ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

รายงาน

ผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Effect of using biological products for accelerating the degradation of maize stubble

โดย

นางจันจิรา แสงสีเหลือง
กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
กรมพัฒนาที่ดิน

พฤษภาคม 2566

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(5)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 หลักการและเหตุผล	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินงาน	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย	2
บทที่ 2 ข้อมูลทั่วไป	4
2.1 สภาพพื้นที่แปลงทดลอง	4
บทที่ 3 ตรวจเอกสาร	5
3.1 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	5
3.2 ความสำคัญของเอนไซม์เซลลูเลส	10
3.3 เทคโนโลยีรูปแบบผลิตภัณฑ์ชีวภาพ	16
บทที่ 4 อุปกรณ์และวิธีการศึกษา	22
4.1 อุปกรณ์	22
4.2 วิธีการศึกษา	22
บทที่ 5 ผลการศึกษาและวิจารณ์	35
5.1 ผลการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ	35
5.2 ผลการศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก	42
5.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังต่อการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองสภาพแปลงทดลองจาก 2 รอบการปลูก	51
5.4 ผลการศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	62
บทที่ 6 สรุป	73
6.1 สรุปผลการศึกษา	73
6.2 ประโยชน์ที่ได้รับ	74
6.3 ข้อเสนอแนะ	74
เอกสารอ้างอิง	75

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	85

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื้อที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ของประเทศไทย ปี 2559/60 - 2564/65	7
ตารางที่ 2	ข้อดีและข้อเสียของการหมักแบบอาหารแข็งและอาหารเหลว	16
ตารางที่ 3	องค์ประกอบทางเคมีของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และน้ำหมักชีวภาพปลา	27
ตารางที่ 4	ปริมาณเชื้อและค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารแข็ง 3 ชนิด ตามช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ	37
ตารางที่ 5	ปริมาณอินทรียวัตถุในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	44
ตารางที่ 6	ค่าความชื้นของดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	45
ตารางที่ 7	ปริมาณเชื้อรายย่อยสลายเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	47
ตารางที่ 8	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	49
ตารางที่ 9	น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 1	52
ตารางที่ 10	ปริมาณเชื้อรายย่อยสลายเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 1	54
ตารางที่ 11	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลอง จากการปลูกรอบที่ 1	55
ตารางที่ 12	น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 2	57
ตารางที่ 13	ปริมาณเชื้อราในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 2	60
ตารางที่ 14	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 2	61
ตารางที่ 15	สมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 และรอบที่ 2	65
ตารางที่ 16	ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 1	67
ตารางที่ 17	มวลชีวภาพของต้นและน้ำหนักเมล็ดความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากการปลูกรอบที่ 1	68
ตารางที่ 18	ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ รอบที่ 1	69
ตารางที่ 19	ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 2	70

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 20	มวลชีวภาพของต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากการปลูกรอบที่ 2	71
ตารางที่ 21	ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ รอบที่ 2	72

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะบีต้า - 1, 4 ไกลโคซิดิค	8
ภาพที่ 2	โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและตำแหน่งการเข้าทำลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ	9
ภาพที่ 3	ลักษณะโครงสร้างของลิกนิน	10
ภาพที่ 4	การย่อยเซลลูโลสโดยการทำงานเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส	12
ภาพที่ 5	ลักษณะ ellipsoidal ascospores ภาพ SEM 1,500 เท่า	13
ภาพที่ 6	ลักษณะ perdium ที่ยื่นออกมาจากผนัง ascoma wall ภาพ SEM 1,000 เท่า	14
ภาพที่ 7	*Corynascus verrucosus* ลักษณะ conidia ภาพ SEM 2,200 เท่า	14
ภาพที่ 8	ลักษณะโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์	18
ภาพที่ 9	โครงสร้างแล็กโทส	18
ภาพที่ 10	โครงสร้างมอลโตเดกซ์ตริน	19
ภาพที่ 11	แผนผังแปลงทดลองภาคสนาม	30
ภาพที่ 12	แผนผังจุดการฝังกลบถุงตาข่ายไนล่อน	31
ภาพที่ 13	แผนผังวิธีการดำเนินการวิจัย	34
ภาพที่ 14	ปริมาณเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา	38
ภาพที่ 15	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา	39
ภาพที่ 16	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา	41
ภาพที่ 17	ค่าคงที่อัตราการสลายตัว (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1	53
ภาพที่ 18	ค่าคงที่อัตราการสลายตัว (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2	59

บทที่ 1
บทนำ

1.1 หลักการเหตุผล

ดินในพื้นที่เกษตรกรรมของประเทศไทย มีปริมาณอินทรียวัตถุในดินจัดอยู่ในระดับต่ำ (น้อยกว่า 1.5 เปอร์เซ็นต์) จนถึงปานกลาง (1.5 - 3.5 เปอร์เซ็นต์) คิดเป็น 62.33 และ 33.02 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนข้อมูลทั้งหมด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2558) สาเหตุจากการใช้ประโยชน์ทางการเกษตรอย่างต่อเนื่อง ขาดการปรับปรุงบำรุงดิน และการอนุรักษ์ดินและน้ำ เป็นสาเหตุที่สำคัญทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุอาหารพืช และอินทรียวัตถุถูกน้ำชะล้างลงสู่แม่น้ำลำคลอง รวมทั้งเกษตรกรใช้พื้นที่การเพาะปลูกติดต่อกันเป็นเวลานาน โดยไม่มีการเพิ่มอินทรียวัตถุลงในดิน ดังนั้นการเพิ่มอินทรียวัตถุจากเศษวัสดุเหลือใช้ในพื้นที่เกษตร จะเป็นแนวทางการพัฒนางานด้านบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุที่มีต้นทุนต่ำ ลดต้นทุนการขนส่งอินทรียวัตถุจากภายนอกพื้นที่ โดยเฉพาะพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ มีความต้องการสูงในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ เช่น โรงงานอาหารสัตว์ ธุรกิจฟาร์มเลี้ยงปศุสัตว์และสัตว์น้ำ และธุรกิจอาหารแปรรูปผลิตภัณฑ์จากสัตว์และสัตว์น้ำเพื่อการบริโภค ทั้งภายในประเทศ และการส่งออก นอกจากนี้ ความต้องการของอาหารสัตว์ที่เพิ่มขึ้น ในปี 2563 ประเทศไทยมีมูลค่าตลาดอาหารสัตว์ส่งออกอยู่ที่ 9,000 ล้านเหรียญสหรัฐ และคาดการณ์ว่าจะขยายตัวเป็น 12,000 ล้านเหรียญสหรัฐ ในปี 2569 ซึ่งมีอัตราเติบโต 4.2 เปอร์เซ็นต์ (CAGR : Compound Annual Growth Rate) ทั้งภาครัฐและเอกชนมีการส่งเสริมให้เกษตรกรขยายพื้นที่เพาะปลูกเพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการของตลาด โดยในปี 2564 ประเทศไทยมีเนื้อที่เพาะปลูกรวม 7.09 ล้านไร่ ผลผลิต 4.99 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) เมื่อเก็บเกี่ยวส่วนฝักไปใช้ประโยชน์ ส่วนที่เหลือ ได้แก่ ตอซังข้าวโพด เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีอยู่เป็นจำนวนมากที่เหลือทิ้งในไร่นา คิดสัดส่วนมวลชีวภาพของต้น ตอ และใบ เป็น 1.245 ตันต่อตันผลผลิต (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) โดยมีเศษวัสดุต้น ตอ และใบ คิดเป็น 6.04 ล้านตัน มีการนำมาใช้ประโยชน์ผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์ แต่ยังมีเศษวัสดุเหลืออีกมากที่ไม่มีการนำมาใช้ประโยชน์ ส่วนใหญ่เกษตรกรจะปล่อยทิ้งไว้และเผาทิ้ง ซึ่งก่อให้เกิดควันจากการเผาไหม้ทำลายชั้นบรรยากาศของโลก และสุขภาพประชากรในชุมชนที่อาศัยในพื้นที่ ซึ่งกลายเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของปัญหาวิกฤติหมอกควันของประเทศทุกปี จากสถิติในอดีตถึงปัจจุบัน ส่งผลกระทบต่อคุณภาพสิ่งแวดล้อม และปัญหาดินเสื่อมโทรมอย่างต่อเนื่อง ดังนั้น แนวทางการหมุนเวียนธาตุอาหาร และเพิ่มอินทรียวัตถุในดินจากเศษซากพืชในพื้นที่เกษตรกรรม เป็นวิธีการจัดการด้านการบำรุงดินที่ไม่ต้องหาอินทรียวัตถุจากภายนอก ใช้เศษพืชเป็นแหล่งอินทรียวัตถุและธาตุอาหารพืช เพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ดินได้เป็นอย่างดี แต่การใช้ประโยชน์เศษพืชด้วยวิธีการไถกลบเป็นการปฏิบัติที่ต้องใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายของเศษพืชก่อนการปลูกในฤดูต่อไป ในปัจจุบันกรมพัฒนาที่ดินมีคำแนะนำการไถกลบตอซังข้าวร่วมกับการใช้น้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากสารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 โดยใช้เวลาในการหมักตอซัง 20 วัน อย่างไรก็ตาม เกษตรกรในหลายพื้นที่อาจยังไม่ได้ปฏิบัติ เนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาในการผลิตน้ำหมักชีวภาพ อีกทั้งการย่อยสลายจะต้องมีความชื้นในดินสูง ซึ่งเศษซากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีปริมาณเยื่อใยสูง 79 - 89 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนต่ำ 2.3 - 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าคาร์บอนต่อไนโตรเจน 62 ไนโตรเจน 0.53 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 2.21 เปอร์เซ็นต์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) เมื่อประเมินจากมวลชีวภาพของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เฉลี่ย 876 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นไนโตรเจน 4.65 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.31

กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 19.37 กิโลกรัมต่อไร่ หากเผาตอซังทิ้งเหลือเป็นขี้เถ้านั้น ไนโตรเจนจะถูกทำลายไปกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 20 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 23 เปอร์เซ็นต์ เหลือธาตุอาหารพืชคิดเป็นไนโตรเจน 4.65 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.31 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 19.37 กิโลกรัมต่อไร่ ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์อินทรีย์สารสำหรับการบำรุงดินเพิ่มอินทรียวัตถุจากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ทำให้เกิดการย่อยสลายที่เร็วขึ้น เป็นแนวทางการจัดการที่มีต้นทุนต่ำ เพื่อหมุนเวียนธาตุอาหารเศษซากพืชกลับมาใช้ประโยชน์ เพื่อเป็นแหล่งอินทรียวัตถุ ธาตุอาหารของพืช และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน

การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ต่าง ๆ ให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ เป็นแหล่งอินทรียวัตถุ โดยตอซังพืชมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลส ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะบีต้า - 1, 4 ไกลโคซิดิค (สุทธิดาและ ผกามาส, 2558) องค์ประกอบดังกล่าวจะสามารถย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เช่น เชื้อรา *Corynascus* sp. เป็นราที่มีประสิทธิภาพผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง และทนต่ออุณหภูมิสูงในกระบวนการหมักได้เป็นอย่างดี สามารถใช้ประโยชน์พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสเชิงอุตสาหกรรม (Brink *et al.*, 2012) อีกทั้งกิจกรรมเซลลูเลสสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้เริ่มแรกของการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน การย่อยสลายเซลลูโลสในดินโดยจุลินทรีย์ช่วยปรับปรุงคุณภาพดิน และระบบนิเวศทางการเกษตรได้

ดังนั้นการวิจัยพัฒนาการใช้ประโยชน์เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส การศึกษาวิธีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสรูปแบบผงละลายน้ำที่ใช้ประโยชน์ได้ง่าย ศึกษาอัตราวิธีการใช้ประโยชน์ และทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดในสภาพแปลง ต่อการย่อยสลายเศษพืช สมบัติทางเคมีดิน การเจริญเติบโต ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ เป็นต้นแบบแนวทางการจัดการวัสดุเหลือใช้ในไร่นาด้วยเทคโนโลยี และผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม สามารถหมุนเวียนเศษซากพืชกลับมาใช้ประโยชน์เพิ่มอินทรียวัตถุและธาตุอาหารพืช เพื่อฟื้นฟูคุณภาพดิน ลดปัญหาดินเสื่อมโทรม เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ช่วยรักษาทรัพยากรดินได้อย่างยั่งยืน และสามารถถ่ายทอดสู่เกษตรกร เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1) เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ

2) เพื่อศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก

3) เพื่อศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพแปลงทดลอง

4) เพื่อศึกษาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

1.3 ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม พ.ศ. 2564 - มีนาคม พ.ศ. 2566

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การดำเนินการวิจัยได้กำหนดขอบเขตการวิจัย ดังนี้

1) การศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อราด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง solid - state fermentation (SSF) เพื่อเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อราชนิดแข็ง 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้ คัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

2) การศึกษาสารปกป้องเซลล์เชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ จากสารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน ด้วยวิธีทำผงแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความคงสภาพความมีชีวิตของเชื้อรา และเอนไซม์เซลลูเลสและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

3) การศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก เพื่อคัดเลือกอัตราและวิธีการที่ดีที่สุด นำไปทดสอบต่อในแปลงทดลองภาคสนาม

4) การศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลอง ดำเนินการ 2 ฤดูปลูก แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

4.1) การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองในสภาพแปลงทดลอง

4.2) การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพแปลงทดลอง

5) ศึกษาผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพแปลงทดลอง 2 รอบการเพาะปลูก

บทที่ 2
ข้อมูลทั่วไป

2.1 สภาพพื้นที่แปลงทดลอง

สมบัติดินในพื้นที่ศึกษา มีรายละเอียดดังนี้

สมบัติดินที่พบในพื้นที่ศึกษา (กรมพัฒนาที่ดิน, 2557; กรมพัฒนาที่ดิน, 2559; กรมพัฒนาที่ดิน, 2562)

ชุดดินนครปฐม (Np)	กลุ่มชุดดินที่ 7
การจำแนกดิน (USDA)	Fine, mixed, active, isohyperthermic Aeric Endoaqualfs
วัตถุต้นกำเนิด	ตะกอนน้ำพา
สภาพพื้นที่	ราบเรียบถึงค่อนข้างราบเรียบ มีความลาดชัน 0 - 2 เปอร์เซ็นต์
การระบายน้ำ	ค่อนข้างเลว
การซึมผ่านได้ของน้ำ	ช้า
การไหลบ่าของน้ำบนผิวดิน	ช้า
ลักษณะสมบัติของดิน	เป็นดินลึก ดินบนเป็นดินร่วน ดินร่วนเหนียวปนทรายแป้ง หรือดินร่วนปนดินเหนียวสีน้ำตาลปนเทาหรือน้ำตาลเข้ม ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดถึงเป็นกรดเล็กน้อย (pH 5.0 - 6.5) ดินล่างตอนบนเป็นดินเหนียวหรือดินร่วนปนดินเหนียว สีน้ำตาลปนเทาเข้ม ปฏิกิริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นด่างปานกลาง (pH 6.5 - 8.0) ในตอนล่างจะพบมวลก้อนกลมของเหล็กและแมงกานีส รวมทั้งมวลก้อนกลมของปูนที่ระดับความลึกมากกว่า 80 เซนติเมตร พบจุดประสีน้ำตาลแก่ หรือน้ำตาลปนเหลืองตลอดชั้นดิน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

บทที่ 3
ตรวจเอกสาร

3.1 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

3.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เป็นพืชในวงศ์ (family) Gramineae เผ่า (tribe) Maydeae พืชในเผ่านี้มีลักษณะสำคัญ คือ มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่แยกกันแต่อยู่ภายในต้นเดียวกัน ข้าวโพดจัดอยู่ในสกุล (genus) *Zea* และชนิด (species) *mays* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* L. (ไสว, 2534) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2542) มีดังต่อไปนี้

ราก ข้าวโพดมีระบบรากฝอย (fibrous root system) ซึ่งเจริญมาจาก 2 ส่วน คือ รากที่เจริญมาจากคัพภะ เรียกว่า primary root เป็นรากที่พัฒนามาจากแรดิเคิล และมีรากแขนงแตกออกมาเรียกว่า secondary root นอกจากนี้ ยังมีรากที่เกิดขึ้นที่ scutellar node เรียกว่า seminal root รากทั้งหมดนี้มีการเจริญเติบโตในระยะเวลาสั้น ๆ ขณะข้าวโพดเป็นต้นกล้า และจะตายไปเมื่อต้นข้าวโพดโตขึ้น รากส่วนที่สอง คือ รากที่เจริญมาจากลำต้น เรียกว่า adventitious root โดยมีจุดกำเนิดรากที่ข้อส่วนล่างของลำต้น ข้อแรกที่เกิดรากชนิดนี้ คือ coleoptilar node โดยรากเหล่านี้จะเจริญเติบโตตลอดชีวิตของข้าวโพด ซึ่งสามารถเจริญแผ่กระจายรอบลำต้นโดยมีรัศมีประมาณ 1 เมตร และหยั่งลึกลงไปในดินได้ในช่วง 2.1 - 2.4 เมตร

ลำต้น (culm หรือ stalk) ประกอบด้วยข้อและปล้อง บริเวณข้อมีเนื้อเยื่อเจริญ จุดกำเนิดราก ตา และรอยกาบใบ ปกติลำต้นมีความสูงตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 2.5 เมตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นในช่วง 2.5 - 5.0 เซนติเมตร

ใบ ประกอบด้วยกาบใบและแผ่นใบ กาบใบจะหุ้มลำต้น ส่วนแผ่นใบจะแผ่กางออก มีเส้นกลางใบเรียกว่า mid rib ข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้ทนต่ออัตราการปลูกสูง มักมีลักษณะใบตั้ง แผ่นใบด้านบนมีขนเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการรับแสง ส่วนแผ่นใบด้านล่างจะเรียบ และมีปากใบจำนวนมาก

ดอก ข้าวโพดมีช่อดอกตัวผู้เรียกว่า tassel และช่อดอกตัวเมียเรียกว่า ear อยู่บนต้นเดียวกัน แต่แยกตำแหน่งกัน (monoecious plant) โดยช่อดอกตัวผู้อยู่ที่ส่วนยอดของลำต้นเป็นแบบ panicle มีแกนกลางช่อดอกเรียกว่า rachis ที่ rachis มีกิ่งแขนงชั้นแรกเกิดอยู่ และบนกิ่งแขนงนี้เป็นที่เกิดของกิ่งแขนงชั้นที่สอง ส่วนกลุ่มดอกย่อย (spikelet) เกิดเป็นคู่ คือ ชนิดที่มีก้าน (pedicelled spikelet) และไม่มีก้าน (sessile spikelet) แต่ละกลุ่มดอกประกอบด้วย 2 ดอกย่อย โดยดอกย่อยที่อยู่ส่วนบนมีการเจริญเติบโตดีกว่าดอกย่อยที่อยู่ส่วนล่าง แต่ละดอกย่อยประกอบด้วยกลีบดอกเล็มมา (lemma) และพาเลีย (palea) มีเกสรตัวผู้ 3 อัน เยื่อรองรังไข่ (lodicule) 2 อัน และเกสรตัวเมียที่ไม่ทำหน้าที่ (rudimentary pistil) อีก 1 อัน โดยทั่วไปดอกตัวผู้จะโปรยละอองเกสรอยู่นาน 5 - 8 วัน ส่วนช่อดอกตัวเมียหรือฝัก เกิดจากตาที่มุมใบข้อที่ 6 นับจากใบธงลงมา มีช่อดอกแบบ spike การพัฒนาของช่อดอกเริ่มขึ้นเมื่อข้าวโพดมีอายุ 40 - 45 วันหลังงอก ก้านฝักหรือก้านช่อดอก (shank) ถูกหุ้มด้วยกาบใบหรือเปลือกหุ้มฝัก (husk) โดยกลุ่มดอกตัวเมียเกิดเป็นคู่เรียงกันเป็นแถวยาวบนแกนกลางช่อดอกหรือซัง (cob) ดังนั้น ฝักข้าวโพดจึงมีจำนวนแถวของเมล็ดเป็นแถวคู่ กลุ่มดอกที่มีก้านสั้นถูกห่อหุ้มด้วยกลีบ (glume) สั้น ๆ 2 กลีบภายใน แต่ละกลุ่มมีดอกย่อย 2 ดอก ซึ่งดอกย่อยดอกบนเท่านั้นที่เจริญ แต่ละดอกย่อยประกอบด้วย lemma และ palea รวมเรียกว่า chaff ซึ่งมีเกสรตัวเมีย 1 อัน เยื่อรองรังไข่ 2 อัน และเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน (rudimentary stamen) 3 อัน ก้านเกสรตัวเมียยาว 10 -

30 เซนติเมตร เรียกว่า ไหม (silk) ไหมแต่ละเส้นจะมีขนที่สามารถรับละอองเกสรตัวผู้ได้ตลอดความยาว เส้นไหมบริเวณโคนฝักจะเกิดขึ้นก่อนตามด้วยส่วนกลางฝัก แต่เส้นไหมบริเวณกลางฝักจะยืดตัวโผล่พ้นกาบหุ้มฝักก่อน จึงได้รับการผสมก่อน ทำให้เมล็ดบริเวณกลางฝักมีความสมบูรณ์และขนาดใหญ่กว่าบริเวณโคน และปลายฝัก ไหมจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแห้งเหี่ยวเมื่อดอกได้รับการผสม โดยข้าวโพด 1 ฝัก จะมีไหม 400 - 1,000 เส้น ทำให้เกิดเมล็ด 400 - 1,000 เมล็ด

ผลและเมล็ด ผลเป็นแบบคาร์ออฟซิส (caryopsis) ที่มีเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) มีลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ ใส ไม่มีสี เยื่อหุ้มผล และเยื่อหุ้มเมล็ดรวม (hull) ข้าวโพดจะสะสมแป้งไว้ในส่วนของเอนโดสเปิร์ม ซึ่งการสะสมแป้งจะสิ้นสุดเมื่อข้าวโพดเจริญเติบโตถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา โดยจะปรากฏแผ่นเยื่อสีดำ หรือน้ำตาลดำ (black layer) ที่บริเวณโคนของเมล็ด

ข้าวโพดเป็นพืชที่ถูกจำแนกไว้ในกลุ่มที่มีกระบวนการสังเคราะห์แสงแบบ C_4 จึงทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของข้าวโพดสูง โดยมีจุดคอมเพนเซชันของคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide compensation point) ต่ำ และอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มของแสงจนถึงสภาพที่มีแสงแดดเต็มที่ โดยจะส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงของข้าวโพดสูงถึง 60 มก.CO_2/ดม.^{2}/ชม. (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

3.1.2 อิทธิพลของธาตุอาหารต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ข้าวโพดจะให้ผลผลิตสูงเมื่อได้รับธาตุอาหารอย่างเพียงพอและสมดุล ความต้องการธาตุหลักต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพด (ยงยุทธ และคณะ, 2551) ได้แก่

ไนโตรเจน (N) มีความสำคัญตั้งแต่การเจริญเติบโตของข้าวโพดระยะแรกจนถึงการสร้างเมล็ด โดยระยะที่ข้าวโพดต้องการธาตุไนโตรเจนมากที่สุด คือ ระยะที่ข้าวโพดออกดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พืชทางเคมี พบว่า ในช่วงอายุประมาณ 18 - 30 วัน และ 39 - 65 วัน ข้าวโพดมีการดูดใช้ไนโตรเจนสูงถึง 7 และ 50 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ดังนั้นถ้าในช่วงอายุการเจริญเติบโตดังกล่าว มีปริมาณธาตุไนโตรเจนในดินไม่เพียงพอ จะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของข้าวโพดได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ฟอสฟอรัส (P) ข้าวโพดเป็นพืชที่ตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสฟอรัสตลอดฤดูปลูก โดยมีความต้องการในระยะเริ่มแรกมากกว่าในระยะอื่น ๆ ส่วนในระยะที่ข้าวโพดออกดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ธาตุฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างความสมบูรณ์ให้กับส่วนต้นและเมล็ด นอกจากนี้ยังพบว่า การดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสจากดินของรากข้าวโพดจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งรากเจริญเติบโตเต็มที่ (กรมวิชาการเกษตร, 2548) อย่างไรก็ตาม ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่มีปัญหาด้านการขาดแคลนในดินไร่ทั่วไป โดยเฉพาะดินที่มีสภาพเป็นกรด สำหรับอัตราปุ๋ยฟอสฟอรัสที่ควรใส่ เพื่อยกระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จากเดิม สู่ระดับที่ข้าวโพดต้องการ พบว่า ระดับวิกฤตของฟอสฟอรัสในดินออกซิโซลส์ จากผลการวิเคราะห์ดินด้วยวิธี Mehlich 1 Bray 1 และ Bray 2 คือ 6 9 และ 10 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

โพแทสเซียม (K) เป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของลำต้น รวมทั้งการสร้างเมล็ด ซึ่งในสภาพดินที่ปลูกข้าวโพดในประเทศไทยส่วนใหญ่มักไม่ค่อยมีปัญหาด้านการขาดแคลนธาตุโพแทสเซียม โดยธาตุดังกล่าวนอกจากจะมีบทบาทในการสร้างเมล็ดแล้ว ส่วนที่เหลือมักถูกสะสมอยู่ในลำต้นเป็นส่วนใหญ่ และจะถูกไถกลบลงดินตามเดิม (กรมวิชาการเกษตร, 2548) อย่างไรก็ตาม พื้นที่ที่มีการปลูกข้าวโพดอย่างต่อเนื่องจะมีธาตุโพแทสเซียมอยู่ในเกณฑ์ต่ำ สำหรับระดับวิกฤตของธาตุโพแทสเซียมในดินอัลซิโซลส์ ซึ่งมีเนื้อดินเป็นดินร่วน และดินอัลติโซลส์ซึ่งมีเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทรายจะมีระดับวิกฤตของธาตุโพแทสเซียมประมาณ 55 และ 45 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

สำหรับธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริม พบว่า ข้าวโพดต้องการในปริมาณที่ไม่มากนัก เพราะในดินส่วนใหญ่มีธาตุอาหารดังกล่าวในปริมาณที่เพียงพอ ยกเว้น ในดินที่มีสภาพไม่เหมาะสม อาจส่งผลให้ข้าวโพดขาดธาตุอาหารกลุ่มดังกล่าวได้ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2542)

3.1.3 พื้นที่ปลูกและปริมาณวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย

จากพื้นที่ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื้อที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ของประเทศไทย โดยคิดจากเมื่อเก็บเกี่ยวส่วนฝักไปใช้ประโยชน์ ส่วนที่เหลือ ได้แก่ ตอซังข้าวโพด (corn stover) เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีอยู่เป็นจำนวนมากที่เหลือทิ้งในไร่นา คิดสัดส่วนมวลชีวภาพของต้น ตอ และใบ เป็น 1.10 ตันต่อตันผลผลิต ซังและเปลือก 0.37 ตันต่อตันผลผลิต (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) จากค่าเฉลี่ยผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทย ตั้งแต่ปี 2559 - 2564 มีพื้นที่เพาะปลูก 6.85 ล้านไร่ ผลผลิตต่อไร่ของประเทศไทย ปี 2559/60 - 2564/65 เฉลี่ย 4.77 ล้านตัน เมื่อประเมินปริมาณเศษวัสดุเหลือทิ้งจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีปริมาณเศษวัสดุจากต้น ตอ และใบ คิดเป็น 5.25 ล้านตันต่อปี ซังและเปลือก คิดเป็น 1.77 ล้านตันต่อปี ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื้อที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ของประเทศไทย ปี 2559/60 - 2564/65

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (ล้านไร่)	ผลผลิต (ล้านตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)
2559/60	6.49	4.39	676
2560/61	6.58	4.82	733
2561/62	6.93	5.07	732
2562/63	7.02	4.54	646
2563/64	7.03	4.81	684
2564/65*	7.06	4.96	703
ค่าเฉลี่ย	6.85	4.77	695.67

ที่มา : *ประมาณการ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2564)

การใช้ประโยชน์จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในรูปแบบต่าง ๆ คือ เมล็ด ซัง ต้นสด ต้นแก่ และผลพลอยได้อื่น ๆ จากโรงงานอุตสาหกรรมข้าวโพด ได้แก่ เปลือกเมล็ด กาก และรำ เป็นต้น ในประเทศไทยปัจจุบันมีโรงงานอาหารสัตว์ใช้ข้าวโพดเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ของอาหารสัตว์ แหล่งผลิตในประเทศที่สำคัญ ภาคเหนือ ได้แก่ เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ พิษณุโลก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา ศรีสะเกษ ภาคกลาง ได้แก่ สระบุรี ลพบุรี ภาคตะวันตก ได้แก่ สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ภาคตะวันออก ได้แก่ สระแก้ว จันทบุรี

3.1.4 องค์ประกอบทางเคมีวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

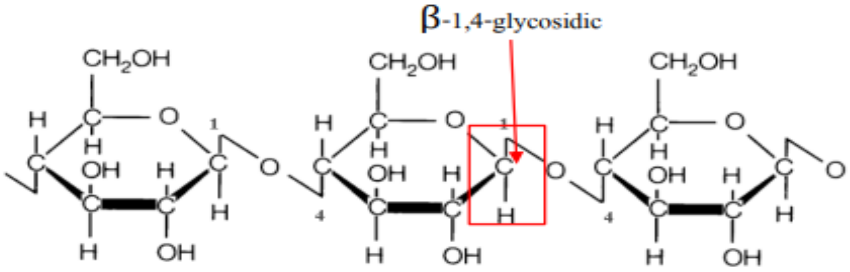
องค์ประกอบทางเคมีของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากส่วนของวัสดุเศษเหลือจากเปลือกและซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีองค์ประกอบทางเคมีประกอบด้วยวัสดุแข็งร้อยละ 89.2 โปรตีนร้อยละ 4.20 ไขมันร้อยละ 3.40 เยื่อใยร้อยละ 25.7 เซลลูโลสร้อยละ 40 - 60 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 20 - 30 และลิกนินร้อยละ 15 - 30 (เมฆ และคณะ, 2553; เสาวลักษณ์ และคณะ, 2555) โดยเศษเหลือจากการผลิตข้าวโพด เช่น ต้นข้าวโพด

เปลือกฝักข้าวโพด และไหม มีมากในเกือบทุกภาคของประเทศไทย และเกือบตลอดทั้งปี จากรายงานของกรมพัฒนาที่ดิน (2551) พบว่า ค่าวิเคราะห์เคมีของต้นข้าวโพดประกอบด้วยปริมาณไนโตรเจน 0.53 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียม 2.21 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 62 จึงจัดเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ย่อยสลายได้ง่าย ดังนั้นวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นแหล่งอินทรียวัตถุ และธาตุอาหารพืชที่สำคัญ เพื่อใช้ในการปรับปรุงบำรุงดิน เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน

3.1.5 โครงสร้างของเยื่อใยในพืชประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน ได้แก่

1) เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในธรรมชาติ ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับเนื้อเยื่อของผนังเซลล์พืช เช่น ใบผัก ก้านผัก เปลือกของผลไม้ และธัญพืช พบมากที่สุดในส่วนของผนังเซลล์ชั้นที่สอง (secondary cell wall) และจะมีปริมาณลดต่ำลงในส่วนของ Middle lamella เนื่องจากเซลลูโลสประกอบด้วยกลูโคสเพียงชนิดเดียว และเป็น โพลิเมอร์สายตรง จึงไม่มีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา ซึ่งเซลลูโลสเป็นโฮโม - โพลีเมอร์ homo - polymer ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1, 4-glucosidic linkage (ภาพที่ 1) สำหรับเอนไซม์ที่มีส่วนในการย่อยสลายเซลลูโลสประกอบด้วยเอนไซม์ที่ย่อยภายนอกเซลล์ คือ เอกโซกลูคาเนส (Exo-glucanases) (cellobiohydrolyases, exo-1, 4-β-glucanases) จะทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสจากทางด้านปลายทั้งสองข้างให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเซลโลไบโอส (cellobiose) และเอนไซม์ที่ย่อยภายในเซลล์ คือ เอนโดกลูคาเนส (Endo-glucanases) (endo-1, 4-β-glucanases) จะทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเบต้า1, 4-ไกลโคซิดิก (β-1, 4-glycosidic bonds) ซึ่งอยู่ภายในเซลลูโลส ส่วนเอนไซม์เซลโลไบเอส (cellobiases) หรือ β-glucosidascs) จะทำหน้าที่ย่อยสลายสายสั้น ๆ ของเซลโลไบโอส และ cellooligosaccharides ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายของเซลลูโลส



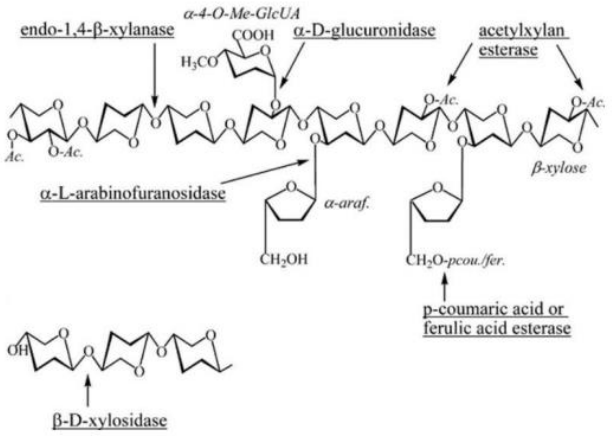
ภาพที่ 1 การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะบีต้า - 1, 4 ไกลโคซิดิค
ที่มา : Chem Sources Ltd. (2006)

สำหรับโมเลกุลของเซลลูโลสที่เรียงต่อกันเป็นมัด ๆ เรียกว่า Fibril เกิดจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคสที่อยู่ใกล้กันในแต่ละสาย และแต่ละ Fibril เรียกว่า Microfibril ซึ่งแต่ละ Fibril ยึดต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน การยึดกันของโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสจะแข็งแรง และทนทานต่อสารเคมี ทำให้การสลายตัวของเซลลูโลสที่มีอยู่ในผนังเนื้อเยื่อเกิดขึ้นได้ยาก ซึ่งจะพบมากที่สุดที่ผนังเซลล์ชั้นที่สอง นอกจากนี้เป็นตัวสร้างพันธะระหว่างเส้นใย เซลลูโลสมีหมู่ไฮดรอกซิลถึง 3 หมู่ ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจน

ซึ่งมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมาก จึงทำให้เซลลูโลสมีลักษณะเป็นผลึกสูง มีอุณหภูมิในการหลอมละลายสูง และมีความสามารถในการละลายที่ต่ำ เซลลูโลสมีการจัดเรียงตัวอยู่ 2 แบบ คือ อยู่รวมตัวกันเป็นกระจุก (crystalloids) ทำให้โครงสร้างอัดกันแน่นเรียงตัวเป็นชั้น (parallel) การย่อยสลายจึงเกิดได้ค่อนข้างยาก และเป็นโครงสร้างอยู่รวมกันหลวม ๆ (amorphous) ทำให้เกิดการย่อยสลายได้ง่าย การย่อยสลายเส้นใยเซลลูโลสสามารถใช้วิธีทางเคมีโดยการใช้กรดในการตัดพันธะ หรือการใช้ตัวเร่งทางชีวภาพอย่างเซลลูเลส (cellulase) ในการตัดพันธะได้ (Food network solution, 2015)

2) เฮมิเซลลูโลส (hemi-cellulose)

เฮมิเซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ พบมากรองจากเซลลูโลส โดยพบประมาณร้อยละ 20 - 30 ในผนังเซลล์พืช สามารถสกัดได้ด้วยสารละลายที่เป็นด่าง เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ ในกลุ่ม hetero-polysaccharide ประกอบด้วยไซแลน (xylan) กลูโคแมนแนน (glucomannan) กาแล็กแทน (galactans) และ กลูแคน (glucan) โดยเฮมิเซลลูโลสจะประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดเชื่อมต่อกัน ซึ่งน้ำตาลส่วนใหญ่ ได้แก่ D-xylose D-mannose D-galactose D-glucose L-arabinose 4-0-menthyl-D-glucuronic acid D-galacturonic acid และ D-glucuronic acid เนื่องด้วยเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลที่แตกต่างกัน จึงทำให้เฮมิเซลลูโลสมีลักษณะเป็นสายโซ่ที่มีความแตกต่างกันมากกว่า 250 แบบ น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเฮมิเซลลูโลสที่พบไม่มากนัก เช่น L-rhamnose L-fucose และ methyl neutral sugar โดยมีพอลิแซ็กคาไรด์ที่สำคัญในเฮมิเซลลูโลส คือ ไซแลน ซึ่งไซแลนประกอบด้วย D-xylopyranose ประมาณ 200 หน่วยต่อกันด้วยพันธะ β-1, 4-glycosidic linkage เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายด้วยกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเช่นกัน เนื่องจากโครงสร้างของไซแลนทำให้การย่อยสลายเกิดได้ยาก จึงต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่มย่อยไซแลน ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโครงสร้างหลัก (ภาพที่ 2) ได้แก่ endo-1, 4-3-xylanases และ β-D-xylosidase และเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโซ่กิ่ง ได้แก่ α - glucuronidase, acethylxylan esterase, α-arabinofuranosidase และ phenolic acid esterase โดยเอนไซม์ทั้งสองกลุ่มทำงานร่วมกันในการเปลี่ยนไซแลนให้เป็นน้ำตาลไซโลส (xylose) (Beg *et al.*, 2001)

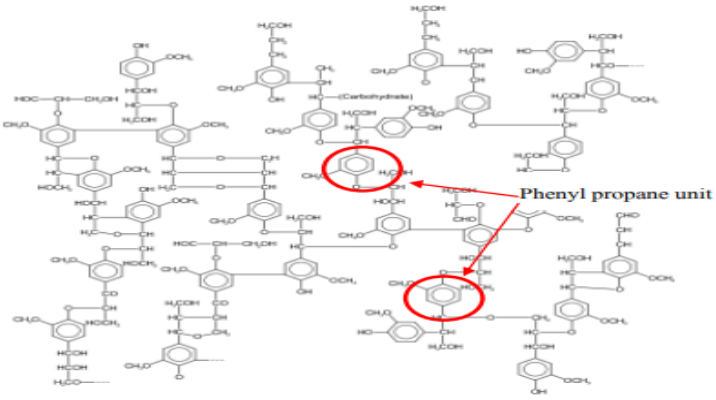


ภาพที่ 2 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและตำแหน่งการเข้าทำลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ
ที่มา : Collins *et al*. (2005)

3) ลิกนิน (lignin)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ลิกนิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อนประกอบด้วยคาร์บอนไฮโดรเจน และออกซิเจน รวมกันเป็นหน่วยย่อยซึ่งเป็นสารอะโรมาติก (ภาพที่ 3) เนื่องจากลิกนินไม่สามารถละลายน้ำ ไม่มีคุณสมบัติในการยืดหยุ่นจึงทำให้โครงสร้างของพืชที่มีปริมาณลิกนินสูง จะมีความแข็งแรงทนทาน ลิกนินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในโครงสร้างของเนื้อเยื่อพืช โดยพบในส่วนของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง อยู่ร่วมกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบของเปลือก ซัง หรือส่วนของราก และลำต้น จะถูกสร้างจากส่วนโคนดันไปสู่ยอด เมื่อพืชมีอายุมากขึ้น ปริมาณลิกนินจะเพิ่มมากขึ้นด้วย (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2552) โดยพืชที่มีปริมาณลิกนินสูงจะมีความแข็งแรงมาก ในขณะที่พืชที่มีอายุมากจะมีปริมาณลิกนินที่สูงเช่นเดียวกัน ในธรรมชาติลิกนินจะช่วยห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากศัตรูทำลายเนื้อไม้ อีกทั้งเป็นตัวเพิ่มความแข็งแรงของผลึกลิกโนเซลลูโลส ดังนั้นต้องปรับสภาพไม้เพื่อลดปริมาณลิกนินก่อนการเปลี่ยนแปลงเซลลูโลสเป็นกลูโคส (Singh *et al*., 2014)



ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของลิกนิน
ที่มา : Food network solution (2015)

3.2 ความสำคัญของเอนไซม์เซลลูเลส

3.2.1 เอนไซม์

เอนไซม์เป็นชีวโมเลกุลที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในระบบชีวภาพ สามารถเปลี่ยนแปลงซับสเตรต (substrate) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติ คือ เอนไซม์เซลลูเลส จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศถือเป็นผู้ย่อยสลายอินทรียสาร (Georgieva *et al.,* 2005) ดังนี้

1) เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)

ลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ผสม (multicomponent enzyme) ประกอบด้วยเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด ทำงานร่วมกัน (ภาพที่ 4) ดังนี้ (เปี่ยมสุข, 2551)

1.1) เอนไซม์ C_1 หรือ ไฮโดรเจน บอนเดส (hydrogen bondase) ทำหน้าที่กระตุ้นหรือย่อยเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติให้เป็นสายโพลีแซคคาไรด์สั้นๆ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง และมีสภาพที่เหมาะสมสำหรับเป็นซับสเตรตของเอนไซม์เซลลูเลสอันดับต่อไป คือ บีต้า-1, 4-กลูคาเนส (β-1, 4-glucanase)

1.2) เอนไซม์ Cx หรือ บีต้า-1, 4-กลูคาเนส เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโพลีแซกคาไรด์สายสั้น ๆ จนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ๆ จะสามารถย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose) แต่ไม่สามารถย่อยสลายซับสเตรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ เอนไซม์

กลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ เอนโด-บีต้า-1, 4-กลูคาเนส (endo-β-1, 4-glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลสทั้งที่มีโครงสร้างที่มีการจัดเรียงตัวแบบไม่เป็นระเบียบ (amorphous) และแบบเป็นระเบียบ (crystalline) ซึ่งจะทำลายพันธะที่ตำแหน่ง β-1, 4-glucanase linkage บริเวณที่เป็น amorphous หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และเซลโลไบโอส สายสั้น ๆ แบบสุ่ม ทำให้ได้กลูโคส และโอลิโกเมอร์ชนิดเซลโลไบโอสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก และกลุ่มที่ 2 เอกโซ-บีต้า-กลูคาเนส (Exo-β-1, 4-glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารโพลิเมอร์ จากปลายด้านที่เป็นนอนรีดิวซ์ (non - reducing) และรีดิวซ์ (reducing end) ทีละโมเลกุลอย่างจำเพาะกับโครงสร้างในลักษณะ crystalline cellulose และมีการเปลี่ยนแปลง configuration ของสารจาก β-configuration ไปเป็น **α**-configuration ทำให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอส และกลูโคส

1.3) เอนไซม์บีต้า-กลูโคซิเดส (β-glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก Cx ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอสและเซลโลเฮกโซส (cellohexose คือ กลูโคสจาก 2 - 6 ยูนิต) ได้เป็นกลูโคส สามารถย่อยสลายกรดเซลลูไบโอนิก (cellubionic acid) ให้เป็นกลูโคโนแลกโตน (gluconolactone) และกลูโคส เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการทำงานร่วมกับเอนไซม์เอนโด และเอกโซ-บีต้า-1, 4-กลูคาเนส ที่จะย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส

2) คุณสมบัติทั่วไปของเอนไซม์เซลลูเลส (สุภาวดี, 2543)

2.1) เอนไซม์ Cx มีมวลโมเลกุล 42,000 เอนไซม์เอนโด-บีต้า-กลูคาเนส มีมวลโมเลกุล 23,000 - 58,000 เอนไซม์เอกโซ-บีต้า-กลูคาเนส มีมวลโมเลกุล 60,000 - 62,000 และเอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดส มีมวลโมเลกุล 76,000

2.2) เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50 องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนความร้อนบางชนิด มีความคงทนต่อค่าพีเอชในช่วงระหว่าง 4.0 - 9.0 แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ และความคงทนต่อสารเคมี ละลายน้ำได้แต่ถูกยับยั้งด้วยไอออนของโลหะหนัก - SH reagents, oxidizing reducing agents และโดยผลผลิตตัวเอง คือ กลูโคส

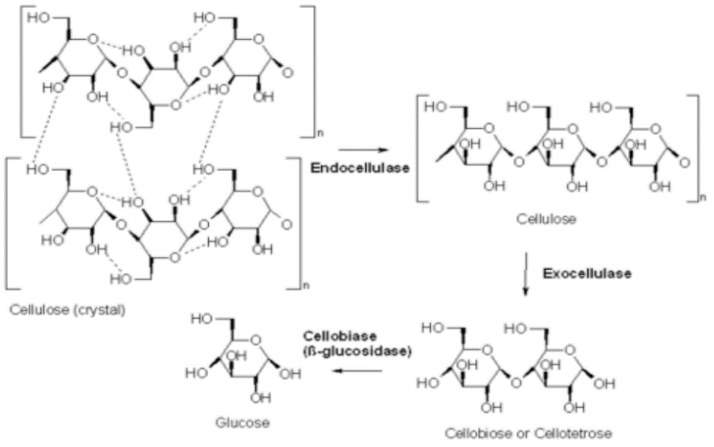
2.3) สามารถวัดกิจกรรมการทำงานจากการวัดหมู่รีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้ซับสเตรตที่ละลายน้ำได้ดี คือ ซับสเตรตสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

2.4) เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเจริญได้ดีที่ค่าพีเอชในช่วงระหว่าง 3.5 - 8.0 และที่อุณหภูมิระหว่าง 30 - 80 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ยังขึ้นกับปัจจัยอื่น ๆ ที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด

2.5) สามารถเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นานหลายปี หรือเก็บโดยวิธี freeze dry หรือตกตะกอนด้วยอะซิโตน หรือเอทานอล โดยไม่สูญเสียคุณสมบัติ

3) การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เป็นกระบวนการย่อยสลายที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มเซลลูเลสที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ β-1, 4-glucosidic linkage ภายในโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสหน่วยเล็กที่สุดหากการย่อยสลายสมบูรณ์จะได้น้ำตาลกลูโคส (พิจิตรา และคณะ, 2548)



ภาพที่ 4 การย่อยเซลลูโลสโดยการทำงานเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส
ที่มา : Food network solution (2015)

3.2.2 เชื้อราสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

จุลินทรีย์มีความสำคัญในการย่อยเซลลูโลสมากโดยเฉพาะเชื้อรา เนื่องจากเซลลูโลสมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีสายยาว จุลินทรีย์ไม่สามารถนำเข้าในเซลล์ได้โดยตรง ดังนั้นจุลินทรีย์ต้องสร้างเอกซ์ตราเซลลูลาร์เอนไซม์ (extracellular enzyme) เป็นเอนไซม์ที่สลายเซลลูโลสได้ เรียกว่า เอนไซม์เซลลูเลส ออกมาย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ และสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ และเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศถือเป็นผู้ย่อยสลายอินทรียสาร (Georgieva *et al*., 2005) ช่วยคืนธาตุอาหารลงสู่ดิน ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางระบบนิเวศ (Alexopoulos *et al*., 1996) ราเป็นผู้ย่อยสลายที่สำคัญที่สุดของซากพืช และร้อยละ 75 ของการย่อยสลายของพื้นผิวอินทรีย์ต่าง ๆ ตอบสนองต่อภาวะการณ์ขาดน้ำบริเวณรอบ ๆ ราก และ/หรือ การตอบสนองต่อการลดลงของความชื้นในบรรยากาศ (Ananda and Sridhar, 2004; Kannangara and Deshappriya, 2005) มีความสามารถในการย่อยสลายส่วนประกอบของซากพืชที่สำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ลิกนิน และเซลลูโลส (Puranong *et al.,* 2007) ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด และกาบข้าวโพด มีองค์ประกอบเซลลูโลส 40 - 60 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 15 - 30 เปอร์เซ็นต์ (Cowling and Kirk, 1976; Kirk, 1983)

1) ชนิดของราที่ขึ้นบนซากพืชในแต่ละระยะของการย่อยสลาย 5 กลุ่ม ดังนี้ (Deacon, 1980)

กลุ่มที่ 1 เป็นปรสิต (parasite) ที่ไม่รุนแรง เช่น *Botrytis cinerea* *Alternaria tenuis* และ *Cladosporium oxysporum* ราเหล่านี้มีความสามารถในการใช้น้ำตาลและแป้งจากเนื้อเยื่อพืชยังคงมีชีวิต พบเจริญขึ้นบนส่วนของพืชที่ใกล้หลุดร่วงจากลำต้น ซึ่งอาจเพิ่มจำนวนและเจริญขยายขอบเขตได้อย่างกว้างขวางถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม รากลุ่มนี้มักหยุดการเจริญเติบโตเมื่อส่วนของพืชนั้นหลุดร่วงลงสู่พื้นดินหรือเมื่อพบกับการแข่งขันจากราที่เป็นซาโปรไฟต์ (saprophyte) ที่แท้จริง

กลุ่มที่ 2 เป็นราที่ดำรงชีพแบบซาโปรไฟต์ มีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของซากพืชที่มีโครงสร้างโมเลกุลไม่ซับซ้อนได้ดี แต่ยังมีขีดจำกัดในการย่อยสลายโพลิเมอร์ อาจพบเป็นกลุ่ม

แรกที่เจริญบนซากพืช หรือพบหลังจากรากลุ่มที่เป็นปรสิตที่ไม่รุนแรงหมดไปแล้ว ตัวอย่างรากลุ่มนี้ ได้แก่ *Mucor* sp. *Absidia* sp. และ *Rhizopus* sp. เป็นต้น

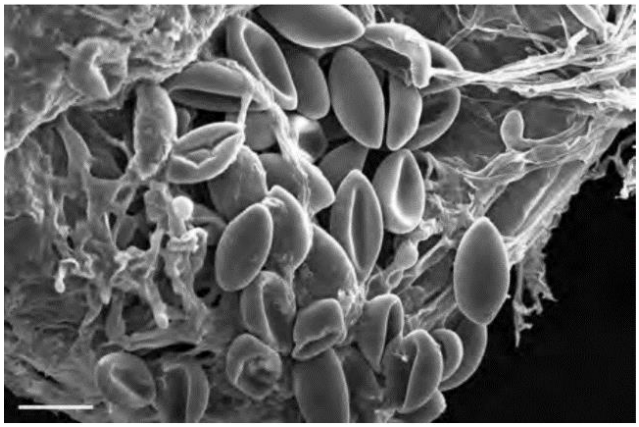
กลุ่มที่ 3 เป็นราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของซากพืชได้ดี มักพบเจริญหลังจากราที่ดำรงชีพแบบ saprophyte ตัวอย่างรากลุ่มนี้ ได้แก่ *Chaetomium* sp. *Fusarium* sp. และ *Stachybotrys* sp. เป็นต้น

กลุ่มที่ 4 เป็นราที่มีความสามารถในการย่อยสลายและใช้ประโยชน์ลิกนิน และบางครั้งก็มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสด้วย ซึ่งมักปรากฏเป็นกลุ่มสุดท้ายบนซากพืช รากลุ่มนี้ส่วนใหญ่อยู่ใน Subdivision Basidiomycotina

กลุ่มที่ 5 เป็นราที่เจริญร่วมกับราในกลุ่มที่ 3 หรือกลุ่มที่ 4 รากลุ่มนี้มักอยู่ใน Class Oomycetes และใน Subdivision Zygomycotina รวมทั้งราหลายชนิดใน Subdivision โดยอาจเป็นปรสิตเส้นใยของราชนิดอื่น หรือมีส่วนร่วมในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายซากพืชร่วมกับรากลุ่มอื่น อย่างไรก็ตาม กิจกรรมของรากลุ่มนี้ยากที่จะแบ่งแยกออกมาได้อย่างเด่นชัดเพราะบางครั้งก็สามารถเจริญได้โดยการใช้อาหารจากซากพืชโดยตรง

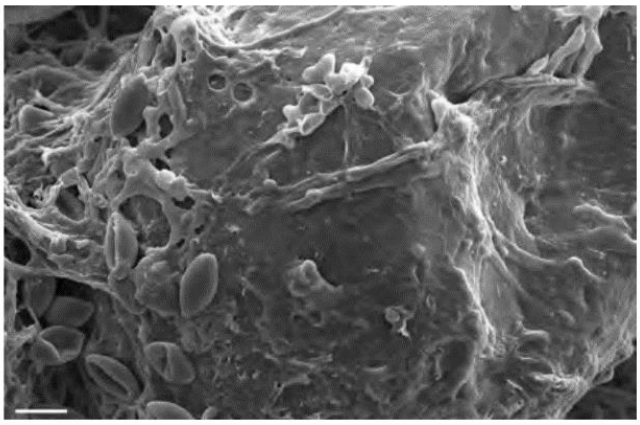
2) เชื้อราสายพันธุ์ *Corynascus* sp.

เชื้อราสายพันธุ์ *Corynascus* มีการกระจายอย่างจำกัดทั่วโลก ในอินเดียจนถึงปัจจุบันมีรายงาน *Corynascus* 3 ชนิด ได้แก่ *C. Sepedonium* *C. sexualis* และ *C. similis* ในประเทศอินเดีย *C. sepedonium* สามารถตรวจพบและแยกเชื้อได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่เกษตร ดินชายทะเล ป่าชายเลน และไรโซเพลนของพืช โดย *C. similis* สามารถแยกได้จากดินในพื้นที่ทางตอนเหนือของอินเดีย และมีรายงานการพบเชื้อ *Corynascus verrucosus* จากดินท้องถิ่นในพื้นที่อาร์เจนตินา (Stchigel *et al.,* 2000) ลักษณะสัณฐานวิทยาของ *Corynascus verrucosus* สามารถเจริญได้ดีอุณหภูมิระดับปานกลาง (Mesophilic) น้อยกว่า 20 - 45 องศาเซลเซียส จนถึงทนอุณหภูมิสูง (thermotolerant) 20 - 70 องศาเซลเซียส การสืบพันธุ์ของเชื้อราแบบ homothallic เป็นเชื้อรา thallus มี 2 เพศ สามารถสืบพันธุ์แบบมีเพศได้ มีแอสโคมาตา (ascomata) : เพอริเดียม (peridium) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 40 - 70 ไมโครเมตร มี asci ขนาด 25 - 38 x 21 - 32 ไมโครเมตร รูปร่าง ascospores ทรงรี ขนาด 11 - 18 x 6.5 - 9 ไมโครเมตร และมี conidia เส้นผ่าศูนย์กลาง 7 - 10 ไมโครเมตร สามารถพบเชื้อราชนิดนี้ได้จากดิน (Stchigel *et al.,* 2000; Brink *et al.,* 2012) (ภาพที่ 5 6 และ 7)

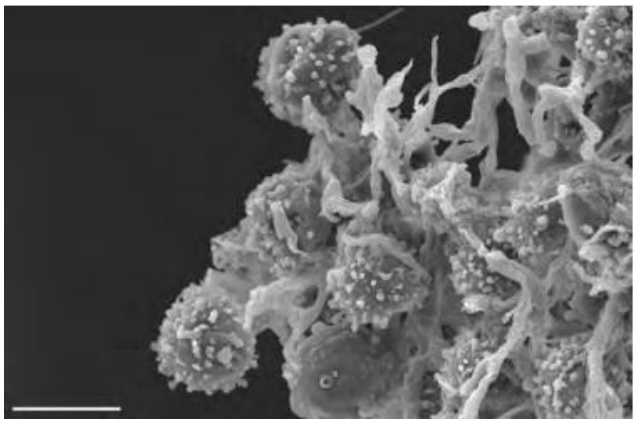


ภาพที่ 5 ลักษณะแอสโคสปอร์รูปทรงรี (Ellipsoidal ascospores) ภาพ SEM 1,500 เท่า
ที่มา : Stchigel *et al.* (2000)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 6 ลักษณะ perdium ที่ยื่นออกมาจากผนัง ascoma wall ภาพ SEM 1,000 เท่า
ที่มา : Stchigel *et al.* (2000)



ภาพที่ 7 *Corynascus verrucosus* ลักษณะสปอร์แบบโคนีเดีย (conidia) ภาพ SEM 2,200 เท่า
ที่มา : Stchigel *et al.* (2000)

จากรายงานประสิทธิภาพของเชื้อรา *Corynascus* พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร จากรายงานของ Soni *et al.* (2008) พบว่า เชื้อ *Corynascus verrucosus* มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งเศษกระดาษ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส 51.20 ยูนิตต่อกรัม สามารถสร้างเอนไซม์ไซราเนส (xylanase) 358 ยูนิตต่อกรัม และมีค่า Fpase 4.65 ยูนิตต่อกรัม ค่าเอนไซม์บีต้า - กลูโคซิเดส 11.40 ยูนิตต่อกรัม และค่า avicel adsorbable activity 24.80 ยูนิตต่อกรัม และจากรายงานของ Busk and Lange (2013) ได้ศึกษาการทำงานของเชื้อราทนร้อน สามารถคัดแยกได้หลายสายพันธุ์ เช่น *Chaetimium senegalense Corynascus thermophilus* และ *Melannocarpus albomyces* เป็นต้น มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและค่าพีเอชที่เอนไซม์สามารถทำงานได้อยู่ในช่วงค่าพีเอช 4 - 6 ปัจจุบันประเทศไทยมีรายงานการใช้ประโยชน์จากเชื้อรา *Corynascus verrucosus* มีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Teleomorph stage) มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (anamorph) จัดเป็นสกุล *Corynascus* ชอบอุณหภูมิสูงปานกลาง 20 - 45 องศาเซลเซียส ลักษณะการเจริญบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ด้านบนโคโลนีเป็นสีครีม ด้านล่างสีครีมน้ำตาล

และโคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 - 30 มิลลิเมตร โดยกรมพัฒนาที่ดิน (2556ก) ได้มีการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีกลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายซากหรือเศษเหลือจากพืช ผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยกิจกรรมจุลินทรีย์จนเปลี่ยนสภาพไปจากเดิมเป็นวัสดุที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เปื่อยยุ่ย เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร ที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลส และไขมันที่ย่อยสลายยาก เพื่อผลิตปุ๋ยหมักในเวลารวดเร็ว ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ของกรมพัฒนาที่ดิน ประกอบด้วยเชื้อรายย่อยเซลลูโลสจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Scytalidium thermophilum Chaetomium thermophilum Corynascus verrucosus* และ *Scopulariopsis breviacaulis* แอคติโนมัยซิสย่อยเซลลูโลส *Streptomyces* sp. 2 สายพันธุ์ และจุลินทรีย์ย่อยไขมัน ได้แก่ *Bacillus subtilis* 2 สายพันธุ์ โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์จะช่วยทำให้อัตราการย่อยสลายเศษพืชเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว ทำให้ช่วยลดเวลาในการทำปุ๋ยหมักให้สั้นลง

3.2.3 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์

กระบวนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์ สามารถแบ่งตามลักษณะอาหารในการเลี้ยงเชื้อ 2 ลักษณะ ดังนี้

1) การหมักในสภาพอาหารเหลว (submerged fermentation, SMF)

กระบวนการหมักในอาหารเหลวโดยใช้ถังหมักที่ประกอบด้วยส่วนของการให้อากาศ อาจมีลักษณะเป็นท่อเปิด หรืออาจมีใบพัด เพื่อช่วยในการเพิ่มอากาศ และกวนให้องค์ประกอบในถังหมักเข้ากันดี และอุปกรณ์ตรวจวัดปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และการเกิดฟอง แต่การหมักแบบเหลวนี้มีประสิทธิภาพต่ำ ในการหมักที่ใช้ลิกโนเซลลูโลส ค่าใช้จ่ายสูง และได้เอนไซม์ความเข้มข้นน้อยกว่าการหมักในสภาพอาหารแห้ง

2) การหมักแบบอาหารแข็ง (solid - state fermentation, SSF)

กระบวนการหมักแบบแห้งที่เกี่ยวข้องกับของแข็งในที่ไม่มีน้ำ หรือมีน้ำปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่พื้นผิวจะต้องมีความชื้นพอที่จะช่วยการเจริญ และการเผาผลาญอาหารของจุลินทรีย์ ยังช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ในธรรมชาติในของแข็งที่ชื้น การหมักแบบอาหารแข็งนิยมนำวัสดุเหลือทิ้งจากทางการเกษตร หรืออุตสาหกรรมเกษตร เพราะใช้พลังงานที่ต่ำกว่า มีน้ำเสียน้อย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และยังเป็นการแก้ไขปัญหาการกำจัดของเสียที่เป็นของแข็งอีกด้วย โดยการหมักแบบอาหารแข็ง มีข้อดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบอาหารเหลว เป็นการหมักที่ง่าย และลดค่าใช้จ่ายได้ อีกทั้งยังมีหลักการในการควบคุมของพารามิเตอร์ที่แตกต่างกัน เช่น ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ อากาศ การถ่ายโอนออกซิเจน และความชื้น ซึ่งวิธีหมักแบบอาหารแข็งไม่มีความซับซ้อน ซึ่งต่างจากการหมักแบบอาหารเหลว (Couto and Sanroman, 2006) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ข้อดีและข้อเสียของการหมักแบบอาหารแข็งและอาหารเหลว

ข้อดี	ข้อเสีย
ผลผลิตที่สูงขึ้น	มีการเคลื่อนย้ายค่อนข้างยาก
การไหลเวียนของออกซิเจนที่ดีขึ้น	มีประสิทธิภาพในการผสมต่ำ
วัตถุดิบที่ใช้ต้นทุนต่ำ	มีการควบคุมที่ค่อนข้างยากของพารามิเตอร์ใน
ไม่ต้องกำจัดน้ำที่เสียจากกระบวนการผลิต	กระบวนการ (pH, ความร้อน, ความชื้น
ใช้พลังงานน้อยและลดค่าใช่จ่าย	สารอาหาร, ฯลฯ)
เป็นกระบวนการหมักที่ง่าย	อาจมีปัญหาเกี่ยวกับความร้อนสะสม
เป็นการหมักที่คล้ายกับการเจริญของ	ถ้าหากผลิตภัณฑ์มีปนเปื้อนต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง
จุลินทรีย์ที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ	ในการกำจัด

ที่มา : Couto and Sanroman (2006)

ดังนั้นการหมักแบบอาหารแข็งเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์ จากรายงานการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อ *Trichoderma reesei* *Aspergillus niger* และเชื้อราผสม โดยใช้วิธีการหมักแห้ง โดยใช้ขี้เลื่อย และผักตบชวา เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า การเลี้ยง *Trichoderma reesei* แบบเดี่ยวมีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงกว่า โดยใช้เวลาหมัก 10 วัน จะสร้างเอนไซม์ได้สูงสุด และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในถังหมักจะมีการสร้างเอนไซม์ได้เพิ่มขึ้น 2 - 3 เท่า ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเชื้อราผสมทั้งสองสายพันธุ์จะให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้เพิ่มมากขึ้น (Deshpande *et al.,* 2008) และการศึกษาเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius เพื่อผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส และไซแลนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบอาหารแข็ง สามารถผลิตเอนไซม์ FPase (Filter paper activity) CMCCase (Carboxymethyl cellulase) β-xylanase และ β-xylosidase ได้ 19.40 24.60 15.70 และ 2.30 หน่วยต่อกรัมวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ เมื่อเจริญในอาหารที่มีฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน (วิเชียร และคณะ, 2535)

3.3 เทคโนโลยีรูปแบบผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

3.3.1 เทคนิคการผลิตแบบแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) ด้วยวิธี freeze dried technology

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) หมายถึง การทำให้แห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง โดยทำให้น้ำที่อยู่ในเซลล์ซึ่งเป็นของเหลวเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งที่เป็นผลึกน้ำแข็งเล็ก ๆ ก่อน จากนั้นจะทำการลดความดันสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งสามารถระเหิด (sublimation) กลายเป็นไอ โดยภายใต้อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะทำให้น้ำแข็งเกิดการระเหิดที่ความดัน 4.7 มิลลิเมตรปรอท หรือต่ำกว่า โดยการเก็บรักษาด้วยการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เป็นวิธีการเพื่อให้ได้ความเสถียรที่เหมาะสมที่สุด แต่เทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ในการรักษาสภาพเส้นใยและสปอร์ของเชื้อต้องสารปกป้องสภาพเชื้อราที่เหมาะสม ในการปกป้องเซลล์จากการทำลายของน้ำแข็ง ดังนั้นการเลือกใช้สารปกป้องที่เหมาะสม จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง เพื่อรักษาเสถียรภาพเส้นใยเชื้อรา ให้อยู่ในสภาพคงความมีชีวิตรอดได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ลักษณะทางสรีรวิทยา หรือกายวิภาค การเก็บรักษาโดยการทำให้แห้งภายใต้แรงดันที่ลดลงจากสภาวะเยือกแข็งโดยการระเหิดของน้ำแข็ง เป็นเทคนิคการเก็บรักษาสปอร์ของเชื้อราที่ประสบความสำเร็จ ข้อดีของการทำแห้งแบบเยือกแข็งเหนือวิธีการอื่นๆ มีความคงตัวที่ดีของเซลล์

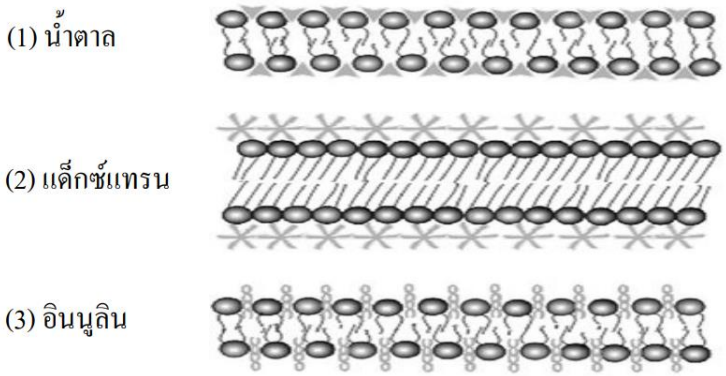
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

อายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน สามารถการจัดเก็บสะดวกในสภาพแวดล้อมของอุณหภูมิห้อง (Raper and Alexander, 1945)

3.3.2 สารปกป้องเซลล์ (protective agent)

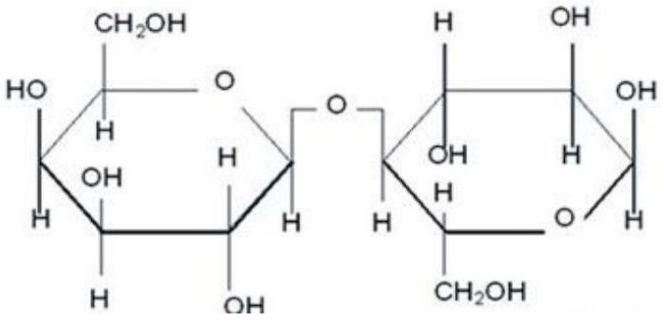
สารปกป้องเซลล์ หมายถึง ตัวกลางที่ใช้ในการห่อหุ้มจุลินทรีย์ เพื่อป้องกันจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม กระบวนการผลิตเพื่อเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ สารชีวภัณฑ์ หรือสารออกฤทธิ์ ที่ต้องผ่านกระบวนการผลิตรูปแบบต่าง ๆ เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย เชื้อจะต้องผ่านกระบวนการผลิตที่มีปัจจัยของอุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้อง เชื้ออาจถูกทำลายโดยอุณหภูมิสูง มีผลทำให้เซลล์ที่มีชีวิตมีจำนวนลดลงในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย การใช้สารปกป้องเซลล์เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ หรือการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยกลไกของสารปกป้องเซลล์ คือ การเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียไป และยึดเกาะกันเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงทำให้โครงสร้างของโมเลกุลมีความเสถียร จึงสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการทำแห้ง (Desmond *et al.,* 2002)

1) สารปกป้องเซลล์ประเภทคาร์โบไฮเดรต กลุ่มคาร์โบไฮเดรต (น้ำตาล) สามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสีย โดยพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลุ่มไฮดรอกซีของน้ำตาลมีความสัมพันธ์กับ phospholipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (Crowe *et al*., 1984) และจากรายงานของ Silva *et al.* (2004) พบว่า สารปกป้องเซลล์กลุ่มพอลิแซ็กคาร์ไรด์ สามารถแทรกเข้าชั้นในของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์มีความเสถียร และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และมีรายงานการใช้ซูโครสเป็นสารปกป้องเซลล์ *Lactobacillus delbrueckii* ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า จุลินทรีย์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังการทำแห้ง โดยมีกลไกของการป้องกันเซลล์ คือ การแทนที่น้ำของสารปกป้องเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต สารปกป้องเซลล์สามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียโดยโมเลกุลของน้ำตาลมีความจำเพาะและมีความสัมพันธ์กับ phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้โครงสร้างโมเลกุลมีความเสถียร และลดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อใช้น้ำตาลเป็นสารปกป้องเซลล์ และเมื่อใช้เดกซ์แทรนเป็นสารปกป้องเซลล์ พบว่า โมเลกุลของสารมีขนาดใหญ่ จึงไม่สามารถเข้าแทนที่ช่องว่างระหว่าง phospholipid headgroups ทำให้ไม่สามารถลดการเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า อินนูลินสามารถลดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ได้ โดยโมเลกุลของสารมีความยืดหยุ่น และสามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียได้ในระหว่างการทำแห้ง (Santivarangkna *et al.*, 2008) ดังภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ลักษณะโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์
ที่มา : Santivarangkna *et al.* (2008)

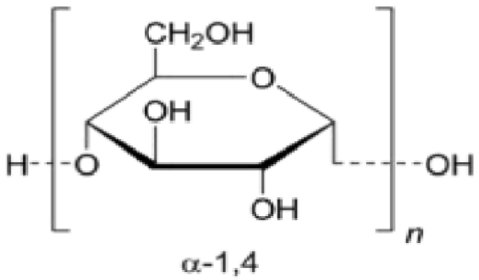
1.1) แล็กโทส (lactose) หรือ 4-0-β-D-galactopyranosyl-D-glucopyranose (ภาพที่ 9) เป็นน้ำตาลที่พบเฉพาะในน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเท่านั้น เรียกว่า milk sugar น้ำตาลแล็กโทสสามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้ด้วยเอนไซม์แล็กเทส (β-D-galactosidase) หรือด้วยกรดแก่ ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและกาแล็กโทส น้ำตาลแล็กโทสโมโนไฮเดรต (แอลฟา - ไอโซเมอร์) มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 202 องศาเซลเซียส ส่วนน้ำตาลแล็กโทสที่อยู่ในรูปแอนไฮดรัสแอลฟา - แล็กโทส และบีต้า - แล็กโทส มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 223 และ 252 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (นิธิยา, 2549) จากรายงานการผสมระหว่างเวย์โปรตีนกับน้ำตาลแล็กโทสเป็นสารปกป้องเซลล์ *Lactobacillus delbrueckii* ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า จุลินทรีย์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น (Rosenberg and Sheu, 1996 ; Young *et al*., 1993)



ภาพที่ 9 โครงสร้างแล็กโทส
ที่มา : Admin (2010)

1.2) มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin) เป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ได้จากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ช (starch) บางส่วนให้เป็นสายสั้น ๆ ของน้ำตาลกลูโคส (glucose) โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยหน่วย D - กลูโคสต่อกันเป็นสายยาวที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ **α**- (1-4) ไกลโคซิดิก มอลโตเดกซ์ตริน (ภาพที่ 10) แบ่งได้ตามค่าสมมูลเด็กซ์โทรส (dextrose equivalent, DE) คือ ปริมาณร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์

(reducing sugar) คิดเป็นปริมาณน้ำตาลเด็กโตรส (dextrose) ที่มีอยู่ในคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด มอลโตเดกซ์ตริน มีค่า dextrose equivalent อยู่ระหว่าง 5 - 20 นอกจากนี้ยังพบว่า มอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่า DE สูงจะทนต่อความร้อนได้น้อยกว่ามอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่า DE ต่ำ วัตถุดิบที่ใช้ผลิตมอลโตเดกซ์ตริน คือ แป้ง (starch) จากพืชต่าง ๆ เช่น แป้งมันสำปะหลัง (tapioca starch) แป้งข้าวโพด (corn starch) แป้งมันฝรั่ง (potato starch) โดยการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ชนิดแอลฟา - อะไมเลส มักใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส หรือมีรสหวานเล็กน้อย สามารถละลายน้ำได้ดี และมีการใช้ประโยชน์จากสารมอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ผงหลากหลายรูปแบบ จากรายงานของ Boza *et al.* (2004) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Beijerinckia* sp. โดยใช้มอลโตเดกซ์ตริน DE20 เป็นสารปกป้องเซลล์ จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.40×10^9 CFU ต่อกรัม พบว่า หลังการทำแห้งจำนวนการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงเหลือ 1.28×10^8 CFU ต่อกรัม และจากรายงานของ Kanakdande *et al.* (2007) ศึกษาการใช้สารผสมระหว่างกัมอารบิก แป้งดัดแปร และมอลโตเด็กซ์ตริน เป็นวัสดุห่อหุ้ม (wall material) คงความมีชีวิตของจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 10 โครงสร้างมอลโตเดกซ์ตริน
ที่มา : Food network (2010)

1.3 ทรีฮาโลส (trehalose) เป็นน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ แบบนอนรีดิวซ์ (non - reducing sugar) มีคุณสมบัติและหน้าที่ช่วยในการปองกันสารชีวโมเลกุลทั้งหลายจากภาวะเครียด (stress) มีพันธะไกลโคซิดิก (**α**,**α**-1, 1-glycosidic) เชื่อมตรงกลางระหว่าง กลูโคส 2 โมเลกุล พันธะนี้เป็นพันธะโควาเลนท์ ที่เชื่อมหมู่ฟังก์ชันเฮมิอะซีทัลให้ครบวง ทำให้ไม่มีหมู่ฟังก์ชันที่กลายสภาพเป็นตัวรีดิวซ์ จึงทำให้ทรีฮาโลสสามารถทนต่อความร้อนและกระบวนการไฮโดรไลซิส รวมถึงสามารถคงสภาพส่วนประกอบอื่นในผลิตภัณฑ์ได้ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีสูตรเคมี คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ $2H_2O$ เป็นสารที่มีความคงตัว ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่เป็นน้ำตาลรีดิวซ จึงถูกนำไปใช้เป็นสารคงตัว (stabilizer) สำหรับเอนไซมโปรตีน และมวลชีวภาพ สามารถใช้เป็นสวนประกอบของอาหาร (food ingredient) ได้อย่างปลอดภัย (Insel *et al*., 2010) การสะสมทรีฮาโลสภายในเซลล์เกิดขึ้นภายใต้สภาวะเครียดหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิต่ำ ความเข้มข้นของเกลือสูง และสภาวะอื่นที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ (Hugenholtz and Smid, 2002)

2) สกิมมิลค์ (skim milk) หรือ หางนม หมายถึง น้ำนมที่แยกเอาไขมันเนยออกเกือบทั้งหมด ของแข็งที่เหลือเรียกว่า ของแข็งในน้ำนมปราศจากไขมัน (milk solids not fat) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนนมและน้ำตาลแล็กโทส (lactose) จากรายงานของ Lian *et al.* (2002) การใช้นมขาดมันเนยเป็นสารปกป้องเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Bifidobacterium longum* B6 พบว่า การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ 82.59

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เปอร์เซ็นต์ และรายงานของ Tan (1997) พบว่า การเก็บรักษาเชื้อราแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สามารถรักษาความคงตัวที่ดีของเซลล์ และมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน โดยการปกป้องเส้นใยเชื้อราด้วยสกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมน้ำกลั่น 5 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงานของ Desmons *et al*. (1998) ได้ทำการผลิตเชื้อ *Lactobacillus brevis* มีความเข้มข้นของเซลล์ถึง 8.2 x 10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร โดยการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการเติมสารปกป้องเซลล์ ได้แก่ นมผงไขมันต่ำ 70 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 59 เปอร์เซ็นต์ และ 137 วัน

3) โพลีไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone, PVP) ได้จากการปฏิกิริยาเอาน้ำออก (hydrolysis) ของ polyvinyl acetate ละลายได้ดีในน้ำ และสารละลายอินทรีย์ สารละลายที่ได้มีความหนืดค่อนข้างต่ำ นิยมใช้เพื่อเพิ่มความคงสภาพของอิมัลชัน มีรายงานการใช้ประโยชน์เป็นสารปกป้องเซลล์ และคงสภาพเซลล์ รวมถึงสารออกฤทธิ์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา จากรายงานของหนึ่ง และ พรรณลดา (2557) พบว่า การใช้สารเคมีในกลุ่มพอลิเมอร์ เช่น polyvinylpyrrolidone polyethylene glycol และแป้งมันสำปะหลัง เพื่อรักษาให้เชื้อมีอายุการเก็บรักษาที่ดีขึ้น โดยได้ทดสอบสูตรต่าง ๆ ในขณะที่เชื้อ *Bacillus* sp. BSN201 มีสูตรอาหารที่เติมสาร PVP 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับแป้งมันสำปะหลัง 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถรักษาจำนวนเซลล์ให้อยู่ในระดับ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาได้นาน 90 - 120 วัน และตามรายงานของ Singleton *et al*. (2002) และ Tittabutr *et al*. (2007) โดยพบว่า สาร PVP สามารถผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ และใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bradyrhizobium* ได้ตามปกติโดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเซลล์ เนื่องจากเซลล์แบคทีเรียไม่สามารถใช้สารพอลิเมอร์เหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานได้ อย่างไรก็ตาม สารพอลิเมอร์เหล่านี้มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญและการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากสารเหล่านี้มีคุณสมบัติความเหนียว ซึ่งช่วยเพิ่มให้เซลล์แบคทีเรียยึดเกาะกับเมล็ดได้ดี นอกจากนี้ยังช่วยให้เชื้อที่เคลือบอยู่บนเมล็ดพืชไม่แห้งเร็วจนเกินไปเมื่อนำไปใช้ในสภาพไร่ (Deaker *et al*., 2004) และสาร PVP ยังมีค่าความสามารถของสารที่ยึดจับน้ำ (water binding capacity) สูง จึงสามารถคงความชื้นโดยการยึดเกาะน้ำบริเวณรอบเซลล์ได้มากขึ้น จึงทำให้เซลล์สามารถใช้น้ำในกระบวนการต่าง ๆ และยืดอายุการเก็บรักษาได้

3.3.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์และสารอินทรีย์

1) อุณหภูมิการเก็บรักษา เป็นปัจจัยที่สำคัญต่ออายุการเก็บรักษาหัวเชื้อผงให้มีชีวิตนานขึ้น เมื่อเก็บรักษาจุลินทรีย์ *Lactobacillus rhamnosus GG* ที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 สัปดาห์ จากรายงานของ Ananta *et al*. (2005) พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น การเก็บรักษาเชื้อผงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตหลังการเก็บรักษาสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นอกจากนี้การเก็บรักษาจุลินทรีย์ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. และ *Lactobacillus delbrueckii* ในรูปแบบผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย และรายงานของ Teixeira *et al*. (1995) พบว่า การเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิต่ำ จำนวนเชื้อที่รอดชีวิตจะสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ทำให้มีกิจกรรมเกิดขึ้นในเซลล์มากกว่าอุณหภูมิต่ำ

2) บรรจุภัณฑ์ที่ใช้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง ต้องเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ไม่ต้องการให้ออกซิเจนซึมผ่าน มีคุณสมบัติในการป้องกันความชื้นได้ดี และช่วยรักษาอายุของผลิตภัณฑ์ เช่น ถุงลามิเนตเป็นถุงพลาสติกชนิดหนึ่งที่สามารถใช้บรรจุอาหารเพื่อป้องกันความชื้นมีส่วนประกอบของ polypropylene (PP) เป็นพลาสติกประเภทเทอร์โมพลาสติกที่เบาที่สุด มีสมบัติเชิงกลดีมาก เหนียว ทนต่อแรงดึงแรงกระแทกและทรงตัวดี มีจุดหลอมตัวที่ 165 องศาเซลเซียส โดยไอน้ำและออกซิเจนซึมผ่านได้ต่ำ เป็นฉนวนไฟฟ้าที่ดีมาก ส่วนชั้น low density polyethylene (PE) เป็นโพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ แต่มีข้อเสีย คือ สามารถปล่อยให้ไขมันและ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

อากาศซึมผ่านได้ง่าย ทำให้ไวต่ออากาศ ส่วนชั้นอลูมิเนียม (aluminium) พบว่า มีน้ำหนักเบา และสามารถป้องกันการซึมผ่านของอากาศ ก๊าซ แสง และกลิ่นรสได้ดี และชั้นของพอลิเอทิลีน (polyethylene) นิยมใช้เป็นชั้นป้องกันความชื้น (Lodato *et al*.,1999)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

บทที่ 4
อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

4.1 อุปกรณ์

การศึกษาครั้งนี้ มีรายละเอียดอุปกรณ์ ดังนี้

1) อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงเก็บตัวอย่าง ถุงตาข่ายไนล่อน
2) อุปกรณ์เครื่องแก้ว เครื่องมือในการแยกเชื้อ และนับเชื้อจุลินทรีย์
3) เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่
   3.1) เครื่อง Freeze Dryer
   3.2) ตู้แช่แข็ง - 80 องศาเซลเซียส
   3.3) กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง
   3.4) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
4) สารเคมี ได้แก่
   4.1) สารเคมีสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ
   4.2) สารเคมีวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส
5) สารปกป้องเซลล์ ได้แก่
   5.1) มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin, MD)
   5.2) แล็กโทส (lactose, LT)
   5.3) สกิมมิลค์ (skim milk, SM)
   5.4) ทรีฮาโลส (trehalose, TH)
   5.5) โพลีไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone, PVP)
6) อาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการการหมักแห้ง ได้แก่
   6.1) ข้าวเสาไห้
   6.2) ข้าวโอ๊ต
   6.3) ข้าวสาลี
7) ปุ๋ยเคมี ได้แก่ สูตร 46 - 0 - 0 สูตร 18 - 46 - 0 และสูตร 0 - 0 - 60
8) เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์แปซิฟิค 789

4.2 วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ มีรายละเอียดวิธีการ ดังนี้

4.2.1 การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ

1) การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ ประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยแต่ละการทดลองมีรายละเอียดแสดง ดังนี้

1.1) การทดลองที่ 1 การศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อราด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง solid-state fermentation (SSF) ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 3 ตำรับการทดลอง จำนวน 6 ซ้ำ ดังนี้

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

1.1.1) เตรียมต้นตอเชื้อราสายพันธุ์ *Corynascus verrucosus* 23 มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง และทนต่ออุณหภูมิสูงที่ 45 องศาเซลเซียส ในกระบวนการย่อยสลายได้ดี เพาะเลี้ยงเป็นต้นตอเชื้อบนอาหารแข็ง การเตรียมอาหารวุ้นสูตร PDA (potato dextrose agar) (Atlas, 1997) ละลาย PDA 39 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 50 - 60 องศาเซลเซียส ก่อนเทใส่จานเลี้ยงเชื้อประมาณ 8 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน แล้วเก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดิมเพื่อใช้เป็นต้นตอเชื้อ (stock culture) ในการทดสอบต่อไป

1.1.2) การเตรียมกล้าเชื้อราจากข้อ 1.1.1) เลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง การเตรียมอาหารวุ้นสูตร PDA ละลาย PDA 39 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 50 - 60 องศาเซลเซียส ก่อนเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ จานละประมาณ 8 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน เชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ

1.1.3) การเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อราชนิดแข็งที่มีประสิทธิภาพการเพิ่มปริมาณเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส คัดเลือกวัสดุเลี้ยงเชื้อราใช้เป็นแหล่งอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้

1.1.4) การเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็งแบบ solid-state fermentation (SSF) (Gao *et al*., 2013) โดยการศึกษาสภาวะการเลี้ยงในถาด ดังนี้

(1) เตรียมละลายสารชักนำ ประกอบด้วยสารเซลลาไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร ในน้ำ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น (ดัดแปลงจาก Kurasawa *et al.,* 1992; Morikawa *et al.,* 1995)

(2) เตรียมแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อ นำข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้ แต่ละชนิดอย่างละ 40 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพูขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่สารชักนำจากข้อ (1) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเทลงในถาดสแตนเลสขนาด 8 x 12 นิ้ว ทำการเกลี่ยวัสดุให้แยกออกจากกัน

(3) นำกล้าเชื้อสายพันธุ์ *Corynascus verrucosus* 23 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ตัดเชื้อเฉพาะสายเส้นใย โดยใช้หัวเจาะ cork - borers เบอร์ 3 ขนาด 5 มิลลิเมตร จำนวน 2 ชิ้น มาใส่ในถาด ปิดถาดด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิ 30 - 35 องศาเซลเซียส จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างทุกเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากเลี้ยงเชื้อ 3 วัน 7 วัน และ 14 วัน

1.1.5) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

(1) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยวิธี dilution plate count บนอาหาร Martin's streptomycin medium (MA) (Johnson and Curl, 1972) ประกอบด้วย KH_2PO_4 1.0 กรัม $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม peptone 5.0 กรัม dextrose 10.0 กรัม rose bengal 0.033 กรัม streptomycin 1.0 กรัม agar 15.0 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณเชื้อที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากเลี้ยงเชื้อ 3 วัน 7 วัน และ 14 วัน

(2) การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากเลี้ยงเชื้อ 3 วัน 7 วัน และ 14 วัน มีขั้นตอนดังนี้

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(2.1) การสกัดเอนไซม์เซลลูเลส โดยนำตัวอย่างจากการเลี้ยงเชื้อข้อ 1.1.4 มา 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใส

(2.2) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส โดยวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี reducing sugar determination by 3, 5 - dinitrosalicylic acid (DNS method) (Miller, 1959) นำสารละลายส่วนใส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วใส่สาร potassium hydrogen buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH 7.0) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำกระดาษกรอง Whatman no.1 ม้วนขนาด 1 x 6 เซนติเมตร ใส่ลงหลอดทดลองทันที บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (Gupta *et al*., 2012) จากนั้นวัดกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสที่เกิดขึ้นจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959) โดยเติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยการแช่น้ำแข็ง เป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และคำนวณกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส โดยกำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์ 1 ยูนิต (unit) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกปลดปล่อยออกมา 1 ไมโครโมล (µmole) ในเวลา 1 นาที ดังนี้

$$\text{กิจกรรมเซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ปริมาณผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น (ไมโครโมล)}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างทดสอบ (มิลลิลิตร) x เวลา (นาที)}}$$

1.1.6) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan’s New Multiple Range Test

1.2) การทดลองที่ 2 การศึกษาชนิดของสารปกป้องเซลล์และเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ

ศึกษาเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ในการรักษาสภาพเซลล์เชื้อรา และเอนไซม์เซลลูเลส เป็นวัสดุรองรับผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 5 ตำรับการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับการทดลองที่ 1 มอลโตเดกซ์ตริน (MD) 10 % (น้ำหนักโดยปริมาตร)
ตำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส (LT) 10 % (น้ำหนักโดยปริมาตร)
ตำรับการทดลองที่ 3 สกิมมิลค์ (SM) 10 % (น้ำหนักโดยปริมาตร)
ตำรับการทดลองที่ 4 ทรีฮาโลส (TH) 10 % (น้ำหนักโดยปริมาตร)
ตำรับการทดลองที่ 5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) 10 % (น้ำหนักโดยปริมาตร)

1.2.1) ขั้นตอนการดำเนินงาน

(1) การเตรียมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(1.1) การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์เซลลูเลส ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราแบบอาหารแข็ง การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการหมักแบบแห้ง (ตามผลการทดลองที่ 1) โดยเตรียมข้าวเสาไห้ 40 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพูขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่สารละลายสารชักนำ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำใส่ลงในถาดสแตนเลสขนาด 8 x 12 นิ้ว ทำการเกลี่ยวัสดุให้แยกออกจากกัน นำกล้าเชื้อสายพันธุ์ *Corynascus verrucosus* 23 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ตัดเชื้อเฉพาะสายเส้นใย โดยใช้หัวเจาะ cork - borers เบอร์ 3 ขนาด 5 มิลลิเมตร จำนวน 2 ชิ้น มาใส่ในถาด ปิดถาดด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างทุกเวลา 24 ชั่วโมง ปิดด้วยผ้าขาวบาง เลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน นำเชื้อมาละลาย แยกเชื้อออกจากวัสดุด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกเศษข้าวเสาไห้ออกจะได้สารแขวนลอยของเชื้อราผสมเอนไซม์ นำไปใช้ในขั้นตอนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

(1.2) การผลิตผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำสารละลายแขวนลอยของเชื้อราปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร มาผสมกับสารปกป้องเซลล์ตามตำรับการทดลอง ปริมาตร 10 กรัม ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากนั้นนำเข้าตู้เย็นทำให้แข็งที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเข้าเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ความเย็นอุณหภูมิ - 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 27 ชั่วโมง นำมาบดเป็นผงแล้วบรรจุซองเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

(1.3) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

(1.3.1) การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยวิธี dilution plate count บนอาหาร Martin’s streptomycin medium (MA) เก็บข้อมูลภายหลังบรรจุซองเก็บรักษาที่ 0 วัน ทุก 1 เดือน จนครบ 12 เดือน

(1.3.2) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส โดยวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี reducing sugar determination by 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) method (Miller, 1959)

(2) การเตรียมผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ

(2.1) การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส เพาะเลี้ยงเชื้อราแบบอาหารแข็ง การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการหมักแบบแห้ง โดยเตรียมข้าวเสาไห้ 40 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพูขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่สารละลายสารชักนำปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำใส่ลงในถาดสแตนเลส ขนาด 8 x 12 นิ้ว ทำการเกลี่ยวัสดุให้แยกออกจากกัน นำกล้าเชื้อสายพันธุ์ *Corynascus verrucosus* 23 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ตัดเชื้อเฉพาะสายเส้นใย โดยใช้หัวเจาะ cork - borers เบอร์ 3 ขนาด 5 มิลลิเมตร จำนวน 2 ชิ้น มาใส่ในถาด ปิดถาดด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างทุกเวลา 24 ชั่วโมง ปิดด้วยผ้าขาวบาง เลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน นำเชื้อมาละลายแยกออกจากวัสดุด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกเศษข้าวเสาไห้ออกจะได้สารแขวนลอยของเชื้อผสมเอนไซม์ นำไปใช้ในขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ต่อไป

(2.2) การเตรียมสารละลายเอนไซม์เซลลูเลส นำเชื้อในข้อ (1) มาละลายเชื้อออกจากวัสดุด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกเศษข้าวออกจะได้สาร

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

แขวนลอย จากนั้นนำสารแขวนลอยกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 จะได้สารแขวนลอยเอนไซม์อย่างหยาบนำไปใช้ในขั้นตอนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

(2.3) นำสารละลายแขวนลอยของเชื้อราปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร มาผสมกับสารปกป้องเซลล์ตามตำรับการทดลอง ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) จากนั้นนำเข้าตู้เย็นทำให้แข็งที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเข้าเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ความเย็นอุณหภูมิ - 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 27 ชั่วโมง นำมาบดเป็นผงแล้วบรรจุซองเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

(2.4) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส โดยวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี reducing sugar determination by 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) method (Miller, 1959) เก็บข้อมูลภายหลังบรรจุซองเก็บรักษาที่ 0 วัน ทุก 1 เดือน จนครบ 12 เดือน

1.2.2) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan’s New Multiple Range Test

4.2.2 การศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์เร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก

1) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 8 ตำรับการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้
   ตำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม
   ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ อัตราแนะนำของกรมพัฒนาที่ดิน 5 ลิตรต่อไร่
   ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
   ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
   ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
   ตำรับการทดลองที่ 6 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
   ตำรับการทดลองที่ 7 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
   ตำรับการทดลองที่ 8 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
2) ขั้นตอนการดำเนินงาน
   2.1) การเตรียมผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ (จากผลการทดลองการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์)
   (1) เตรียมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ
   (2) เตรียมผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ
   2.2) การเก็บตัวอย่างดินและการเตรียมดิน
   เก็บตัวอย่างดินจากในพื้นที่แปลงทดสอบ ชุดดินนครปฐม ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และบดร่อนผ่านตะแกรงที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ชั่งตัวอย่างดินใส่ถุงพลาสติกถุงละ 4 กิโลกรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำบรรจุใส่กระถางทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2.3) การเตรียมตัวอย่างตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

นำตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ ส่วนของใบและลำต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร ชั่งตัวอย่างพืชใส่ถุงพลาสติกถุงละ 10 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผสมคลุกเคล้ากับตัวอย่างดินให้เข้ากัน แล้วบรรจุใส่กระถางทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

2.4) การเตรียมน้ำหมักชีวภาพจากปลา จำนวน 50 ลิตร (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

(1) ส่วนผสม ประกอบด้วย

ปลาน้ำจืด	30	กิโลกรัม
ผลไม้	10	กิโลกรัม
กากน้ำตาล	10	กิโลกรัม
น้ำ	10	ลิตร
สารเร่งซุปเปอร์ พด. 2	1	ซอง (25 กรัม)

(2) วิธีการหมัก

(2.1) เทกากน้ำตาลตามอัตราส่วนลงในถังหมัก ใส่น้ำจำนวน 10 ลิตร และคนเพื่อละลายกากน้ำตาลกับน้ำเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทสารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 ลงในถังหมัก คนประมาณ 5 นาที เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

(2.2) สับวัสดุพืชหรือสัตว์ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ และใส่ลงในถังหมักวัสดุ พร้อมใส่สารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 ที่เตรียมไว้ ปรับปริมาตรน้ำให้พอเหมาะ หรือท่วมวัสดุหมัก และคนส่วนประกอบต่าง ๆ ให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วปิดฝาไม่ต้องสนิท ในระหว่างการหมัก คน หรือกวน 1 - 2 ครั้งต่อวัน หมักเป็นระยะเวลา 20 วัน กรองเศษปลาออก นำส่วนใสมาใช้ประโยชน์

2.5) ค่าวิเคราะห์ทางเคมีของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และน้ำหมักชีวภาพปลา ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และน้ำหมักชีวภาพปลา

ชนิด	องค์ประกอบทางเคมี (%)				
	pH	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โพแทสเซียม	OC
ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ใบ/ลำต้น)	-	0.53	0.15	2.21	41.23
น้ำหมักชีวภาพปลา	4.7	0.59	0.11	0.63	-

3) การใส่ปัจจัยทดลองในแต่ละตำรับการทดลอง

ตำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมกับตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 2

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่น้ำหมักชีวภาพจากเศษปลา อัตรา 5 ลิตรต่อไร่ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2559)

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 3

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 4

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 5

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 6

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 7

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

ตำรับการทดลองที่ 8

- นำดิน 4 กิโลกรัม ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

4) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.1) การเก็บตัวอย่างดินจากในพื้นที่แปลงทดสอบ ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดละเอียดและผสมคลุกเคล้าดินให้มีความสม่ำเสมอ นำดินส่วนหนึ่งมาร่อนผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร วิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน ได้แก่ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน

4.2) การเก็บตัวอย่างดินจากกระถางภายหลังการหมักดิน ที่ 10 20 30 40 และ 50 วัน นำดินในกระถาง 200 กรัม ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดละเอียดและผสมคลุกเคล้าดินให้มีความสม่ำเสมอ นำดินมาร่อนผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร วิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน ได้แก่ ปริมาณอินทรียวัตถุของดิน

4.3) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา

การเก็บตัวอย่างดินจากกระถางภายหลังการหมักดิน ที่ 10 20 30 40 และ 50 วัน นำดินในกระถาง 100 กรัม เก็บใส่ถุงแช่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาตรวจนับปริมาณเชื้อรา ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยวิธี dilution plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ที่มีคาร์บอกซิลเมททิลเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน ตามวิธีการของ Murao *et al*. (1979) รายย่อยเซลลูโลสนับปริมาณใน MC medium ที่เติมสเตรปโตมายซิน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณจุลินทรีย์ที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.4) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

การวิเคราะห์กิจกรรมเซลลูเลสจากตัวอย่างดิน โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ Hope and Burn (1987) และวัดกลูโคสด้วยวิธี Nelson and Somogyi (Nelson, 1944) มีขั้นตอน ดังนี้

(1) นำตัวอย่างดินที่มีความชื้น และผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ปริมาณ 1 กรัม ใส่หลอดทดลอง เติม acetate buffer ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ avicel 0.5 กรัม เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากันปิดจุกแล้วนำไปบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

(2) ดูดส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองใหม่เติม Somogyi reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสาร นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที แล้วทำให้เย็นทันที

(3) จากนั้นเติม Nelson reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส วิเคราะห์ด้วยวิธี Nelson - Somogyi

(4) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหากิจกรรมเซลลูเลส ดังสมการ

กิจกรรมเซลลูเลส (µg glucose g^{-1} soil h^{-1}) = (C x V) /16S

C = ความเข้มข้นที่วัดได้

V = ปริมาตรของสารละลาย (5.5 มิลลิลิตร)

S = น้ำหนักแห้งของดินที่มีความชื้น 1 กรัม

16 = ระยะเวลาบ่มที่ 16 ชั่วโมง

(5) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

4.2.3 การศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลอง

การศึกษาในสภาพแปลงทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผสมละลายน้ำต่ออัตราการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองในสภาพแปลงทดลอง

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลอง

1) วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) ประกอบด้วย 5 ตำรับการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม

ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อไร่

ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 1 ซองต่อไร่

หมายเหตุ : ทุกตำรับการทดลอง ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตราปุ๋ยเคมีที่ใส่คำนวณจากปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามความต้องการของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

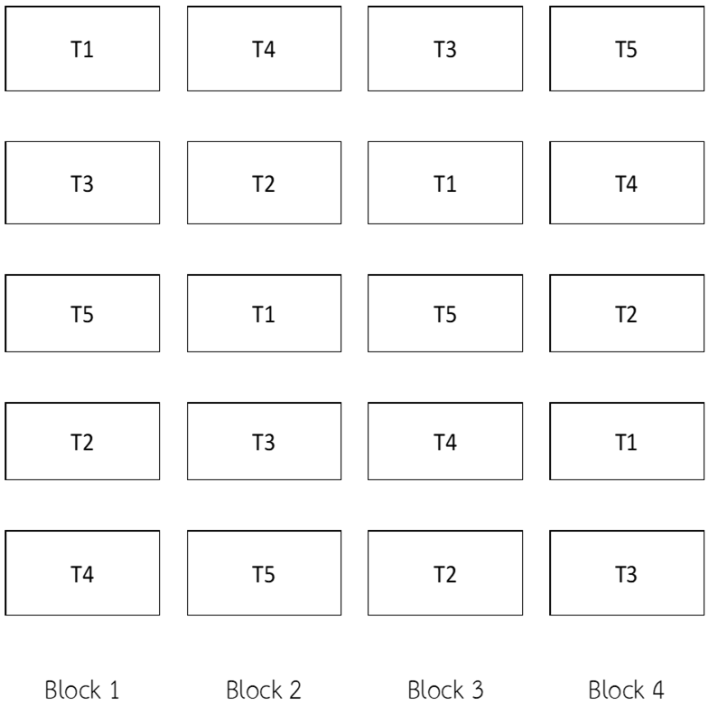
2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

2.1) ดำเนินการทดลองในแปลงเกษตรกร พื้นที่แปลงปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ชุดดินนครปฐม ตำบลท่ามะขาม อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

2.2) การเตรียมแปลง

เตรียมแปลงทดลองขนาด 5 x 7 เมตร จำนวนทั้งหมด 20 แปลง พื้นที่เก็บข้อมูลขนาด 2.25 x 5.50 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 1.5 เมตร โดยในแต่ละแปลงย่อยมีจำนวนร่อง 5 แถว แต่ละแถวห่างกัน 0.75 เมตร เว้นพื้นที่ขอบแปลงเป็นแนวแถวป้องกันไม่เก็บข้อมูล

2.3) การวางแปลงทดลองตามผังแปลง ดังนี้



ภาพที่ 11 แผนผังแปลงทดลองภาคสนาม

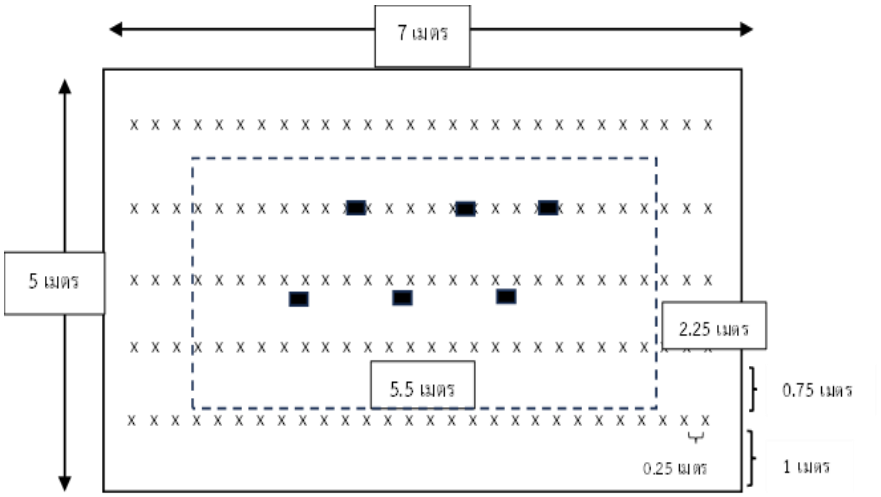
3) การทดลองที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังต่ออัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองในสภาพแปลงทดลอง

3.1) ขั้นตอนการดำเนินงาน

(1) การเตรียมตัวอย่างตอซังข้าวโพดใส่ถุงตาข่ายไนล่อน นำส่วนของใบและลำต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร ชั่งตัวอย่างพืช 20 กรัม บรรจุใส่ถุงตาข่ายไนล่อนที่มีรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ขนาด 15 x 20 เซนติเมตร

(2) การฝังกลบถุงตาข่ายไนล่อน ขุดหลุมลึก 15 เซนติเมตร ในแถวที่ 2 และแถวที่ 3 จำนวน 3 หลุมต่อแถว ระยะห่างระหว่างหลุม 1 เมตร นำถุงตาข่ายไนล่อนวาง 1 ถุงต่อหลุม รวมตัวอย่างจำนวน 6 ถุงต่อแปลงย่อย ฉีดพ่นปัจจัยการทดลองของแต่ละตำรับการทดลอง แล้วฝังกลบถุงตัวอย่างให้มิด ดังภาพที่ 12 และเก็บถุงตาข่ายไนล่อนหลังฝังกลบครั้งละ 1 ถุงต่อแปลงย่อย ที่ 10 20 30 40 50 และ 60 วัน

(3) การใส่ตอซังข้าวโพด นำส่วนของใบและลำต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร จำนวน 16.80 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย คิดจากมวลชีวภาพของต้นและใบ เป็น 767.80 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) ใส่ทั่วแปลงฉีดพ่นปัจจัยการทดลองตามแต่ละตำรับการทดลอง แล้วสับกลบเศษพืชลงดิน



ภาพที่ 12 แผนผังจุดการฝังกลบถุงตาข่ายไนล่อน

หมายเหตุ : พื้นที่แปลงย่อยขนาด 5 x 7 เมตร

X หมายถึง ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ระหว่างต้น 25 เซนติเมตร

■ หมายถึง ตำแหน่งฝังกลบถุงตาข่ายไนล่อน

3.2) การใส่ปัจจัยทดลอง

ตำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม ฉีดพ่นน้ำเปล่า อัตรา 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

ตำรับการทดลองที่ 2 การใส่น้ำหมักชีวภาพจากปลา อัตรา 5 ลิตรต่อไร่ ละลายในน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตำรับการทดลองที่ 3 การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงแห้งละลายน้ำ อัตรา 100 กรัม ละลายในน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

ตำรับการทดลองที่ 4 การใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงแห้งละลายน้ำ อัตรา 100 กรัม ละลายในน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

ตำรับการทดลองที่ 5 การใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 1 ซอง ละลายในน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

3.3) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

(1) การเก็บตัวอย่างถุงตาข่ายไนล่อนหลังฝังกลบ เก็บข้อมูล ดังนี้

(1.1) เก็บตัวอย่างถุงตาข่ายไนล่อนหลังฝังกลบที่ 10 20 30 40 50 และ 60 วัน นำซากพืชในถุงตาข่ายที่เหลือในแต่ละช่วงเวลา อบที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ความชื้นจนน้ำหนักคงที่ ร่อนแยกเศษดินออกจากเศษพืช แล้วชั่งน้ำหนักแห้งที่เหลือ

(1.2) คำนวณน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยคำนวณจากน้ำหนักแห้งของซากพืชแต่ละถุงที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา หารด้วยน้ำหนักแห้งของซากพืชแต่ละถุงเมื่อเริ่มวางทิ้งไว้ คูณด้วย 100

(1.3) คำนวณแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายอัตราการสลายตัวของซากอินทรีย์ จากข้อมูลซากพืชอินทรีย์ที่เหลือ (litter weight remaining) ในแต่ละช่วงเวลา คำนวณได้จากสมการ Olson (1963) มีดังนี้

แบบจำลอง first order kinetic ; $Wt = W0\ e^{-kt}$

โดย W_0 คือ น้ำหนักแห้งเมื่อเริ่มต้น Wt คือ น้ำหนักแห้งซากอินทรีย์ที่เหลือในแต่ละเวลา (t) k คือ อัตราการสลายตัวของซากอินทรีย์ตลอดช่วงที่ใส่ในดิน 60 วัน แบบจำลองนี้ ใช้เพื่ออธิบายอัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตลอด 60 วัน นอกจากนี้ยังใช้แบบจำลองแบ่งการสลายตัวเป็นสองช่วงตามองค์ประกอบทางเคมีของสารอินทรีย์ที่สลายตัวเร็วและช้า เรียกว่า double pool model เพื่ออธิบายผลได้ชัดเจนยิ่งขึ้น คือ

$$W = C1\ (1- e^{-k1^{t}}) + C2\ (1- e^{-k2^{t}})$$

โดย W คือ น้ำหนักแห้งซากทั้งหมด t คือ เวลาของการสลายตัว C1 และ C2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของน้ำหนักช่วงแรกและช่วงหลังของการสลายตัวตามลำดับ ส่วน k1 และ k2 คือ อัตราการสลายตัวช่วงแรกและช่วงหลังของการสลายตัวตามลำดับ

(2) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา การเก็บตัวอย่างดินภายหลังการหมักดิน ที่ 10 20 30 40 50 และ 60 วัน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 3 จุดต่อแปลง และรวมเป็น 1 ตัวอย่าง แบ่งดิน 500 กรัม ใส่ถุงเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาตรวจนับปริมาณเชื้อรา ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยวิธี dilution plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีคาร์บอกซิลเมททิลเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน ตามวิธีการของ Murao *et al*. (1979) รายอ่อยเซลลูโลส นับปริมาณใน MC medium ที่เติมสเตรปโตมายซิน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณจุลินทรีย์ที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(3) การวิเคราะห์กิจกรรมเซลลูเลสจากตัวอย่างดิน โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ Hope and Burn (1987) และวัดกลูโคสด้วยวิธี Nelson and Somogyi (Nelson, 1944)

4) การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพแปลงทดลอง

4.1) การเตรียมแปลงทดลอง ใช้แปลงทดลองในพื้นที่เดียวกับการทดลองที่ 1

4.2) การใส่ปัจจัยการผลิต และการดูแลรักษาหลังจากปลูก

ตำรับการทดลองที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ประกอบด้วย ปริมาณไนโตรเจน 10 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัส 5 กิโลกรัมต่อไร่ และปริมาณโพแทสเซียม 5 กิโลกรัมต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง ดังนี้ ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 อัตรา 9 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 อัตรา 10.90 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 0 - 0 - 60 อัตรา 8.30 กิโลกรัมต่อไร่ รองก้นหลุมก่อนปลูก ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 อัตรา 9 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 30 วันหลังปลูก

ตำรับการทดลองที่ 2 - 5

- ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน ใส่วิธีการเดียวกันกับตำรับการทดลองที่ 1
- ใส่ปัจจัยการทดลองตามตำรับการทดลอง ดำเนินการในการทดลองที่ 1 ช่วงการหมักตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพียงครั้งเดียว

4.3) การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ดำเนินการภายหลังการทดลองที่ 1 เมื่อฉีดพ่นปัจจัยทดลองบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้วสับกลบตอซัง ทิ้งระยะเวลาย่อยสลายซากพืช 10 วัน ทำการหยอดเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยการหยอดเมล็ดด้วยเครื่องกระทุ้ง (Jab seeder) ซึ่งแต่ละหลุมห่างกัน 25 เซนติเมตร หยอดเมล็ดหลุมละ 2 เมล็ด เมื่อข้าวโพดอายุได้ 1 สัปดาห์ จึงถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม

4.4) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

(1) การเก็บตัวอย่างดิน การเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่ม 15 จุด และนำมาผสมกันเพื่อส่งวิเคราะห์ และทำการเก็บตัวอย่างดินหลังการเก็บผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร จำนวน 3 จุดต่อแปลง และรวมตัวอย่างเป็น 1 ตัวอย่าง นำดินที่เก็บมาจากแปลงทดลอง ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดให้ละเอียดและผสมคลุกเคล้าดินให้สม่ำเสมอ นำดินส่วนที่หนึ่งมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 และ 0.5 มิลลิเมตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

(2) การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน

(2.1) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) วัดโดยใช้ pH meter อัตราส่วนระหว่างดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 1 (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(2.2) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter, OM) โดยวิธี Walkley and Black Titration (Walkley and Black, 1947)

(2.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available P) โดยวิธี Bray II (0.1 N HCL + 0.03N NH_4F) แล้วนำไปวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร (Bray and Kurtz, 1945)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(2.4) ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable K) สกัดดินด้วยสารละลาย 1N. NH_4 CH_3COO pH 7 แล้วนำไปวัดปริมาณด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(3) การเก็บข้อมูลด้านการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช

(3.1) ความสูงของต้นข้าวโพด เมื่อข้าวโพดอายุ 30 และ 60 วัน โดยวัดจากข้อแรกที่อยู่ติดกับส่วนบนสุดของรากจนถึงส่วนที่เป็นฐานของใบที่อ่อนที่สุดเก็บข้อมูลจำนวน 30 ต้นต่อแปลงย่อย แล้วคำนวณค่าความสูงเฉลี่ย

(3.2) ค่าความเขียวของใบข้าวโพด เมื่อข้าวโพดอายุ 30 และ 60 วัน โดยวัดจากใบที่ 3 โดยนับจากใบธง ในตำแหน่งปลายใบ กลางใบ และโคนใบ เก็บข้อมูลจำนวน 30 ต้นต่อแปลงย่อย แล้วคำนวณค่าความเขียวใบเฉลี่ย

(3.3) น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์

(4) วิเคราะห์ข้อมูลผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแต่ละตำรับการทดลอง

4.5) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

ภาพที่ 13 แผนผังวิธีการดำเนินการวิจัย

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

บทที่ 5
ผลการศึกษาและวิจารณ์

5.1 ผลการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ

5.1.1 ผลการศึกษาวิธีการและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อราด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง ในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส มีรายละเอียดดังนี้

จากผลการศึกษาชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อราชนิดแข็งที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อและเอนไซม์เซลลูเลส จากแหล่งอาหารแข็ง 3 ชนิด (ตารางที่ 4) ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้ ผลการทดลอง พบว่า การใช้ข้าวเสาไห้เป็นแหล่งอาหารแข็งสำหรับการเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์ *Corynascus verrucosus* 23 เหมาะสมในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส มีค่าสูงสุดที่ 7 วัน มีปริมาณเชื้อ 12.566 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หากมีการเลี้ยงเชื้อราไว้นานที่ 14 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 9.576 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเหลือ 0.106 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสาลีเลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน มีปริมาณเชื้อ 12.596 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.234 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 14 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 9.596 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเหลือ 0.027 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และข้าวโอ๊ตเลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน มีปริมาณเชื้อ 12.583 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.232 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 14 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 9.560 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเหลือ 0.033 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ พบว่า การใช้ข้าวเสาไห้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราแบบแข็ง เลี้ยงเชื้อ 7 วัน เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสม สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 ได้ดี คือ 12.566 log เซลล์ต่อกรัม มีปริมาณเชื้อสูงกว่าจากรายงานวิจัยของเกษสินี และจุรีมาศ (2564) การใช้ข้าวเสาไห้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อรา *Metarhizium* sp. BCC30455 และ *Beauveria bassiana* BCC2779 มีปริมาณเชื้อ 8.00 log เซลล์ต่อกรัม เนื่องจากลักษณะความเฉพาะเจาะจงของชนิดเชื้อรา และสารอาหารภายในวัสดุเพาะที่อาจมีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อ ส่งผลต่อความมีชีวิตของเชื้อราที่เพาะเลี้ยง (Santoro *et al.*, 2015) อีกทั้งการใช้ข้าวเสาไห้เป็นแหล่งสารอาหารประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและวิตามิน และพื้นที่ผิวมากทำให้มีผลต่อการเจริญและปริมาณของเชื้อราที่เพิ่มขึ้นสูง แต่หากนานเกิน 7 วัน จะสังเกตเห็นว่า อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเปียกชุ่มน้ำ และความชื้นในวัสดุหมักสูง มีผลให้การเจริญของเชื้อราลดลง หรือสารอาหารหมดเนื่องจากถูกเชื้อรายอยเป็นอาหารจนเกือบหมด ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเช่นกัน (วิวัตน์ และคณะ, 2551) และจากรายงานของจารุวรรณ (2541) การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากขี้เลื่อยโดยเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง (SSF) ที่ความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงเชื้อ 4 วัน ทำการระเหยน้ำออกให้เป็นผงแห้งมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase) เท่ากับ 0.87 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และจากงานวิจัยนี้เชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 สามารถเจริญได้ดีในข้าวเสาไห้ และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หากนำสารละลายไประเหยแห้งความเข้มข้นของเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อจุลินทรีย์ ชนิดของซับสเตรต และความชื้นในกระบวนการหมักอีกด้วย และข้อสังเกตจากการศึกษาครั้งนี้ การเจริญของเชื้อราเกิดได้เร็วในช่วง 7 วัน จึงเกิดน้ำจากกระบวนการหายใจ ทำให้เกิดความชื้นในกระบวนการหมักเร็ว ส่งผลโดยตรง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ต่อปริมาณเชื้อรา และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สอดคล้องกับรายงานของ Deschamps *et al.* (1985) พบว่า ในหว่างการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความชื้นของวัสดุหมักจะเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการเจริญ เนื่องจากเกิดน้ำจากกระบวนการหายใจของเชื้อ อีกทั้งสภาพที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ผลของความชื้นในวัสดุหมักเป็นปัจจัยสำคัญมากในกระบวนการหมักแห้ง เมื่อความชื้นสูงจะทำให้เกิดของเหลว ซึ่งมีผลให้การระบายอากาศไม่ดี ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กระบวนการเมตาบอลิซึม รวมถึงการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ (Nishio *et al*., 1981; Moo Young *et al*.,1983) สอดคล้องกับรายงานของ Kim *et al*. (1985) พบว่า เชื้อรา *Talaromyees* sp. และ *Trichoderma viride* มีการเจริญได้ดีที่ระดับความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ แต่สร้างเอนไซม์ได้สูงสุดที่ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการสร้างเอนไซม์ พบว่า การสร้างเอนไซม์จะเกิดขึ้นพร้อมกับการเจริญของเชื้อในช่วงแรก เมื่อเชื้อเริ่มเข้าสู่ระยะอัตราการตายเท่ากับอัตราการเจริญ (stationary phase) เกิดขึ้นสูงสุด และจะลดลงอย่างรวดเร็ว (วิเชียร และคณะ, 2535) การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการหมักแบบแห้ง solid - state fermentation (SSF) เป็นกระบวนการที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยวัตถุดิบแห้งหรือมีความชื้นต่ำ ซึ่งสามารถใช้เพาะเลี้ยงเชื้อได้หลากหลายชนิด เช่น จากรายงานการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bifidobactacterium animalis Lactobacillus casei Lactobacilius brevis* และ *Aspergillus oryzae* ถั่วเหลือง (Gao *et al*., 2013; Zhang *et al*., 2014; Zhang *et al*., 2015) การเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* ในข้าวโอ๊ต และการเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. bulgaricus* ในรำข้าวสาลี (Zhao *et al*., 2017) เป็นต้น เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ซับซ้อน มีต้นทุนต่ำ และเกิดน้ำเสียจากกระบวนการหมักน้อย และเป็นกระบวนการหมักที่คล้ายกับการเจริญของจุลินทรีย์ทางธรรมชาติ (Shim *et al.,* 2010) สอดคล้องกับรายงานของ Chahal (1985) ซึ่งได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการหมักแบบ solid substrate เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มผลผลิตเอนไซม์เซลลูเลสต่อปริมาณซับสเตรต และลดต้นทุนการผลิตเอนไซม์

ดังนั้นการเลี้ยงเชื้อแบบอาหารแข็งที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อ และส่งเสริมการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สำหรับการเลี้ยงเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 คือ ข้าวเสาไห้ เป็นแหล่งอาหาร ใส่สารชักนำประกอบด้วยสารเซลลาไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตรในน้ำ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำมาผสมกับข้าวเสาไห้อัตราส่วน 1 : 1 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เลี้ยงเชื้อที่ระยะเวลา 7 วัน มีการควบคุมความชื้นในระหว่างกระบวนการหมักให้เหมาะสมตลอดช่วงเวลาการเจริญของเชื้อเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำไปผลิตเป็นหัวเชื้อ และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในขั้นต่อไป อีกทั้ง ข้าวเสาไห้ยังราคาถูกกว่าข้าวสาลี และข้าวโอ๊ต เป็นวัสดุดิบที่หาได้ง่าย และมีต้นทุนการผลิตต่ำ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อและค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารแข็ง 3 ชนิด ตามช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ

ชนิดอาหารแข็ง	ปริมาณเชื้อรา (log เซลล์ต่อกรัม)			กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)		
	3 วัน	7 วัน	14 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน
ข้าวสาลี	8.542	12.596	9.596	0.049 b	0.234 b	0.027 b
ข้าวโอ๊ต	8.543	12.583	9.560	0.025 c	0.232 b	0.033 b
ข้าวเสาไห้	8.522	12.566	9.576	0.071 a	0.264 a	0.106 a
F-test	ns	ns	ns	**	**	**
CV (%)	0.41	0.21	0.29	13.58	1.43	13.29

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

5.1.2 ผลการศึกษาการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบผงละลายน้ำ

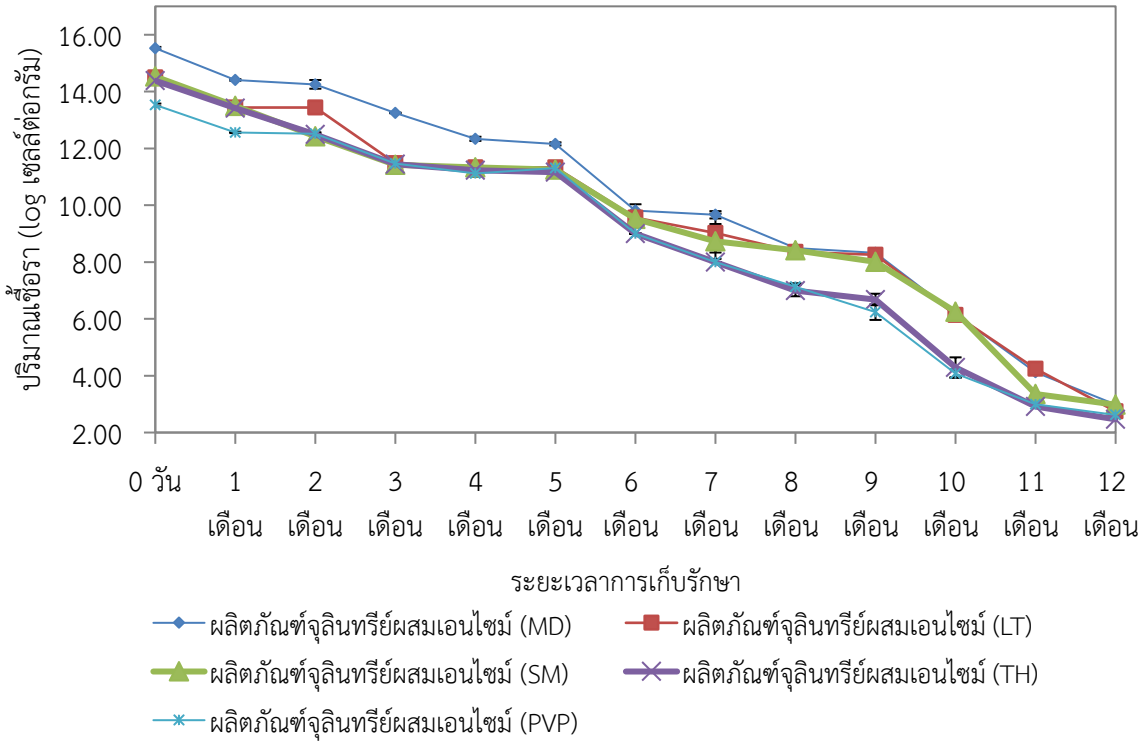
จากการศึกษาสารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ในการเก็บรักษาสภาพจุลินทรีย์และเอนไซม์เซลลูเลส ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบผงละลาย ในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 12 เดือน จากการวิเคราะห์ผลการทดลองดังนี้

1) ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ

จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อและกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ ได้ผลการทดลอง ดังนี้

1.1) ปริมาณเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑ์ จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 1 มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อรา มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นสูงสุด 15.528 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 14.410 14.255 13.253 12.338 และ 12.160 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกตำรับการทดลอง โดยตำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 14.503 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 13.440 13.440 12.423 11.325 และ 11.325 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ ตำรับการทดลองที่ 3 สกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 14.528 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 13.493 12.425 12.368 11.333 และ 11.258 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ ตำรับการทดลองที่ 4 ทรีฮาโลส 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 14.383 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 13.420 12.493 11.448 11.230 และ 11.168 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ และตำรับการทดลองที่ 5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นต่ำสุด 13.530 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 12.563 12.520 11.465 11.112 และ 11.305 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณเชื้อ

Corynascus verrucosus 23 ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้อลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น แต่ยังมีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์ที่อายุการเก็บรักษาที่ 5 เดือน อยู่ในระดับสูง และที่อายุการเก็บรักษาที่ 6 ถึง 9 เดือน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 1 มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณเชื้อสูงสุด 9.808 9.665 8.500 และ 8.325 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์แต่ละชนิดในสารเร่งประเภทจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยหมัก ปริมาณเชื้อรายอยสลายเซลลูโลสต้องไม่น้อยกว่า 1.0×10^7 CFU ต่อกรัม หรือ 7.00 log เซลล์ต่อกรัม (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556ข) ซึ่งมีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ แต่ที่อายุการเก็บรักษาที่ 8 ถึง 10 เดือน ปริมาณเชื้อมีค่าลดลงไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ และตำรับการทดลองที่ 3 สกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุการเก็บรักษาที่ 10 เดือน ทุกผลิตภัณฑ์มีปริมาณเชื้อระหว่าง 6.140 - 6.248 log เซลล์ต่อกรัม และเมื่อครบ 12 เดือน มีปริมาณเชื้อระหว่าง 2.464 - 2.984 log เซลล์ต่อกรัม (ภาพที่ 14 และตารางภาคผนวกที่ 1)

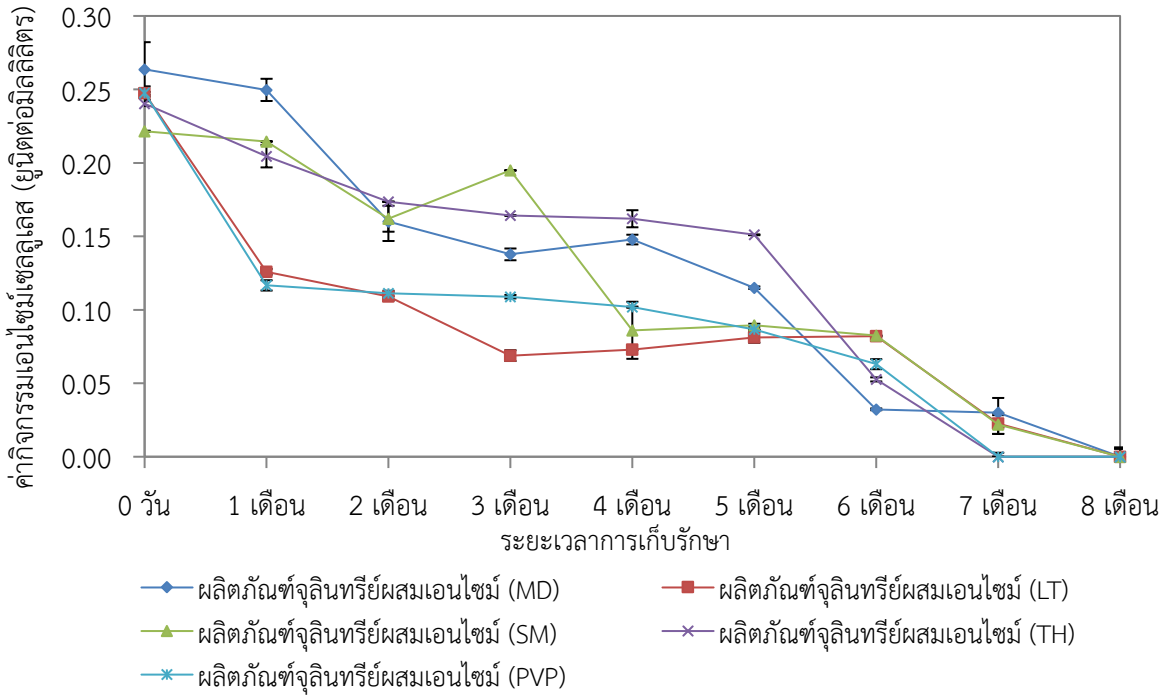


ภาพที่ 14 ปริมาณเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา

1.2) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด พบว่า ค่าวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 0.221 – 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลา 1 - 7 เดือน พบว่า ค่ากิจกรรม

เอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยตำรับการทดลองที่ 1 มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุ 1 เดือน มีค่าสูงสุด 0.250 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 2 - 5 เดือน มีค่าลดลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์มีค่า 0.160 0.138 0.148 และ 0.115 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 3 สกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.215 0.162 0.120 0.086 และ 0.090 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ตำรับการทดลองที่ 4 ทรีฮาโลส 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.205 0.174 0.164 0.162 และ 0.151 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และตำรับการทดลองที่ 5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.117 0.111 0.109 0.102 และ 0.087 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ตำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.126 0.109 0.069 0.073 และ 0.081 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส จะมีค่าลดลงในช่วง 1 - 2 เดือน และมีแนวโน้มคงที่ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นจนถึง 5 เดือน และลดลงรวดเร็วแต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นาน 6 เดือน จนถึง 7 เดือน แสดงให้เห็นว่า รูปแบบผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ผสมระหว่างจุลินทรีย์และเอนไซม์เซลลูเลส มีเพียงการใช้มอลโตเดกซ์ตริน และทรีฮาโลส เป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อราได้ดี สามารถคงประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ มีค่ามากกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ได้นานที่ 5 เดือน และภายหลังการเก็บรักษา 6 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงต่ำกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 15 และตารางภาคผนวกที่ 2)



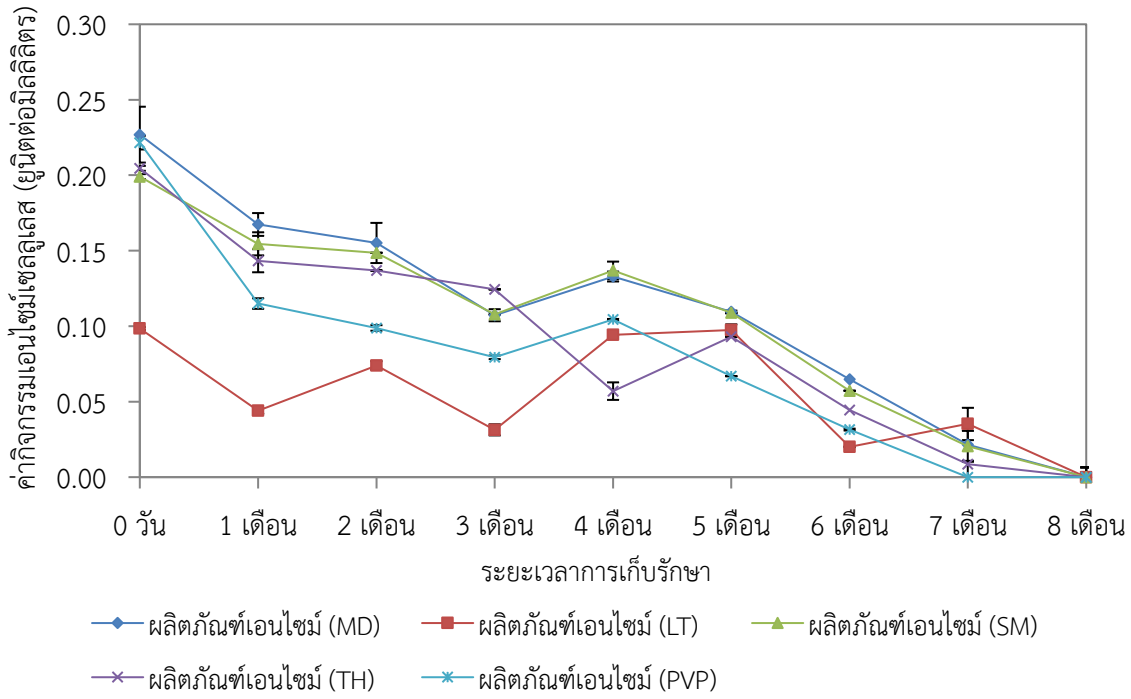
ภาพที่ 15 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะการเก็บรักษา

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2) ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ จากการใช้สาร 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน เป็นสารปกป้องเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นจากตำรับการทดลองที่ 1 การใช้มอลโตเดกซ์ตริน มีค่าสูงสุด 0.227 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน มีค่า 0.222 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส สกิมมิลค์ และทรีฮาโลส ที่มีค่า 0.099 0.199 และ 0.119 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยตำรับการทดลองที่ 1 มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารป้องกันเอนไซม์เซลลูเลส มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.167 0.155 0.107 0.133 และ 0.110 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีค่าสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 3 สกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผลิตภัณฑ์เก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.155 0.149 0.108 0.137 และ 0.109 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่มีค่าสูงกว่าตำรับการทดลองที่ 4 ทรีฮาโลส 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.143 0.137 0.124 0.093 และ 0.057 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ตำรับการทดลองที่ 5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.115 0.099 0.044 0.104 และ 0.067 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ตำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผลิตภัณฑ์เก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.044 0.074 0.031 0.094 และ 0.098 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และทุกตำรับการทดลองมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 7 เดือน แสดงให้เห็นว่า รูปแบบผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสมีเพียงการใช้มอลโตเดกซ์ตริน และสกิมมิลค์ เป็นสารป้องกันเอนไซม์เซลลูเลสที่สามารถรักษาสภาพเอนไซม์เซลลูเลส ให้มีค่ามากกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ได้นาน 5 เดือน และภายหลังการเก็บรักษา 6 เดือน ค่ากิจกรรมเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์มีค่าลดลงต่ำกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 16 และตารางภาคผนวกที่ 3)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 16 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา

จากผลการศึกษาชนิดของสารปกป้องเซลล์ เป็นวัสดุรองรับผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบผงละลายน้ำ ด้วยวิธีทำผงแห้งแบบเยือกแข็ง โดยเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน เมื่อเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์เพื่อรักษาสภาพเซลล์เชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลสเป็นผลิตภัณฑ์ ผลการทดลองข้างต้น พบว่า การใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สามารถรักษาเสถียรภาพเส้นใยและเซลล์ของเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นสูงสุด 15.528 log เซลล์ต่อกรัม คงความมีชีวิตรอดของเชื้อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นาน 9 เดือน มีปริมาณเชื้ออยู่ในระดับสูง 8.325 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเริ่มต้น 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เก็บรักษาได้นาน 7 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 0.022 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากการพิจารณาปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดินในระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์แต่ละชนิดในสารเร่งประเภทจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยหมัก ปริมาณเชื้อรายอยสลายเซลลูโลสต้องไม่น้อยกว่า 1.0×10^7 CFU ต่อกรัม หรือ 7.00 log เซลล์ต่อกรัม (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556ข) และเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานเกิน 9 เดือน ปริมาณเชื้อมีค่าน้อยกว่า 7.00 log เซลล์ต่อกรัม ไม่ผ่านเกณฑ์ตามเกณฑ์มาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดินในระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ดังนั้นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ คุณสมบัติด้านปริมาณเชื้อราสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 เดือน โดยการใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้ออยู่ในระดับสูงเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Boza *et al.* (2004) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Beijerinckia* sp. โดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์ จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.40×10^9 CFU ต่อกรัม หลังการทำแห้งจำนวนการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงเล็กน้อยเหลือ 1.28×10^8 CFU ต่อกรัม ทั้งนี้เนื่องจากการใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สามารถสร้างพันธะกับโปรตีน ทำให้โครงสร้างเป็นร่างแห มีผลให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีความเสถียรและไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการทำแห้ง (Morgan *et al*., 2006) และจากรายงานของ Leslie *et al.* (1995) พบว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *Lactobacillus plantarum* เซลล์จุลินทรีย์ภายหลังการทำแห้งคงมีชีวิตรอดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงแห้งนานมากขึ้น พบว่า ปริมาณเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 มีปริมาณเชื้อ และกิจกรรมเอนไซม์ลดลงตามระยะการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น สาเหตุอาจเกิดจากขั้นตอนการบรรจุผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงแห้ง เกิดการดูดความชื้นในอากาศก่อนบรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ซึ่งความชื้นในผลิตภัณฑ์เป็นสาเหตุสำคัญของการเปลี่ยนแปลงในระหว่างเก็บรักษา เช่น การเกิดออกซิไดส์เอง (auto - oxidation) เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาจสัมผัสกับอากาศตั้งแต่แรก หรือในภาวะที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ เช่น แสง และอุณหภูมิสูง (Desrosier, 1959) และจากรายงานของ Sunny-Robert *et al*. (2007) ศึกษาการรอดชีวิตของ *Lactobacillus rhamnosus* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงแห้งนาน 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ผงสูงถึง 11 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงาน Teixeira *et al*. (1995) พบการลดลงของจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส มีสาเหตุจากการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อใช้ทรีฮาโลสเป็นสารปกป้องเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย และรายงานของมธุรส (2554) การใช้สารปกป้องเซลล์ กลูโคส ซูโครส แล็กโทส และมอลโตเดกซ์ตริน มีผลต่อการรอดชีวิตของ *Lactobacillus plantarum* แตกต่างกัน จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์รอดชีวิตสูงกว่าอุณหภูมิห้อง 30 - 35 องศาเซลเซียส อีกทั้งการใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ มีลักษณะเป็นผง หรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส สามารถละลายในน้ำได้ดี และค่าต้นทุนการผลิตต่ำ จึงเหมาะสมที่เป็นสารปกป้องเซลล์ และเป็นวัสดุรองรับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ เพื่อใช้ในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม (Kanakdande *et al.,* 2007)

ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ จึงเลือกการใช้มอลโตเดกซ์ตรินที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นสารป้องกันห่อหุ้มเซลล์เชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ด้วยวิธีการทำผงแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying)

5.2 ผลการศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ ในอัตราต่าง ๆ ต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในโรงเรือนกระจก มีรายละเอียดดังนี้

5.2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรียวัตถุของดินในกระถาง

1) ปริมาณอินทรียวัตถุของดินก่อนการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองจากแปลงทดลอง ชุดดินนครปฐม จังหวัดกาญจนบุรี ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่มจำนวน 15 จุด และนำมาคลุกเคล้าให้เข้ากันให้เป็น 1 ตัวอย่าง วิเคราะห์สมบัติของดิน พบว่า ดินมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8.60 ดินเป็นด่างจัด ปริมาณอินทรียวัตถุ 2.29 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

กิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง และปริมาณธาตุโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

2) ปริมาณอินทรียวัตถุของดินภายหลังการทดลอง

จากการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอินทรียวัตถุในดินภายหลังการทดลองจากการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดและอัตราต่าง ๆ ต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพโรงเรือนกระจก ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินภายหลังการใส่ปัจจัยทดลองที่ 10 วัน 20 วัน 30 วัน 40 วัน และ 50 วัน (ตารางที่ 5) พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุของดินในแต่ละช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 - 50 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีค่าระหว่าง 2.29 - 2.42 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุของดินมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น มีค่าระหว่าง 2.46 - 2.55 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างสูง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าระหว่าง 2.60 - 2.79 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีค่าระหว่าง 2.92 - 3.22 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน ค่าระหว่าง 2.77 - 3.13 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง

เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วยปริมาณอินทรียวัตถุของดินในกระถางในแต่ละตำรับการทดลอง จากการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ พบว่า จากตัวอย่างดินก่อนการทดลองมีปริมาณอินทรียวัตถุของดินเริ่มต้น 2.29 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อปริมาณอินทรียวัตถุของดินยกระดับเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีปริมาณอินทรียวัตถุของดินเพิ่มขึ้นเป็น 3.10 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 35.37 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 8.01 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน ปริมาณอินทรียวัตถุในดินยกระดับเพิ่มขึ้นเป็น 3.13 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง สามารถยกระดับปริมาณอินทรียวัตถุของดินในกระถางเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 36.68 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 9.06 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มปริมาณอินทรียวัตถุสะสมในดินสูงกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ในอัตรา 25 กรัมและ 50 กรัม ทั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Tchobanoglous *et al*. (1993) การเติมเชื้อให้กับวัสดุหมักจะช่วยลดระยะเวลาในการปรับตัวของจุลินทรีย์ทำให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้นเร็ว ช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายลดระยะเวลาการหมักวัสดุได้ร้อยละ 35 และสอดคล้องกับรายงานของ Battaylino *et al*. (1991) พบว่า ปริมาณเชื้อที่เหมาะสมต่อซับสเตรตในการย่อยสลายได้ดีอยู่ที่ 10^6 สปอร์ต่อกรัมซับสเตรต ทำให้ผลผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลต่อการย่อยสลายซับสเตรตโดยตรง อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับขนาดของพื้นที่ผิววัสดุ และความชื้นในระหว่างกระบวนการย่อยสลาย และจากงานวิจัยนี้การย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นการเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์ด้วยกระบวนการย่อยสลายด้วยเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส เปลี่ยนรูปเป็นอินทรียวัตถุ และคืนธาตุอาหารสู่ดิน (ตารางที่ 5)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 5 ปริมาณอินทรียวัตถุในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (%)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	2.37	2.39	2.57	2.84	2.87
2 = น้ำหมักชีวภาพ	2.38	2.46	2.67	3.14	3.04
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.42	2.55	2.64	2.98	3.03
4 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.32	2.48	2.62	2.92	2.77
5 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.34	2.53	2.60	2.93	3.10
6 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.29	2.42	2.79	3.01	2.92
7 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.35	2.49	2.69	3.22	3.02
8 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.42	2.51	2.73	3.14	3.13
F-test	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	2.26	3.52	7.49	6.25	10.33

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

5.2.2 การเปลี่ยนแปลงของค่าความชื้นของดิน

ค่าความชื้นของดินภายหลังการใส่ปัจจัยทดลองตามตำรับการทดลอง ตลอดระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน (ตารางที่ 6) พบว่า แต่ละตำรับการทดลองมีค่าความชื้นของดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในทุกช่วงเวลาของการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน ความชื้นของดินมีค่าระหว่าง 33.49 - 35.01 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่าระหว่าง 32.30 - 38.15 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าระหว่าง 35.63 - 37.71 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีค่าระหว่าง 29.30 - 32.76 เปอร์เซ็นต์ และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีค่าระหว่าง 29.48 - 31.30 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาจากค่าความชื้นของดินในกระถางก่อนการทดลองปรับความชื้นดิน 30 เปอร์เซ็นต์ เพื่อจำลองสภาพของดินภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชไร่ โดยทั่วไปมีค่าความชื้นของดินอยู่ในระดับต่ำ จากผลการวิเคราะห์ตลอดช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า ความชื้นของดินมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 และ 30 วัน มีค่าความชื้น 34.25 36.63 และ 36.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และความชื้นของดินมีค่าลดลงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 และ 50 วัน มีค่าความชื้น

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

31.07 และ 30.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) จะเห็นได้ว่า มีการเพิ่มขึ้นของค่าความชื้นของดินในช่วงแรก และมีค่าลดลงในช่วงหลัง ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในดินมีผลให้เกิดน้ำจากกระบวนการหายของเชื้อ ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ และกระบวนการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเศษซากพืช (Moo Young *et al*.,1983) เช่น เชื้อรา *Trichoderma viride* มีการเจริญได้ดีที่ระดับความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ แต่สร้างเอนไซม์ได้สูงสุดที่ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการสร้างเอนไซม์จะเกิดขึ้นพร้อมกัน ตั้งแต่การเจริญของเชื้อในช่วงแรก จนเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary เอนไซม์เกิดขึ้นสูงสุด และจะลดลงอย่างรวดเร็ว (วิเชียร และคณะ, 2535) โดยความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายของพืช ความชื้นที่เหมาะสมกับการย่อยสลายพืชจะอยู่ในช่วง 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยเชื้อราและแบคทีเรียทั้งคู่มีกลไกพื้นฐานในการย่อยซากพืช คือ การปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาอยู่ในโมเลกุลของซากพืชที่ขนาดใหญ่ให้เล็กลงแล้วดูดซึมผ่านเข้าทางผนังเซลล์ (Richard, 1976)

ตารางที่ 6 ค่าความชื้นของดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	ค่าความชื้นดิน (%)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	34.32	38.09	37.71	32.76	31.21
2 = น้ำหมักชีวภาพ	35.01	32.30	35.63	31.19	30.19
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	33.94	35.63	36.50	29.48	29.48
4 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	34.51	37.04	37.17	32.74	30.27
5 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	33.49	37.18	36.74	30.50	30.35
6 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	34.55	37.33	37.24	32.11	30.84
7 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	34.36	37.33	36.93	29.30	31.30
8 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	33.80	38.15	37.62	30.51	29.66
ค่าเฉลี่ย	34.25	36.63	36.94	31.07	30.41
F-test	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	1.96	5.88	4.54	5.46	2.86

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

5.2.3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดิน

จากการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินที่มีใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพแต่ละชนิด และอัตราต่าง ๆ ในการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก เป็นระยะเวลา 50 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์สถิติ (ตารางที่ 7) พบว่า ปริมาณเชื้อรายย่อยสลายเซลลูโลสในดินภายหลังการหมักให้เกิดการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 40 และ 50 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) และช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยตำรับการทดลองที่ 3 ตำรับการทดลองที่ 4 และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 25 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ปริมาณเชื้อราในดินที่ระยะเวลา 10 วัน มีค่าระหว่าง 3.081 - 3.165 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 20 วัน มีค่าเพิ่มสูงขึ้น มีค่าระหว่าง 3.532 - 3.556 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 30 วัน มีค่าระหว่าง 3.689 - 3.725 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 40 วัน มีค่าปริมาณเชื้อราทั้งหมดในดินสูงสุด มีค่าระหว่าง 4.654 - 4.816 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่าลดลงที่ระยะเวลา 50 วัน มีค่าระหว่าง 3.561 - 4.524 log เซลล์ต่อกรัม ซึ่งมีปริมาณเชื้อในดินมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 6 ตำรับการทดลองที่ 7 และตำรับการทดลองที่ 8 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 25 50 และ 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อราในดิน ที่ระยะเวลา 10 วัน มีค่าระหว่าง 3.089 - 3.139 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 20 วัน มีค่าระหว่าง 3.561 - 3.608 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 30 วัน มีค่าระหว่าง 3.113 - 3.785 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 40 วัน มีค่าปริมาณเชื้อราทั้งหมดในดินสูงสุด มีค่าระหว่าง 4.629 - 4.899 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่าลดลงที่ระยะเวลา 50 วัน มีค่าระหว่าง 3.962 - 4.431 log เซลล์ต่อกรัม แต่พบว่าทุกตำรับการทดลองข้างต้น มีปริมาณเชื้อในดินสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ที่ระยะเวลา 10 วัน มีค่า 2.909 log เซลล์ต่อกรัม แต่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลา 20 วัน มีค่า 3.504 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 30 วัน มีค่า 3.674 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลา 40 วัน มีค่า 4.475 log เซลล์ต่อกรัม และมีค่าลดลงที่ระยะเวลา 50 วัน มีค่า 4.381 log เซลล์ต่อกรัม โดยทุกตำรับการทดลองมีปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินตลอดระยะเวลา 50 วัน มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ มีปริมาณเชื้อในดินต่ำสุดทุกช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตลอด 50 วัน มีค่าระหว่าง 2.057 - 3.855 log เซลล์ต่อกรัม

เมื่อพิจารณาจากผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดิน ตำรับการทดลองที่มีการใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส พบว่า มีปริมาณเชื้อในดินมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีปริมาณเชื้อสูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มเชื้อในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการหมักวัสดุ เกิดการปลดปล่อยสารอินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเชื้อจากธรรมชาติในกระบวนการหมัก และปริมาณเชื้อจะลดลงเมื่อแหล่งสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายหมด (Alexopoulos *et al.* 1996) และจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณเชื้อราในดินในตำรับที่มีการใส่ผลิตภัณฑ์ มีผลทำให้ปริมาณเชื้อราในดินมีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อรา (log เซลล์ต่อกรัม)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	2.057 c	2.629 b	2.675 b	3.855 c	3.587 de
2 = น้ำหมักชีวภาพ	2.909 b	3.504 a	3.674 a	4.475 b	4.381 a
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.165 a	3.546 a	3.689 a	4.654 ab	3.901 cd
4 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.081 a	3.532 a	3.725 a	4.781 ab	3.561 e
5 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.103 a	3.556 a	3.718 a	4.816 ab	4.524 a
6 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.139 a	3.608 a	3.759 a	4.796 ab	3.962 bc
7 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.100 a	3.561 a	3.113 ab	4.629 ab	4.431 a
8 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.089 a	3.598 a	3.785 a	4.899 a	4.256 ab
F-test	**	**	*	**	**
CV (%)	3.17	3.60	11.16	4.55	4.53

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

5.2.4 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินตามช่วงเวลาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน ที่มีการใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ในอัตราต่าง ๆ ต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพโรงเรือนกระจก ตลอดระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 30 และ 40 วัน พบว่า มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) (ตารางที่ 8) ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลายที่ 10 วัน ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด 3.05 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 7 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน 2.60 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง แต่มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบตำรับการทดลองอื่น ๆ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายที่ 20 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุด 3.59 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตาม การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ในอัตราต่าง ๆ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 - 20 วัน มีค่าสูงกว่าตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ และตำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายที่ 30 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุด 3.89 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 วัน ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 50 วัน พบว่า การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส หรือน้ำหมักชีวภาพ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 และ 50 วัน มีค่าระหว่าง 1.74 - 2.27 และ 1.20 - 1.34 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ในอัตราต่าง ๆ ยังคงมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงกว่าแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 8 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (µg glucose g^{-1} soil h^{-1})				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	0.16 d	1.47 d	1.97 bc	1.15 c	0.79 c
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1.49 c	1.87 cd	3.89 a	2.12 ab	1.00 bc
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.06 bc	2.53 b	2.61 b	2.09 ab	1.34 a
4 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรียผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	1.49 c	3.59 a	2.63 b	2.21 ab	1.31 ab
5 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	3.05 a	2.48 bc	1.96 bc	2.27 a	1.29 ab
6 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	1.46 c	2.75 b	1.88 c	1.74 b	1.21 ab
7 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	2.60 ab	2.84 b	2.22 bc	1.85 ab	1.29 ab
8 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร/ไร่	1.69 c	2.64 b	2.37 bc	2.16 ab	1.20 ab
F-test	**	**	**	**	*
CV (%)	23.41	14.21	16.74	14.07	15.53

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด 3.05 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และการใช้น้ำหมักชีวภาพ มีค่า 1.69 และ 1.49 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าคิดเป็น 80.47 และ 104.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสประกอบด้วยปริมาณเชื้อ *Corynascus verrucosus* 23 เท่ากับ 15.53 log เซลล์ต่อกรัม มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ขณะที่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสมีเพียงค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.227 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบประสิทธิภาพของทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก แสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมกับเอนไซม์เซลลูเลส สามารถ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ส่งเสริมการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้สูง เมื่อพิจารณาจากค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างดิน มีค่าสูงกว่าคิดเป็น 80.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างดินที่มาจากการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 และประสิทธิภาพเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ ภายหลังการหมักย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยใช้เวลาหมัก 10 วัน สอดคล้องกับรายงานของ Deshpande *et al.* (2008) ศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา เช่น *Trichoderma reesei* *Aspergillus niger* และเชื้อผสม โดยใช้วิธีการหมักแห้งการหมักแบบ Solid - State Fermentation (SSF) โดยใช้ขี้เลื่อยและผักตบชวาเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma reesei* แบบเดี่ยว มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงกว่า โดยใช้เวลาหมัก 10 วัน จะสร้างเอนไซม์ได้สูงสุด และเมื่อเกิดกระบวนการหมักมีการสร้างเอนไซม์ได้เพิ่มขึ้น 2 - 3 เท่า ขณะที่กรรมวิธีการใช้น้ำหมักปลาอัตรา 5 ลิตรต่อไร่ ตรวจพบปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสมีค่าสูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ แต่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสน้อยกว่าการใส่ผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ ทั้งนี้จากรายงานของชนากานต์ และคณะ (2565) พบว่า การหมักฟางข้าวต่อน้ำหมักชีวภาพ 1 : 10 ทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 20.95 เปอร์เซ็นต์ โดยคุณสมบัติของน้ำหมักปลามีปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส อินทรียวัตถุ และค่าการนำไฟฟ้าสูงที่สุด ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงาน และการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ อีกทั้ง ในน้ำหมักชีวภาพมี *Bacillus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลส เอนไซม์โปรติเอส (protease) ทำหน้าที่ย่อยโปรตีน และเอนไซม์ฟอสฟาเทส ทำหน้าที่ปลดปล่อยธาตุฟอสฟอรัสที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชให้เป็นประโยชน์ต่อพืช (โสพส, 2559) และจากงานวิจัยของวีณารัตน์ (2553) พบว่า การหมักฟางข้าวด้วยน้ำหมักชีวภาพจากปลา ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวมากตามไปด้วย และสอดคล้องกับผลการศึกษาของนวลจันทร์ (2557) พบว่า การหมักฟางข้าวด้วยน้ำหมักชีวภาพปลา มีผลทำให้มีปริมาณแบคทีเรียและปริมาณแอคติโนมัยซีทย่อยสลายเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ตามระยะเวลาของการหมัก และส่งผลต่อการย่อยสลายฟางข้าวที่เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาจากผลการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำในอัตราที่แตกต่างกันต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก จึงคัดเลือกวิธีการและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ คือ ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ หมักย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนปลูก เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำไปใช้ศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลองต่อไป

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

5.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังต่อการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองสภาพแปลงทดลอง จาก 2 รอบการปลูก

5.3.1 ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองสภาพแปลงทดลอง จากการปลูกรอบที่ 1 มีรายละเอียดดังนี้

1) ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช

จากการเก็บตัวอย่างน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลอง เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (ตารางที่ 9) พบว่า ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 70.29 - 83.40 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่า ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 20 ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 56.76 - 63.06 เปอร์เซ็นต์ แต่มีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุด 70.75 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์เร่งการย่อยตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีผลต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็วขึ้น คิดเป็นค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไป 39.77 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากกว่าตำรับควบคุมที่มีค่า 29.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 30 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่า 49.95 และ 47.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่มีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ ที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 56.89 - 61.43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 วัน พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชลดลงอย่างรวดเร็ว โดยตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 10.03 - 13.88 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังคงค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบตำรับควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุด 20.71 เปอร์เซ็นต์ และในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 50 - 60 วัน มีแนวโน้มการลดลงของค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชค่อนข้างคงที่ โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 และ 60 วัน มีค่าต่ำสุด 4.43 และ 3.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (เปอร์เซ็นต์)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	83.40	70.75 a	61.43 a	20.71 a	8.59 a	8.01 a
2 = น้ำหมักชีวภาพ	70.29	63.06 b	56.89 a	11.40 b	5.31 bc	6.71 ab
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	78.14	61.50 b	60.73 a	13.88 b	4.43 c	3.13 c
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	75.01	56.76 b	49.95 b	10.03 b	7.63 ab	6.70 ab
5 = ผลิตภัณฑ์ พด.1	83.23	59.60 b	47.83 b	12.71 b	7.59 ab	4.96 bc
F-test	ns	**	**	*	*	**
CV (%)	9.04	7.04	7.64	26.17	25.14	23.27

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

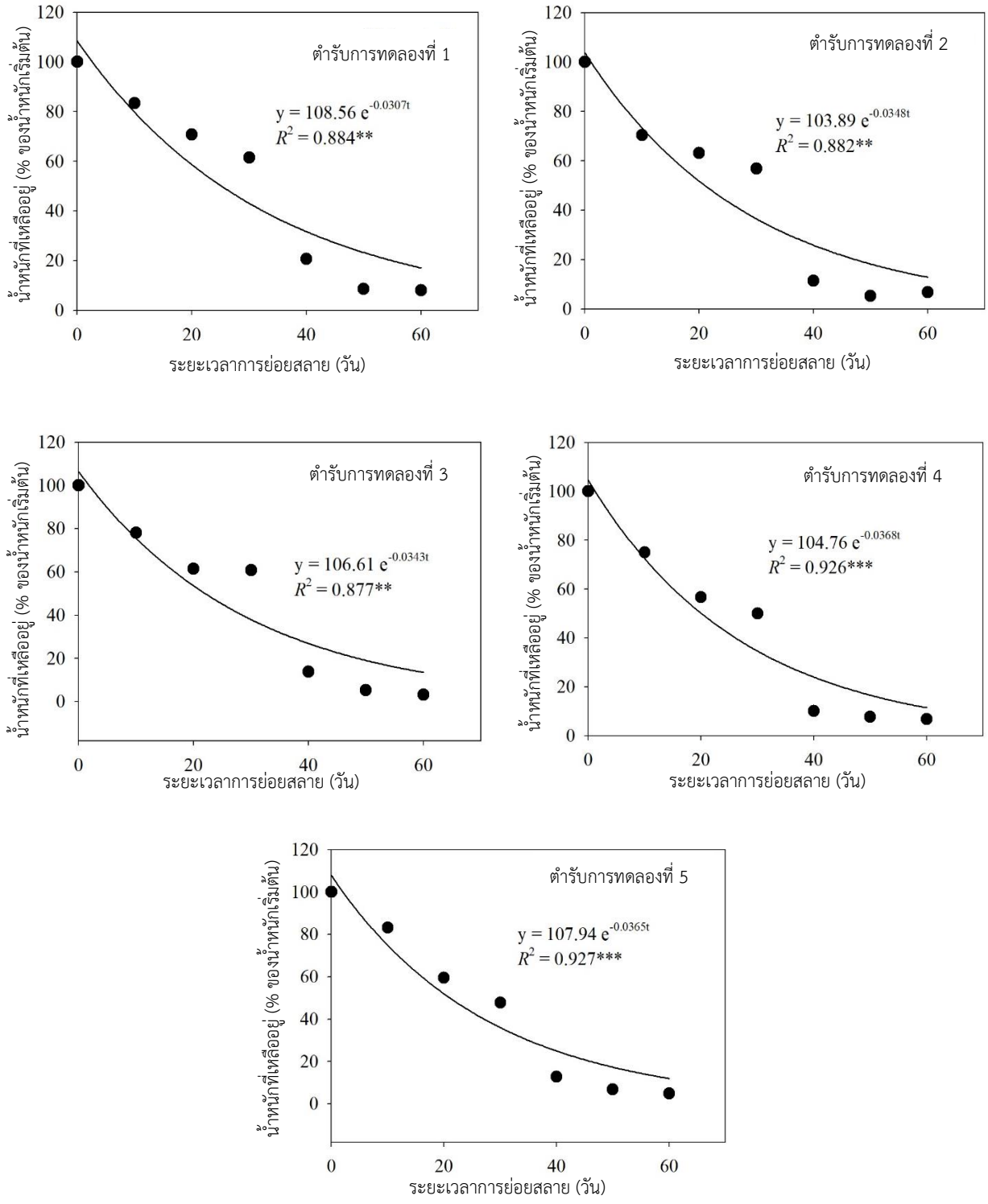
* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

2) อัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ผลการศึกษาอัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1 จากการประเมินด้วยสมการ Olson (1963) พบว่า ค่าคงที่ของการย่อยสลาย (k) ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ อัตราการสลายตัว (k) ทุก 10 วัน มีค่าคงที่ของการย่อยสลาย (k) สูงสุด 0.0368 รองลงมา คือ ตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า 0.0365 ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า 0.0348 และตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า 0.0343 ขณะที่ตำรับควบคุมมีค่าอัตราการสลายตัวต่ำสุด 0.0307 และจากภาพที่ 17 แสดงเห็นได้ว่า อัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1 เป็นแบบต่อเนื่อง จึงไม่สามารถแบ่งช่วงการสลายตัวของสารอินทรีย์ด้วยการใช้แบบจำลองการสลายตัวด้วย double pool model แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ยังคงมีค่าอัตราการสลายตัว (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูงกว่าการตำรับควบคุม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 17 ค่าคงที่อัตราการสลายตัว (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

3) ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดิน

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดิน (ตารางที่ 10) พบว่า ช่วงแรกของการย่อยสลาย 10 - 20 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณเชื้อระหว่าง 5.680 - 5.880 log เซลล์ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีปริมาณเชื้อระหว่าง 5.764 - 5.993 log เซลล์ต่อกรัม และช่วงการย่อยสลาย 30 40 และ 50 วัน ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดิน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อสูงสุด 6.863 log เซลล์ต่อกรัม มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อระหว่าง 6.771 - 6.824 log เซลล์ต่อกรัม โดยปริมาณเชื้อเริ่มมีค่าลดลงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ 6.642 และ 6.715 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน การใช้ผลิตภัณฑ์ทุกชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีปริมาณเชื้อระหว่าง 5.396 - 5.498 log เซลล์ต่อกรัม แต่ทุกตำรับการทดลองมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด ขณะที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 60 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีปริมาณเชื้อระหว่าง 5.387 - 5.497 log เซลล์ต่อกรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ฉีดพ่นลงบนเศษซากพืชในแปลงและลงดิน มีผลให้ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินเพิ่มขึ้นในช่วงการย่อยสลายเศษพืชที่ระยะเวลา 30 วัน หลังจากนั้น การเจริญของเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินเริ่มลดลง สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ของน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช และอัตราการย่อยสลายเศษพืชลดลงภายหลังการย่อยสลาย 30 วัน ทำให้ปริมาณเชื้อราลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ขาดแหล่งอาหาร และสารตั้งต้นในกระบวนการย่อยสลายเศษพืช

ตารางที่ 10 ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อรา (log เซลล์ต่อกรัม)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	5.690	5.764	5.858 b	5.674 c	4.457 a	5.433
2 = น้ำหมักชีวภาพ	5.880	5.918	6.824 a	5.859 b	5.396 b	5.456
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	5.844	5.839	6.863 a	6.642 a	5.437 b	5.443
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	5.750	5.993	6.771 a	6.715 a	5.432 b	5.387
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	5.680	5.874	6.809 a	5.759 bc	5.498 b	5.497
F-test	ns	ns	**	**	**	ns
CV (%)	3.09	2.02	2.05	1.55	2.77	2.08

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

4) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน (ตารางที่ 11) พบว่า ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด 3.56 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 3.29 - 3.42 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่า 4.13 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.57 - 3.69 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ขณะที่ตำรับควบคุมยังคงมีค่าต่ำสุด และช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 และ 40 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.02 - 3.60 และ 2.93 - 3.36 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 60 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 0.59 - 0.72 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง

ตารางที่ 11 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลองจากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (µg glucose g^{-1} soil h^{-1})					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	2.93 b	3.09 c	3.02	2.93	2.23 a	0.63
2 = น้ำหมักชีวภาพ	3.29 ab	3.57 b	3.13	3.09	1.59 b	0.65
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	3.56 a	4.13 a	3.60	3.09	1.68 b	0.66
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	3.42 a	3.68 b	3.32	3.36	2.05 a	0.72
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	3.29 ab	3.69 b	3.37	3.15	1.43 b	0.59
F-test	*	**	ns	ns	**	ns
CV (%)	7.37	6.64	9.22	7.43	10.63	22.83

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

จากผลการศึกษาการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองด้วยเทคนิคถุงตาข่าย (litter bag technique) ที่มีขนาดรูเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร จากการปลูกรอบที่ 1 พบว่า การใช้

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ส่งผลต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ดีที่ 20 วัน ย่อยสลายได้ถึง 36.94 - 43.24 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งเศษพืช สอดคล้องกับค่าวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในดิน และค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินที่มีค่าสูงในช่วง 10 - 30 วัน และมีค่าลดลงที่ 40 วัน ทั้งนี้เนื่องจากการเติมเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกิจกรรมจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของซากพืชได้ดี (Deacon, 1980) สอดคล้องกับรายงานของ Tchobanoglous *et al.* (1993) พบว่า การเติมเชื้อในการหมักวัสดุจะช่วยลดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาการย่อยสลาย และช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายได้เร็วขึ้น และสอดคล้องกับรายงานของ Tian *et al.* (1992); Kaewpredit *et al*. (2008) พบว่า ซากพืชที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ เช่น ฟางข้าว (C/N = 78) หรือต้นและใบข้าวโพด (C/N = 62) จะเกิดกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยกิจกรรมจุลินทรีย์ เกิดการเปลี่ยนแปลงย่อยสลายสารอินทรีย์หมุนเวียนธาตุของกระบวนการ N immobilization ซึ่งในช่วงแรกของการย่อยสลายเกิดขึ้นเร็ว 1 - 2 สัปดาห์ และหลังจากนั้นกระบวนการ N immobilization เกิดขึ้นในระดับต่ำ และสอดคล้องกับรายงานของปรีชา และคณะ (2562) จากการศึกษาอัตราการย่อยสลายของซังข้าวโพดและผักตบชวา ด้วยวิธี litter bag method จากการหมักวัสดุที่ใช้ผงเชื้อผสมแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลส มีอัตราการย่อยสลายสูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 โดยมีอัตราการย่อยสลายสูงสุดเท่ากับ 27.22 มิลลิกรัมต่อวัน และมีค่าอัตราการสลายของวัสดุหมักสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อ

5.3.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองสภาพแปลงทดลอง จากการปลูกรอบที่ 2 มีรายละเอียดดังนี้

1) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช

จากการเก็บตัวอย่างน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองจากการปลูกรอบที่ 2 เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (ตารางที่ 12) พบว่า ในช่วงแรกของการย่อยสลาย 10 และ 20 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุด 55.38 และ 42.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และตำรับควบคุมที่มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุด 68.71 และ 78.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน ตำรับควบคุมยังคงมีค่าสูงสุด 66.33 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชลดลงต่ำสุดอย่างเนื่องไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 40 และ 50 วัน มีค่าระหว่าง 39.73 - 41.08 34.26 - 36.79 และ 24.93 - 29.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ยังคงพบว่า ตำรับควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุดอย่างนัยสำคัญทางสถิติ และในช่วงระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 60 วัน พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชลดลงอย่างรวดเร็ว โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ยังคงมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุด 3.64 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตำรับควบคุมยังคงมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุดตลอด

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ช่วงการย่อยสลาย 60 วัน แสดงให้เห็นได้ว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลทำให้เกิดการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็ว โดยใช้ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปมีค่ามากที่สุด 44.62 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปสูงกว่าผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 31.71 - 37.32 เปอร์เซ็นต์ และยังคงมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุมที่มีปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปเพียง 21.40 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (เปอร์เซ็นต์)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	78.60 a	66.33 a	54.03 a	42.08 a	36.14 a	6.89 a
2 = น้ำหมักชีวภาพ	62.68 bc	47.28 b	39.73 b	34.26 bc	24.93 b	3.90 bc
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	55.38 c	42.79 b	41.08 b	36.79 b	25.98 b	3.64 c
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	64.96 bc	48.29 b	40.41 b	31.56 c	29.78 b	4.68 b
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	68.71 ab	44.66 b	39.90 b	36.33 b	28.57 b	4.66 b
F-test	**	**	**	*	*	**
CV (%)	9.74	8.77	11.34	8.37	16.59	12.42

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

2) อัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากผลการศึกษาอัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ภาพที่ 18) จากการประเมินด้วยสมการ Olson (1963) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพอัตรา 5 ลิตรต่อไร่ มีค่าอัตราการสลายตัว (k) สูงสุด 0.0287 ใกล้เคียงกับตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ค่าอัตราการสลายตัว (k) 0.0282 ขณะที่ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ค่าอัตราการสลายตัว (k) เท่ากัน คือ 0.0270 ขณะที่ตำรับควบคุม ค่าอัตราการสลายตัว (k) ต่ำสุด 0.0197 และเมื่อนำเอาแบบจำลองแบ่งการสลายตัวขององค์ประกอบทางเคมีของสารอินทรีย์ด้วยสมการ double pool model มาใช้ทำนายอัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง พบว่า ค่าอัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2 สามารถแบ่งการสลายตัวออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในช่วงแรกมีค่าอัตราการสลายตัว (k_1) เกิดขึ้นเร็วสุด 0.605 ที่ระยะ 10 - 20 วัน

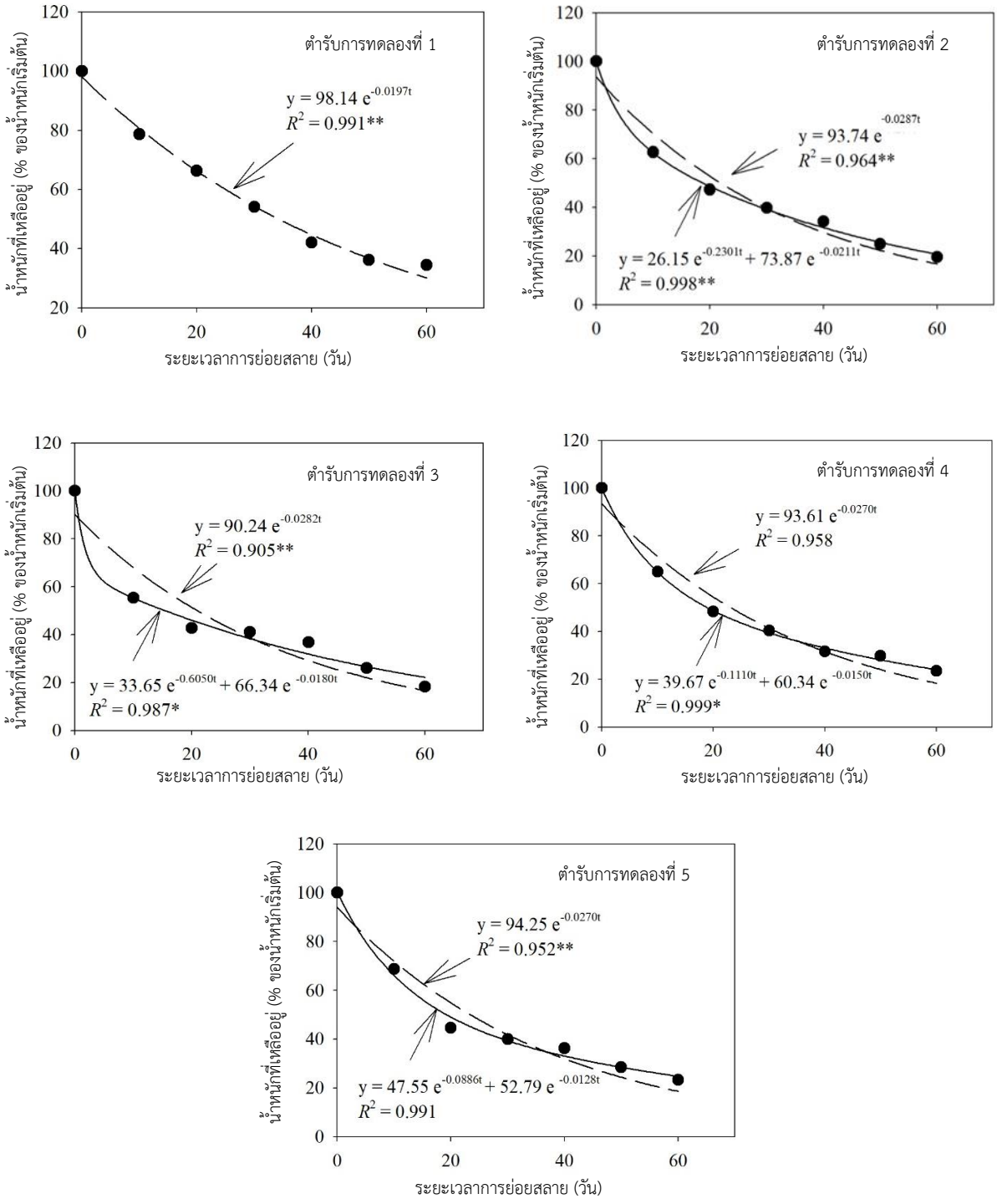
ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

มีค่าสูงกว่าในช่วงที่ 2 ค่าอัตราการสลายตัว (k_2) ที่มีอัตราการสลายลดลง 0.0180 ที่ระยะเวลา 30 – 50 วัน รองลงมาคือ ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ในช่วงแรกมีค่าอัตราการสลายตัว (k_1) 0.2301 เกิดขึ้นเร็วกว่าช่วงที่ 2 ค่าอัตราการสลายตัว (k_2) มีอัตราการสลายลดลง 0.0211 ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในช่วงแรกค่าอัตราการสลายตัว (k_1) 0.1110 เกิดขึ้นเร็วกว่าช่วงที่ 2 ค่าอัตราการสลายตัว (k_2) มีอัตราการสลายลดลง 0.0150 และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ในช่วงแรกค่าอัตราการสลายตัว (k_1) 0.0886 เกิดขึ้นเร็วกว่าช่วงที่ 2 ค่าอัตราการสลายตัว (k_2) มีอัตราการสลายลดลง 0.0128 ซึ่งจากภาพที่ 18 จะเห็นได้ว่า ตำรับควบคุมมีค่าอัตราการสลายตัวเป็นแบบต่อเนื่อง และไม่สามารถแบ่งช่วงการสลายตัวของสารอินทรีย์ด้วยการใช้แบบจำลองการสลายตัวด้วย double pool model ซึ่งยังคงเป็นรูปแบบการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เช่นเดียวกับการปลูกรอบที่ 1

3) ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่แปลงทดลอง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดิน (ตารางที่ 13) พบว่า ช่วงแรกของการย่อยสลาย 10 - 20 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณเชื้อสูงสุด 6.426 log เซลล์ต่อกรัม และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 6.766 log เซลล์ต่อกรัม แต่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูโลส และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 และ 20 วัน มีปริมาณเชื้อระหว่าง 6.107 - 6.426 และ 6.340 - 6.775log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ แต่ทุกตำรับการทดลองข้างต้น มีค่าสูงกว่าตำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด และช่วงการย่อยสลาย 30 วัน มีแนวโน้มปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุด พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อสูงสุด 6.881 log เซลล์ต่อกรัม ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ มีปริมาณเชื้อ 6.785 log เซลล์ต่อกรัม แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูโลส ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 และตำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด มีค่าระหว่าง 5.778 - 6.109 log เซลล์ต่อกรัม เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 วัน ปริมาณเชื้อเริ่มลดลงมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้อสูงสุด 5.905 log เซลล์ต่อกรัม มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 3 และตำรับการทดลองที่ 5 มีค่า 5.325 และ 5.841 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ แต่ยังคงพบว่า การใส่ผลิตภัณฑ์เร่งการย่อยสลายตอซังทุกชนิดมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุมที่มีปริมาณเชื้อในดินต่ำสุด และในช่วงการย่อยสลาย 50 และ 60 วัน ปริมาณเชื้อลดลงต่อเนื่อง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีปริมาณเชื้อระหว่าง 4.622 - 5.535 และ 4.677 - 4.812 log เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 หรือน้ำหมักชีวภาพ มีผลให้ปริมาณรายย่อยเซลลูโลสในดินเพิ่มขึ้นสูงกว่าตำรับควบคุม

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน



ภาพที่ 18 ค่าคงที่อัตราการสลายตัว (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2

ตารางที่ 13 ปริมาณเชื้อรายย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อรา (log เซลล์ต่อกรัม)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	5.344 b	5.366 b	5.778 b	4.529 c	4.622	4.676
2 = น้ำหมักชีวภาพ	6.248 a	6.645 a	6.785 a	5.069 bc	5.449	4.767
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	6.426 a	6.766 a	6.881 a	5.325 ab	5.535	4.750
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	6.346 a	6.775 a	6.109 b	5.905 a	4.623	4.693
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1	6.107 a	6.340 a	6.092 b	5.841 a	5.358	4.812
F-test	**	**	*	**	ns	ns
CV (%)	5.20	4.80	6.76	7.44	10.54	6.95

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

4) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน (ตารางที่ 14) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในช่วงระยะเวลาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงที่ 10 วัน มีค่าสูงสุด 3.25 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ และตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่า 2.78 และ 2.76 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 1 และตำรับควบคุมมีค่าต่ำสุด 2.45 และ 2.48 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ และตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสมีค่าเพิ่มขึ้นที่ 20 วัน มีค่า 4.05 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 3.63 - 3.65 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดต่อเนื่องถึง 30 วัน มีค่า 4.14 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 2 ตำรับการทดลองที่ 5 และตำรับควบคุมที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.16 - 3.84 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ภายหลังการย่อยสลาย 40 50 และ 60 วัน มีค่าลดลงอย่าง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ต่อเนื่องไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่าระหว่าง 3.37 - 3.74 3.28 - 3.79 และ 2.89 - 3.12 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ

ตารางที่ 14 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (µg glucose g^{-1} soil h^{-1})					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	2.48 b	3.27 c	3.16 c	3.38	3.28	2.89
2 = น้ำหมักชีวภาพ	2.78 ab	3.64 b	3.36 bc	3.61	3.61	3.08
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	3.25 a	4.05 a	4.14 a	3.68	3.43	3.09
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	2.76 ab	3.65 b	3.84 ab	3.74	3.66	3.12
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	2.45 b	3.63 b	3.48 bc	3.37	3.79	3.12
F-test	*	**	*	ns	ns	ns
CV (%)	11.89	4.57	11.22	11.88	6.79	5.51

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำต่อการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากผลการทดลองในสภาพแปลงทั้ง 2 รอบการปลูก พบว่า จากการปลูกรอบที่ 2 สามารถนำเอาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ double pool model มาใช้ทำนายอัตราการสลายตัวของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง โดยการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าอัตราการสลายตัวในช่วงแรก (k_1) 10 - 20 วัน เกิดขึ้นเร็วสุด 0.605 ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปมากถึง 44.62 เปอร์เซ็นต์ และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุดต่อเนื่องจนถึง 30 วัน และในช่วงหลัง (k_2) 30 - 50 วัน มีอัตราการย่อยสลายช้าลง ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสมีองค์ประกอบของเชื้อราเริ่มต้นสูง 15.528 log เซลล์ต่อกรัม และเอนไซม์เซลลูเลส 0.250 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับรายงานของ Martinez-Viveros *et al.* (2010) ผงเชื้อสำหรับใส่ลงดินควรมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 8.0 - 9.0 log เซลล์ต่อกรัม และจากรายงานปรีชา และคณะ (2562) พบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 8.0 log เซลล์ต่อกรัม ในผลิตภัณฑ์ย่อยสลายเซลลูโลส มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายซังข้าวโพดและผักตบชวาได้ดี และจากรายงานของธงชัย (2550) จุลินทรีย์ในดินที่มีบทบาทในการย่อยสลายเศษพืชประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม คือ แบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซีส จุลินทรีย์เหล่านี้จะขับเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยสลายเศษพืชได้สารต่าง ๆ มากมาย ซึ่งเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสช่วยเร่งอัตราการสลายตัวของตอ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เกิดขึ้นได้รวดเร็วในช่วง 10 วันแรก เมื่อเปรียบเทียบกับการสลายตัวตามธรรมชาติ และสอดคล้องกับรายงานของปัทมา และคณะ (2556) จากการศึกษาการสลายตัวของสารอินทรีย์ต่าง ๆ สามารถแยกอัตราการสลายตัวออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรก 1 - 4 สัปดาห์ และช่วงหลัง 8 - 52 สัปดาห์ โดยสารอินทรีย์ทุกชนิดมีอัตราการสลายตัวอย่างรวดเร็วในช่วงแรก เช่น ฟางข้าวมีอัตราการสลายตัวในช่วงสัปดาห์ที่ 4 มีปริมาณน้ำหนักที่เหลืออยู่เท่ากับ 42.3 เปอร์เซ็นต์ สะท้อนให้เห็นว่า ปริมาณของคาร์บอนในส่วนที่สลายตัวง่ายถูกทำให้สลายตัว และนำไปใช้เพื่อดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน หลังจากนั้นอัตราการย่อยสลายมีแนวโน้มลดลงในสัปดาห์ที่ 6 การย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ในดิน เกิดจากกระบวนการของจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส และจากรายงานของ Leash and Daynard (1973) พบว่า อัตราการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งในตอซังข้าวโพด ส่วนของใบและก้าน มีอัตราลดลง 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อสัปดาห์ ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อส่วนที่ย่อยสลายได้ง่าย และส่วนของลำต้นอย่างน้อย 2 สัปดาห์ อีกทั้งอัตราการย่อยสลายขึ้นอยู่กับความชื้นในแปลง กระบวนการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โครงสร้างทางเคมีของวัสดุอินทรีย์ สารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น แป้งและน้ำตาล จะถูกย่อยง่ายกว่าสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส และมีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ลิกนิน และไคติน (Cummins, 1970) และสอดคล้องกับรายงานของ Thomas and Asakawa (1993) เศษพืชมีอัตราการสลายตัวในช่วงที่สอง (k_2) ช้า เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงแรก (k_1) เกิดจากอิทธิพลขององค์ประกอบทางเคมีของสารอินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณลิกนินและโพลีฟีนอล เป็นปัจจัยที่จำกัด และมีบทบาทต่ออัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ (Muller *et al.,* 1988; ปัทมา และคณะ, 2556) เมื่อพิจารณาในตำรับการทดลองที่มีการใช้น้ำหมักชีวภาพ พบว่า มีอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดต่ำกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แต่มีอัตราการสลายตัวสูงกว่าอัตราการสลายตัวตามธรรมชาติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำหมักชีวภาพจากปลา มีทั้งแบคทีเรียและยีสต์ ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายและแปรสภาพวัสดุอินทรีย์ แต่มีปริมาณที่น้อยกว่าปุ๋ยหมัก โดยน้ำหมักชีวภาพจากปลามีแบคทีเรียทั้งหมด 3.35 - 3.68 log เซลล์ต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียแปรสภาพฟอสฟอรัส 3.02 - 3.51 log เซลล์ต่อมิลลิลิตร และยีสต์ 2.15 - 3.76 log เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีกรดฮิวมิกร้อยละ 0.02 - 0.59 เพราะว่าเนื้อปลาจะประกอบด้วยโปรตีนที่เป็นประโยชน์สำหรับจุลินทรีย์และระบบนิเวศดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2543) จึงมีผลต่อกระบวนการย่อยสลายเศษพืชในดิน

5.4 ผลการศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

5.4.1 ผลการศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน

1) การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน

1.1) สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่มจำนวน 15 จุด และนำมาคลุกเคล้าให้เข้ากันให้เป็น 1 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์สมบัติของดิน (ตารางที่ 15) พบว่า ดินมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8.60 ดินเป็นด่างจัด ปริมาณอินทรียวัตถุ 2.50 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548) ซึ่งการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำเป็นต้องใช้ทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุรอง และการใช้

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ปุ๋ยเคมีในการเพิ่มธาตุอาหาร โดยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต้องการไนโตรเจน 10 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 5 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 5 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

1.2) สมบัติทางเคมีของดินหลังการทดลอง จากการปลูกรอบที่ 1

จากการเก็บตัวอย่างดินในแปลงทดลองหลังเก็บผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 15 ดังนี้

1.2.1) ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่างของดินหลังการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างตำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 8.37- 8.49 เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่างของดินภายหลังการทดลอง ดินเป็นด่างปานกลาง และมีค่าความเป็นด่างของดินลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8.60 ดินเป็นด่างจัด

1.2.2) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีค่าปริมาณอินทรียวัตถุในดินมีค่าสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 2.22 - 2.27 เปอร์เซ็นต์ แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม มีค่าต่ำสุด 1.97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดินจัดอยู่ในระดับปานกลาง จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ส่งผลต่อการสะสมปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูงกว่าการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้เนื่องจากการสับกลบตอซังพืช หรือเศษพืชที่เหลือลงดิน เป็นการเพิ่มแหล่งอินทรีย์คาร์บอนเกิดการย่อยสลายเกิดเป็นอินทรียวัตถุในดินจากกิจกรรมจุลินทรีย์ ช่วยเพิ่มอินทรียวัตถุในดินได้เร็วขึ้น และช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ส่งผลให้พืชสามารถดูดธาตุอาหารที่ได้จากการย่อยสลายเก็บสะสมได้มากขึ้น ช่วยเพิ่มมวลชีวภาพของพืชในส่วนเหนือดินและในดิน (Graham *et al*., 2002) อีกทั้งการสับกลบเศษพืชอย่างต่อเนื่อง เป็นการเพิ่มแหล่งอินทรียวัตถุ และเพิ่มการสะสมอินทรียวัตถุในดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) สอดคล้องกับรายงานของปรีชา และคณะ (2562) องค์ประกอบในเศษพืชจากข้าวโพดมีเซลลูโลสสูง มีเยื่อใย และมีแหล่งสารอินทรีย์ อีกทั้งการใส่จุลินทรีย์ร่วมในกระบวนการหมักช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายเซลลูโลสได้เพิ่มขึ้น ซึ่งยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และความชื้นในสภาพแวดล้อมนั้นด้วย ส่งผลต่อการสะสมของอินทรียวัตถุในดินโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์เป็นตัวการที่สำคัญทำให้สารอินทรีย์จากซากพืชย่อยสลายแปรสภาพเป็นธาตุอาหารพืช และอินทรียวัตถุใหม่ คืนกลับให้กับดินได้อีกครั้ง ทำให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารพืชในดิน (วิสุทธิ์, ม.ป.ป.) และการสับกลบต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแปลง มีผลให้ปริมาณอินทรียวัตถุในดินที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร เกิดการทับถม และสะสมเซลล์จุลินทรีย์อยู่บริเวณผิวดินบนมากกว่าดินล่างที่ระดับความลึก 15 -30 เซนติเมตร และยังส่งผลช่วยรักษาโครงสร้างและคุณภาพดิน (สุนิสา, 2561)

1.2.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 45.44 - 47.87 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ และตำรับควบคุม มีค่า 31.67 และ 31.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองที่มีปริมาณ

ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

1.2.4) ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างตำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 177.46 - 192.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ดินภายหลังการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ จัดอยู่ในระดับสูงมาก และยกระดับสูงขึ้นจากดินก่อนการทดลองที่อยู่ในระดับสูง

1.3) สมบัติทางเคมีของดินหลังการทดลอง จากการปลูกรอบที่ 2 (ตารางที่ 15)

1.3.1) ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่างของดินหลังการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 8.23 - 8.30 ดินเป็นด่างปานกลาง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548) จากข้อมูลความเป็นด่างของดินจากการปลูกรอบที่ 2 มีค่าลดลงต่ำกว่าดินก่อนการทดลองจาก 8.60 และภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่า 8.43 ทั้งนี้เนื่องจากอินทรียวัตถุในดินมีประจุลบเป็นจำนวนมาก และมีความสามารถในการดูดซับประจุบวกได้สูง จึงมีผลทำให้ดินที่มีอินทรียวัตถุสูงมีความต้านทานการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของดินได้ดี (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541)

1.3.2) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดินมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 2.84 - 3.03 เปอร์เซ็นต์ จากค่าเฉลี่ยปริมาณอินทรียวัตถุในดิน 2.90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง 2.50 เปอร์เซ็นต์ และดินภายหลังการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 2.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ปริมาณอินทรียวัตถุในดินภายหลังการทดลองมีการสะสมเพิ่มขึ้น จัดอยู่ในระดับสูง สามารถยกระดับปริมาณอินทรียวัตถุในดินเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง และดินภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเพิ่มสูงขึ้นคิดเป็น 16.0 เปอร์เซ็นต์ และ 32.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการสับกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีผลต่อการสะสมปริมาณอินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้น จากการสับกลบตอซังพืช หรือเศษพืชที่เหลือลงดินเป็นการเพิ่มแหล่งอินทรีย์คาร์บอน เกิดการย่อยสลายเกิดเป็นอินทรียวัตถุในดินจากกิจกรรมจุลินทรีย์ อีกทั้งการสับกลบเศษพืชอย่างต่อเนื่องเป็นการเพิ่มแหล่งอินทรียวัตถุ และเพิ่มการสะสมอินทรียวัตถุในดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

1.3.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงสุด มีค่า 73.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 46.75 – 58.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง และดินภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 40.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

1.3.4) ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างตำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 211.5 – 231.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง และดินภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 186.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

ตารางที่ 15 สมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 และรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	pH (1:1)		OM (%)		Avail. P (mg/kg)		Exch. K (mg/kg)	
ก่อนการทดลอง	8.60		2.50		13		120	
หลังการทดลอง	crop 1	crop 2	crop 1	crop 2	crop 1	crop 2	crop 1	crop 2
1	8.47	8.30	1.97 b	2.87	31.05 b	58.75 b	192.50	231.0
2	8.40	8.23	2.27 a	2.86	31.67 b	46.75 b	177.46	211.5
3	8.49	8.30	2.23 a	2.87	45.44 a	73.25 a	191.20	212.0
4	8.37	8.25	2.26 a	3.03	47.87 a	51.50 b	184.98	214.75
5	8.46	8.30	2.22 a	2.84	47.37 a	53.25 b	188.71	224.75
F-test	ns	ns	*	ns	*	*	ns	ns
CV (%)	2.57	1.03	5.09	5.01	19.86	18.58	15.55	16.13

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูก 2 รอบ มีผลต่อสมบัติทางเคมีของดิน พบว่า มีผลต่อการสะสมอินทรียวัตถุในดินเพิ่มสูงขึ้น คิดเป็น 16.0 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินมีค่าเพิ่มขึ้น คิดเป็น 83.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้การสะสมปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้น คิดเป็น 39.36 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใส่ปัจจัยการทดลองมีการใส่ปุ๋ยเคมีที่เป็นแหล่งธาตุอาหารพืช อาจเกิดการสะสมในดิน และจากการสับกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นการเพิ่มแหล่งธาตุอาหารจากพืช อีกทั้งเพิ่มอินทรียวัตถุใหม่ลงในดิน สอดคล้องกับรายงานของ Matsummoto *et al.* (2008) การสับกลบเศษซากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทำให้มีคาร์บอนใส่กลับลงในดินเฉลี่ย 488.70 กิโลกรัมคาร์บอนต่อไร่ เป็นปัจจัยที่ทำให้อินทรียวัตถุในดินเพิ่มขึ้น จากคุณสมบัติของอินทรียวัตถุมีพื้นที่ผิวสัมผัสมาก มีประจุลบเป็นส่วนใหญ่ และมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (CEC) ได้สูงกว่าดินเหนียวชนิดอื่น ๆ อีกทั้งเศษพืชที่เกิดการย่อยสลายด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์จะเป็นอินทรียวัตถุที่สลายตัวได้ดีแล้ว จะมีค่า CEC สูงถึง 300 เมกะกรัมต่อ 100 กรัมของฮิวมัส ซึ่งสูงกว่า CEC ของแร่ดินเหนียว ประมาณ 2 - 30 เท่า มีความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารประจุบวกมาจากประจุลบจำนวนมากของอินทรียวัตถุ ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการ dissociation ของสารประกอบบางกลุ่ม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง carboxylic group และ phenolic OH group (โสพส, 2559) จึงมีความสำคัญมากในการป้องกันมิให้ธาตุอาหารพืชที่ใส่ลงไปในดินในรูปปุ๋ยเคมี หรือธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติ ถูกดูดซับไว้ที่ผิวอินทรียวัตถุ ทำให้ลดการสูญเสียธาตุอาหารไปกับกระบวนการชะล้าง โดยเฉพาะดินทราย หรือดินเนื้อหยาบ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารของพืชเป็นไปได้ดียิ่งขึ้น และเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยเคมี (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541) อีกทั้งการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์พืช ทำให้เกิดการย่อยสลาย และปลดปล่อยธาตุอาหารพืช จากกิจกรรมของจุลินทรีย์และเอนไซม์ เกิดการสะสมในดินได้เร็วและมากขึ้น ทั้งนี้ต้นข้าวโพดเป็นวัสดุย่อยสลายง่าย มีองค์ประกอบทางเคมี ประกอบด้วยอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 62 ไนโตรเจน 0.53 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 2.21 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งอินทรียวัตถุ และธาตุอาหารพืช อีกทั้งเป็นแหล่งอาหารและพลังงานให้กับจุลินทรีย์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) โดยเศษซากพืชมีปริมาณเยื่อใยสูง มีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง จากรายงาน Leash and Daynard (1973) พบว่า ความหนาแน่นของต้นข้าวโพด 8,533 ต้นต่อไร่ มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูง และการย่อยได้ของวัตถุแห้งในตอซังข้าวโพด มีอัตราลดลง 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อสัปดาห์ จากผลการทดลองของงานวิจัยนี้ เมื่อประเมินจากองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเศษเหลือทิ้งในส่วนของตอซังข้าวโพด คิดเป็นวัตถุแห้ง 89.2 เปอร์เซ็นต์ จากการประเมินธาตุอาหารพืชจากเซลล์พืชที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวภาพด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยคิดสัดส่วนมวลชีวภาพของต้น ตอ และใบของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็น 1.245 ตันต่อตันผลผลิต (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) เมื่อประเมินโดยคิดจากค่าเฉลี่ยผลผลิตจากการปลูกรอบที่ 1 พบว่า ตำรับควบคุมมีค่าผลผลิต 932.80 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพตอซังข้าวโพด 1,161.34 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นปริมาณธาตุอาหารใส่กลับลงไปในดิน ดังนี้ ปริมาณไนโตรเจน 6.16 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัส 1.74 กิโลกรัมต่อไร่ และปริมาณโพแทสเซียม 25.67 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่การใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซัง มีค่าเฉลี่ยผลผลิต 1,031.10 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพตอซังข้าวโพด 1,283.72 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นปริมาณธาตุอาหารใส่กลับลงไปในดิน ดังนี้ ปริมาณไนโตรเจน 6.80 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัส 1.93 กิโลกรัมต่อไร่ และปริมาณโพแทสเซียม 28.37 กิโลกรัมต่อไร่ และจากการปลูกรอบที่ 2 มีค่าเฉลี่ยผลผลิตสูงขึ้นเป็น 1,104.96 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพตอซังข้าวโพด 1,375.68 กิโลกรัมต่อไร่ จึงมีการสะสมอินทรียวัตถุและธาตุอาหารในดินได้เพิ่มมากขึ้น และจากงานวิจัยของชนากานต์และคณะ (2565) การสับกลบหมักฟางข้าวด้วยสารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 ที่ขยายเชื้อ ทำให้มีปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.80 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินได้เช่นกัน ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น การใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแปลงอย่างต่อเนื่อง 2 รอบการปลูก มีผลให้การสะสมปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์และปริมาณโพแทสเซียมในดินเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด ซึ่งหากดินมีปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสะสมในดินระดับความเข้มข้นสูงมากลักษณะดังกล่าวนี้ สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมลงได้

5.4.2 การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 1

1) การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 1 (ตารางที่ 16)

1.1) ค่าความเขียวใบ พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีค่าความเขียวใบสูงสุดมีค่าระหว่าง 47.11 - 47.62 (SPAD reading) ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ มีค่า 46.24 (SPAD reading) แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าความเขียวใบต่ำสุด 43.45 (SPAD reading) เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 60 วัน มีค่าความเขียวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าการ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพช่วยเร่งการช่วยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีค่าความเขียวใบระหว่าง 54.43 - 56.30 (SPAD reading) มีแนวโน้มความเขียวใบสูงกว่าตำรับควบคุม มีค่าความเขียวใบ 53.46 (SPAD reading)

1.2) ความสูงต้น พบว่า ค่าความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน และ 60 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่อายุ 30 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 และตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ มีความสูงต้นที่อายุ 30 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 22.20 – 22.91 เซนติเมตร แต่ทุกตำรับการทดลองมีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่อายุ 30 วัน มีค่าความสูงต้นต่ำสุด 15.72 เซนติเมตร เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 60 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีความสูงต้นที่อายุ 60 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่าระหว่าง 165.32 - 169.72 เซนติเมตร แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่อายุ 60 วัน มีความสูงต้นต่ำสุด 138.05 เซนติเมตร

ตารางที่ 16 ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	ค่าความเขียว (SPAD reading)		ความสูงต้น (เซนติเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	43.45 b	53.46	15.72 b	138.05 b
2 = น้ำหมักชีวภาพ	46.24 ab	55.64	22.91 a	165.32 a
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	47.11 a	56.30	22.20 a	169.12 a
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	47.62 a	55.19	22.75 a	169.85 a
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	47.24 a	54.43	22.76 a	169.72 a
F-test	*	ns	*	*
CV (%)	5.39	3.49	18.47	10.51

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2) น้ำหนักผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 1

น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 943.30 - 1,067.00 กิโลกรัมต่อไร่ แต่มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเมล็ดสูงกว่าตำรับควบคุม มีค่าน้ำหนักเมล็ด 932.80 กิโลกรัมต่อไร่

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 17 มวลชีวภาพของต้นและน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 % (กิโลกรัมต่อไร่)
1 = ควบคุม	932.80
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1,055.80
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	1,067.00
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1,058.30
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1	943.30
F-test	ns
CV (%)	9.68

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแปลงเพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการหยอดเมล็ด พบว่า ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ มีผลให้อัตราการย่อยสลายเศษตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพไร่สูงกว่าการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ อีกทั้งมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของอินทรียวัตถุและธาตุอาหารที่สะสมในดินภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ มีองค์ประกอบที่เป็นประโยชน์จากกิจกรรมจุลินทรีย์ของเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 ที่สร้างสารเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง เป็นเชื้อที่ทนต่ออุณหภูมิสูงในขบวนการหมักได้เป็นอย่างดี มีรายงานการใช้ประโยชน์พัฒนาเป็นผลิตเอนไซม์เชิงอุตสาหกรรม (Brink *et al.*, 2012) ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ดังกล่าว สามารถช่วยเร่งการย่อยสลายเศษพืช และช่วยลดระยะเวลาในการหมัก ขณะที่ตำรับการทดลองที่ใช้น้ำหมักชีวภาพจากปลาเป็นการเพิ่มแหล่งไนโตรเจน และแหล่งอาหารให้กับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติในการช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายตอซัง มีทั้งแบคทีเรียกลุ่มย่อยซากพืชและซากสัตว์ โดยคำแนะนำสำหรับการหมักย่อยสลายตอซังข้าว (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) และจากรายงานของจันทนา (2558) การใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ของกรมพัฒนาที่ดิน และอีเอ็มที่มีจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยสลายเซลลูโลสช่วยย่อยสลายเยื่อใยและเซลลูโลส เชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสจนได้โมเลกุลขนาดเล็กลง และนำเข้าไปในเซลล์เพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงาน และจากรายงานของ Stuetzenberger *et al.* (1970) เซลลูโลสเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของพืชโดยทั่วไป จากการศึกษาปริมาณของเซลลูโลสในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า มีประมาณ 30 - 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด โมเลกุลของเซลลูโลสประกอบด้วยหน่วยย่อยของ D-anhydro glucopyranose มาเชื่อมต่อกัน เป็นสายแบบ linear polymer ด้วยพันธะ glycosidic จำนวนหน่วยย่อยของโมเลกุลเซลลูโลส มักจะแตกต่างกันออกไปอย่างกว้างขวางขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Cowling and Kirk, 1976) โดยจุลินทรีย์จะปลดปล่อยเอนไซม์เซลลูเลสออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายองค์ประกอบของพืชให้กลายเป็นอินทรียวัตถุที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ และใช้อินทรียวัตถุเป็นแหล่งพลังงาน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ โดยปริมาณของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นมากเมื่อเกิดการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสในสภาพที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ และแหล่งอาหารที่เพียงพอ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(พรเทพ, 2538) ไม่ว่าจะเป็นเชื้อรา หรือ แบคทีเรียมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสได้เป็นส่วนใหญ่ (Mawadza *et al*., 2000) ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง มีค่าความสูงต้นเพิ่มขึ้นคิดเป็น 22.65 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตเพิ่มขึ้นคิดเป็น 9.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์

3) ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 1

จากการประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในตำรับการทดลองวิธีการแบบต่าง ๆ พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแปลง เพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 20 วัน ก่อนการหยอดเมล็ด ให้รายได้สุทธิสูงสุด คือ 5,634.50 บาทต่อไร่ รองลงมาคือ ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ คือ 5,553.59 บาทต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 2 การฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพจากปลาอัตรา 5 ลิตร ผสมน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ คือ 5,380.34 บาทต่อไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่ง พด. 1 ให้รายได้สุทธิ คือ 4,484.09 บาทต่อไร่ ขณะที่ตำรับควบคุมให้รายได้สุทธิต่ำสุด คือ 4,436.44 บาทต่อไร่ ดังตารางที่ 18 และตารางภาคผนวกที่ 4

ตารางที่ 18 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 1 หน่วย : บาทต่อไร่

ตำรับการทดลอง	ผลผลิต (กก./ไร่)	รายได้	ต้นทุนรวม	รายได้สุทธิ
1 = ควบคุม	932.80	8,675.04	4,238.60	4,436.44
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1055.80	9,818.94	4,438.60	5,380.34
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	1067.00	9,923.10	4,288.60	5,634.50
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1058.30	9,842.19	4,288.60	5,553.59
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	943.30	8,772.69	4,288.60	4,484.09

หมายเหตุ : ราคาผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กิโลกรัมละ 9.30 บาท

5.4.3 การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 2

1) การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 2 (ตารางที่ 19) ดังนี้

1.1) ค่าความเขียวใบ พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน มีค่าความเขียวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างตำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 38.41 - 40.32 (SPAD reading) แต่เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 60 วัน ค่าความเขียวใบมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 มีผลให้ค่าความเขียวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 41.25 - 45.09 (SPAD reading) แต่มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด 36.34 (SPAD reading)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

1.2) ความสูงต้น พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน และ 60 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 และตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ และตำรับควบคุม ที่อายุ 30 วัน ความสูงต้นมีค่าระหว่าง 25.91 - 29.16 เซนติเมตร และที่อายุ 60 วัน ความสูงต้นมีค่าระหว่าง 166.01 - 175.95 เซนติเมตร

ตารางที่ 19 ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	ค่าความเขียว (SPAD reading)		ความสูงต้น (เซนติเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	38.41	36.34 a	25.91	166.01
2 = น้ำหมักชีวภาพ	39.08	41.25 b	27.12	169.44
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	39.64	41.83 b	27.30	175.95
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	38.71	42.04 b	28.01	172.95
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	40.32	45.09 b	29.16	172.97
F-test	ns	*	ns	ns
CV (%)	8.04	7.24	8.52	5.67

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2) ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 2 (ตารางที่ 20)

น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส มีน้ำหนักเมล็ดสูงสุด 1,505.00 กิโลกรัมต่อไร่ มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ตำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ และตำรับควบคุมที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 1,329.90 - 1,353.60 กิโลกรัมต่อไร่

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 20 มวลชีวภาพของต้นและน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ จากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 %(กิโลกรัมต่อไร่)
1 = ควบคุม	1,340.80 b
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1,353.60 b
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	1,505.00 a
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1,335.60 b
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	1,329.90 b
F-test	**
CV (%)	6.05

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เมื่อพิจารณาผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2 พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ฉีดพ่นตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อย่างต่อเนื่อง 2 ปี เพื่อเร่งการย่อยเศษตอซังก่อนการปลูกข้าวโพด มีผลให้ผลผลิตน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มขึ้นได้สูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังพืชประกอบด้วยเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง และมีเอนไซม์เซลลูเลส เป็นองค์ประกอบ สอดคล้องกับงานวิจัยของดุสิต (2562) การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงสำหรับการย่อยสลายฟางข้าวและควบคุมโรคขอบใบไหม้ของข้าวประกอบด้วย *Bacillus subtillis* *Aspergillus* sp. *Azotobacter* sp. *Saccharomyces cerevisiae* และ *Trichoderma* sp. มีอัตราการย่อยฟางข้าวสูงสุด ส่งเสริมการเจริญและเพิ่มขึ้นของผลผลิตข้าว โดยเชื้อรา *Aspergillus* sp เป็นราที่สร้างสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดไปย่อยสลายซากสัตว์หรือซากอินทรียวัตถุ ให้กลายเป็นอนินทรียสารที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และการใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีจะทำให้ผลผลิตน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้น 35 - 60 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งจากการสับกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลงดินจากการปลูกรอบที่ 1 ซึ่งเศษซากของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีองค์ประกอบของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เมื่อผ่านกระบวนย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยกิจกรรมจุลินทรีย์แล้ว พืชก็สามารถนำธาตุอาหารเหล่านี้ ไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิต อีกทั้ง ตอซังข้าวโพดเลี้ยงที่ย่อยสลายเป็นการเพิ่มอินทรียวัตถุในดิน ช่วยปรับปรุงโครงสร้างดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และส่งเสริมระบบนิเวศในดินอีกด้วย (กรมพัฒนาที่ดิน, ม.ป.ป.) อินทรียวัตถุในดินประกอบด้วยสารฮิวมิก (ไพบูลย์, 2546) โดยจะพบสารฮิวมิกในดินทั่วไป ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของอินทรียวัตถุในดิน (Muscolo *et al*., 2007) ซึ่งสารฮิวมิกมีบทบาทที่สำคัญต่อดินทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ โดยหน้าที่สำคัญที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของดิน คือ ช่วยให้ดินโปร่งไม่อัดกันแน่น (Soane, 1990) เพราะทำให้อนุภาคของดินเกาะรวมกันเป็นเม็ดดิน มีผลทำให้ดินมีการระบายอากาศได้ดี จึงช่วยให้รากพืชหายได้ดี เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ และลดการกัดเซาะพังทลาย

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ของหน้าดิน (Piccolo *et al*., 1997) ซึ่งหน้าที่สำคัญของสารฮิวมิกเป็นแหล่งธาตุอาหารแก่พืช และช่วยให้การดูดซึมธาตุอาหารได้ดีขึ้น จากคุณสมบัติเป็นสารอิเล็กโทรไลต์ สามารถแตกตัวและดูดจับธาตุอาหารพืชในดินแล้วดูดซึมผ่านทางรากพืช จึงทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี (Nardi *et al*., 2002) สามารถจะค่อย ๆ ปลดปล่อยธาตุอาหารหลักให้แก่พืชทีละน้อย (Ayuso *et al*., 1996) ทำให้ช่วยชะลอการสูญเสียธาตุอาหาร และคงความอุดมสมบูรณ์แก่ดิน อีกทั้งอินทรียวัตถุในดินยังมีกรดฟูลวิก ซึ่งมีบทบาทที่สำคัญในการช่วยให้สารอาหารพืชเกิดความพร้อมใช้ และทำให้ดูดซึมได้ง่ายยิ่งขึ้น (Christman *et al*., 1983) โดยให้รากพืชง่ายต่อการดูดซึม และผ่านผนังเซลล์ได้อย่างง่าย ๆ (Prakash, 1971; Williams, 1963) ซึ่งสารเหล่านี้ มีผลในการกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์และแข็งแรง และช่วยให้เกิดแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซิส เพื่อย่อยสลายซากพืชในดิน (Kanonova, 1966) อีกทั้ง เมื่อเซลล์พืชได้รับกรดฟูลวิก จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเดิม เพราะมีการรับออกซิเจนที่มากขึ้น และกรดนี้จะช่วยให้มีการซึมผ่านรากได้ดี ทำให้รากพืชได้รับออกซิเจนเพิ่มขึ้น ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตต่อระบบภูมิคุ้มกันของพืชด้วย (Rashid, 1985; Williams, 1963; Kanonova,1966)

3.3) ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 2

จากการประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในตำรับการทดลองวิธีการแบบต่าง ๆ พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส พ่นตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในแปลง 20 วัน เพื่อเร่งการย่อยเศษตอซังก่อนการหยอดเมล็ด ให้รายได้สุทธิสูงสุด คือ 9,707.90 บาทต่อไร่ รองลงมาคือ ตำรับควบคุมไม่มีการใส่ผลิตภัณฑ์ ให้รายได้สุทธิ 8,230.84 บาทต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 2 การฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพจากปลา อัตรา 5 ลิตร ผสมน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิสูงสุด คือ 8,142.88 บาทต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ คือ 8,132.48 บาทต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่ง พด.1 ให้รายได้สุทธิ คือ 8,078.47 บาทต่อไร่ ดังตารางที่ 23 และ 24

ตารางที่ 21 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 2 หน่วย : บาทต่อไร่

ตำรับการทดลอง	ผลผลิต (กก./ไร่)	รายได้	ต้นทุนรวม	รายได้สุทธิ
1 = ควบคุม	1,340.80	12,469.44	4,238.60	8,230.84
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1,353.60	12,588.48	4,438.60	8,142.88
3 = ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	1,505.00	13,996.50	4,288.60	9,707.90
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1,335.60	12,421.08	4,288.60	8,132.48
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุปเปอร์ พด.1	1,329.90	12,368.07	4,288.60	8,078.47

หมายเหตุ : ราคาผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กิโลกรัมละ 9.30 บาท

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

บทที่ 6
สรุป

6.1 สรุปผลการศึกษา

6.1.1 เทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ กระบวนการผลิตที่เหมาะสม คือ การเลี้ยงเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 เพิ่มปริมาณเชื้อในข้าวเสาไห้ที่เติมสารชักนำในอัตราส่วน 1 : 1 เพื่อการกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสด้วยสารเซลลาไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน โดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นสารปกป้องเซลล์และเอนไซม์เซลลูเลส ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำประกอบด้วยปริมาณเชื้อรา 15.53 log เซลล์ต่อกรัม และค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร คงความมีชีวิตรอดของเชื้อในผลิตภัณฑ์เก็บรักษาที่อุณภูมิห้องได้นาน 9 เดือน และคงประสิทธิภาพเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ได้นาน 7 เดือน และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 0.259 ยูนิตต่อมิลลิลิตร คงประสิทธิภาพเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ได้นาน 7 เดือน

6.1.2 วิธีและอัตราการใช้ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในโรงเรือนกระจก คือ การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเกิดขึ้นได้เร็วและสูงสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน และการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเกิดขึ้นสูงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน

6.1.3 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ อย่างต่อเนื่อง 2 รอบการปลูก มีผลต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงเกิดขึ้นเร็วสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช 55.38 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ คิดเป็น 29.54 เปอร์เซ็นต์ และในช่วงแรกมีอัตราการสลายตัว (k_1) 0.605 เกิดขึ้นเร็วสุด และช่วงที่ 2 มีอัตราการสลายลดลง (k_2) 0.018

6.1.4 การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ เพื่อย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สามารถเพิ่มการสะสมอินทรียวัตถุในดินเป็น 2.90 เปอร์เซ็นต์ จากดินก่อนการทดลอง 2.50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 16.0 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เพิ่มขึ้นคิดเป็น 83.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง และการใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสอัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีการสะสมปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มขึ้นคิดเป็น 39.36 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ

6.1.5 การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการปลูก มีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีค่าเฉลี่ยผลผลิตสูงสุด 1,286 กิโลกรัมต่อไร่ เพิ่มขึ้นคิดเป็น 13.12 เปอร์เซ็นต์ และให้รายได้สุทธิเฉลี่ยสูงสุด 7,671.20 บาทต่อไร่ เพิ่มขึ้นคิดเป็น 21.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

6.2 ประโยชน์ที่ได้รับ

6.2.1 นำองค์ความรู้การผลิตและใช้ประโยน์ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ เพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังพืช พัฒนาต่อยอดเป็นนวัตกรรมด้านการบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ นำไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่เกษตรของประเทศไทย โดยผู้บริหารสามารถนำไปใช้ในการวางแผนกำหนดนโยบายการใช้นวัตกรรมด้านการจัดวัสดุเหลือทิ้งในพื้นที่เกษตรกรรม เป็นวิธีการจัดการด้านการบำรุงดินที่ไม่ต้องหาอินทรียวัตถุจากภายนอก เพิ่มอินทรียวัตถุในดิน ลดปัญหาดินเสื่อมโทรม เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน และรักษาทรัพยากรดินทางการเกษตรได้อย่างยั่งยืน

6.2.2 การต่อพัฒนางานทางด้านการบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุในพื้นที่เกษตร จากเศษพืชเหลือทิ้งในแปลงเพาะปลูก เพิ่มอินทรียวัตถุในดิน และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ควบคู่กับการใช้เทคโนโลยีชีวภาพจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร เผยแพร่สู่นักวิชาการ และกลุ่มเกษตรกร นำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาระดับอินทรียวัตถุในดิน และฟื้นฟูคุณภาพดินทางการเกษตรได้อย่างยั่งยืน

6.2.3 การต่อยอดขยายผลการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังพืช รูปแบบผงละลายน้ำที่สะดวกต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่แปลงใหญ่ หรือระบบเกษตรอัจฉริยะ เช่น ใช้กับเครื่องจักร และโดรนบินฉีดพ่น เป็นต้น เกษตรกรสามารถนำเทคโนโลยีเข้ามาประยุกต์ใช้ได้ง่าย และขยายผลในพื้นที่ได้เป็นวงกว้าง

6.2.4 ลดการใช้ปุ๋ยเคมีจากการใช้เศษพืชวัสดุเหลือทิ้งในพื้นที่เกษตรกรรมเป็นแหล่งธาตุอาหารพืช ลดหรือทดแทนปุ๋ยเคมี เพิ่มรายได้ และคุณภาพชีวิตของเกษตรกร

6.2.5 ลดปัญหาหมอกควัน และดินเสื่อมคุณภาพจากการเผาเศษวัสดุเหลือทิ้งในไร่นา โดยการหมุนเวียนวัสดุเหลือใช้กลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์ทางการเกษตร เป็นแหล่งอินทรียวัตถุ และธาตุอาหารพืชที่สำคัญ สนับสนุนเศรษฐกิจชีวภาพ (BCG) รักษาระบบนิเวศดินและสิ่งแวดล้อมได้อย่างยั่งยืน

6.3 ข้อเสนอแนะ

6.3.1 ควรนำผลจากงานวิจัยขยายผลสู่แปลงทดสอบในพื้นที่แปลงใหญ่ ศึกษาการใช้ประโยชน์ที่เหมาะสมในสภาพการจัดการดินที่แตกต่างกันเพิ่มเติม เช่น การย่อยสลายเศษพืชในสภาพความชื้นดินที่แตกต่างกัน เช่น สภาพดินแห้ง สภาพดินน้ำขัง และการใช้ประโยชน์ในพื้นที่แบบไม่ต้องสับกลบเศษวัสดุในแปลง

6.3.2 ควรมีการทดสอบกับวัสดุเหลือใช้จากเศษพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีปริมาณวัสดุเหลือทิ้งจำนวนมากในพื้นที่แปลงเกษตร เช่น อ้อย ข้าว เป็นต้น เพื่อเป็นแหล่งอินทรียวัตถุ และธาตุอาหารพืชในพื้นที่เกษตรกรรม

6.3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพดิน และสมบัติทางชีวภาพ ภายหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ หรือการใช้ประโยชน์ร่วมกับผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดอื่น ๆ เช่น ปุ๋ยชีวภาพ เพื่อประโยชน์ในเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพิ่มผลผลิตพืช และการต่อยอดขยายผลสู่นักวิชาการและเกษตรกรต่อไป

6.3.4 ควรต่อยอดการศึกษาวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแบบแข็งจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นส่วนผสมร่วมกับข้าวเสาไห้ เพื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสสูงขึ้น

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2543. **คู่มือปฏิบัติงานหมอดินอาสา.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2551. **คู่มือการจัดการอินทรียวัตถุเพื่อการปรับปรุงบำรุงดินและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2556ก. **ชุดองค์ความรู้กึ่งศตวรรษพัฒนาที่ดิน เทคโนโลยีชีวภาพทางดิน**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2556ข. **ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2557. **ลักษณะและสมบัติของชุดดินในภาคกลาง.** กองสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2558. **สถานภาพทรัพยากรดินและที่ดินของประเทศไทย.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2559. **ลักษณะและสมบัติดินตามกลุ่มชุดดิน 62 กลุ่ม.** กองสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

____. 2562. **คำอธิบายลักษณะและสมบัติของชุดดินจัดตั้งในประเทศไทย.** กองสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2561. **การวิเคราะห์ทบทวนปรับปรุงค่าคงที่ของอัตราส่วนชีวมวลและค่าสัมประสิทธิ์ชีวมวลเหลือใช้**. แหล่งที่มา: https://oldwww.dede.go.th/ewt_dl_link.php?nid=48362 , 10 สิงหาคม 2566.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. **คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ.** กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

เกษสินี แก้วสระแสน และ จุรีมาศ วังคีรี. 2564. วัสดุที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อราและประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู *(Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero*).* **แก่นเกษตร** (พิเศษ) 1: (2001).

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2541. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

____. 2548. **เอกสารประกอบการฝึกอบรม เรื่องระบบข้อมูลและธาตุอาหารพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืช.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่. 2542. **พืชเศรษฐกิจ.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จันทนา พันธ์ประดิษฐ์. 2558. **คุณภาพปุ๋ยหมักชนิดของจุลินทรีย์ต่อปุ๋ยหมักใบไม้จากโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ที่หมักด้วยจุลินทรีย์.** โครงการวิจัยเพื่อพัฒนางานของโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ เฉลิมพระเกียรติ. โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ, กรุงเทพฯ.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

จารุวรรณ มณีศรี. 2541. รายงานผลงานวิจัย เรื่อง การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากขี้เลื่อยโดยเชื้อราด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.

ธงชัย มาลา. 2550. **ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพเทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชนากานต์ แย้มฏีกา, ผานิตย์ นาขยัน, สาวิกา กอนแสง, ภาวิณี อารีศรีสม และ วีณา นิลวงศ์. 2565. อิทธิพลของน้ำหมักชีวภาพต่อการย่อยสลายและการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของฟางข้าว. **แก่นเกษตร** 50 (6): 1797-1807.

ดุสิต อธินุวัฒน์. 2562. การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงจากดินขาวสำหรับย่อยฟางข้าวและควบคุมโรคขอบใบไหม้ในระบบการปลูกข้าวอินทรีย์. **Thai Journal of Science and Technology** 8 (2): มีนาคม - เมษายน 2562.

นวลจันทร์ ชะบา. 2557. **ศึกษาการใช้น้ำหมักชีวภาพ และจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายตอซังข้าว การปลดปล่อยไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ และการปลูกข้าวสุพรรณบุรี 1 ในชุดดินเดิมบาง.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ปรีชา ยอดยิ่ง, ศิริณา ทองดอนน้อย และ สิรินภา ช่วงโอภาส. 2562. การคัดแยกแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพของการย่อยสลายซังข้าวโพดและผักตบชวาที่ใช้เป็นซับสเตรต. **แก่นเกษตร** 47 (1): 177-186.

ปัทมา วิตยากร, อรรณพ พุทธโส, สมชาย บุตรนันท์, ภาณุเดชา กมลมานิทย์, เบ็ญจพร กุลนิตย์ และ รติกร แสงห้าว. 2556. การปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดินทรายโดยใช้สารอินทรีย์: การศึกษาเชิงกระบวนการ. **แก่นเกษตร** 41 (2) (พิเศษ): 1-12

เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. 2551. **เอนไซม์ดัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม.** ศูนย์หนังสือแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

พิจิตรา ตั้งเขื่อนขันธ์, รสรินทร์ รุจนานนท์ และ อัญชลี อานาทสมบูรณ์. 2548. **การคัดเลือกเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากวุ้นมะพร้าวที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากโรงงาน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2552. **ลิกนิน.** แหล่งที่มา: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3289/lignin, 20 มิถุนายน 2563.

ไพบูลย์ วิวัฒน์วงศ์นา. 2546. **เคมีดิน.** คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มธุรส ประเดิมชัย. 2554. **สารปกป้องเซลล์และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *Lactobacillus plantarum* FT35 สำหรับเป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เมฆ ขวัญแก้ว, พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์ และ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2553. การใช้เปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารหยาบหมัก. **ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี** 12 (3): 92-103.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วิวัฒน์ เสือสะอาด, พิมพรรณ สมมาตย์, ปวีณา บูชาเทียน, รัตติรส เชียงสิน, และอาภรณ์ ปั้นทองคำ. 2551. วัสดุที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณโคนิเดียของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, น. 125-130. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49** วันที่ 1 - 4 กุมภาพันธ์ 2554, กรุงเทพฯ.

วิเชียร กิจปรีชาวนิช, วิเชียร สีสุข, อัญชริดา สวาชร และ นภา โล่ทอง. 2535. การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสและไซแลนจากวัสดุทิ้งทางเกษตรกรรม โดยเชื้อ *Aspergillus fumigatus Fresenius* รหัส 4-45-IF. **วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย.)** 26: 296-309.

วิสุทธิ์ เลิศไกร. ม.ป.ป. **การหมุนเวียนธาตุอาหารและเพิ่มอินทรียวัตถุในดินจากเศษซากพืชในแปลงเกษตรกรรมด้วยวิธีการไถกลบตอซัง.** สำนักพัฒนาพื้นที่ปฏิรูปที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

วีณารัตน์ มูลรัตน์. 2553. **ประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพจากเศษปลาที่ใช้น้ำกากส่าเหล้าทดแทนกากน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมผัก (*Amaranthus tricolor*) ผักกว้างตุ้งฮ่องเต้ (*Brassica campestris* var. *chinensis*) และผักบุ้งจีน (*Ipomoea aquatica* var. *reptans*).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. **สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2564**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. 2548. **คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า.** พิมพครั้งที่ 2. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุนิสา จันสารี และ ธวัชชัย ศุภดิษฐ์. 2561. ผลของการไถพรวนที่มีต่อปริมาณคาร์บอนที่เก็บสะสมในดินและผลผลิตข้าวโพด กรณีศึกษาพื้นที่เกษตรกรรม จังหวัดลพบุรี. **Naresuan University Journal: Science and Technology** (26): 2.

สุทธิดา วิทนาลัย และ ผกามาส งามสง่า. 2558. การคัดแยกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยกากมันสำปะหลัง. **วิทยาศาสตร์เกษตร** 46 (3) (พิเศษ): 129-132.

สุภาวดี โฮ่สกุล. 2543. **การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ, ณิชตา เป็งทินา, พรทิพย์ แสนยอง, นพพล ชุบทอง, ชัยวัฒน์ อาจิน และ ณรกมล เลาห์รอดพันธ์. 2555. ผลของการเสริมยูเรียและกากน้ำตาลต่อคุณภาพของเปลือกข้าวโพดหมักและการย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของโคดอย. **แก่นเกษตร** 40 (2): 187-192.

โสพส แซ่ลิ้ม. 2559. **ปุ๋ยอินทรีย์และการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ไสว พงษ์เก่า. 2534. **พืชเศรษฐกิจ.** ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

ยงยุทธ โอสถสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต ฮงประยูร. 2551. **ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หนึ่ง เตียอำรุง และ พรรณลดา ติตตะบุตร. 2557. **การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อการผลิต และการยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพทางการเกษตร.** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 24 หน้า.

Admin, T.A. 2010. Food chemistry of carbohydrate and drying process. **Dry. Technol.** 55: 421-433.

Alexopoulos, C.J., C.W. Mims and M. Blackwell. 1996. **Introductory Mycology.** John Wiley and Sons, New York.

Ananda, K. and K.R. Sridhar. 2004. Diversity of filamentous fungi on decomposing leaf and wood litter of mangrove forest in the southwest coast of India. **Curr. Sci. India.** 87: 1431-1437.

Ananta, E., M.K. Volkert and D. Knorr. 2005. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rahmnosus* GG. **Int. Dairy J.** 15: 399-409.

Atlas, R.M. 1997. **Handbook of Microbiological Media.** second edition. Lawrence C. Parks.

Ayuso, M., T. Hemandez, C. Garca and J.A. Pascual. 1996. Stimulation of barely growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. **Bioresource Technol.** 57 (3): 251-257.

Battaylino, R.A., M. Huergo, A.M.R. Pilosof and G.B. Barthelomai. 1991. Culture requirement for the production of protease by *Aspergillus oryzae* in solids sate fermentation. **App. Microbiol. Biotechol.** 35: 292-296.

Beg, Q.K., M. Kapoor, L. Mahajan and G.S. Hoondal. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: A review. **Appl. Microbiol. Biot.** 56: 326-338.

Boza, Y., D. Barbin, and A.R.P. Scamparini. 2004. Effect of spray-drying on the quality of encapsulated cells of *Beijerinckia* sp. **Process Biochm.** 39: 1275-1284.

Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. **Soil Sci.** 59: 39-45.

Brink, J.V.D., R.A. Samson, F. Hagen, T. Boekhout and P.V. Ronald. 2012. Phylogeny of the industrial relevant, thermophilic genera *Myceliophthoora* and *Corynascus*. **Fungal Divers.** 52: 197-207.

Busk, P.K. and L. Lange. 2013. **Cellulolytic potential of thermophilic species from four fungal order**. Available Source: http://www.amb-express.com/content/3/1/47, May 15, 2023.

Chahal, D.S. 1985. Solid-state fermentation with *Trichoderma reesei* for cellulase production. **Appl. Environ. Micro.** 49 (1): 205-210.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Chem Sources Ltd. 2006. **Cellulose derivatives.** Available Source: https://www.chemsources.co.th/index.php?option=catalog_result&c=28&lang=en&sub=3, April 5, 2023.

Christman, R.F. and E.T. Gjessing. 1983. **Aquatic and Terrestrial Humic Materials.** The Btterworth Grove, England: Ann Arbor Science

Collins, T., C. Gerday, and G. Feller. 2005. Xylanases, Xylanase Families and Extremophilic Xylanases. **FEMS Microbiol. Rev.** 29: 3-23.

Couto, S.R. and M.A Sanroman. 2006. Application of solid-state fermentation to food industry. **J. Food Eng.** 76 (3): 291-302.

Cowling, B.B. and T.K. Kirk. 1976. Properties of cellulose and lignocellulosic materials as substrate for enzymatic conversion process. **Biotech. Bioeng. Symp.** 6: 95-123.

Crowe, J.H., L.M. Crowe and D. Chapman. 1984. Infrared spectroscopic studies on interactioms of water and carbohydrates with a biological membrane. **Arch. Biochem. Biophys.** 232: 400-407.

Cummins, D.S. 1970. Quality and yield of corn plant and component parts when harvested for silage at different maturity stages. **Agron. J.** 62: 781-784.

Deacon, J.W. 1980. **Introduction to Modern Mycology**. Blackwell Scientific Publication, London.

Desmond, C., R.P. Ross, E. O'Callaghan, G. Fitzgerald and C. Stanton. 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFCB 338 in spray-drying powders containing gum acacia. **J. Appl. Microbiol.** 93: 1003-1011.

Desmons, S., H. Krhouz, P. Evrard, and P. Thonart. 1998. Improvement of lactic cell production, pp. 513-526. *In* **Proceedings of the Nineteenth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals**. May 4-8. 1997, Totowa.

Deschamps, F.C. Giuliano, M. Asther, M.C. Hnet and S. Roussost. 1985. Cellulose production by *Trichoderma harzianum* in static and mixed solid-state fermentation reactors under nonseptic conditions. **Biotech. Bioeng.** 27: 1385-1388.

Deshpande, S.K., M.G. Bhotomange, T. Chakrabati and P.N. Shastri. 2008. Production of cellulase and xylanase by *Trichoderma reesei* (QM 9414 mutant), *Aspergillus niger* and mixed culture by solid state fermentation (SSF) of water hyacinth (*Eichhornia craaipes*). **Indian J. Chem. Techn.** 15: 449-456.

Desrosier, N.W. 1959. **The Technology of Food Reservation.** The AVI Publishing Co. Inc., Westport Connecticut. New York.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Deaker, R., R.J. Roughley and I.R. Kennedy. 2004. Legume seed inoculation technology. **Soil Biol. Biochem.** 36: 1275-1288.

Food network. 2010**. Carbohydrate chemistry and food technology.** Available Source: https://www.foodnetworksolution.com, April 10, 2023.

Food network solution. 2015. **Cellulose.** Available Source: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose, April 10, 2023.

Gao, Y., C. Wang, Q. Zhu and G. Qian. 2013. Optimization of solid-state fermentation. with *Lactobacillus brevis* and *Aspergillus oryzae* for trypsin inhibitor degradation in soybean meal. **J. Integr. Agr.** 12 (5): 869-876.

Georgieva, K., C. Bianchi and B. Kirov. 2005. Once again about global warming and solar activity. **Mem. Della Soc.** 76: 969-971.

Graham, M.H., R.F. Haynes and J.H. Meyer. 2002. Soil organic matter content and quality: Effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long-term sugarcane experiment in South Africa. **Soil Biol. Biochem.** 34: 93-102.

Gupta, P., K. Samant and A. Sahu. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. **Int J. Microbiol.** 2012: 578925.

Hope, C.F.A. and R.G. Burn. 1987. Activity origins and location of cellulase in a silt loam soil. **Biol. Fertil. Soils**. 5: 164-170.

Hugenholtz, J. and E.J. Smid. 2002. Nutraceutical production with food-grade microorganisms. **Curr**. **Opin. Biotechnol** 13 (5): 497-507.

Insel, P., D. Ross, K. Mcmahon and M. Bernstein. 2010. **Nutrition**. 4th ed. Jones and Bartlett Publishers, United States of America.

Johnson, L.F. and E.A. Curl. 1972. **Methods for Research on the Ecology of Soil-borne Plant Pathogens.** Burgess Publishing Co., Minneapolis, MN.

Kaewpredit, W., B. Toomsan, P. Vityakon, V. Limpinuntana, P. Saenjan, S. Jogloy, A. Pathanothai and G. Cadisch. 2008. Regulating mineral N release and greenhouse gas emissions by mixing groundnut residues and rice straw under field conditions. **Eur. J. Soil Sci.** 59 (4): 640-652.

Kanakdande, D., R. Bhosale and R.S. Singhal. 2007. Stability of cumin oleoresin microencapsulated in different combination of gum Arabic, maltodextrin and modified starch. **Carbohyd. Polym.** 67 (4): 536-541.

Kannangara, B.T.S.D.P. and N. Deshappriya. 2005. Microfungi associated with leaf litter decomposition of *Michelia nilagirica* and *Semecarpus coriacea* at Hakgala montane forest. **J. Natn. Sci**. 33: 81-91.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Kanonova, M.M. 1966. **Soil Organic Matter: Its Nature, Its Role in Soil Formation and in Soil Fertility.** Pergamon Press Ltd., Oxford.

Kim, J.H., M. Hosobuchi, M. Kishimoto, T. Seki, T. Yoshida, H. Taguchi and D.D.Y. Ryu. 1985. Cellulase production by a solid-state culture system. **Biotech. Bioeng.** 27: 1145-1150.

Kirk, T.K. 1983. Degradation and conversion of lignocellulose, pp. 226-295. *In* J.E. Smith, D.R. Berry and B. Kristiansen, eds. **The Filamentous Fungi Fungal Technology.** John Wiley & Sons Inc, New York.

Kurasawa, T., M. Yachi, M. Suto, Y. Kamagata, S. Takao and F. Tomita. 1992. Induction of cellulase by gentiobiose and its sulfur-containing analog in *Penicillium purpurogenum.* **App. Environ. Microb.** 58 (1): 106-110.

Leash, W.C. and T.B. Daynard. 1973. Dry mater yield, in vitro digestibility, percent protein and moisture or corn stover following grain maturity. **J. Plant Sci.** 53: 515-522.

Leslie, S., E. Israeli, B. Lighthart, J. Crowe and L. Crowe. 1995. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacterial during drying. **App. Environ. Microb.** 61: 3592-3597.

Lian, W.C., H.C. Hsiao and C.C. Chou. 2002. Survival of bifidobacterial after spray drying. **Int. J. Food Microbiol.** 74: 79-86.

Lodato, P., M.S. Huergo and M.P. Buera. 1999. Viability and thermal stability of astrain of *Saccharomyces cerevisiae* freeze-dried in different sugar and polymer matrices. **Appl. Microbiol. Biot.** 52: 215-220.

Martinez-Viveros, O., M.A. Jorquera, D.E. Crowley, G. Gajardo, and M.L. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **J. Soil Sci. Plant Nut.** 10: 293-319.

Matsummoto, N., K. Paisancharoen and T. Hakamata. 2008. Carbon balance in maize fields under cattle manure application and no-tillage cultivation in northeast Thailand Soil. **Sci. Plant Nutr.** 54: 277-288.

Mawadza, C., H. Rahni, R. Zvauya and M. Bo. 2000. Purification and characterization of cellulases produced by two *Bacillus* strains. **J. Biotechnol.** 83: 177-187.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem.** 31: 426-429.

Moo Young, M., A.R. Moreira and R.P. Tengerdy. 1983. Principles of solid substrate fermentation, pp. 117-144. *In* J.E. Smith., D.R. Berry and B. Kristiansen, eds. **The Filamentous Fungi. Fungal Technology.** John Wiley & Sons Inc, New York.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Morgan, C.A., N. Herman, P.A. White and G. Vesey. 2006. Preservation of micro-organisms by drying. **J. Microbiol. Meth.** 66: 183-193.

Morikawa, Y., T. Ohashi, O. Mantani and H. Okada. 1995. Cellulase induction by lactose in *Trichoderma reesei* PC-3-7. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 44: 106-111.

Murao, S., J. Kanamoto and M. Arai. 1979. Isolation and identification of a cellulolytic enzyme producing microorganism. **J. Ferment. Technol**. 57 (3): 151-156.

Muller, M.M., V. Sudmam, O. Soinnivaara and A. Merilainen. 1988. Effect of chemical composition on the release of nitrogen from agricultural plant materials decomposing in soil under field condition. **Biol. Fertil. Soils** 6: 621-262.

Muscolo, A., M. Sidari, E. Attin_a, O. Francioso, V. Tugnoli and S. Nardi. 2007. Biological activity of humic substances is related to their chemical structure. **Soil Sci. Am. J.** 71: 75-85

Nardi, S., D. Pizzeghello, A. Muscolo and A. Vianello. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biol. and Biochem.** 34 (11): 1527-1536.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **J. Biol. Chem**. 153: 375-380.

Nishio, N., H. Kurisu and S. Nagai. 1981. Thermophilic cellulase production by *Taralomyces* sp. In solid-state cultivation. **J. Ferment. Technol.** 59 (5): 407-417.

Olson, J. 1963. Energy storage and balance of producers and decomposers in ecological systems. **Ecology** 44: 322-331.

Piccolo, A., G. Pietramellara and J.S.C. Mbagu. 1997. Reduction in soil loss from erosion - susceptible soils amended it humic substances from oxidized. **Soil Technol.** 10 (3): 235-245.

Prakash, A. 1971. Terrigenous organic matter and coastal phytoplankton fertility, pp 351-368. *In* J. D. Costlow, eds. **Fertility of Sea** V. 2, Gordon and Breach.

Puranong, W., P. Lerstaveesin, L. Ampornpan and P. Srikitikulchai. 2007. **Succession of Fungi Associated to Decomposition of Leaf Litter in Tropical Evergreen Forest (North-Eastern Thailand).** Available Source: http://www.scisoc.or.th/stt/33/sec_b/paper/stt33_B1_B0096, April 2, 2010.

Raper, K.B. and D.F. Alexander. 1945. Preservation of molds by the lyophil process. **Mycologia** 37: 499-525.

Rashid, M.A. 1985. **Geochemistry of Marine Humic Substances.** New York, Springer-Verlag.

Richards, B.N. 1976. **Introduction to the Soil Ecosystem.** Longman Group Limited, London.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Rosenberg, M. and T.Y. Sheu. 1996. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey protein-based wall system. **Int. Dairy J.** 6 (3): 273-284.

Santivarangkna, C., B. Higl and P. Foerst. 2008. Protection mechanisms of sugar during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures. **J. Food Microbiol.** 25: 429-441.

Santoro, P.H., J. Zorzetti, K. Constansk, and P.M.O.J. Neves. 2015. Quality of *Beauveria bassiana* conidia after successive passages through *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Rev. Colomb. Entomol.**. 41: 87-94.

Shim, Y.H., P.L. Shinde, J.Y. Choi, J.S. Kim, D.K. Seo, J.I. Pak, B.J. Chae and I.K. Kwon. 2010. Evaluation of multi-microbial probiotics produced by submerged liquid and solid substrate fermentation methods in broilers. Asian-Australas. **J. Anim. Sci.** 23: 521-529.

Silva, J., A.S. Carvalho, H. Pereira, P. Teixeira and P.A. Gibbs. 2004. Induction of stress tolerance in *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* by the addition of sucrose to the growth medium. **J. Dairy Res.** 71: 121-125.

Singh, R., A. Shukla, S. Tiwai and M. Srivastava. 2014. A review on delignification of linocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. **Renew. Suat. Energ. Rev.** 32: 713-728.

Singleton, P., H. Keyser and E. Sande. 2002. Development and evaluation of liquid inoculants, pp. 52-66. *In* D. Herridge, eds. **Inoculants and Nitrogen Fixation of Legumes in Vietnam.** ACIAR, Canberra.

Soane, B.D. 1990. The role of organic matter in soil compatibility: A review of some practical aspects. **Soil Till. Res.** 16: 179-201.

Soni, R., A. Nazir, B.S. Chadha and H.S. Saini. 2008. Novel sources of fungal cellulases for efficient deinking of composite paper waste. **BioResources** 3 (1): 234-246.

Stchigel, S.M, J. Cano and J. Guarro. 2000. Three new thermotolerant species of *Corynascus* from soil, with a key to the known species. **Mycol. Res.** 104: 879-887.

Stuetzenberger, F.J., A.J. Kaufman and R.D. Lossin. 1970. Cellulolytic activity in municipal solid waste composting. **Can. J. Microbiol.** 16: 553-560.

Sunny-Robert, E.O., E. Ananta and D. Knorr. 2007. Flow cytometry assessment of *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) response to non-electrolytes stress. **Eenvironm. Sci.** 37: 184-200.

Tan, C.S. 1997. Preservation of fungi. **Cryptogamie Mycol.** 18: 157-163.

Tchobanoglous, G., H. Theisen and S. A. Vigil. 1993. **Integrated Solid Waste Management: Engineering Principle and Management Issue.** McGraw Hill Inc., New York.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Teixeira, P., H. Castro. and R. Kirby. 1995. Spray drying as a method for preparing concentrated - cultures of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* following spray-drying. **Agr. Food Sci.** 78: 456-462.

Thomas, R.J. and N.M. Asakawa. 1993. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. **Soil Biol. Biochem.** 25: 1351-1361.

Tian, G., B.T. Kang and L. Brussaard. 1992. Biological effects of plant residues with contrasting chemical compositions under humid tropical condition decomposition and nutrient release. **Soil Biol. Biochem.** 24 (10): 1051-1060.

Tittabutr, P., W. Payakapong, N. Teaumroong, P.W. Singleton and N. Boonkerd. 2007. Growth survival and field performance of Bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. **Agr. Food Sci.** 33: 69-77.

Walkley, A. and I.A. Black. 1947. Chromic acid titration method for determination of soil organic matter. **Soil. Sci. Amer. Proc.** 63: 257.

Williams, S.T. 1963. Are antibiotics produced in soil. **Pedobiologia** 23: 426-435.

Young, S.L., X. Sarda and M. Rosenbergn. 1993. Microencapsulating properties of whey protein.1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. **J. Dairy Sci.** 76 (10): 2668-2877.

Zhang, N., D. Li, X. Zhang, Y. Shi and H. Wang. 2015. Solid-state fermentation of whole oats to yield a synbiotic food rich in lactic acid bacteria and prebiotics. **Food Funct.** 6: 2620-2625.

Zhang, S., Y. Shi, S. Zhang, W. Shang, X. Gao and H. Wang. 2014. Whole soybean as probiotic lactic acid bacteria carrier food in solid-state fermentation. **Food Control** 41: 1-6.

Zhao, H.M., X.N. Guo and K.X. Zhu. 2017. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. **Food Chem.** 217: 28-36.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาคผนวก

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ภาคผนวก ก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณเชื้อรา *Corynascus* sp. (23) ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อ (log เซลล์ต่อกรัม)												
	0 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน	9 เดือน	10 เดือน	11 เดือน	12 เดือน
1	15.528 a	14.410 a	14.255 a	13.253 a	12.338 a	12.160 a	9.808 a	9.665 a	8.500 a	8.325 a	6.175 a	4.124 a	2.984 a
2	14.503 b	13.440 c	13.440 b	12.423 b	11.325 b	11.325 b	9.565 b	9.020 b	8.360 a	8.260 a	6.140 a	4.248 a	2.744 b
3	14.528 b	13.493 b	12.425 c	12.368 b	11.333 b	11.258 bc	9.520 b	8.725 b	8.407 a	8.010 a	6.248 a	3.354 b	2.980 a
4	14.383 c	13.420 c	12.493 c	11.448 c	11.230 bc	11.168 c	9.000 c	8.000 c	6.993 b	6.683 b	4.295 b	2.912 c	2.464 c
5	13.530 d	12.563 d	12.520 c	11.465 c	11.112 c	11.305 b	9.000 c	8.000 c	7.135 b	6.240 b	4.075 b	2.991 c	2.619 bc
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	0.33	0.23	0.59	0.52	0.75	0.60	1.44	4.78	1.37	4.38	3.51	2.87	4.74

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ตำรับการทดลอง	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)								
	0 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์ (MD)	0.264	0.250 a	0.160 a	0.138 ab	0.148 a	0.115 b	0.065 a	0.022 b	nd
ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์ (LT)	0.247	0.126 c	0.109 b	0.069 c	0.073 c	0.081 c	0.020 e	0.035 a	nd
ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์ (SM)	0.221	0.215 ab	0.162 a	0.120 b	0.086 bc	0.090 c	0.057 b	0.020 b	nd
ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์ (TH)	0.240	0.205 b	0.174 a	0.164 a	0.162 a	0.151 a	0.044 c	0.009 c	nd
ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ผสมเอนไซม์ (PVP)	0.248	0.117 c	0.111 b	0.109 b	0.102 b	0.087 c	0.032 d	0.000 d	nd
F-test	ns	**	**	**	**	**	**	**	-
CV (%)	10.53	15.69	16.58	18.35	9.41	8.97	9.91	29.99	-

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
nd (not detected) ตรวจไม่พบ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสที่ใช้วัสดุรับรองชนิดต่างๆ ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ตำรับการทดลอง	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)								
	0 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ (MD)	0.227 a	0.167 a	0.155 a	0.107 b	0.133 a	0.110 a	0.032 d	0.030 a	nd
ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ (LT)	0.099 c	0.044 c	0.074 c	0.031 d	0.094 b	0.098 b	0.082 a	0.023 b	nd
ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ (SM)	0.199 b	0.155 a	0.149 a	0.108 b	0.137 a	0.109 a	0.082 a	0.022 b	nd
ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ (TH)	0.119 c	0.143 ab	0.137 a	0.124 a	0.093 b	0.057 d	0.053 c	0.000 c	nd
ผลิตภัณฑ์เอนไซม์ (PVP)	0.222 ab	0.115 b	0.099 b	0.044 c	0.104 b	0.067 c	0.063 b	0.000 c	nd
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	-
CV (%)	9.91	21.06	11.89	6.01	16.36	4.01	10.01	6.25	-

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยการใช้ DMRT
** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางภาคผนวกที่ 4 ประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละตำรับการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1

รายการค่าใช้จ่าย	ตำรับการทดลอง				
	1	2	3	4	5
1. ค่าแรงงาน (บาท/ไร่)					
- ไถดะ ไถแปร และซักร่อง	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
- ปลูกข้าวโพด คนหยอดเมล็ด	300	300	300	300	300
- สับกลบพร้อมพูนโคน กำจัดวัชพืช	500	500	500	500	500
- ใส่ปุ๋ย และผลิตภัณฑ์	140	190	190	190	190
- เก็บเกี่ยว	600	600	600	600	600
2. ค่าวัสดุ (บาท/ไร่)					
- ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0	450	450	450	450	450
- ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0	381.5	381.5	381.5	381.5	381.5
- ปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0	307.1	307.1	307.1	307.1	307.1
- น้ำหมักปลา	-	150	-	-	-
- เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	560	560	560	560	560
รวมต้นทุน (บาท/ไร่)	4,238.60	4,438.60	4,288.60	4,288.60	4,288.60
ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)	932.8	1,055.8	1,067	1,058.3	943.3
ราคา (บาท/กิโลกรัม)	9.30	9.30	9.30	9.30	9.30
มูลค่าผลผลิต (บาท)	8,675.04	9,818.94	9,923.10	9,842.19	8,772.69
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	4,436.44	5,380.34	5,634.50	5,553.59	4,484.09

หมายเหตุ: - ค่าแรง 300 บาทต่อคนต่อวัน
- ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 เท่ากับ 25,000 บาทต่อตัน 25 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 18 กิโลกรัมต่อไร่)
- ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 เท่ากับ 35,000 บาทต่อตัน 35 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 10.90 กิโลกรัมต่อไร่)
- ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0 เท่ากับ 37,000 บาทต่อตัน 37 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 8.30 กิโลกรัมต่อไร่)
- ราคาน้ำหมักชีวภาพ 30 บาทต่อลิตร 5 ลิตรต่อไร่
- ราคาผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กิโลกรัมละ 9.30 บาท

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางภาคผนวกที่ 5 ประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละตำรับการทดลองจากการปลูกรอบที่ 2

รายการค่าใช้จ่าย	ตำรับการทดลอง				
	1	2	3	4	5
2. ค่าแรงงาน (บาท/ไร่)					
- ไถดะ ไถแปร และชักร่อง	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
- ปลูกข้าวโพด คนหยอดเมล็ด	300	300	300	300	300
- สับกลบพร้อมพูนโคน/กำจัดวัชพืช	500	500	500	500	500
- ใส่ปุ๋ย และผลิตภัณฑ์	140	190	190	190	190
- เก็บเกี่ยว	600	600	600	600	600
3. ค่าวัสดุ (บาท/ไร่)					
- ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0	450	450	450	450	450
- ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0	381.5	381.5	381.5	381.5	381.5
- ปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0	307.1	307.1	307.1	307.1	307.1
- น้ำหมักปลา	-	150	-	-	-
- เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	560	560	560	560	560
รวมต้นทุน (บาท/ไร่)	4,238.60	4,438.60	4,288.60	4,288.60	4,288.60
ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)	1,340.8	1,353.6	1,505	1,335.6	1,329.9
ราคา (บาท/กิโลกรัม)	9.30	9.30	9.30	9.30	9.30
มูลค่าผลผลิต (บาท)	12,469.44	12,588.48	13,996.50	12,421.08	12,368.07
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	8,230.84	8,149.88	9,707.90	8,132.48	8,078.47

หมายเหตุ: - ค่าแรง 300 บาทต่อคนต่อวัน
- ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 เท่ากับ 25,000 บาทต่อตัน 25 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 18 กิโลกรัมต่อไร่)
- ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 เท่ากับ 35,000 บาทต่อตัน 35 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 10.90 กิโลกรัมต่อไร่)
- ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0 เท่ากับ 37,000 บาทต่อตัน 37 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 8.30 กิโลกรัมต่อไร่)
- ราคาน้ำหมักชีวภาพ 30 บาทต่อลิตร 5 ลิตรต่อไร่
- ราคาผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กิโลกรัมละ 9.30 บาท