAACTGCTTGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA
 GCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTAATGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGT
 TTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGTCATTGGAAACTGGGAACTTGAGTG
 CAGAAGAGGAGAGTGGCAATTTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAAGGAACACCAGTG
 GCGAAGGGGACTCTCTGGTCTGTAAC TGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
 ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGTGCTGCAG
 CTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGTGCGAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
 CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGCTTTGACATCC
 TCTGACAACCCTAGAGATAGGGCTTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCTGTCAG
 CTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCTTGATCTTAGTTGCCAGCATCA
 GTTGGGCACCTAAGGTGACTGCCGGTGACAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAACTCATCATCA
 CCCTTATGACTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAACAAGGGCTGCGAGACCCGAAGTTTTAG
 CCAATCCCACAAATCTGTTCTCAGTTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGCTGGAATCGCT
 AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAC
 GAGAGTTTGAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTATGGAGCCAGCGTAGAGCACC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 24 ไอลิเซเลตแบคทีเรีย MCB1

5' CTAACACATGCAGTCGAGCGGCAGCGGGAAAGTAGCTTGCTACTTTTGGCCGGCAGCGGCGGACGGG
 TGAGTAATGCCTGGGAAATTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATA
 GCCCTACGGGGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCTTGC GCGATTGGATATGCCAGGTGGGATTAGCTAG
 TTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGCGCAGTCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGA
 ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCACAATGGGGAAACCTGA
 TGCAGCCATGCCGCTGTGTGAAGAAGGCCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGCGAGGAGGAAAGGTCA
 GTAGCTAATATCTGCTGGCTGTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACC GGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCG
 CGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTA CTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGGATAA
 GTTAGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCTGGGAATTCATTTAAA ACTGTCCAGCTAGAGTCTTGTAGA
 GGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG
 CCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCTGGTAG
 TCCACGCCGTAAACGATGTGATTTGGAGGCTGTGTCTT GAGACGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTA
 AATCGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAA ACTCAAATGAAATGACGGGGGCCCGCACAAGCG
 GTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGCCTTGACATGTCTGGAATCCTG

CAGAGATGCGGGAGTGCCTTCGGGAATCAGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTG
 AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTGTCTTTGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAC
 TCAAGGGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGG
 CCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCGTACAGAGGGCTGCAAGCTAGCGATAGTGAGCGAATCCCA
 AAAAGCGCGTCTGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCCGGAATCGTAGTAATCGC
 AAATCAGAATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCCGCCCTCACACCATGGGAGTGGG
 TTGCACCAGAAGTAGATAGCTTAAC3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 25 โอลิโหนดเบคที่เรีย MCB2

5' TGCAGTCGTACAGGATAACCACTTCGGCCGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAAT
 CTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCGTTGGACGCATGTC
 CTGTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGTAACGGC
 TCACCAAGGGCAGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCA
 GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGCT
 GAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGCAG
 AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTA
 TTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTGCGCTCGGGTGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCT
 GCATTTCGATACGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC
 AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGC
 GTGGGACGCGAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCAC TAGTGTGGGCGA
 CATTCCACGTCGTCGGTGCAGCTAACGCATTAAGTGCCTCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGCGATA
 AAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAA
 GAACCTTACCAAGGCTTACATACACCGGAAAAGCTCTGGAGACAGAGCCCCCTTGTGGTGGTGTACAG
 GGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCT
 TGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTTGGGGTATGGGGACTCACAGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGA
 GGAAGGTGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCG
 GTACAAAGAGCTGCGATAACCGTGGAGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCT
 TGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTTC
 CCGGGCCTTGTACACACCCGCCCTCACGTCACGAAAGTCGGTAAACCCGAAGCCGGTGT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 26 โอลิโหนดเบคทีโนมัยซีต MPA1

5' AGTCGTACGATGAACCGACTTCGGCCGTGGGATTAGTGGCGAACGAGGTGAGTAACACGTGGGCAAT
 CTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCCAGGACCGCATGGT
 CTCTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGTAACGGC
 TCACCAAGGGCAGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCATACTGGGACTGAGACACGGCCCA
 GACTCATAACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGCT
 GAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAGAGTGACGGTACCTGCAG
 AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCAGGCGCGGTAATACGTAGGGCGCAGCGTTTTCCGGAATTTTTG
 GCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTGCGCTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCA
 TTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGA
 TATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCGGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTG
 GGGAGCGAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCGACAT
 TCCACGTGCTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAA
 CTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAA
 CCTTACCAAGGCTTACATACACCGGAAAAGCTCCAGAGATGGGCGCCCCCTTGTGGTGGTGTACAGGT
 GGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGT
 CCCGTGTTGCCAGCAGGCCCTTGTGGTGTCTGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAA
 GGTGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGTTAC
 AAAGAGCTGCGATAACCGGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCA
 ACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGG
 GCCTTGTACACACCCGCCCTCACGTCACGAAAGTCGGTAACTTACCGAAGCCGGTGTACCAACCCCT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 27 โอลิโหนดเบคทีโนมัยซีต MPA2

5' TGCAGTCGTACAGGATAACCACTTCGGCCGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAAT
 CTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCGTTGGACGCATGTC
 CTGTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGTAACGGC

TCACCAAGGGCAGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCA
 GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGT
 GAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGCAG
 AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTA
 TTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTTCGCGTCGGGTGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGGTCT
 GCATTTCGATACGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC
 AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGC
 GTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCAC TAGGTGTTGGCGA
 CATTCCACGTCGTCGGTGCCGACGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTA
 AAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAA
 GAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAGCTCTGGAGACAGAGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACA
 GGTGGTGCATGGCTGTTCGTGAGTCCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCT
 TGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTTGGGGTGTAGGGGACTCACAGGAGACCCCGGGGTCAACTCGGA
 GGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCG
 GTACAAAGAGCTGCGATACCCTGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGT
 TGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTT
 CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTACGAAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 28 ไอโซเลตแอกติโนมัยซีต MLA1

5' AGTCGTACGATGAACCGACTTCGGCCGTGGGATTAGTGGCGAACGAGGTGAGTAACACGTGGGCAAT
 CTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCCAGGACCGCATGGT
 CTCTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGC
 TCACCAAGGGCAGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCATACTGGGACTGAGACACGGCCCA
 GACTCATAACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGT
 GAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAGAGTGACGGTACCTGCAG
 AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCAGGCGCGGTAATACGTAGGGCGCAGCGTTTTCCGGAATTTTTG
 GCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTTCGCGTCGGATGTGAAAGCCCGGGCTTAACCCCGGGTCTGCA
 TTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGA
 TATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTG
 GGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCAC TAGGTGTGGGCGACAT
 TCCACGTTCGTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAA
 CTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAA
 CCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAACGTCCAGAGATGGGCGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACAGGT
 GGTGCATGGCTGTTCGTGAGTCCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTTGT
 CCCGTGTTGCCAGCAGGCCCTTGTGGTGTGGGACTCACGGGAGACCCCGGGGTCAACTCGGAGGAA
 GGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTAC
 AAAGAGCTGCGATACCCTGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCA
 ACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGG
 GCCTTGTACACACCGCCCGTCACGTACGAAAAGTCGGTTATTACCGAAGCCGGTGTACCAACCCCT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 29 ไอโซเลตแอกติโนมัยซีต MLA2

5' TGCAGTCGTACAGGATACCACTTCGGCCGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGCAAT
 CTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCCGTTGGACGCATGTC
 CTGTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGAGGTAACGGC
 TCACCAAGGGCAGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCA
 GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGT
 GAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGTAAGTGACGGTACCTGCAG
 AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTA
 TTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGCTTGTTCGCGTCGGGTGTGAAAGCCCGGGCTTAACCCCGGGTCT
 GCATTTCGATACGGGCAGGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC
 AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGC
 GTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCAC TAGGTGTTGGCGA
 CATTCCACGTCGTCGGTGCCGACGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTA
 AAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAA
 GAACCTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAGCTCTGGAGACAGAGCCCCCTTGTGGTTCGGTGTACA
 GGTGGTGCATGGCTGTTCGTGAGTCCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCT
 TGTCTGTGTTGCCAGCATGCCCTTTGGGGTGTAGGGGACTCACAGGAGACCCCGGGGTCAACTCGGA
 GGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCG

GTACAAAGAGCTGCGATACCGTGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCAACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCGGGCCTTGTACACACCCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 30 ไอโซเลตแบคทีเรียชนิด MCA1

5' AGTCGTACGATGAACCGACTTCGGCCGTGGGATTAGTGGCGAACGAGGTGAGTAACACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAAACGGGGTCTAATACCGGATACGACCCAGGACCGCATGGTCTCTGGGTGGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGGCCCTATCAGCTTGTGGTGGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCTGAGAGGGCGACCGCCATACTGGGACTGAGACACGGCCCA GACTCATAACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAGAGTGACGGTACCTGCAG AAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCAGGCGCGGTAATACGTAGGGCGCAGCGTTTTCCGGAATTTTTTG GCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTGCGCTCGGATGTGAAAGCCCGGGGCTTAACCCCGGTCTGCA TTCGATACGGGCAGGCTAGAGTTCCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGA TATCAGGAGGAACACCCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAAGCGTG GGGAGCGAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGGTGGGCACTAGGTGTGGGCGACAT TCCACGTCGTCCGTGCCCGAGCTAACGCATTAAGTGCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAA CTTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGCGGAGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAA CTTTACCAAGGCTTGACATACACCGGAAACGTCCAGAGATGGGCGCCCCCTTGTGGTCCGTGTACAGGT GGTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGT CCCGTGTTGCCAGCAGGCCCTTGTGGTGTGGGACTCACGGGAGACCGCCGGGTCAACTCGGAGGAA GGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTAC AAAGAGCTGCGATACCGCGAGGTGGAGCGAATCTCAAAAAGCCGGTCTCAGTTCGGATTGGGGTCTGCA ACTCGACCCCATGAAGTCGGAGTCGCTAGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGG GCCTTGTACACACCCGCCCGTCACGTCACGAAAGTCGGTTATTACCGAAGCCGGTGTACCAACCCCT3'

ลำดับนิวคลีโอไทด์ ที่ 31 ไอโซเลตแบคทีเรียชนิด MCA2



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวชนวนพิศ เรืองจรัส เกิดวันที่ 5 มิถุนายน พ.ศ. 2525 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ เมื่อปีการศึกษา 2547 และระดับปริญญาโทเข้าศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548 ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัย “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รุ่นที่ 2 ปีงบประมาณ 2550

การเสนอผลงานทางวิชาการ

บทความเรื่อง ผลของแหล่งจุลินทรีย์ที่มีต่อการหมักปุ๋ยของทะเลาะปาล์มน้ำมัน ในการประชุมหัวข้อ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อโลกยั่งยืน (การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 33) สถานที่ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช

ศูนย์วิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย