ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม — **สาขา**

วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม — **ภาควิชา**

เรื่อง การผลิตปุ๋ยหมักจากของเสียโรงงานผลิตไวน์โดยการเติมจุลินทรีย์ทนความร้อนที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย

Aerobic Composting of Winery Wastes by Thermophilic Hydrolytic Microorganisms

นามผู้วิจัย นางสาวปัญฑารีย์ ค้าทวี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ปิยาภรณ์ สมสมัคร, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ **เดือน** **พ.ศ.**

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การผลิตปุ๋ยหมักจากของเสียโรงงานผลิตไวน์โดยการเติมจุลินทรีย์ทนความร้อนที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย

Aerobic Composting of Winery Wastes by Thermophilic Hydrolytic Microorganisms

โดย

นางสาวปัญฑารีย์ ค้าทวี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)
พ.ศ. 2552

ปัญฑารีย์ ค้าทวี 2552: การผลิตปุ๋ยหมักจากของเสียโรงงานผลิตไวน์โดยการเติมจุลินทรีย์ทนความร้อนที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม) สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์, Ph.D. 118 หน้า

การนำกากองุ่นซึ่งเป็นของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตไวน์มาผลิตปุ๋ยหมักร่วมกับเศษหญ้าและมูลวัวเป็นแนวทางในการจัดการของเสียที่มีประสิทธิภาพ การเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ทนความร้อนผลิตเอนไซม์ย่อยสลายจะเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายในช่วงอุณหภูมิสูง ในขั้นแรกทำการคัดกรองจุลินทรีย์ทนความร้อนผลิตเอนไซม์ย่อยสลายจากแหล่งต่างๆ ได้เชื้อจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์อะไมเลส 4 ไอโซเลทได้แก่ ST1, ST2, ST3, ST4 และเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนส 3 ไอโซเลท คือ SK1, SK2 และ SK3 จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้มาผสมเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจำนวน 5 สูตรคือ EMC1-EMC5 เมื่อนำหัวเชื้อสูตรต่าง ๆ มาทำการทดสอบผลิตปุ๋ยหมักเบื้องต้น พบว่าหัวเชื้อ EMC3 และ EMC5 มีประสิทธิภาพในการลดอัตราส่วนอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ได้ดีที่สุดจึงใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิดเพื่อผลิตปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมหัวเชื้อและเติมหัวเชื้อทางการค้า พด.1 ผลการศึกษาพบว่า หัวเชื้อทั้งสองมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับหัวเชื้อทางการค้า โดยค่า C/N ratio ในชุดการทดลอง EMC3 และ EMC5 ลดลงจาก 30 เหลือ 18.24 และ17.56 ตามลำดับ ส่วนชุดการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อและใช้เชื้อทางการค้ามีค่า C/N ratio 19.07 และ17.91 ตามลำดับ ปุ๋ยหมักกากองุ่นที่ผลิตได้มีปริมาณธาตุอาหารหลักตามมาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ เมื่อทดสอบดัชนีการงอกต่อเมล็ดพืช (Germination Index) พบว่าปุ๋ยหมัก EMC 5 มีค่าสูงสุด 122.98% ส่วนปุ๋ยหมักอื่นมีค่า ประมาณ 115% เมื่อนำปุ๋ยหมักจากกากองุ่นมาปลูกผักกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) เปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักตามท้องตลาด ผลปรากฏว่าพืชที่ใช้ปุ๋ยหมักจากกากองุ่นมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ทนความร้อนที่คัดเลือกได้เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ และปุ๋ยหมักที่ผลิตจากกากองุ่นไม่เป็นพิษต่อพืชและมีศักยภาพในการนำไปใช้ได้จริง

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Pandaree Katawee 2009: Aerobic Composting of Winery Wastes by Thermophilic Hydrolytic Microorganisms. Master of Science (Environmental Technology and Management), Major Field: Environmental Technology and Management, Department of Environmental Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Jukkrit Mahujchariyawong, Ph.D. 118 pages.

The co-composting of grape marc with livestock manure and grass trimming was considered as an effective method for treatment of solid winery waste. Addition of thermotolerant hydrolytic microbial inocula improved degradative activities of organic materials during thermophilic phase. Initially, hydrolytic microorganisms were screened. Four amylase producing-isolates designated as ST1, ST2, ST3, ST4 and three caseinase-producing isolates SK1, SK2 and SK 3 were obtained. These strains were used to formulate 5 effective microbial communities, namely EMC1-EMC5. After investigation, EMC3 and EMC5 were selected to be used as inocula for grape marc co-composting. Their effectiveness was compared with the use of commercial inoculum and without microbial addition. The results show that both inocula demonstrated comparable performance to commercial inoculum. At initial C/N ratio of 30, EMC3 and EMC5 reduce C/N ratio to 18.24 and 17.56, respectively at the end of experiment, while C/N ratio of 17.91 were obtained from using commercial inoculum. On the other hand, grape marc co-composting exhibited C/N ratio of 19.07 under natural condition without external microbial addition. The composts produced from grape-marc contained sufficient amount of essential elements required by standard. Matured composts were subjected to Germination Index (GI) analysis which no inhibitory effect was observed. EMC5 exhibited highest GI value of 122.89%. When applied to *Brassica pekinensis* plots, grape-marc compost promoted the growth of plants better than any commercially-available composts tested. Therefore, the addition of EMC facilitated the degradation of organic materials and produced high quality compost with high potential of large-scale application.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ได้โดยการอุปการะและช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และอาจารย์ ดร. ปิยาภรณ์ สมสมัคร อาจารย์ปรึกษาร่วมที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย และคำแนะนำด้านต่าง ๆ เกี่ยวกับงานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ประไพพิศ ชัยรัตนมโนกร ประธานการสอบ และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษา แก้ไขข้อบกพร่องจนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ต๊ะ และพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ในกองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่กรุณาให้สถานที่ เครื่องมือ และสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม (สสว.) ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรม รหัสโครงการเลขที่ MRG-OSMEP505S042 คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ และความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้รับทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และสำนักงานส่งเสริมวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้อบรมสั่งสอนและให้กำลังใจผู้วิจัยโดยตลอดมา และขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ซึ่งไม่อาจกล่าวนามได้หมดในที่นี้ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีตลอดมา

ปัญฑารีย์ ค้าทวี

เมษายน 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ (1)

สารบัญตาราง (2)

สารบัญภาพ (6)

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ (11)

คำนำ 1

วัตถุประสงค์ 3

การตรวจเอกสาร 4

อุปกรณ์และวิธีการ 21

อุปกรณ์ 21

วิธีการ 23

ผลและวิจารณ์ 30

สรุปและข้อเสนอแนะ 64

สรุป 63

ข้อเสนอแนะ 63

เอกสารและสิ่งอ้างอิง 64

ภาคผนวก 69

ภาคผนวก ก ผลของความเข้มข้นหัวเชื้อจุลินทรีย์ 70

ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลองและค่าทางสถิติ 84

ภาคผนวก ค วิธีทดลองและสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 109

ประวัติการศึกษาและการทำงาน 118

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของกากอุ่น	15
2	คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ในการหมักปุ๋ยกากอุ่น	26
3	ขนาดโคโลนีและขนาดเคลียร์โซนของเชื้อจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดกรองได้จากอาหาร Starch agar (ST) และ Skim milk agar (SK) ที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	33
4	ความเข้มข้นของอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด และ C/N ratio เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	40
5	องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะของปุ๋ยหมักจากกากอุ่น	55
6	ดัชนีการงอกเมล็ดพืชในการทดสอบการย่อยสลายเสร็จสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักจากกากอุ่นโดยใช้หัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	55
7	น้ำหนักสดของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากอุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด	60
8	น้ำหนักแห้งของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากอุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด	60
9	น้ำหนักสดของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากอุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้า	60
10	น้ำหนักแห้งของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากอุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้า	60

ตารางผนวกที่

ก1	คุณลักษณะเริ่มต้นของปุ๋ยหมักจากกากอุ่นที่หัวเชื้อความเข้มข้นระดับต่าง ๆ	76
ก2	คุณลักษณะของปุ๋ยหมักจากกากอุ่นเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่หัวเชื้อ ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

ข1	อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้า	85
ข2	ค่าอินทรีย์คาร์บอนระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	87
ข3	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	88
ข4	ค่าไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	89
ข5	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วม ของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	89
ข6	C/N ratioระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	90
ข7	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อ C/N ratioของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	91
ข8	อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	92
ข9	ค่าอินทรีย์คาร์บอนระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	93
ข10	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	93
ข11	ค่าไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	94
ข12	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการ หมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	95
ข13	C/N ratioระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	96

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข14	อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ย C/N ratio ของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	96
ข15	ความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	97
ข16	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูก อิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	98
ข17	จำนวนใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	99
ข18	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูก อิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยจำนวนใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	99
ข19	ความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	100
ข20	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูกอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	101
ข21	จำนวนใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	102
ข22	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูก อิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย	102

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข23	อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ	103
ข24	ค่าอินทรีย์คาร์บอนระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ	104
ข25	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วม ของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อ ความเข้มข้นต่าง ๆ	105
ข26	ค่าไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ	106
ข27	อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ	106
ข28	อัตราส่วน C/N ratio ระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ	107
ข29	อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมัก และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ย C/N ratio ของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่างๆ	108

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	รูปแบบอุณหภูมิและการเจริญของจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมัก	6
2	กระบวนการผลิตไวน์	14
3	ของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตไวน์	14
4	ปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์	17
5	ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไลเปส	19
6	เชื้อจุลินทรีย์แกรมลบและแกรมบวกทนอุณหภูมิสูงที่ทำการคัดกรองได้	32
7	อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากหญ้าในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	34
8	C/N ratio ระหว่างการหมักปุ๋ยจากหญ้าในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	34
9	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	35
10	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	35
11	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	36
12	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	36
13	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	37
14	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	37
15	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	38
16	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	38
17	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์	39
19	อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นกากองุ่น	42
20	อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	43
21	ไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	44
22	C/N ratioระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	45
23	ความชื้นระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	46
24	pH ระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	47
25	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	49
26	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	49
27	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	50
28	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	50
29	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	51
30	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	51
31	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	52
32	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
33	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	53
34	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	53
35	การศึกษาดัชนีการงอกของเมล็ดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) ของปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยทดสอบความเป็นพิษต่อพืชที่ผลิตจากหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ	56
36	ความสูงของพืชโดยการเปรียบเทียบระหว่างปุ๋ยหมักจากกากองุ่นกับปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดระยะเวลา 6 วัน	58
37	ความสูงของพืชโดยการเปรียบเทียบระหว่างปุ๋ยหมักจากกากองุ่นกับปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดระยะเวลา 34 วัน	58
38	ความสูงของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด	59
39	จำนวนใบของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด	59
40	จำนวนใบของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้า	61
41	ความสูงของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้าที่ระยะเวลา 6 วัน	61
42	ความสูงของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้าที่ระยะเวลา 27 วัน	62

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ก1	อุณหภูมิตลอดระยะเวลาการหมักปุ๋ยที่มีความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นระดับต่าง ๆ	76
ก2	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	77
ก3	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น	78
ก4	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°C	78
ก5	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่าง การหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C	79
ก6	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°C	79
ก7	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C	80
ก8	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°C	80
ก9	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการ หมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C	81
ก10	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°C	81
ก11	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C	82
ก12	ปริมาณเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ภายในปุ๋ยหมักในชุดการทดลองต่าง ๆ	82
ก13	ปริมาณเอนไซม์เคซีเนสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ภายในปุ๋ยหมักในชุดการทดลองต่าง ๆ	83
ก14	ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ภายในปุ๋ยหมักในชุดการทดลองต่าง ๆ	83

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ค1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร กับปริมาณไทโรซีน (ug/ml) ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เคซีเนส 112

ค2 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร กับปริมาณน้ำตาล (มก.) ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 115

คำอธิบายสัญลักษณ์และอักษรย่อ

กก.	=	กิโลกรัม
ซม.	=	เซนติเมตร
มก./กก.	=	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
^{o}C	=	องศาเซลเซียส
C/N ratio	=	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน
ds/m	=	เดซิซีเมนต่อเมตร
Kg/ha	=	กิโลกรัมต่อเฮคแตร์
pH	=	ความเป็นกรด-ด่าง

การผลิตปุ๋ยหมักจากของเสียโรงงานผลิตไวน์โดยการเติมจุลินทรีย์ทนความร้อนที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย

Aerobic Composting of Winery Wastes by Thermophilic Hydrolytic Microorganisms

คำนำ

กรรมวิธีการผลิตไวน์มีของเสียเกิดขึ้นคือ กากองุ่นและสลัดจ์จากกระบวนการบำบัดน้ำเสีย (Bertran *et al*., 2004) ในปัจจุบันกากองุ่นเหล่านี้ยังไม่มีการนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างเต็มที่และบางครั้งมีการจัดการไม่ถูกต้อง เช่นการนำกากองุ่นมากองทิ้งไว้กลางแจ้งแล้วปล่อยให้ย่อยสลายเองตามธรรมชาติ วิธีการนี้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมคือ ส่งกลิ่นเหม็น เป็นแหล่งสะสมเชื้อโรค สิ้นเปลืองพื้นที่ในการฝังกลบและมีการชะละลายอินทรียสารลงในแหล่งน้ำ ซึ่งหากเกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติจะทำให้น้ำเน่าเสียและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทางเลือกหนึ่งในการที่จะจัดการกากองุ่นเหล่านี้คือการนำกากองุ่นมาผลิตเป็นปุ๋ยหมัก ซึ่งเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ลดผลกระทบที่จะเกิดต่อสิ่งแวดล้อม ลดพื้นที่ในการจัดการของเสีย มีค่าใช้จ่ายในการบำบัดต่ำทำให้ต้นทุนการผลิตของโรงงานต่ำลงด้วย

กระบวนการหมักปุ๋ย (composting) เป็นกระบวนการสลายตัวของสารอินทรีย์โดยเชื้อจุลินทรีย์และมีผลทำให้เกิดสารที่มีความเสถียรกว่าเดิม ผ่านกระบวนการทางชีววิทยาภายใต้สภาวะที่ก่อให้เกิดอุณหภูมิสูง ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความร้อนและสลายตัวจนได้อินทรียสารที่มีความเสถียรเพียงพอสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงสภาพดินได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งปัจจัยในการควบคุมกระบวนการหมักปุ๋ยประกอบด้วยปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม คืออุณหภูมิ ความชื้น pH อากาศ และปัจจัยด้านสับสเตรต คือ C/N ratio ขนาดสับสเตรตและธาตุอาหาร (Diaz *et al*., 2002) โดยเฉพาะอุณหภูมิมีความจำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงในการย่อยสลายสารอินทรีย์ไปเป็นสาร อินทรีย์ที่มีความเสถียรมากขึ้น โดยจะผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ ความร้อนและฮิวมัส รวมทั้งองค์ประกอบอื่น ๆ (León *et al.,* 2007) โดยทั่วไปการย่อยสลายสารอินทรีย์ ขึ้นอยู่กับการทำงานของ จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เพื่อมาย่อยสลายสารอินทรีย์ (Raut *et al*., 2008) อย่างไรก็ตามในกากองุ่นจะมีสารประกอบประเภทฟีนอลเจือปนอยู่โดยจะมีผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Fernàndez *et al*., 2008) คืออาจไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งหากมีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีจะช่วยในการเพิ่มอุณหภูมิในกระบวนการหมักทำให้สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์เร็วขึ้น

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อช่วยให้การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์เป็นไปอย่างต่อเนื่องยิ่งขึ้นทำให้ระยะเวลาในการหมักปุ๋ยสั้นลง ส่งผลให้ไม่สิ้นเปลืองแรงงานและต้นทุนในการผลิตปุ๋ยหมักและเพื่อศึกษาคุณลักษณะของปุ๋ยหมักที่ผลิตจากของเสียโรงงานผลิตไวน์ เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการกากของเสียและนำของเสียมาใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างเต็มที่

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงในการย่อยสลายสารอินทรีย์

2. เพื่อศึกษาคุณลักษณะของปุ๋ยหมักที่ผลิตจากของเสียโรงงานผลิตไวน์

การตรวจเอกสาร

1. ปุ๋ยหมัก (compost)

ปุ๋ยหมักเป็นปุ๋ยที่ได้จากการหมักสารอินทรีย์ให้สลายตัวผุพังตามธรรมชาติซึ่งเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์จนกระทั่งได้วัสดุที่มีความคงทนต่อการย่อยสลาย ไม่มีกลิ่น มีสีน้ำตาลปนดำ และมี C/N ratio ต่ำ (ฉวีวรรณ, 2531) กระบวนการหมักเป็นกระบวนการสลายตัวของสารอินทรีย์และทำให้เกิดสารที่มีความเสถียรกว่าเดิมโดยกระบวนการทางชีววิทยาโดยจะผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ ความร้อนและฮิวมัส รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ (León *et al.,* 2007) ภายใต้สภาวะที่ก่อให้เกิดอุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งอุณหภูมิช่วงปานกลางคือ 30-38 ^{o}C ส่วนในช่วงอุณหภูมิสูงคือ 55 -60^{o}C (Yilmaz *et al*., 2008)

การหมักปุ๋ยแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. การหมักแบบใช้ออกซิเจน (aerobic composting) เป็นกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์แสดงสมการดังนี้

$$\text{organic matter} + O_2 \longrightarrow \text{compost} + CO_2 + H_2O + NO_3^- + SO_4^{2-} + \text{heat}$$

2. การหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic composting) เป็นกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์แสดงดังสมการดังนี้

$$\text{organic matter} \longrightarrow CO_2 + NH_3 + \text{products} + \text{energy} + H_2S + CH_4$$

2. ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมักปุ๋ย

การย่อยสลายภายในกองปุ๋ยหมักจะเป็นไปได้เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยเหล่านี้คือ

1. ความชื้น (moisture content) เป็นปัจจัยสำคัญต่อจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์จะดูดซึมสารอาหารที่ละลายในน้ำเพื่อใช้ในการเมตาบอลิซึม หากภายในกองปุ๋ยมีความชื้นต่ำจะมีผลไปยับยั้งการ

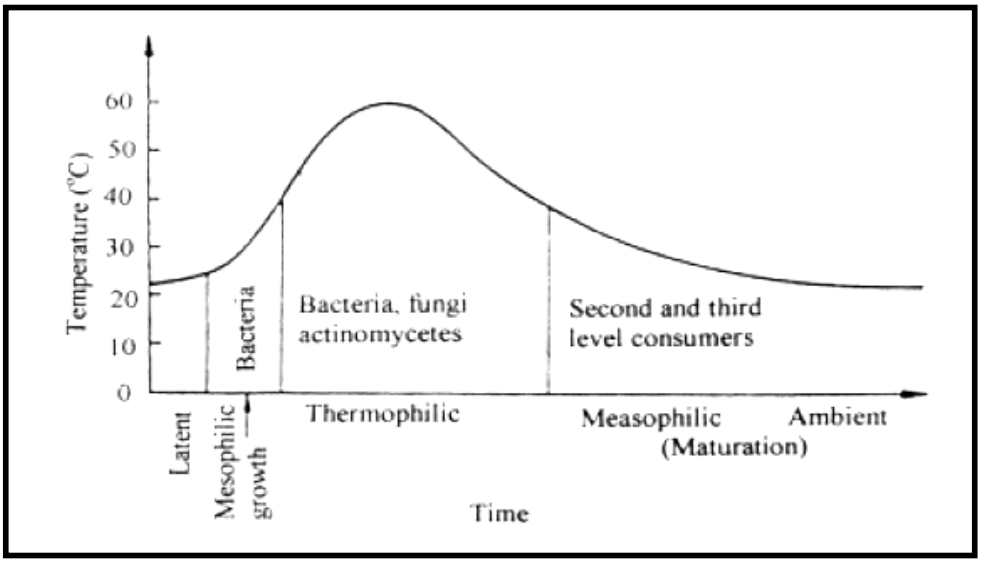
เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แต่ถ้าความชื้นสูงเกินไปจะทำให้กองปุ๋ยหมักขาดออกซิเจนทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเน่า โดยความชื้นที่เหมาะสมความอยู่ช่วงร้อยละ 50-60 (Liang *et al.,* 2003)

2. ออกซิเจน (oxygen) มีผลในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมัก โดยออกซิเจนจะเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ส่งถ่ายมาจากกระบวนการหายใจในเซลล์จุลินทรีย์ ดังนั้นการระบายอากาศจึงจำเป็นต่อการเพิ่มออกซิเจนให้เพียงพอต่อกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ (ณัฐพร, 2548)

3. อุณหภูมิ (temperature) เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการทำงานของจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมัก ชนิดจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยขึ้นอยู่กับระดับของอุณหภูมิดังต่อไปนี้

Cryophiles or psychrophiles	0-25 ^{o}C
Mesophiles	25-45 ^{o}C
Thermophiles	>45 ^{o}C

การทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักปุ๋ยขั้นตอนแรกเริ่มจากช่วงอุณหภูมิปานกลาง จุลินทรีย์ที่พบคือแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ซึ่งในช่วงนี้จะมีการย่อยสลายสารอินทรีย์ทำความร้อนภายในกองปุ๋ยสูงขึ้น จึงเป็นสาเหตุให้อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยมีเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 45^{o}C จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางจะมีจำนวนลดลง และจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงจะเจริญขึ้นมาแทน โดยอุณหภูมิในระยะนี้อยู่ในช่วง 65^{o}C-70^{o}C อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็นผลจากการที่จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ทำให้มีความร้อนเกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายภายในกองปุ๋ยหมักจนกระทั่งแหล่งอาหารภายในกองปุ๋ยหมดลงการทำงานของจุลินทรีย์จึงจะลดลง ซึ่งอุณหภูมิจะค่อย ๆ ลดลงจนอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยมีค่าใกล้เคียงกับอากาศรอบนอกในช่วงนี้วัสดุในการหมักปุ๋ยมีความเสถียรและการทำงานของจุลินทรีย์ในช่วงนี้จะลดลง



ภาพที่ 1 รูปแบบอุณหภูมิและการเจริญของจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมัก

ที่มา: Stoffella and Kahn (2001)

รูปแบบอุณหภูมิของกระบวนการหมักปุ๋ยดังที่แสดงในภาพที่ 1 สามารถอธิบายได้ดังนี้คือ

3.1 ระยะแฝง (latent phase) เป็นช่วงที่จุลินทรีย์มีการปรับตัวและสร้างโคโลนีในสภาพแวดล้อมใหม่ ๆ ในกองปุ๋ยหมัก

3.2 ระยะเจริญเติบโต (growth phase) จุลินทรีย์ในช่วงนี้มีปริมาณมากขึ้นเป็นระยะที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึงระดับปานกลาง ซึ่งเกิดจากกิจกรรมทางชีววิทยาของจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่มักเป็นจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง โดยผลจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ทำให้เกิดพลังงานความร้อน อุณหภูมินี้อยู่ในช่วง 25-40^{o}C

3.3 ระยะอุณหภูมิสูง (thermophilic phase) เป็นช่วงที่มีการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ทำให้อุณหภูมิภายในกองค่อย ๆ สูงขึ้นจนกระทั่งสูงกว่า 40^{o}C ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางตายหรือถูกยับยั้งการเจริญเติบโตแต่จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูงจะทำการย่อยสลายต่อ โดยอุณหภูมิในช่วงนี้ประมาณ 50-65^{o}C ระยะนี้เป็นระยะที่วัสดุอินทรีย์เสถียรและการทำลายเชื้อโรคมีประสิทธิภาพที่สุด ซึ่งในช่วงนี้มักพบแบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซิส

3.4 ระยะบ่ม (maturation phase) ในระยะนี้อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักลดลงจนกระทั่งมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิอากาศภายนอก เมื่ออุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักลดลงจนอยู่ในช่วงอุณหภูมิปานกลาง จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางจะเข้ามามีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์อีกครั้งหนึ่งในช่วงนี้ก่อให้เกิดการสร้างฮิวมัส ซึ่งเป็นการเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่ซับซ้อนไปเป็นสารที่มีความเสถียรกว่าเดิม คือฮิวมัส จากนั้นอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักจะลดลงจนใกล้เคียงอุณหภูมิอากาศโดยรอบแสดงว่ากระบวนการหมักเสร็จสมบูรณ์

Thummes *et al.* (2006) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและศักยภาพการทำงานของจุลินทรีย์ประเภทอาร์เคีย (archea) ที่มีความสามารถในการทนต่ออุณหภูมิที่สูงโดยเปรียบเทียบระหว่างปุ๋ยที่มีอายุต่างกัน พบว่าปุ๋ยอายุ 6 สัปดาห์จะมีเชื้อจีนัส *Methanothermobacter* เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วระหว่างอุณหภูมิ 55-65 $^{\circ}$C และพบเชื้อ *Methanosarcina thermophilia* ซึ่งอุณภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 50-55°C โดยเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการทำปุ๋ยจะพบเชื้อ *Methanobacterium formicicum* ซึ่งพบมากที่สุดในระยะที่มีการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

Tsai *et al*. (2007) จำแนกเชื้อที่มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ปุ๋ยจากมูลสัตว์ ปุ๋ยจากของเสียประเภทผักและผลไม้ และปุ๋ยจากของเสียประเภทอาหารการศึกษาพบว่าเชื้อ *Brevibacillus borstelensis* SH168 ที่แยกได้จากปุ๋ยของเสียประเภทอาหารมีการทำงานของเอนไซม์และอัตราการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Mendels-Reese medium, Tributyrin medium, Skim milk medium และ Soluble starch-yeast extract medium) โดยพิจารณาจากขนาดโคโลนีและขนาดเคลียร์โซน จึงนำเชื้อ *Bv. borstelensis* SH168 มาเป็นตัวเร่งในการทำปุ๋ยชีวภาพ โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด คือชุดทดลองจะมีการผสมเชื้อที่ทนต่ออุณหภูมิสูงและสามารถย่อยไขมันได้พบว่าปุ๋ยจะมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 43°C จนถึง 70°C ภายในระยะเวลาเพียง 3 วัน และเมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน อุณหภูมิจะลดลงเหลือ 52°C แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเพิ่มเชื้อที่ทนต่ออุณหภูมิสูง จะพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 3 วันเท่ากัน จะมีอุณหภูมิเพียง 56°C และเมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน อุณหภูมิจะเท่ากับ 45°C

4. ประชากรจุลินทรีย์ (microbial population)

4.1 แบคทีเรีย (bacteria) เป็นจุลินทรีย์ที่พบปริมาณมากและมีบทบาทสำคัญในกองปุ๋ยหมักจะพบมากในช่วงระยะแรกของการย่อยสลายโดยจะมีปริมาณสูงถึง 10^{8}-10^{9} CFU/g ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในกองปุ๋ยซึ่งร้อยละ 80-90 เป็นผลมาจากการทำงานของแบคทีเรียในช่วงแรกของกระบวนการหมักปุ๋ยมักพบ *Streptococus* sp., *Vibrio* sp. และ *Bacillu*s sp. (Stoffella and Kahn, 2001)

4.2 แอคติโนมัยซิส (actinomycetes) มีลักษณะคล้ายรามีเส้นใย (mycelium) จะพบในช่วงวันที่ 5-7 ของกระบวนการหมักปุ๋ย ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้มักเจริญได้ช้ากว่าแบคทีเรีย และรา โดยจะมีลักษณะสีเทาปรากฏบนกองปุ๋ย แอคติโนมัยซิสเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการความชื้นน้อยในการเจริญเติบโต ถ้าหากมีความชื้นประมาณร้อยละ 85-100 จะพบแอคติโนมัยซิสลดน้อยลงแต่จะเจริญได้ดีใน pH ที่เป็นด่างและสปีชีส์ที่พบได้แก่ *Micromonospora*, *Streptomyces* แอคติโนมัยซิสมีความสำคัญในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนินซึ่งเป็นองค์ประกอบของไม้ (Gasser, 1985)

4.3 รา (fungi) เชื้อราเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในช่วงที่มีอุณหภูมิไม่สูงเกินไป ราโดยทั่วไปเจริญในช่วงอุณหภูมิ 5-37 ^{o}C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 25-30 ^{o}C เชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูงเจริญได้ในช่วง 20-50 ^{o}C หรือสูงกว่านั้นแต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือประมาณ 40 ^{o}C (Tuomela *et al*., 2000)

5. C/N ratio จุลินทรีย์จะใช้คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน และใช้ไนโตรเจนในการสร้างเซลล์เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน C/N ratio เริ่มต้นควรมีค่าประมาณ 25-30 (Li *et al*., 2008) ความเหมาะสมของ C/N ratio จะต้องมีเพียงพอสำหรับจุลินทรีย์ หากมี C/N ratio ต่ำจะเกิดการสูญเสียสารประกอบไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียส่งผลให้ปุ๋ยหมักเกิดกลิ่นเหม็น แต่ถ้า C/N ratio เกินไปจะทำให้ระยะเวลาในการหมักปุ๋ยนานขึ้น (Bertran *et al*., 2004) นอกจากนี้ C/N ratio ใช้เป็นตัวบ่งบอกว่าปุ๋ยหมักที่ได้มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์หรือไม่ โดยปุ๋ยหมักที่มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จะต้องมี C/N ratio ลดลงต่ำกว่า 20/1 (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548) การลดลง ของ C/N ratio เกิดขึ้นเนื่องจากในระหว่างกระบวนการหมักอินทรียวัตถุจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำแล้วระเหยออกจากกองปุ๋ยหมัก

Hachicha *et al*., (2009) หมักปุ๋ยจากของเสียทางการเกษตรร่วมกับน้ำเสียโรงงานผลิตน้ำมันมะกอกโดยช่วงแรกของกระบวนการหมักปุ๋ยมี C/N ratio อยู่ในช่วง 24-27 และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 120 วัน พบว่า C/N ratio ลดลงอยู่ในช่วง 13-16

Vuorinen and Saharien (1997) ทำปุ๋ยหมักที่มีส่วนผสมของมูลวัว มูลหมู และฟางข้าวบาเล่ย์ พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไป โดยเมื่อเริ่มหมักปุ๋ยมี C/N ratio อยู่ในช่วง 22.6-28.5 และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก C/N ratio ลดลงเหลือ 12.7-13.6

ประกาศิต (2549) หมักปุ๋ยจากฟางข้าว ชานอ้อย ขี้เลื่อย เปลือกยูคาลิปตัส และตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ พบว่าในช่วง 14 แรกของกระบวนการหมักมี C/N ratio อยู่ในช่วง 26.20-98.78 และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 210 วันพบว่ามี C/N ratio ลดลงเหลือ 12.15-23.35

6. pH ของกองปุ๋ยมีการเปลี่ยนแปลงคือ ในช่วงแรกจะมีความเป็นกรดต่อมาจะเป็นด่างจนเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักจนได้เป็นฮิวมัส pH อยู่ในช่วง 7.5-8.5 ซึ่ง pH มีผลต่อกระบวนการหมักปุ๋ย คือถ้าภายในกองปุ๋ยมี pH สูงเกินไปอินทรีย์ในโตรเจนในปุ๋ยจะเปลี่ยนเป็นแก๊สแอมโมเนียระเหยไปในอากาศ หาก pH ต่ำเกินไปจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอินทรีย์

3. คุณสมบัติปุ๋ยอินทรีย์

ปัจจุบันมีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์กันอย่างแพร่หลาย ดังนั้นกรมวิชาการเกษตรจึงกำหนดมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548 โดยรายละเอียดกำหนดคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์มีดังนี้

1. ขนาดของปุ๋ยไม่เกิน 12.5x12.5 มม. หากปุ๋ยอินทรีย์ที่มีการย่อยสลายสมบูรณ์จะมีลักษณะยุ่ยเป็นผงคล้ายดิน เมื่อถูกร่อนผ่านด้วยตะแกรงขนาด 12.5 มม. จะขาดจากกันได้ง่ายและไม่เห็นลักษณะเดิมของวัตถุดิบที่นำมาหมัก ส่วนปุ๋ยที่มีขนาดใหญ่กว่า 12.5 มม. เมื่อต้องหว่านปุ๋ยลงในแปลงทำให้ปุ๋ยจับตัวเป็นก้อน ส่วนขนาดที่ละเอียดเกินไปก็ไม่เหมาะสมเพราะจะทำให้ฟุ้งกระจายขณะนำไปใช้

2. ปริมาณความชื้นและสิ่งระเหยได้ไม่เกินร้อยละ 35 โดยน้ำหนักปุ๋ยหมักควรมีความชื้นอยู่บ้างโดยทั่วไปจะกำหนดความชื้นที่ร้อยละ 35 เพราะอินทรียวัตถุที่สลายตัวแล้วเมื่อแห้งจะอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถเปียกน้ำได้ง่าย แต่หากความชื้นมากเกินไปจะเป็นปัญหาในการขนส่งและเสียค่าใช้จ่ายมาก

3. ปริมาณหิน กรวด ขนาดใหญ่กว่า 5 มม. มีไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก หิน กรวด ทรายเป็นสิ่งที่ไม่มีประโยชน์ต่อพืชเป็นการเพิ่มภาระในการขนส่ง ในการวิเคราะห์มักพบหิน กรวด ทราย ร้อยละ 3-5 โดยพบทรายในสัดส่วนมากที่สุด แต่ทรายมีอนุภาคเล็กจึงถือเป็นอนุภาคเดียวกับดินจึงไม่พิจารณาปริมาณทรายในปุ๋ยอินทรีย์

4. พลาสติก แก้ว วัสดุมีคม และโลหะอื่น ๆ ต้องไม่มี วัสดุเหล่านี้จัดว่าเป็นวัสดุอันตราย เนื่องจากแก้วหรือวัสดุมีคมอาจก่อให้เกิดบาดแผลแก่ผู้ใช้ในขณะปฏิบัติงานและเป็นผลให้เกิดเชื้อโรคบางชนิด เช่น บาดทะยัก เป็นต้น

5. ปริมาณอินทรียวัตถุไม่น้อยกว่าร้อยละ 30 โดยน้ำหนักวัตถุประสงค์หลักในการใช้ปุ๋ยหมักเพื่อเพิ่มอินทรียวัตถุในดิน ซึ่งปุ๋ยหมักควรมีอินทรียวัตถุร้อยละ 35-50 แต่ถ้าอินทรียวัตถุมากเกินร้อยละ 60 ถือว่ายังมีการย่อยสลายไม่สมบูรณ์เมื่อนำไปใช้อาจเกิดการย่อยสลายต่อไปทำให้เกิดความร้อนและมีปัญหาต่อการเจริญเติบโตของพืช

6. pH ในระหว่างการหมักปุ๋ยควรอยู่ในช่วง 5.5-8.5 ภายในกองปุ๋ยมีการเปลี่ยนแปลง pH ตลอดเวลาโดยในระยะแรก pH จะเป็นกรดต่อมาเป็นด่าง จนเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักได้สารฮิวมัส pH จะอยู่ใน ช่วง 7.5-8.5 ถ้า pH สูงเกินไปไนโตรเจนในปุ๋ยจะเปลี่ยนเป็นแก๊สแอมโมเนียระเหยไป เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีน ในขณะที่ pH ต่ำเกินไปจุลินทรีย์ ที่เป็นประโยชน์จะหยุดกิจกรรมแต่จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชจะเจริญได้ดี

7. C/N ratio ไม่เกิน 20/1 ปุ๋ยหมักที่มีอัตราส่วน C/N ratio สูงเมื่อใส่ลงดินจะมีการย่อยสลายต่อไปอีก มีผลทำให้เกิดกรดอินทรีย์ที่เป็นพิษและเป็นอันตรายต่อพืช

8. ค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity; EC) ไม่เกิน 6 ds/m ค่าการนำไฟฟ้าหรือปริมาณเกลือที่ละลายได้ปกติปุ๋ยหมักทั่วไปจะมีค่า EC ไม่เกิน 3.5 ds/m

9. ปริมาณธาตุอาหารหลักไนโตรเจนทั้งหมด (total N) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 1 ฟอสฟอรัสทั้งหมด (total P_2O_5) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.5 และโพแทสเซียมทั้งหมด (total K_2O) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก โดยทั่วไปแล้วปุ๋ยหมักจะมีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองเกือบครบถ้วนเพียงแต่มีในปริมาณต่ำ แต่ปริมาณแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมัก ซึ่งปริมาณธาตุไนโตรเจนต้องมีไม่น้อยกว่าร้อยละ 1 สอดคล้องกับ C/N ratio ที่ไม่เกิน 20/1

10. การย่อยสลายที่สมบูรณ์มากกว่าร้อยละ 80 วัตถุประสงค์ของการทดสอบเพื่อวัดสารพิษต่อพืช (phytotoxic substance) ซึ่งวิธีวัดดัชนีการงอกของเมล็ด (germination index) เป็นวิธีที่สามารถวัดได้ง่ายและรวดเร็ว โดยการสกัดสารอินทรีย์ในปุ๋ยหมักด้วยน้ำเพื่อละลายเกลือและกรดอินทรีย์กลุ่ม phenolic compound รวมทั้งสารพิษอื่นที่ละลายน้ำได้ออกมาอยู่ในรูปของสารละลาย ซึ่งหากปุ๋ยหมักมีสารพิษเหล่านี้เป็นองค์ประกอบจะมีผลต่อการงอกและความยาวรากของพืชที่ใช้ทดสอบ

11. สารหนู แคดเมียม โครเมียม ทองแดง ตะกั่ว และปรอทไม่เกิน 50, 5, 300, 500, 500 และ 2 มก./กก. ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ยอมให้มีการปนเปื้อนได้ในดินและสิ่งแวดล้อมโดยไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต (กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสกรณ์, 2548)

4. ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก

ด้านการเกษตร

กระบวนการทำปุ๋ยหมักเป็นการเปลี่ยนวัสดุอินทรีย์เหลือใช้นำมาเป็นประโยชน์ต่อการเพาะปลูก โดยการใส่ปุ๋ยอินทรีย์จะช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดินและเป็นธาตุอาหารให้กับพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต

ด้านกายภาพ

การใส่ปุ๋ยหมักให้แก่ดินจะมีผลทำให้โครงสร้างและเนื้อดินดีขึ้น คือหากเป็นดินเหนียวปุ๋ยหมักจะทำให้ดินมีสภาพร่วนซุย ไม่อัดตัวแน่น โดยอินทรียวัตถุในปุ๋ยหมักจะไปยึดอนุภาคดินเข้าด้วยกันเป็นเม็ดดิน ทำให้ดินมีการถ่ายเทอากาศ รากพืชชอนไชได้ดี และช่วยให้น้ำไหลซึมได้ดีขึ้นอีกด้วย ส่วนในดินเนื้อหยาบ เช่น ดินทราย ปุ๋ยหมักที่ใส่ลงไปจะช่วยทำให้ดินแน่นขึ้นสามารถอุ้มน้ำหรือดูดซับความชื้นได้มากขึ้น

ด้านเคมี

การใส่ปุ๋ยหมักเป็นการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารแก่ดิน โดยปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยหมักประกอบด้วยไนโตรเจนทั้งหมดประมาณร้อยละ 0.4-2.5 ฟอสฟอรัสประมาณร้อยละ 0.2-2.5 และโพแทสเซียมประมาณร้อยละ 0.5-1.8 และนอกจากนี้ปุ๋ยหมักยังมีธาตุอาหารรองอื่น ๆ ที่พืชต้องการอีกด้วย เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส โบรอน ทองแดง โมลิบดีนัม ฯลฯ

ด้านชีววิทยา

ภายในกองปุ๋ยหมักจะมีราและแบคทีเรียอยู่ในปริมาณมาก เมื่อใส่ปุ๋ยหมักลงสู่ดินจุลินทรีย์จะไปเพิ่มกระบวนการเปลี่ยนเป็นไนเตรทและกระบวนการตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้ปุ๋ยหมักจะไปกระตุ้นราไมโคไรซ่าซึ่งอยู่บริเวณรอบรากพืชให้ดูดซึมธาตุอาหารเพิ่มขึ้น

5. วิธีการใช้ปุ๋ยหมัก

การใช้ปุ๋ยหมักกับพืชผัก

พืชผักโดยทั่วไปจะมีจะมีระบบรากฝอย ซึ่งเป็นรากสั้น ๆ อยู่บริเวณตื้น ๆ ใกล้กับผิวดิน การใส่ปุ๋ยหมักจะมีผลทำให้ดินร่วนซุย รากพืชเจริญเติบโตเร็ว การใส่ปุ๋ยหมักอาจใช้วิธีโรยปุ๋ยหมักที่สลายตัวดีแล้วคลุมแปลงหนาประมาณ 1-3 นิ้ว แล้วผสมคลุกเคล้าลงดินให้ลึกประมาณ 4 นิ้วหรือลึกกว่านี้หากเป็นพืชที่ลงหัว

การใช้ปุ๋ยหมักกับไม้ผลหรือไม้ยืนต้น

ไม้ผลหรือไม้ยืนต้นมักมีระบบรากลึก ดังนั้นควรใช้ปุ๋ยหมักผสมคลุกเคล้ากับดินที่ขุดจากหลุมในขั้นตอนการเตรียมหลุมในอัตราส่วนดิน 2-3 ส่วนกับปุ๋ยหมัก 1 ส่วน การใส่ปุ๋ยหมักสำหรับไม้ผลที่เจริญเติบโตแล้วอาจทำโดยใส่ห่างจากโคนต้นประมาณ 2-3 ฟุต และพรวนดินให้ลึกประมาณ 2 นิ้ว จากนั้นโรยปุ๋ยหมักให้หนาประมาณ 1 นิ้ว แล้วผสมคลุกเคล้าให้เข้ากับดิน

การใช้ปุ๋ยหมักกับพืชไร่หรือนาข้าว

ควรใส่ปุ๋ยหมักในอัตราอย่างน้อยปีละ 1.5-2.5 ตันต่อไร่ในกรณีที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง แต่หากดินมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำหรือเสื่อมโทรมอาจใช้ประมาณ 2-3 ตันต่อไร่

การใช้ปุ๋ยหมักกับพืชอื่น ๆ

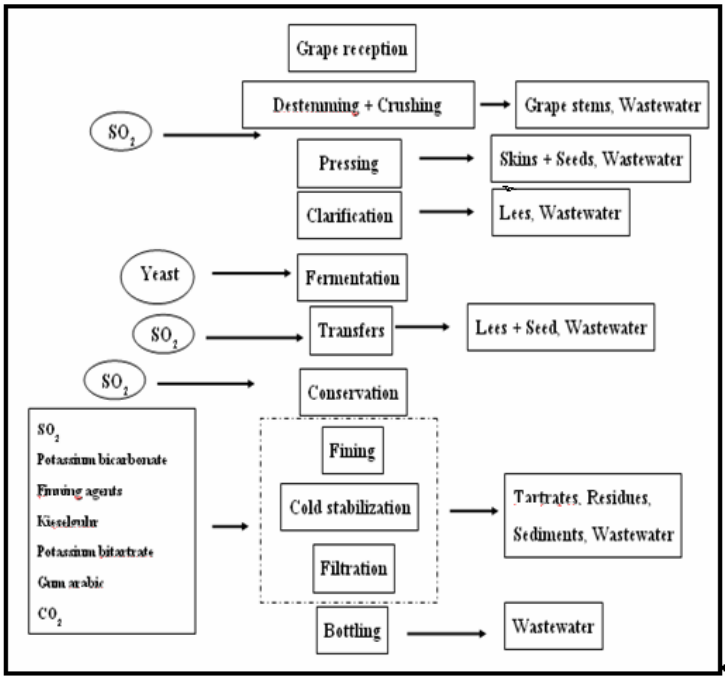
ปุ๋ยหมักสามารถใช้กับพืชพวกไม้ดอกไม้ประดับได้โดยหากปลูกเป็นแปลงให้ใช้อัตราเดียวกับที่ใช้ในแปลงผักคือโรยปุ๋ยหมักคลุมแปลงให้หนาประมาณ 1-3 นิ้ว แล้วใช้จอบสับลงไปในดินให้ลึกประมาณ 4 นิ้ว

การใช้ปุ๋ยหมักกับสำหรับไม้กระถาง

ใช้ปุ๋ยหมัก 1 ส่วน ผสมดินร่วม 2 ส่วน หากผสมปุ๋ยหมักในอัตราส่วนมาก ๆ วัสดุปลูกมักจะแห้งเร็วเกินไปมีผลทำให้วัสดุปลูกยุบตัวมาก (สมปอง และคณะ, 2549)

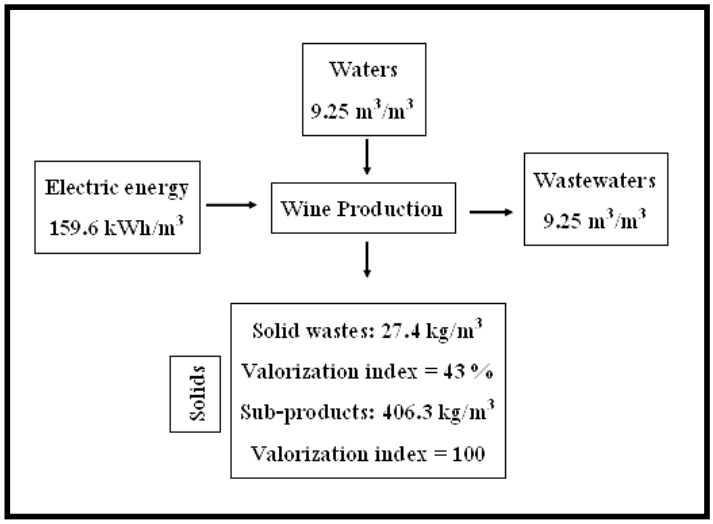
6. ของเสียและแนวทางการจัดการของเสียในโรงงานผลิตไวน์

ไวน์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากการหมักองุ่นสดและผ่านกระบวนการผลิตขั้นตอนต่าง ๆ จนกลายเป็นแอลกอฮอล์ การผลิตไวน์โดยทั่วไปจะมีของเสียที่ต้องการกำจัดทั้งในรูปของแข็งและของเหลว กระบวนการหมักไวน์เริ่มต้นจากนำองุ่นผ่านเครื่องเด็ดก้านเพื่อแยกผลองุ่นออกมาจากก้านและนำองุ่นมาผ่านเครื่องบีบองุ่นซึ่งในกระบวนการนี้จะมีของเสียเกิดขึ้นคือน้ำเสียจากกระบวนการล้างผลองุ่นและก้านองุ่น จากนั้นนำองุ่นมาคั้นน้ำโดยของเสียจากกระบวนการนี้คือเปลือกองุ่น เมล็ด และน้ำเสีย ซึ่งในขั้นตอนต่อไปเป็นการทำให้น้ำองุ่นใสโดยการตกตะกอนโดยมีของเสียเกิดขึ้นคือตะกอนและน้ำเสีย จากนั้นนำน้ำองุ่นที่คั้นได้เข้าสู่ถังหมัก เติมแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อฆ่าเชื้อโรคและนำน้ำไวน์ที่ได้เข้าสู่ถังตกตะกอนและทำให้ใสโดยการกรองเพื่อกำจัดเศษตะกอน กระบวนการนี้ทำให้เกิดกากตะกอนและน้ำเสีย ขั้นตอนสุดท้ายนำไวน์ที่ได้มากรองอีกครั้งแล้วบรรจุขวด (ภาพที่ 2) ของเสียจากกระบวนการผลิตไวน์ที่เกิดขึ้นคือ กากองุ่นซึ่งประกอบด้วยเปลือกองุ่น เมล็ด ก้านองุ่นและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตที่ไหลออกมา นอกจากนี้มีของเสียจำพวกยีสต์ และกากตะกอน ซึ่งของเสียเหล่านี้ สามารถนำกลับมาหมุนเวียนใช้ได้ (Oreopoulou, 2006) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 กระบวนการผลิตไวน์

ที่มา: Oreopoulou (2006)



ภาพที่ 3 ของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตไวน์

ที่มา: Oreopoulou (2006)

ลักษณะของกากองุ่นจะมี pH เป็นกรด มีอินทรียสารสูง และมีสารโพลีฟีนอลซึ่งมีความเป็นพิษต่อพืชและจุลินทรีย์ (Bustamante *et al.,* 2008) รวมทั้งส่วนประกอบอื่น ๆ อีกหลายชนิดเป็นองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของกากองุ่น

ส่วนประกอบ (Component)	**องค์ประกอบ (Composition) (กรัม/กิโลกรัม)**
โปรตีน	109.8
กลูโคส	18.8
ซูโคส	20.0
แป้ง	214.4
ไฟเบอร์	329.8
ไขมัน	91.0
เถ้า	43.0
ความชื้น	81.3
อื่น ๆ	85.9

ที่มา: Silva *et al*. (2009)

ตัวอย่างในการจัดการของเสียจากโรงงานผลิตไวน์ได้แก่ การทำเป็นปุ๋ยหมัก โดย Bertran *et al*. (2004) ทำการหมักปุ๋ยจากของเสียโรงงานผลิตไวน์โดยใช้สลัดจ์ร่วมกับก้านองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักจากของเสียอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่าปุ๋ยหมักที่ได้จากสลัดจ์โรงงานผลิตไวน์กับก้านองุ่นมีคุณลักษณ์ทางเคมีไม่ต่างจากปุ๋ยหมักที่ผลิตมาจากของเสียอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ การนำของเสียทั้งสองชนิดมาทำปุ๋ยหมักร่วมกันทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพที่ดีโดยสัดส่วนที่เหมาะสมคือสลัดจ์ 1 ส่วนต่อก้านองุ่น 2 ส่วน

Ferrer *et al*. (2001) ทำการหมักของเสียจากกากองุ่นร่วมกับมูลไก่ร้อยละ 10 พบว่าปุ๋ยหมักที่ได้สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดได้ร้อยละ 14 โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับใช้ในพื้นที่ทำการเกษตรคือ 3000 kg/ ha

Bustamante *et al*. (2008) ศึกษาการนำของเสียจากโรงงานผลิตไวน์มาหมักปุ๋ยร่วมกับมูลวัวและมูลสัตว์ปีกพบว่าปุ๋ยหมักที่ได้ไม่มีความเป็นพิษต่อพืช ได้สารที่มีความเสถียรกว่าเดิมและปริมาณธาตุอาหารหลักสูงโดยเฉพาะเมื่อหมักร่วมกับมูลสัตว์ปีกจะมีปริมาณธาตุไนโตรเจนสูงกว่าหมักด้วยมูลวัว

ในปัจจุบันมีการใช้สารจากธรรมชาติแทนสารเคมีในภาคการเกษตรมากขึ้น ดังนั้นจึงมีการนำของเสียจากอุตสาหกรรมไวน์มาเป็นสับเสตรตโดยหมักแบบแข็งเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมทางชีววิทยา (biocontrol) จากเชื้อ *Trichoderma viride* เพื่อควบคุมโรคพืชโดยใช้เชื้อปริมาณ $6.65x10^9$ CFU/g หลังจากการหมัก 10 วันจะได้เอนไซม์ที่ช่วยป้องกันโรคพืชคือ ไคติเนส (chitinase) เบต้า-กลูคาเนส (β-glucanase) และเพคติเนส (pectinase) (Arvanitoyannis *et al*., 2006)

7. การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการจัดการของเสีย

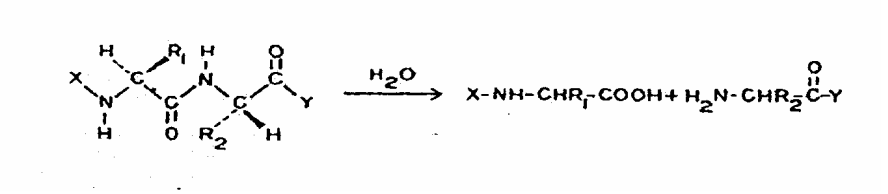
นอกจากมีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการจัดการของเสียจากโรงงานผลิตไวน์แล้วยังมีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการจัดการกับของเสียชนิดอื่นด้วย เช่นการใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Phanerochaete chrysosporium* และ *Trichoderma reesei* ในการย่อยสลายของเสียชุมชนพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมอากาศ กลูโคส อะซีติกแอซิดและเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์มีการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีกว่าปุ๋ยหมักทั่วไป โดยเมื่อระยะ เวลาผ่านไป 21 วันทำให้ค่า C/N ratio เท่ากับ 14.68 และปุ๋ยหมักทั่วไปมีค่า C/N ratio เท่ากับ 19.64 (Raut *et al.*, 2008) นอกจากนี้พบว่าในการย่อยสลายของเสียชุมชนโดยใช้เชื้อ *Bacillus casei, Lactobacillus buchneri* และ *Candida rugopelliculosa* ร่วมกับเชื้อพวกลิกโน-เซลลูโลไลติก (ligno-cellulolytic) คือ *Trichoderma* และเชื้อราพวกไวท์รือท (white-rot fungi) พบว่าเมื่อสิ้นสุดกระบวนการ หมักปุ๋ยมีค่า C/N ratio เท่ากับ 14.10 แต่ชุดควบคุม ที่ไม่มีการเติมเชื้อมีค่า C/N ratio เท่ากับ 16.20 (Wei *et al*., 2007)

Kim *et al*., (2007) คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของโรงงานผลิตอาหารปลาได้แก่เชื้อ *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *Brevibacillus agri, B. coagulans*, *B. circulans*, *B. anthracis* และ *B. fusiformis* โดยเชื้อทั้ง 7 สายพันธุ์สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียโรงงานผลิตปลาได้ภายใต้สภาวะที่มีอากาศได้ผลผลิตที่สามารถใช้เป็นปุ๋ยชนิดน้ำได้

8. เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์

เอนไซม์โปรตีเอส

เอนไซม์โปรตีเอสมีความสัมพันธ์กับวัฏจักรไนโตรเจนโดยจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนไปเป็นแอมโมเนียโดยไปย่อยสลายสับเสตรตซึ่งเป็นเปปไทด์สายยาว (long chain peptides) ไปเป็นโพลีเปปไทด์สายสั้น ๆ และยังเป็นเอนไซม์ที่สำคัญชนิดหนึ่งในระบบการย่อยอาหารสู่ร่างกาย เช่น เอนไซม์เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน เปปติเดส สำหรับแหล่งของโปรติโอไลติกเอนไซม์อาจเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในร่างกายมนุษย์ หรืออาจได้จากพืช สัตว์ และเชื้อจุลินทรีย์ ลักษณะปฏิกิริยาคือการสลายพันธะเปปไทด์ด้วยน้ำดังปฏิกิริยาที่แสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาการสลายพันธะเปปไทด์

แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างเอนไซม์โปรติเอสแล้วส่งออกนอกเซลล์ (extracellular protease) มักเป็นแบคทีเรียในสกุล *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* และ *Proteus* แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตเอนไซม์โปรตีเอสแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ

1. กลุ่มที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและสามารถสร้างสปอร์เช่น *Bacillus cereus*

2. กลุ่มที่เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน เช่น *Pseudomonas fluorescens*

3. กลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและสามารถสร้างสปอร์ เช่น *Clostridium sporogenes* (วิชชุลดา, 2544)

เอนไซม์อะไมเลส

อะไมเลสเป็นเอกซ์ตราเซลลูลาร์เอนไซม์ที่เร่งการย่อยสลายของโพลีแซคคาไรด์ไปเป็นเดกตริน โอลิโกแซคคาร์ไรด์ มอลโทสและกลูโคส เมื่อย่อยแป้งที่ประกอบด้วยกลูแคน (glucan) 2 ชนิด คือ อะไมเลส (ประกอบด้วยหน่วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1,4) และอะไมโลเพคติน (เป็นอะไมเลสที่มีโซ่กิ่งเพิ่มขึ้นโดยมีพันธะ 1,6 เป็นตัวเชื่อม) เอนไซม์อะไมเลสสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทตามตำแหน่งการย่อยคือ

1. เอนโดอะไมเลส (endoamylase) เป็นอะไมเลสประเภทที่ย่อยแป้งที่พันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิมิกของอะไมเลส หรืออะไมโลเพคติน แต่ไม่ย่อยที่พันธะ 1,6 กลูโคซิมิกของอะไมโลเพคติน ถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้มอลโทสและกลูโคส แต่ถ้าไม่สมบูรณ์จะได้กลูโคส มอลโทส และเดกซ์ทริน เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้แก่แบคทีเรียพวก *Bacillus subtilis, Pseudomonas saccharophila* และ*Clostridium sp.* และราพวก *Aspergillus oryzae* และ *A. niger*

2. เอกโซอะไมเลส (exoamylase) เป็นอะไมเลสประเภทที่ย่อยแป้งจาก non-reducing end เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ เบต้าอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส (amyloglucosidase) โดยเบต้าอะไมเลสจะย่อยแป้งที่ตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิมิก เข้าไปทีละ 2 หน่วยของกลูโคสทำให้ได้น้ำตาลมอลโทส และ limit dextrin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปนอยู่ด้วย จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้ส่วนใหญ่จะเป็นพวกแบคทีเรีย เช่น *B. cereus* และ *B. megaterium* สำหรับกลูโคลอะไมเลสนั้นสามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์จาก non-reducing end ที่ตำแหน่งต่าง ๆ คือที่พันธะ1,6- และ แอลฟา 1,4 กลูโคซิมิก ทำให้ได้น้ำตาลกลูโคสโดยไม่มีเดกซ์ทรินหรือมอลโทสปนมาด้วย จุลินทรีย์ที่มีการผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ในปริมาณมากคือราพวก *Aspergillus sp.* และ *Rhizopus sp.*โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *A. awamori* สามารถผลิตกลูโคอะไมเลสในปริมาณมากโดยไม่มีการผลิต transglucosidase นอกจากราแล้วยีสต์และแบคทีเรียก็สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เช่น *Endomycopsis fibuliger, Aerobacter* และ *Clostridium* (ธีระพงษ์, 2550)

เอนไซม์เซลลูเลส

เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสให้เปลี่ยนไปเป็นโอลิโกแซคคาร์ไรด์และ กลูโคส ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบว่ามีการย่อยสลายเซลลูโลสส่วนใหญ่มักเป็นเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Bacillu*s sp.,

Myrothecium verrucaria และ *Aspergillus niger* เป็นต้น เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่มีหลายองค์ประกอบทำงานร่วมกันคือ

1. เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสโดยตัดพันธะ เบต้า-1,4-ไกลโคซิดิก จากปลายด้าน non-reducing ได้เป็น เซลโลไบโอสและกลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย

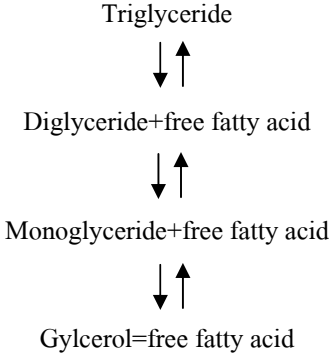
2. เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) ทำหน้าที่ ย่อยสลายเซลลูโลส โดยตัดพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกแบบสุ่มได้เป็นเซลโลไบโอสและกลูโคสเป็น ผลิตภัณฑ์สุดท้าย

3. เบต้า-กลูโคซิเดส (ß-glucosidase หรือ cellobiase) ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอส และเซลโลโอลิโกแซคาไรด์ได้กลูโคสเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (เนริสา, 2543)

เอนไซม์ไลเปส

ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายไขมันจากพืชสัตว์และแวกซ์ เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส (hydrolase) แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลีเซอรอล กรดไขมัน และ partial glyceride ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไลเปส

2. เอนไซม์ไลเปสที่สังเคราะห์สารประกอบเอซิลกลีเซอรอลต่าง ๆ โดยเกิดปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นของไขมันซึ่งเป็นปฏิกิริยาสังเคราะห์หรือมีการเคลื่อนย้ายหมู่เอซิลหรืออัลคิลของสารประกอบเอสเทอร์ จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ เช่น *Penicillium* sp., *Candida rugosa*, *Pseudomonas fluorescens, Bacillus circulans, B. lichenifomis* และ *B. subtilis* เป็นต้น (อัจฉรา, 2542)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

1.1 อุปกรณ์ในการคัดกรองและวิเคราะห์จุลินทรีย์

1.1.1 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

1.1.2 ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar air flow biohazard carbinet)

1.1.3 เครื่องชั่งชนิดละเอียด (electronic balance)

1.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Skimmilk agar , Starch agar. Tween 80 agar, Cellulose agar และ Nutreint agar

1.1.5 จานเพาะเชื้อ

1.1.6 หลอดทดลอง (test tube)

1.1.7 ปิเปต (pipette) ขนาด 1 ml และ 10 ml

1.1.8 ตะเกียงแอลกฮอล์

1.1.9 แท่งแก้วสามเหลี่ยม

1.1.10 Hot plate

1.1.11 ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)

1.1.12 เครื่องผสม (vortex)

1.2 อุปกรณ์ในการหมักปุ๋ยและวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยหมัก

1.2.1 pH meter

1.2.2. เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด (analytical balance)

1.2.3. ถาดอลูมิเนียม

1.2.4 ครกบด

1.2.5 ตู้อบ (hot air oven)

1.2.6 เตาเผา (muffle furnace)

1.2.7 โถดูดความชื้น (dessicator)

1.2.8 ถ้วยกระเบื้องทนไฟ (porcelain crucible)

1.2.9 ตู้ควัน (hood)

1.2.10 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์พารามิเตอร์ที่กำหนด

1.2.11 ถังหมักขนาด 20 ลิตร เจาะรูสอดท่อพี วี ซี เพื่อเป็นการระบายอากาศ

1.2.12 กากองุ่น

1.2.13 เศษหญ้าแห้ง

1.2.14 มูลวัว

1.2.15 เทอร์โมมิเตอร์

1.3 อุปกรณ์ในการทดสอบความเป็นพิษของปุ๋ยโดยวิธี Germination Index

1.3.1 เมล็ดกวางตุ้ง

1.3.2 เครื่องเขย่า (shaker)

1.3.3 กระดาษกรอง

1.3.4 จานเพาะเชื้อ

1.3.5 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.3.6 กรวยแก้ว (funnel)

1.4 อุปกรณ์ในการหาปริมาณเอนไซม์

1.4.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

1.4.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

1.4.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์เอนไซม์

1.4.4 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

2. อุปกรณ์ในการปลูกพืช

2.1 กระถาง

2.2 บัวรดน้ำ

2.3 เมล็ดกวางตุ้ง

2.4 ไม้บรรทัด

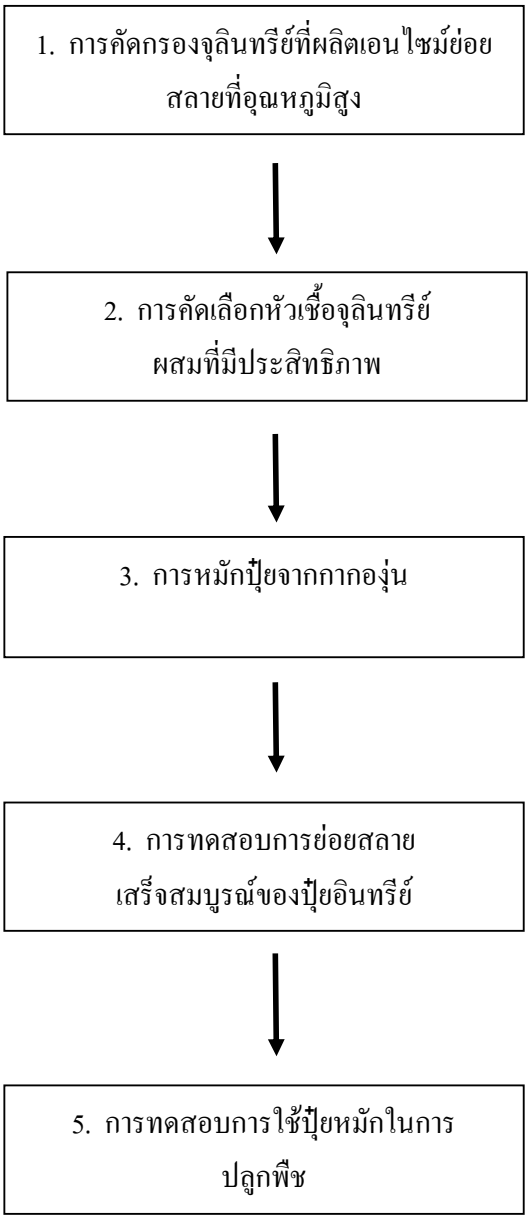
2.5 ปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาด

2.6 ดิน

2.7 ช้อนปลูก

วิธีการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ขั้นตอนดังนี้คือ



1. การคัดกรองจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายที่อุณหภูมิสูง

1.1 การทดลองในขั้นตอนนี้เพื่อคัดกรองจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยใช้เชื้อจากตะกอนจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย กองปุ๋ยหมักของเสียดินบริเวณสวนและดินในป่า คัดกรองโดยวิธี 10-fold serial dilution (Collins *et al.,* 1989) และspread plate บนอาหารเฉพาะได้แก่ skim milk agar, tween 80 agar, starch agar และ cellulose agar เพื่อแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนส ไลเปส อะไมเลส และเซลลูเลสตามลำดับทำการบ่มที่ 55°C เป็นเวลา 1 วัน

1.2 ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วเลือกจุลินทรีย์ที่มีอัตราการเจริญสูงและมีเอนไซม์แอคทิวิตีมาก โดยพิจารณาจากสัดส่วนขนาดโคโลนีและบริเวณเคลียร์โซน

1.3 ศึกษาสัณฐานวิทยาและทำการย้อมสีแบบแกรม (Gram stain) เพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2547)

2. คัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีประสิทธิภาพ

2.1 นำจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่คัดกรองได้จากขั้นตอนที่ 1 ระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/ml ปริมาตร 20 มล. มาผสมเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยหมักสูตรต่าง ๆ จากนั้นทำการศึกษาเพื่อคัดเลือกหัวเชื้อที่มีประสิทธิภาพ โดยทำการทดลองหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าจากสวนจตุจักร 35 กก. และมูลวัวที่จำหน่ายตามท้องตลาด 7 กก. ในถังขนาด 20 ลิตร สอดท่อพีวีซีที่เจาะรูให้ทั่วเพื่อให้ออกซิเจนและระบายอากาศ

2.2 แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 7 ชุดการทดลอง โดยทำการทดลอง 1 ซ้ำ ชุดการทดลองที่ 1-5 เป็นชุดการทดลองที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดกรองได้ (EMC: Effective Microbial Community) ชุดการทดลองที่ 6 เป็นชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ และชุดการทดลองที่ 7 เป็นชุดควบคุมที่มีการเติมสารเร่งของกรมพัฒนาที่ดิน (พด.1) (แบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ แอคติโนมัยซิส 2 สายพันธุ์ และรา 2 สายพันธุ์) ค่า C/N ratio เริ่มต้นเท่ากับ 68.70 ทำการทดลองเป็นเวลา 49 วัน

2.3 เก็บตัวอย่างปุ๋ยหมักทุก 10 วัน โดยสุ่มเก็บตัวอย่างกองละ 3 จุด ในระหว่างพลิกกลับกองปุ๋ยหมัก นำมาตัวอย่างปุ๋ยหมักมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นนำตัวอย่างปุ๋ยหมักมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้ละเอียดด้วยครกบดตัวอย่างบรรจุใส่ถุงและปิดปากถุงให้สนิทเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

2.4 การศึกษาคุณสมบัติของปุ๋ยหมัก

2.4.1 pH ใช้อัตราส่วนปุ๋ยอินทรีย์ต่อน้ำเท่ากับ 1:2 แล้ววัดด้วยพีเอชมิเตอร์ (pH meter) (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548)

2.4.2 อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (total organic carbon) หาค่าด้วยวิธี Wet oxidation (ทัศนีย์และจงรักษ์, 2542)

2.4.3 ไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjedahl method (กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร, 2544)

2.4.4 C/N ratio นำอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดกับไนโตรเจนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มาเข้าสูตรคำนวณ C/N

2.4.5 อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมัก วัดอุณหภูมิทุกวัน ตลอดระยะเวลาการหมักโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์วัดที่ตำแหน่ง บนสุด ตรงกลาง และด้านล่างของกองปุ๋ย นานประมาณ 10 นาที จึงอ่านค่านำอุณหภูมิที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละกอง

2.4.6 ความชื้นโดยวิธีชั่งน้ำหนัก (gravimetric method) (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548)

2.5 นับจำนวนจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมัก โดยนำตัวอย่างปุ๋ยหมักมาผสมกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปั่นผสมให้เข้ากันด้วยวิธี 10-fold serial dilution (Collins *et al.,* 1989) และspread plate บนอาหารเฉพาะได้แก่ skim milk agar, tween 80 agar, starch agar, cellulose agar และ Nutrient agar (NA) เพื่อแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนส ไลเปส อะไมเลส เซลลูเลส และจำนวนจุลินทรีย์รวมตามลำดับ ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50°C สำหรับเชื้ออุณหภูมิสูงและบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C สำหรับเชื้ออุณหภูมิปานกลาง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี (colony) บนอาหารที่ได้ระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ แล้วคำนวณหาปริมาณแบคทีเรียรายงานผลเป็น CFU (Colony Forming Unit) ต่อปุ๋ยหมัก 1 กรัม

3. การหมักปุ๋ยจากกากองุ่น

3.1 นำเชื้อ EMC ชุดที่เลือกได้ในข้อ 2 ทำการหมักปุ๋ยจากกากองุ่น โดยใช้วัสดุหลักได้แก่ กากองุ่น 10 กก. เศษหญ้าจากสวนจตุจักร 10 กก. และมูลวัวที่จำหน่ายตามท้องตลาด 4 กก. คุณลักษณะของวัสดุที่ใช้ในการหมักปุ๋ยกากองุ่นแสดงในตารางที่ 2 เตรียมถังหมัก ดังข้อ 2.1 ปรับค่า C/N ratio ให้มีค่าเท่ากับ 30/1 เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีประสิทธิภาพจากข้อ 2 ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^8 CFU/ml ปริมาตร 20 มล. ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมจุลินทรีย์และชุดที่เติมสารเร่งของกรมพัฒนาที่ดิน (พด.1)

3.2 การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติปุ๋ยหมักเช่นเดียวกับข้อ 2.2 และสำหรับ ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์จะเก็บตัวอย่างทุกวันใน 10 วันแรก หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างทุก 10 วัน จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

3.3 การศึกษาคุณสมบัติของปุ๋ยหมักดังข้อ 2.4

3.3.1 อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดโดยวิธีการคำนวณจากสูตร(Black, 1965 อ้างถึงในณัฐพร, 2548)

$$C = \frac{\text{Volatile Solids (\%)}}{1.8}$$

3.4 การนับจำนวนจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมักดังข้อ 2.5

ตารางที่ 2 คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ในการหมักปุ๋ยกากองุ่น

คุณสมบัติของวัสดุ	กากองุ่น	มูลวัว	เศษหญ้า
ไนโตรเจนทั้งหมด (%)	1.83±0.06	1.52±0.08	1.38±0.01
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (%)	52.59±0.08	27.26+0.01	52.34+0.04
C/N ratio	28.73±1.00	17.97±0.08	37.97±1.78
ความชื้น (%)	10.23±0.01	45.65±0.04	10.27±0.13
pH	4.58±0.57	6.26±0.02	6.53±0.22

4. การทดสอบการย่อยสลายเสร็จสมบูรณ์ของปุ๋ยอินทรีย์

ทดสอบความเป็นพิษต่อพืชโดยวิธีทดสอบดัชนีการงอกเมล็ดพืช (germination index)

4.1 สกัดสารละลายปุ๋ยหมักโดยชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมักใส่ในน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เขย่าประมาณ 180 ครั้งต่อนาที นาน 1 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง

4.2 วางเมล็ดพืชบนกระดาษกรอง 10 เมล็ดในจานเพาะทำ 3 ซ้ำ

4.3 ใส่น้ำสกัดปุ๋ยหมักในจานเพาะจานละ 3 มล.

4.4 ใส่น้ำกลั่นในจานตำรับควบคุมจานละ3 มล.

4.5 บ่มจานเพาะเมล็ดไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 30 ^{o}C นาน 48 ชั่วโมง

4.6 เก็บรวมรวมข้อมูลดังต่อไปนี้ คือค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดที่งอกทั้งหมดต่อจาน (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์) และวัดความยาวของรากเมล็ดที่งอกทั้งหมดแล้วหาค่าเฉลี่ย (หน่วยเป็นเซนติเมตร)

4.7 นำมาคำนวณดัชนีการงอกของเมล็ด

จากสูตร $GI = \frac{G}{G_C} \times \frac{L}{L_C} \times 100$

โดย G คือ อัตราการงอกของเมล็ดในน้ำสกัดปุ๋ยหมัก

G_C คือ อัตราการงอกของเมล็ดในชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

L คือ ความยาวรากในน้ำสกัดปุ๋ยหมัก

L_C คือ ความยาวรากในชุดควบคุม

(สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548)

5. การทดสอบการใช้ปุ๋ยหมักในการปลูกพืช

5.1 เตรียมกระถางขนาด 7 นิ้ว สำหรับปลูกพืช จากนั้นผสมดินและปุ๋ยหมักกากองุ่นโดยใช้ดิน 1 ส่วน และปุ๋ยหมักจากกากองุ่น 2 ส่วน ผสมให้เข้ากันแล้วใส่ในกระถางที่เตรียมไว้ ส่วนปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดเตรียมจากข้อบ่งใช้ของแต่ละตำรับ แบ่งเป็น 6 ชุดการทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.2 การเก็บข้อมูลพืช

5.2.1 จำนวนใบ โดยนับจำนวนใบทั้งหมด

5.2.2 ความสูงต้น รวบใบทั้งหมดแล้ววัดจากโคนต้นถึงปลายใบที่ยาวที่สุด

5.2.3 น้ำหนักสด นำตัวอย่างพืชซึ่งประกอบด้วย ราก ลำต้นและใบไปชั่งโดยเครื่องชั่งละเอียด

5.2.4 น้ำหนักแห้ง นำตัวอย่างพืชคือ ราก ลำต้น และใบ อบให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 60^{o}C จนน้ำหนักคงที่แล้วบันทึกน้ำหนักแห้ง

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variane) โดยใช้วิธี Duncan’s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

8. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการชั้น 5 ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ตึกวิทยาศาสตร์ 25 ปี และห้องปฏิบัติการชั้น 8 อาคารทวีญาณสุคนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ห้องปฏิบัติการชั้น 1 กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

9. ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เมษายน 2550-มีนาคม 2552

ผลและวิจารณ์ผล

1. การคัดกรองจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์จำเพาะที่อุณหภูมิสูง

เนื่องจากกากองุ่นซึ่งเป็นสับสเตรตหลักที่จะนำมาใช้เป็นปุ๋ยหมักมีองค์ประกอบหลักคือ ไฟเบอร์ แป้ง โปรตีน และไขมัน (Silva *et al*., 2009) ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ 4 ชนิด คือ เซลลูเลส อะไมเลส เคซีเนส และไลเปส ซึ่งย่อยสลายเซลลูโลส แป้ง โปรตีน และไขมัน ตามลำดับ เพื่อช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ในกากองุ่นให้เป็นสารที่โมเลกุลเล็กลงจากการทดลองสามารถคัดเลือกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 55 °C ได้ทั้งสิ้น 7 ไอโซเลท โดยพิจารณาจากสัดส่วนขนาดเคลียร์ต่อขนาดโคโลนีซึ่งแสดงถึงอัตราการเจริญเติบโตและกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนั้น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 3 จุลินทรีย์ที่คัดกรองได้จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส 4 ไอโซเลท เรียกชื่อว่า เชื้อ ST1, ST2, ST3, ST4 และจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนส 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อ SK1, SK2, SK3 แต่ไม่สามารถคัดกรองเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไลเปสได้ จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่คัดกรองได้มาย้อมสีแกรม (ภาพที่ 6) เพื่อจำแนกลักษณะจุลินทรีย์เบื้องต้น พบว่ามีจุลินทรีย์ที่คัดกรองได้เป็นจุลินทรีย์แกรมบวก 5ไอโซเลท และเป็นจุลินทรีย์แกรมลบ 2 ไอโซเลท โดยส่วนใหญ่แล้วจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงมักเป็นจุลินทรีย์แกรมบวก อาจเนื่องมาจากผนังเซลล์ของจุลินทรีย์แกรมบวกมีเปปติโดไกลแคน (peptidoglygan) ที่หนากว่า (Rogers *et al*., 1980)

2. คัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีประสิทธิภาพ

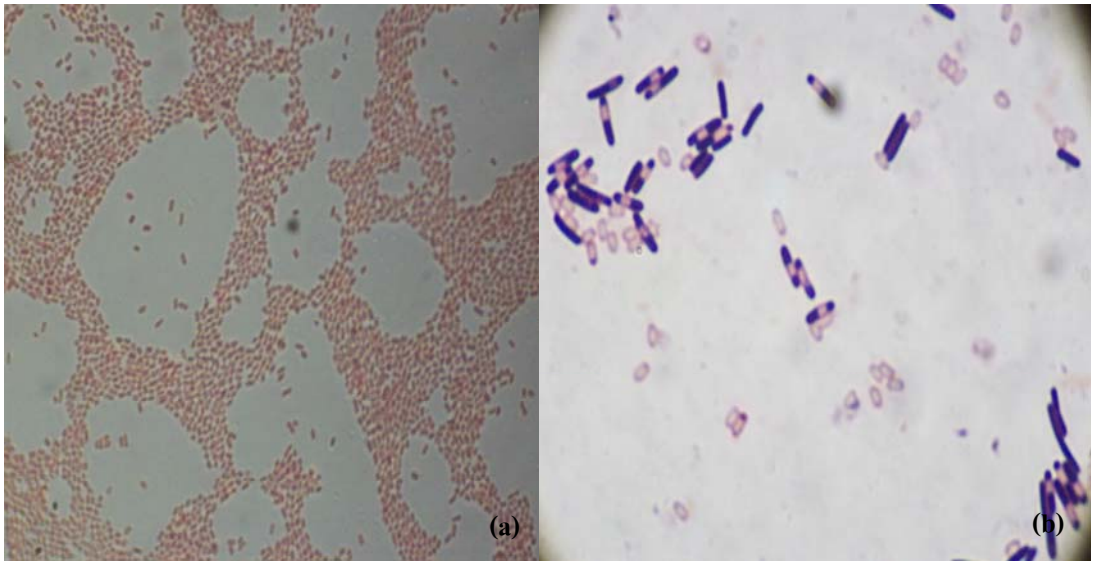
จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่คัดกรองได้ถูกนำมาผสมเป็นหัวเชื้อในการผลิตปุ๋ยหมักจำนวน 5 สูตร คือ EMC1-EMC5 ดังที่แสดงในตารางที่ 4 จากการทดลองหมักเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกวัสดุในการหมัก พบว่าหญ้าเป็นวัสดุที่ให้อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักสูงที่สุด ดังนั้นจึงเลือกหญ้ามาเป็นวัสดุในการหมักปุ๋ยร่วมกับมูลวัว ในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการหมักอุณหภูมิของกองปุ๋ยอยู่ในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (28.5-29.8 °C) (ภาพที่ 7) จากนั้นอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแสดงว่าจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมักเริ่มมีกิจกรรมในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมัก จากนั้นเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดกรองได้ในวันที่ 2 ของกระบวนการหมัก โดยในช่วงระหว่างวันที่ 2-7 อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักอยู่ในช่วง 45-50 °C แสดงถึงกิจกรรมการย่อยสลายในอัตราสูงที่ดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง โดยเฉลี่ยอุณหภูมิภายในกองปุ๋ย

หมักทุกกองสูงกว่า 40 °C ตลอด 20 วันแรกของการทดลอง โดยอุณหภูมิสูงที่สุดคือ 52.2 °C วัดได้ในวันที่ 4 ของกองปุ๋ยหมักที่เติมหัวเชื้อ EMC 5

ความเข้มข้นจุลินทรีย์รวมและจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายในตัวอย่างปุ๋ยเมื่อระยะเวลาต่าง ๆ ได้แสดงในภาพที่ 9-16 เมื่อพิจารณาร่วมกับอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยซึ่งมีอุณหภูมิสูงในช่วง 10 วันแรกและอุณหภูมิค่อนข้างสูงในช่วงวันที่ 10-20 จากนั้นมีแนวโน้มลดลงช้า ๆ อย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 20 ของการทดลองเป็นต้นไป ดังนั้นจุลินทรีย์ที่จะมีกิจกรรมทางชีวภาพในช่วง 10 วันแรกในอัตราสูงจะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงหรือสามารถทนอุณหภูมิสูงได้ ส่วนกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางจะมีอย่างจำกัด ดังนั้นอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกองในช่วง 10 วันแรกนี้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงหรือสามารถทนอุณหภูมิสูงในกองปุ๋ยหมัก ผลการทดลองพบว่าในวันที่ 9 ของการหมักปุ๋ย ชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ทุกชุดมีความเข้มข้นจุลินทรีย์ทนอุณภูมิสูงมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมเชื้อจุลินทรีย์ (ภาพที่ 10) โดยชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงสูงสุดคือ ชุดการทดลอง EMC1 และ EMC4 รองลงมาได้แก่ EMC3 และ EMC5 ส่วน EMC2 และ พด. 1 ปริมาณจุลินทรีย์ใกล้เคียงกันในลำดับต่อมา แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์สามารถเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถทำกิจกรรมทางชีวภาพในช่วงอุณหภูมิสูงได้ เมื่อตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตเอนไซม์ย่อยสลาย 4 ชนิดในตัวอย่างปุ๋ยหมักที่เก็บในช่วงอุณหภูมิสูง (วันที่ 9 ของการหมักปุ๋ย) พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับความเข้มข้นจุลินทรีย์รวม กล่าวคือ ชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีความเข้มข้นจุลินทรีย์ทนอุณภูมิสูงที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนส อะไมเลส ไลเปส และ เซลลูเลสสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมเชื้อจุลินทรีย์ (ภาพที่ 12, 14, 16, 18) เมื่อช่วงอุณหภูมิสูงผ่านไป กองปุ๋ยหมักจะเข้าสู่ช่วงอุณหภูมิปานกลางก่อนเข้าสู่ระยะบ่ม กิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ยังคงดำเนินต่อไปโดยจุลินทรีย์ประเภทที่ชอบอุณหภูมิปานกลางเป็นหลัก ภาพที่ 11, 13, 17 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนส อะไมเลส และเซลลูเลสที่อุณหภูมิ 30 °C มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป (วันที่ 19 และ 29)ชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ของชนิดของจุลินทรีย์และอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักอย่างชัดเจน

ประสิทธิภาพการย่อยสารอินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักจะแสดงในรูปอัตราส่วน C/N ratio ดังที่ได้กล่าวข้างต้นว่าการทดลองหมักปุ๋ยด้วยหญ้าเพื่อคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมนี้สามารถแบ่งการย่อยสลายออกเป็น 3 ช่วง คือ 10 วันแรกซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิสูง ช่วงวันที่ 10-20 และช่วงหลังจากวันที่ 20 การลดลงของ C/N ratio ในช่วง 10 วันแรกจะเป็นกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงหรือทนอุณหภูมิสูงได้ดี จากภาพที่ 8 จะเห็นได้ว่า C/N ratio ของชุดการทดลองที่เติม EMC 1 มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 10 วันแรกซึ่งสอดคล้องกับความเข้มข้นของจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ในช่วง 20 วัน

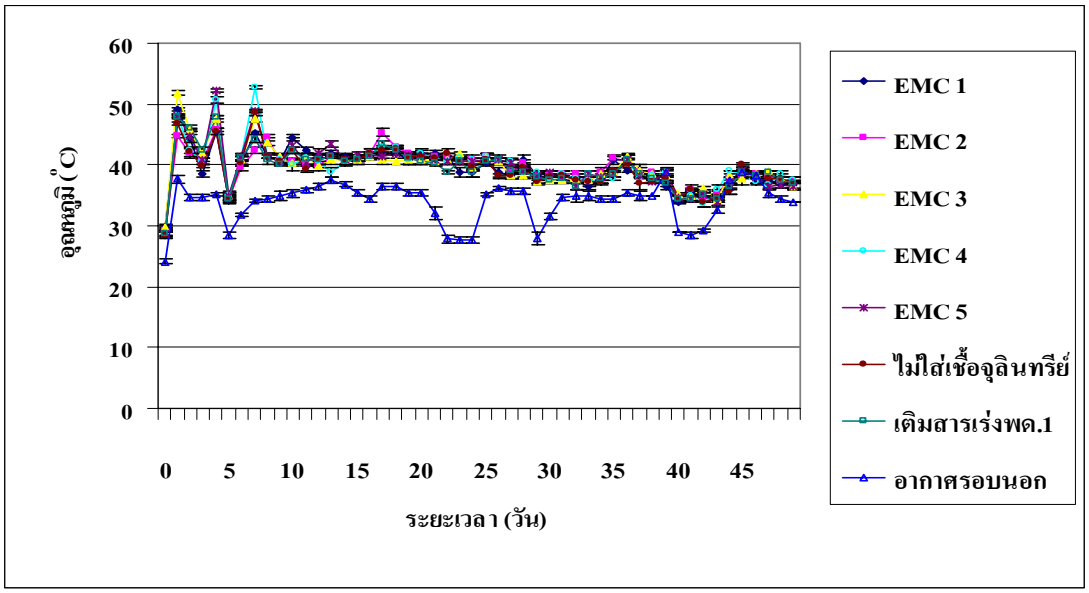
แรกที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C กิจกรรมการย่อยสลายดำเนินไปในอัตราสูงเห็นได้จากค่า C/N ratio ที่ลดลงในทุกชุดการทดลอง เมื่อพิจารณาค่า C/N ratio ของตัวอย่างในวันที่ 19 พบว่าชุดการทดลองที่เติม EMC4, EMC5 และ พด.1 มีค่าต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาค่า C/N ratio จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 8 จะเห็นได้ว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองค่า C/N ratio ของชุดการทดลองทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 18.42-24.62 เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางผนวกที่ ข7) ชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเติมหัวเชื้อใด ๆ ค่า C/N ratio สูงสุด โดยมีชุดการทดลองที่มี C/N ratio สูงกว่า 20/1 อยู่ 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ EMC1, EMC 4 และชุดการทดลองที่ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งทั้ง 3 ชุดการทดลอง ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ ชุดทดลองซึ่งมีค่า C/N ratio ผ่านเกณฑ์มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ได้แก่ EMC 2, EMC 3, EMC 5, และชุดที่เติมสารเร่ง พด.1 โดยชุดการทดลองที่เติม EMC 3 และ EMC5 มีค่า C/N ratio ต่ำสุดคือ 18.41 และ 18.43 ตามลำดับ จึงใช้หัวเชื้อ 2 ชนิดดังกล่าวทำการผลิตหมักปุ๋ยจากกากองุ่น



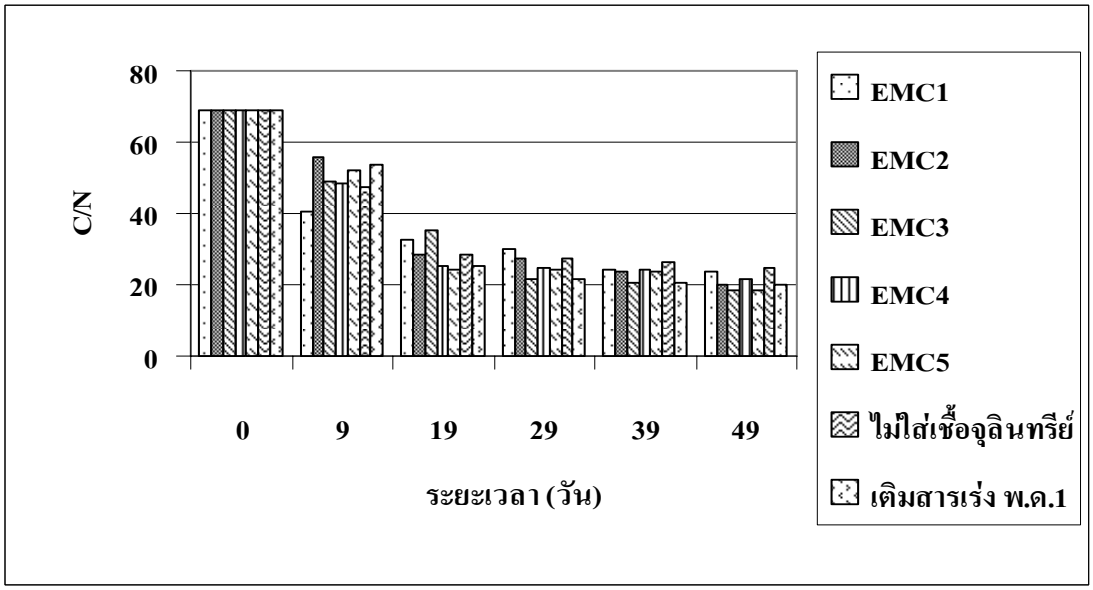
ภาพที่ 6 เชื้อจุลินทรีย์แกรมลบ (a) และแกรมบวก (b) ทนอุณหภูมิสูงที่ทำการคัดกรองได้

ตารางที่ 3 ขนาดโคโลนีและขนาดเคลียร์โซนของเชื้อจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดกรองได้จากอาหาร starch agar (ST) และ skim milk agar (SK) ที่อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

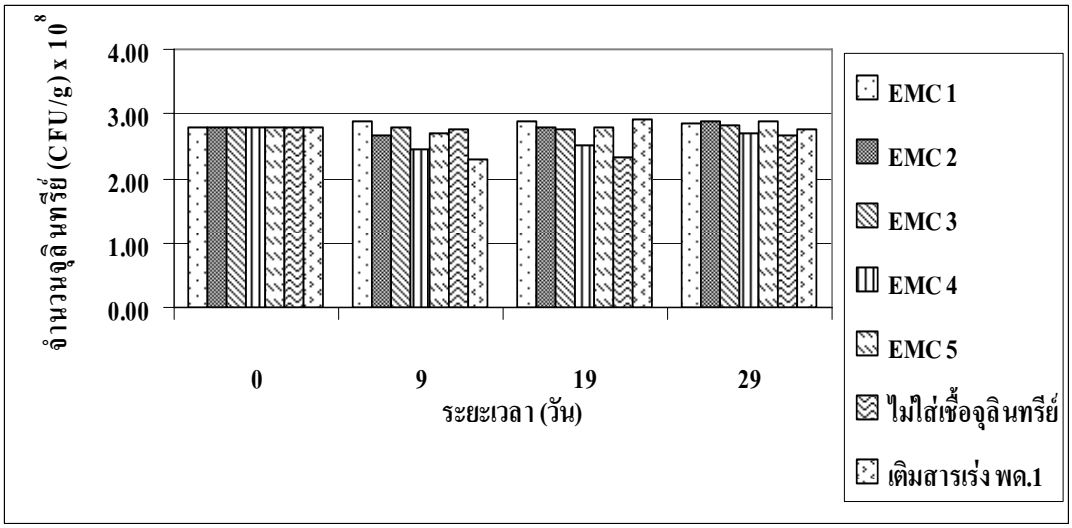
ไอโซเลท	ลักษณะจุลินทรีย์	บริเวณที่พบเชื้อจุลินทรีย์อุณหภูมิสูงที่คัดกรองได้	เคลียร์โซน (cm)	ขนาดโคโลนี (cm)	เคลียร์โซน/ขนาดโคโลนี
ST1	แกรมบวก รูปท่อน มีสปอร์	ตะกอนจุลินทรีย์ระบบบำบัดน้ำเสีย	1.47±0.06	1.10±0.1	1.34± 0.08
ST2	แกรมบวก รูปท่อน มีสปอร์	การหมักของเสียเบื้องต้น	1.37±0.10	0.77±0.15	1.80± 0.19
ST3	แกรมบวก รูปท่อน	ดินบริเวณป่าที่เขาใหญ่	1.17±0.06	0.80±0.00	1.46±0.07
ST4	แกรมลบ รูปร่างท่อน	ดินบริเวณสวน	1.00±0.10	0.30±0.00	3.33± 0.33
SK1	แกรมบวก รูปท่อน	ตะกอนจุลินทรีย์ระบบบำบัดน้ำเสีย	1.27±0.15	0.27±0.06	4.94±1.44
SK2	แกรมลบ รูปร่างท่อน	ดินบริเวณป่าที่แก่งกระจาน	1.03±0.12	0.47±0.06	2.22± 0.03
SK3	แกรมบวก รูปร่างท่อน	ดินบริเวณป่าที่เขาใหญ่	0.57±0.06	0.10±0.00	5.67±0.58



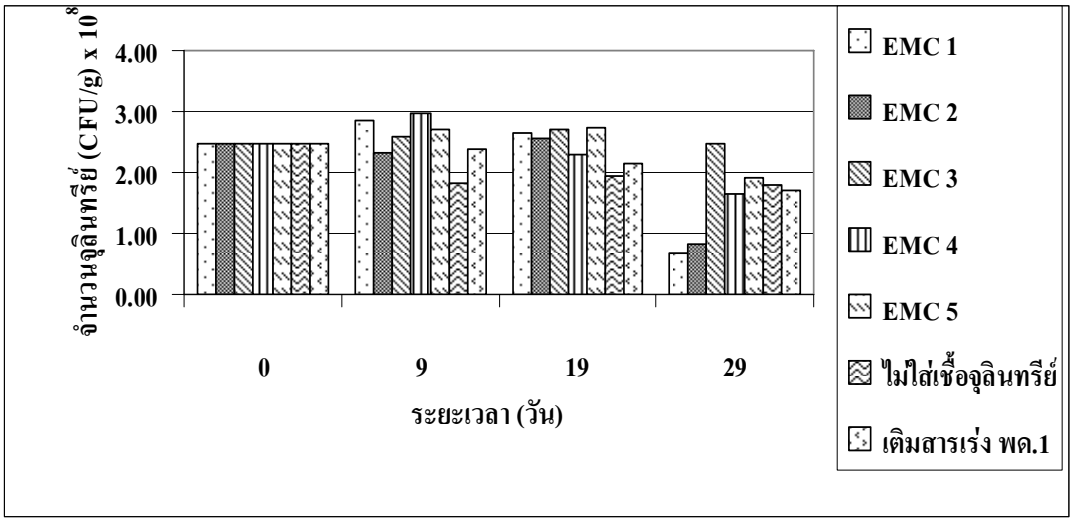
ภาพที่ 7 อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากหญ้าในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



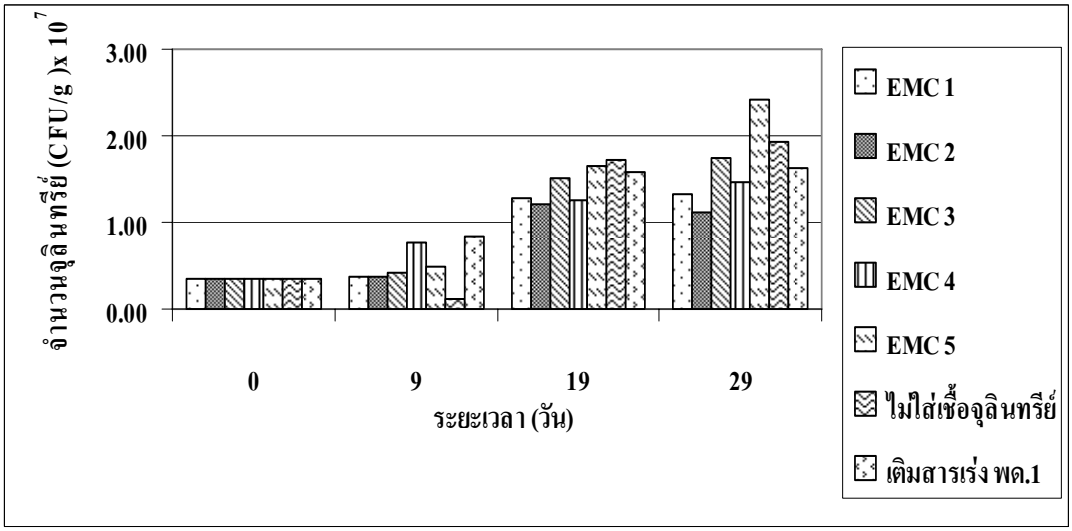
ภาพที่ 8 C/N ratio ระหว่างการหมักปุ๋ยจากหญ้าในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



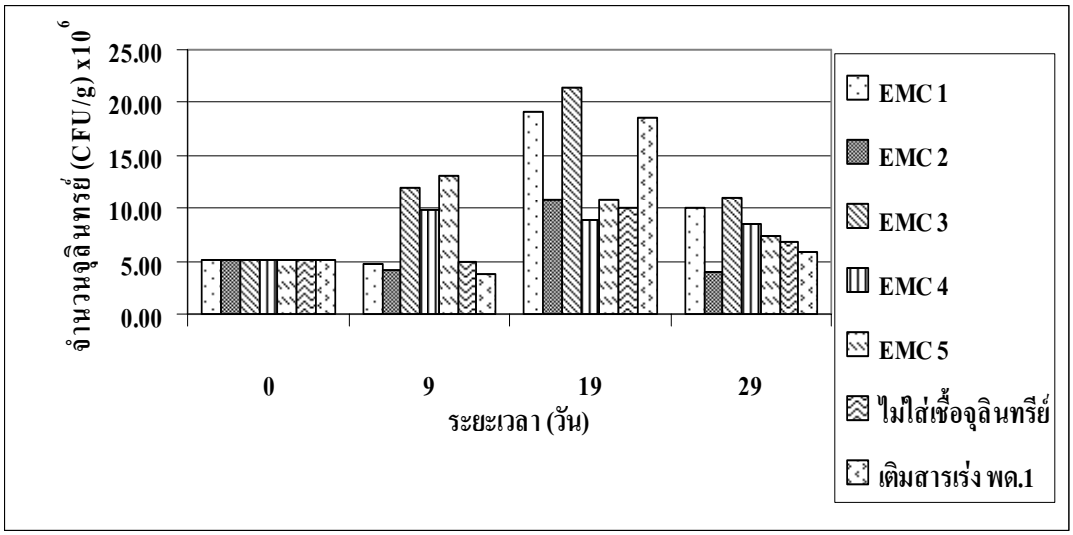
ภาพที่ 9 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



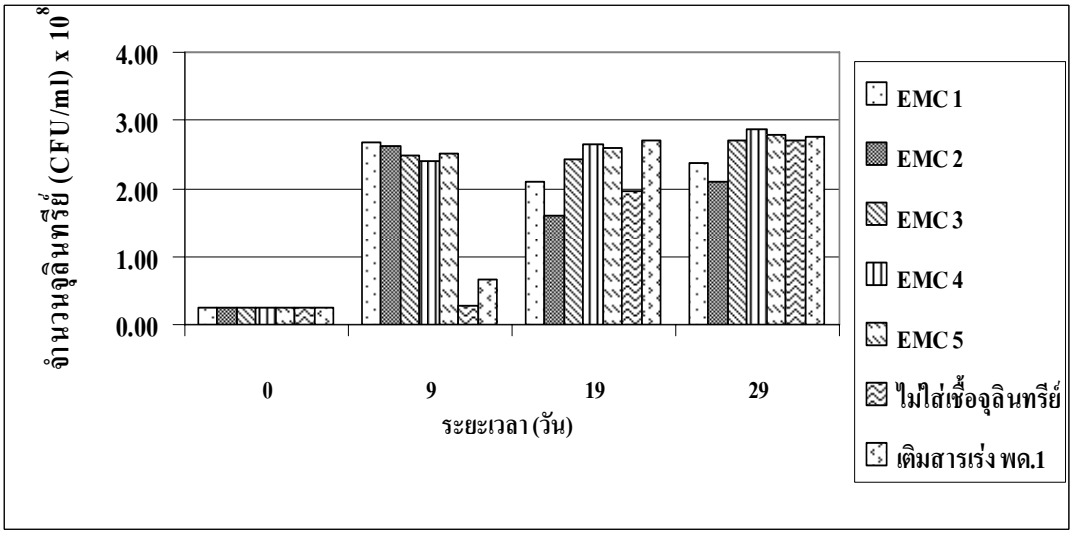
ภาพที่ 10 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



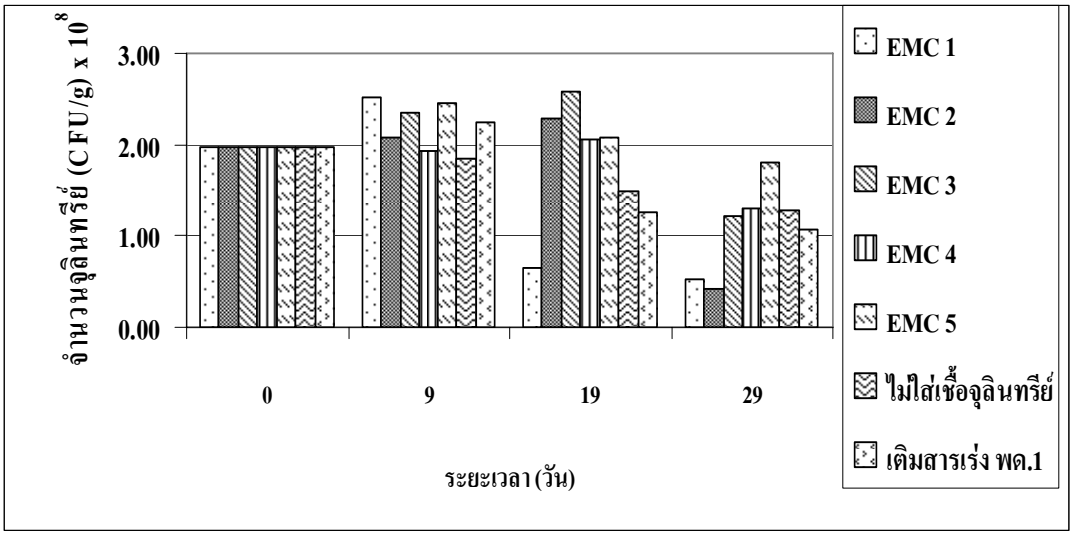
ภาพที่ 11 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



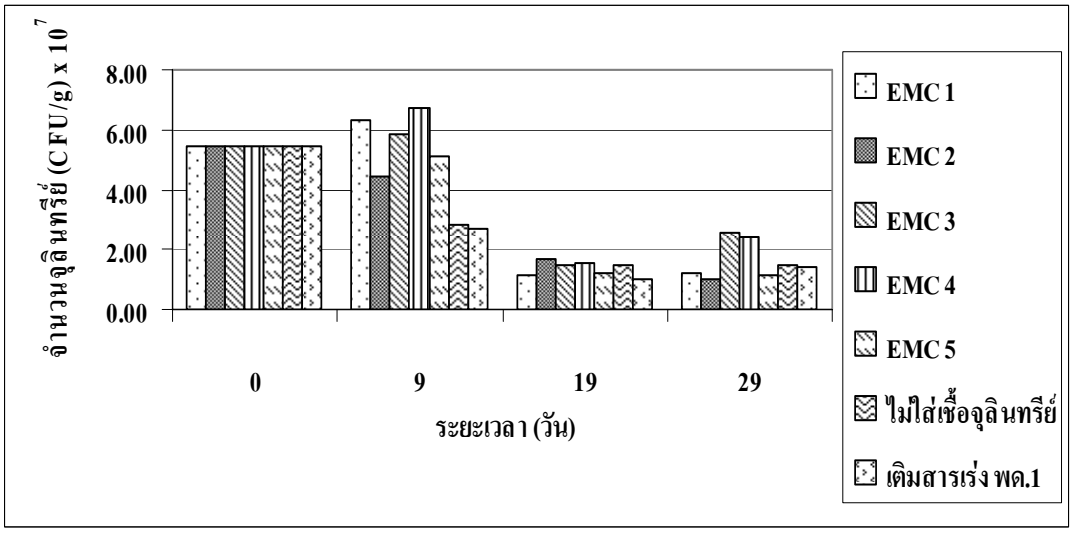
ภาพที่ 12 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



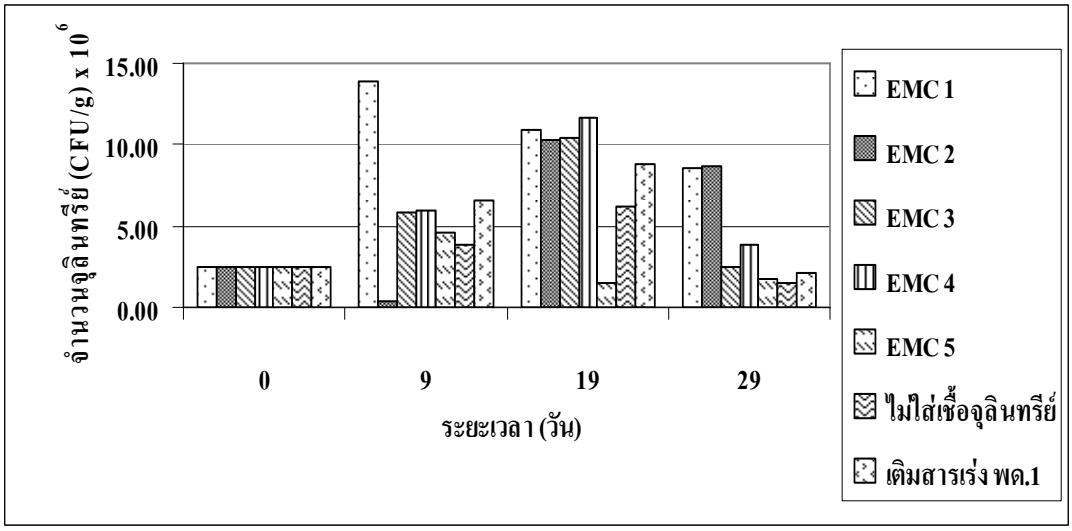
ภาพที่ 13 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



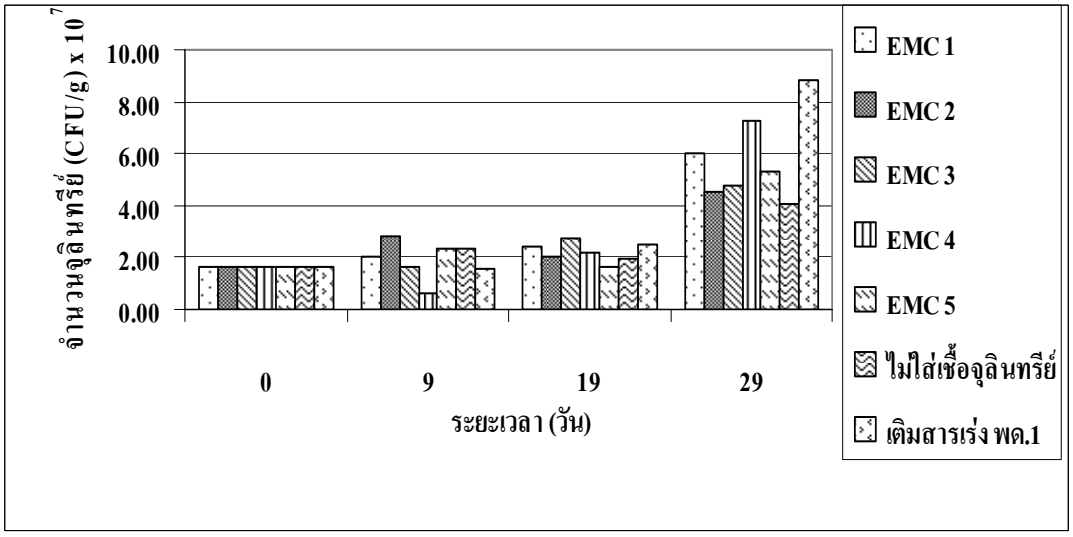
ภาพที่ 14 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



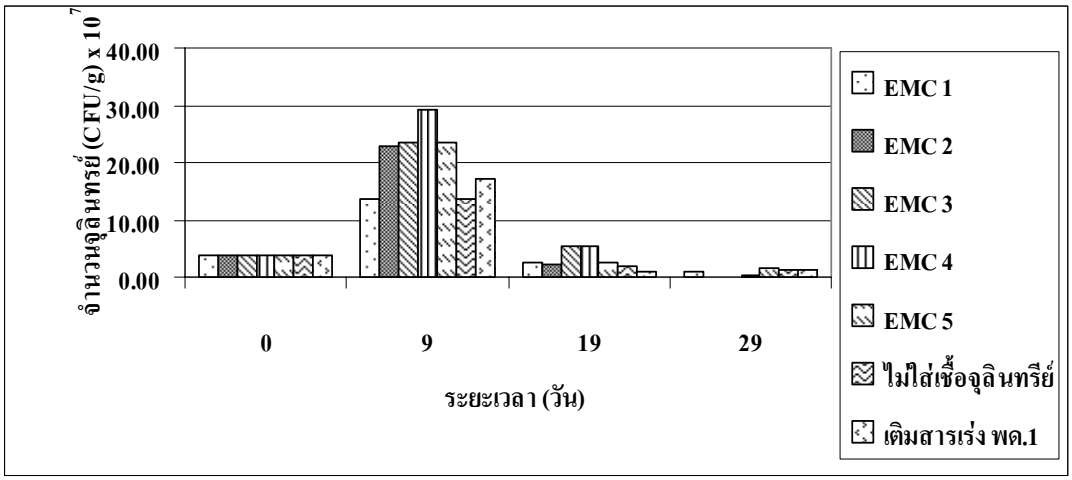
ภาพที่ 15 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ 16 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ 17 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์



ภาพที่ 18 จำนวนเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°Cในขั้นตอนการคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นของอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด และ C/N ratio เมื่อ สิ้นสุดการทดลอง

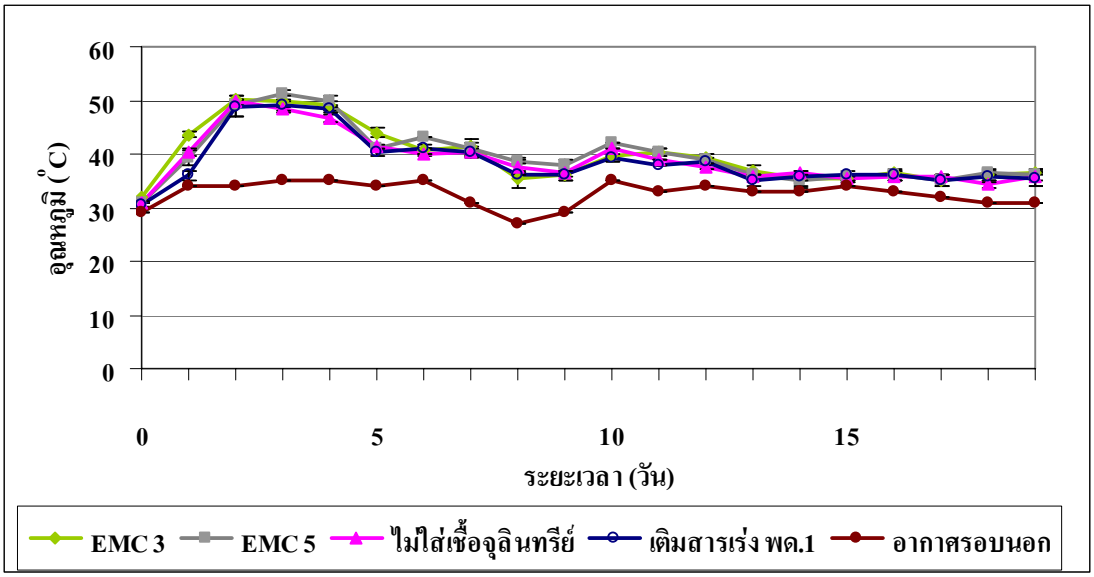
ชุดการทดลอง	ปุ๋ยหมักที่ระยะเวลา 50 วัน				
	TOC (%)	**TN (%)**	**C/N ratio**	**pH**	**Moisture (%)**
ค่าเริ่มต้น	51.06	0.74	68.70	7.76	73.81
EMC 1 (ST1+ST2+ST3+SK1)	30.86	1.29	23.83	7.37	63.68
EMC 2 (ST1+ST3+ST4+SK2)	26.28	1.32	19.89	7.28	65.63
EMC 3 (ST1+ST2+ST4+SK3)	26.28	1.43	18.41	7.46	70.23
EMC 4 (ST2+ST3+ST4+SK1+SK3)	30.57	1.41	21.61	7.45	71.56
EMC 5 1 (ST1+ST2+ST3+ST4+SK1+SK2+SK3)	26.57	1.44	18.43	7.36	66.31
ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์	32.29	1.31	24.62	7.47	66.31
เติมสารเร่ง พด.1	33.72	1.70	19.86	7.44	64.41

3. การหมักปุ๋ยจากกากองุ่น

ทำการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นร่วมกับเศษหญ้าและมูลวัว ปรับ C/N ratio เริ่มต้นเท่ากับ 30/1 โดยเปรียบเทียบผลของการเติมหัวเชื้อ EMC 3 และ EMC 5 ซึ่งคัดเลือกจากขั้นตอนข้างต้นกับชุดการทดลองที่ไม่เติมหัวเชื้อและเติมหัวเชื้อ พด.1 โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ต่อไปนี้

3.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักได้มีการวัดทุกวันตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองแสดงให้เห็นระยะอุณหภูมิปานกลางคือวันที่ 0-2 และ 5-12 ระยะอุณหภูมิสูงคือในวันที่ 4-5 และระยะบ่ม (maturation phase) จะอยู่ระหว่างวันที่ 13 จนสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 19) แต่ละชุดการทดลองมีแบบแผนของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิคล้ายคลึงกันคือ อุณหภูมิเพิ่มขึ้นหลังจากเริ่มการหมักปุ๋ย จากนั้นเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดกรองได้ในวันที่ 3 โดยอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมักเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิสูงสุดในแต่ละชุดการทดลอง EMC 5 มีอุณหภูมิสูงที่สุดคือ 51.3°C ส่วนชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อจุลินทรีย์มีอุณหภูมิสูงสุด 48.3°C เหตุที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเป็นผลมาจากการย่อยสลาย อินทรียสารและสารประกอบไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ ส่งผลให้อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยสูงกว่าอุณหภูมิของอากาศรอบนอก อย่างไรก็ตามอุณภูมิที่เพิ่มขึ้นนี้มีค่าต่ำกว่าการหมักปุ๋ยจากวัสดุอินทรีย์ย่อยสลายได้ทั่ว ๆ ไปซึ่งจะมีอุณหภูมิสูงสุดในช่วง 55-65 °C (Hachicha *et al*. 2009) ซึ่งชี้ให้เห็นโดยอ้อมว่าวัสดุหมักปุ๋ยกากองุ่นที่ทำการศึกษามีสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้น้อยกว่าวัสดุอินทรีย์อื่นที่ใช้หมักปุ๋ยโดยทั่วไป เช่น การใช้ฟางข้าวบาเล่ย์หมักปุ๋ยร่วมกับมูลหมูและมูลวัวพบว่าอุณหภูมิจะเพิ่มสูงถึง 52-65 °C ในระยะอุณหภูมิสูง หลังจากนั้นอุณภูมิจะค่อย ๆ ลดลงและแปรผันในช่วง 35-40 °C จนสิ้นสุดการทดลอง เนื่องจากอินทรียสารจะเริ่มมีความเสถียรและการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เริ่มช้าลงอุณหภูมิจึงค่อย ๆ ลดลงจนมีค่าใกล้เคียงกับอากาศรอบนอก ซึ่งแสดงถึงการสิ้นสุดช่วงอุณหภูมิสูง (Hachicha *et al.,* 2009) อย่างไรก็ตามการที่อุณหภูมิที่เพิ่มสูงกว่า 60 °C หรือมีค่าใกล้เคียงอาจทำให้จุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมักตายได้ ส่งผลกระทบด้านลบคือกิจกรรมทางชีววิทยาจะดำเนินไปอย่างช้า ๆ (Vuorinen and Saharinen, 1997)



ภาพที่ 19 อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่น

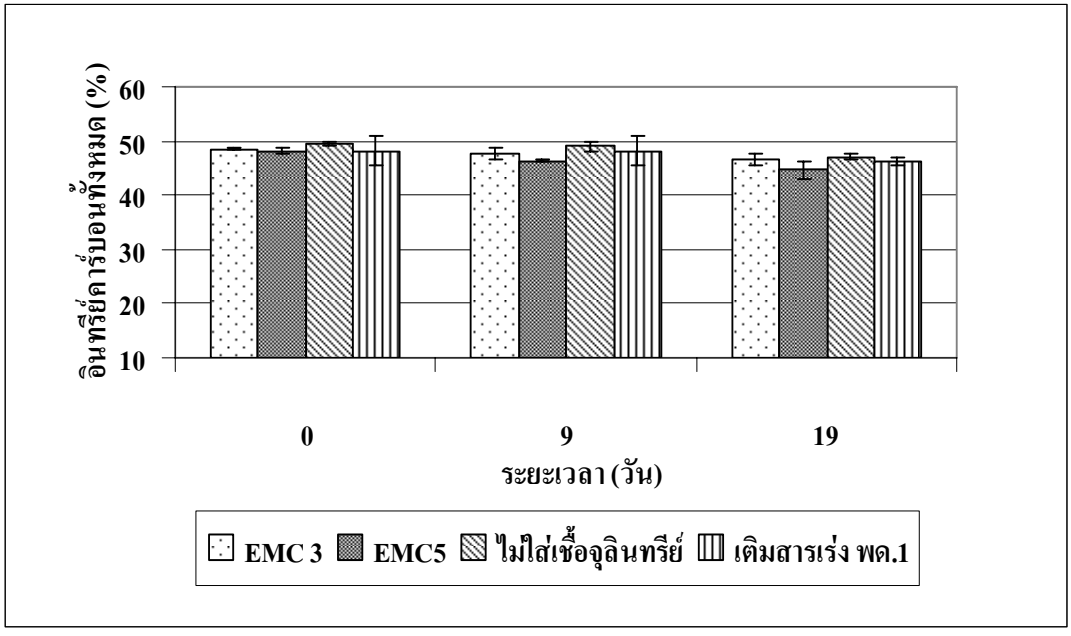
3.2 อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด

ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนภายในกองปุ๋ยมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลอง โดยระยะเริ่มต้นมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนอยู่ในช่วงร้อยละ 48.14-49.44 เมื่อระยะเวลาผ่านไป จนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมักมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนลดลงเหลือร้อยละ 44.69-47.07 (ภาพที่ 20) เมื่อพิจารณาอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยหมักแต่ละชุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์มีอินทรีย์คาร์บอนสูงที่สุดคือร้อยละ 47.07 ส่วนชุดการทดลอง EMC 5 มีอินทรีย์คาร์บอนต่ำที่สุดคือร้อยละ 44.69 ส่วน EMC 3 และชุดการทดลองที่มีการเติมสารเร่ง พด.1 อินทรีย์คาร์บอนมีค่าใกล้เคียงกันคือร้อยละ 46.49 และ 46.26 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกชุดการทดลอง (ตารางผนวกที่ ข10)

การเติมหัวเชื้อ EMC 5 ซึ่งประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายที่ทนอุณหภูมิสูง 7 ไอโซเลทที่ได้จากการคัดกรองจุลินทรีย์ ทำให้กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในช่วงอุณหภูมิสูงดำเนินไปอย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ดังจะเห็นได้จากปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในวันที่ 9 ซึ่งเป็นช่วงปลายของกระบวนการย่อยสลายก่อนเข้าสู่ระยะบ่ม โดย EMC 5 มีค่าอินทรีย์คาร์บอนต่ำที่สุด ในขณะที่ EMC 3 ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายทนอุณหภูมิสูง 4 ไอโซเลท ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพที่น้อยกว่า EMC 5 อาจเป็นสาเหตุให้การทำงานของ EMC3 ไม่ดีเทียบเท่า EMC 5

อย่างไรก็ตาม การเติมหัวเชื้อ EMC3 ทำให้มีอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเฉลี่ย 49.67 °C และมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสารเร่ง พด.1

จุลินทรีย์ในสารเร่ง พด.1 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 °C (กรมพัฒนาที่ดิน, 2546) แต่ในช่วง thermophilic phase มีอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเฉลี่ย 49.00 °C อาจส่งผลให้จุลินทรีย์ พด.1 เจริญและทำงานไม่ดีในช่วงที่อุณหภูมิสูงสุด เมื่อพ้นจากช่วงนั้นแล้วเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวยังคงย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์มีอินทรีย์คาร์บอนเหลืออยู่ในวันที่ 9 ของการทดลองสูงที่สุด เนื่องจากในช่วงอุณหภูมิสูง อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเฉลี่ยสูงถึง 48.33°C จุลินทรีย์ที่ช่วยย่อยสลายในธรรมชาติอาจถูกยับยั้งการเจริญเติบโตในช่วงนี้ จึงทำให้การย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นไปอย่างจำกัด แต่การย่อยสลายในช่วง 10 วันต่อมายังดำเนินไปอย่างต่อเนื่อง แสดงให้เห็นการทำงานของจุลินทรีย์ 2 กลุ่ม ดังนั้นผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ย่อยสลายในกองปุ๋ยหมักจะช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายในช่วงอุณหภูมิสูง ส่งผลให้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรก ส่วนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกองปุ๋ยหมักตามธรรมชาตินั้นจะทำการย่อยสลายต่อในช่วงหลัง การไม่เติมหัวเชื้อจะทำให้การย่อยสลายช่วงแรกถูกจำกัด แต่การย่อยสลายก็จะดำเนินไป ส่งผลให้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน เมื่อใช้ระยะเวลาการหมักนานเพียงพอ

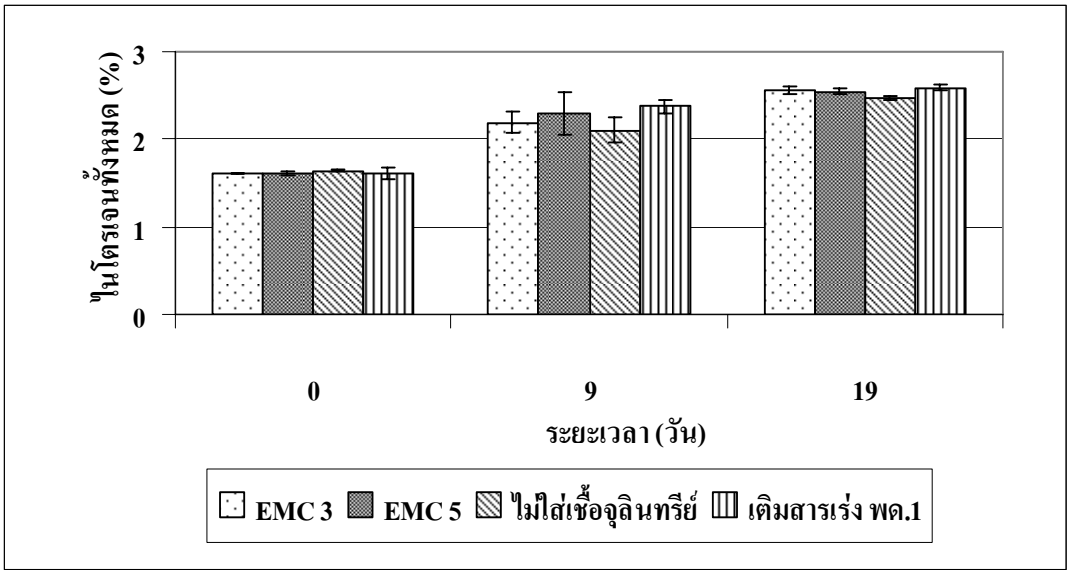


ภาพที่ 20 อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยกากอ่งุน

3.3 ไนโตรเจนทั้งหมด

ในวันแรกของกระบวนการหมักปุ๋ยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 1.61-1.64 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 2.47-2.58 (ภาพที่ 21) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในทุกชุดการทดลอง (ตารางผนวกที่ ข12)

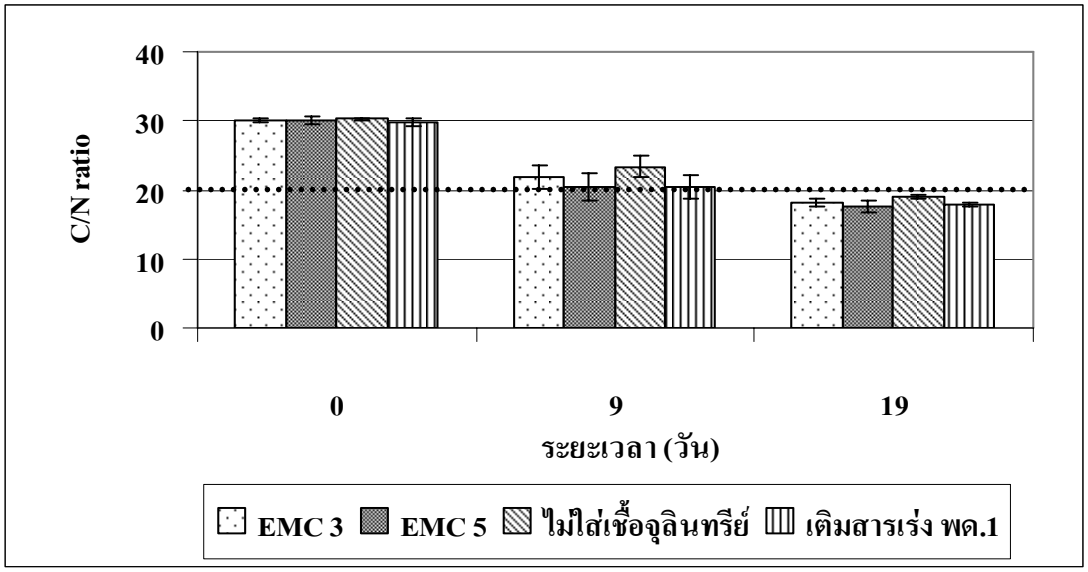
สาเหตุที่ร้อยละไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็นผลจากสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายไปเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้สูญเสียคาร์บอนออกจากระบบ โดยคาร์บอนจะมีการสูญเสียในสัดส่วนที่สูงกว่าไนโตรเจนทำให้ไนโตรเจนร้อยละต่อน้ำหนักเพิ่มขึ้น มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์กำหนดว่าปุ๋ยหมักที่มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ต้องมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 1 (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปุ๋ยหมักจากกากองุ่นในทุกชุดการทดลองมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักของพืชมากกว่าเกณฑ์มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548



ภาพที่ 21 ไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น

3.4 C/N ratio

C/N ratio เริ่มต้นเท่ากับ 30/1 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมในการหมักปุ๋ย (Li *et al*., 2008) ซึ่งค่า C/N ratio ลดลงตามระยะเวลา หากกระบวนการหมักมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จะต้องมี C/N ratio ต่ำกว่า 20/1 เพราะมีอัตราส่วนใกล้เคียงกับฮิวมัส และเมื่อนำมาใช้จะไม่มีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (Vuorinen and Saharinen, 1997) จากผลการทดลองพบว่า C/N ratio ของปุ๋ยหมักมีค่าระหว่าง 17.56-19.02 เมื่อระยะเวลาผ่านไปเพียง 19 วัน (ภาพที่ 22) โดยชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อ EMC5 มีค่า C/N ratio ต่ำสุด และชุดควบคุมที่ไม่เติมหัวเชื้อมีค่า C/N ratio สูงที่สุด ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการลดลงของค่าอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด ซึ่งชุดการทดลอง EMC5 มีการลดลงของอินทรีย์คาร์บอนมากที่สุด และเมื่อพิจารณาจากอุณหภูมิภายในกองพบว่ามีอุณหภูมิเพิ่มสูงที่สุดด้วย เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกชุดการทดลอง (ตารางผนวกที่ ข14) การที่ระยะเวลาในกระบวนการหมักปุ๋ยสั้นลงส่งผลดีในด้านการลดต้นทุนและลดแรงงานทำให้สามารถนำปุ๋ยหมักไปใช้ประโยชน์ได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว โดยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายสั้นกว่าวัสดุอื่นเช่น การหมักของเสียทางการเกษตรร่วมกับน้ำเสียของโรงงานผลิตน้ำมันมะกอกโดยปรับค่า C/N ratio เริ่มต้นในช่วง 24-27 แต่ใช้ระยะเวลานานถึง 125 วันค่า C/N ratio จึงลดลงอยู่ในช่วง 13.6-16.6 (Hachicha *et al.,* 2009)

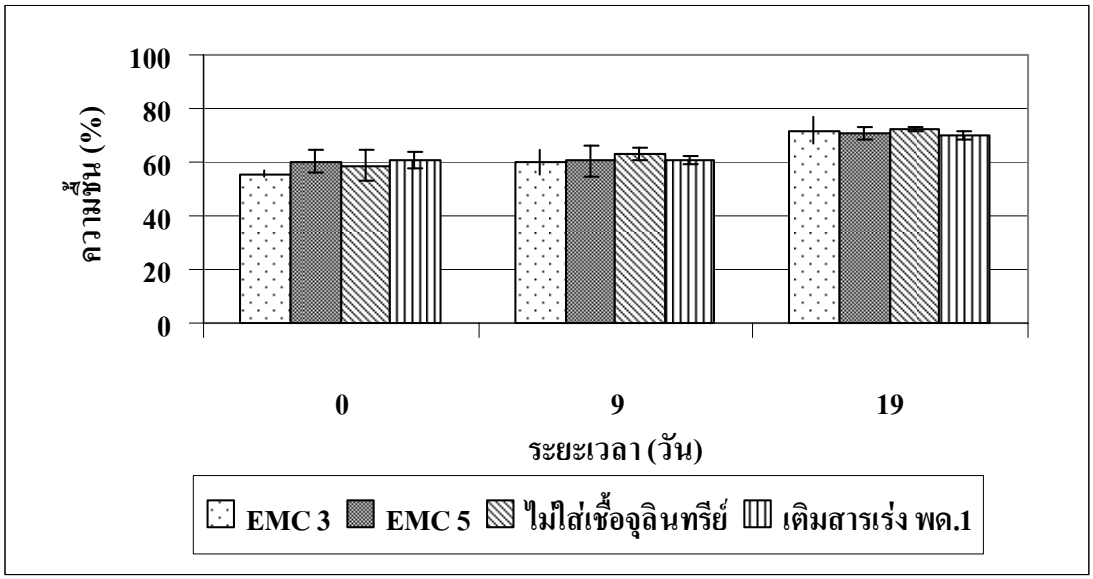


ภาพที่ 22 C/N ratio ระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น

3.5 ความชื้น

ความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการหมักปุ๋ยเพราะว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์มีความสัมพันธ์กับน้ำ โดยน้ำจะเป็นตัวละลายสารอาหารภายในกองปุ๋ยหมักทำให้จุลินทรีย์มีกิจกรรมในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ความชื้นที่เหมาะสมในกระบวนการหมักปุ๋ยมีค่าอยู่ในช่วงกว้างคือตั้งแต่ร้อยละ 25-80 (Luo *et al.,* 2008)

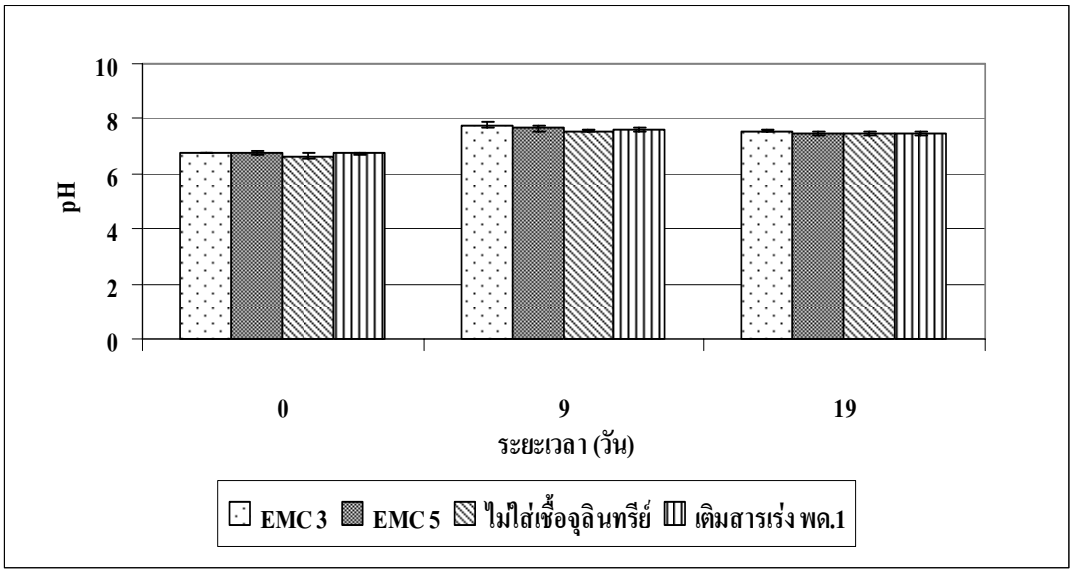
จากภาพที่ 23 ความชื้นในช่วงแรกของการหมักปุ๋ยอยู่ในช่วงร้อยละ 55.7-60.5 โดยความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่ระยะเวลา 19 วันความชื้นของปุ๋ยหมักทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วงร้อยละ 69.84- 72.07 เหตุที่ความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเนื่องมาจากขณะที่เริ่มหมักปุ๋ยเศษพืชยังไม่เกิดการย่อยสลายดังนั้นจึงมีความสามารถในการอุ้มน้ำน้อย แต่เมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้นเศษพืชซึ่งเป็นสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายมากขึ้นความสามารถในการอุ้มน้ำก็มีมากขึ้นด้วย ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับสุวรรณา (2528) ซึ่งทดลองหมักปุ๋ยโดยใช้กากอ้อยพบว่าเมื่อเริ่มหมักปุ๋ยมีความชื้นร้อยละ 74 โดยน้ำหนักและเมื่อระยะเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 70-80



ภาพที่ 23 ความชื้นระหว่างการหมักปุ๋ยกากอ้อย

3.6 pH

pH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยในช่วงแรกของกระบวนการหมักปุ๋ยมี pH อยู่ในช่วง 6.75-7.57 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง pH มีค่าอยู่ในช่วง 7.44-7.57 (ภาพที่ 24) การย่อยสลายสารอินทรีย์จะส่งผลให้ pH ลดลง เนื่องจากมีการสะสมของกรดอินทรีย์ซึ่งมักจะเกิดในช่วงแรกของกระบวนการหมักปุ๋ย ต่อมากรดอินทรีย์เหล่านี้จะถูกย่อยสลายไปส่งผลให้ pH สูงขึ้น และลดลงเล็กน้อยในช่วงท้ายของกระบวนการหมัก (Hachicha *et al*. 2009) ค่า pH การหมักปุ๋ยจากกากองุ่นก็เป็นไปตามแบบแผนดังกล่าว โดยตลอดการทดลองค่า pH ของทั้ง 4 ชุดการทดลองมีค่าระหว่าง 6.5-8.0 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมัก



ภาพที่ 24 pH ระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น

3.7 จำนวนจุลินทรีย์

จากการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์พบว่าจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 2 เนื่องมาจากจุลินทรีย์มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายในกองปุ๋ยหมักทำให้ปริมาณจุลินทรีย์แต่ละชนิดยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปประมาณวันที่ 2 จะเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มที่เริ่มมีการทำงานเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยจำนวนจุลินทรีย์รวมในช่วงวันที่ 4 และ 5 มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย เนื่องมาจากอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้นจุลินทรีย์ที่บ่มด้วย

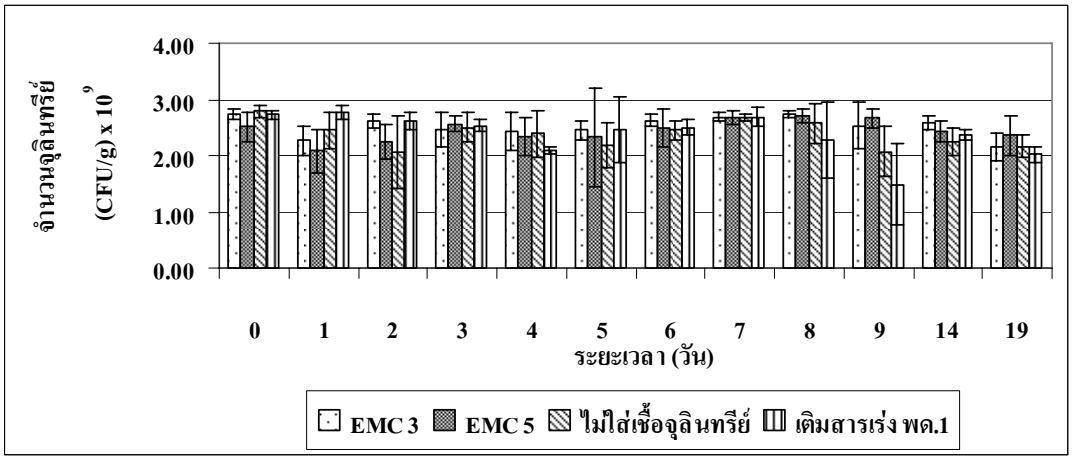
อุณหภูมิ 30°C จึงถูกยับยั้งการเจริญเติบโต หลังจากนั้นในช่วงวันที่ 5 จุลินทรีย์ที่บ่มด้วยอุณหภูมิ 30°C จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 19 วัน (ภาพที่ 25) จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสที่บ่มด้วยอุณหภูมิ 30°C (ภาพที่ 27) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 และ 3 จากนั้นจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส (ภาพที่ 31) จะเพิ่มจำนวนขึ้นมาแทนในช่วงวันที่ 3-6 นอกจากนี้ยังมีเชื้อที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส (ภาพที่ 29) มีจำนวนเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาใกล้เคียงกันคือในช่วงวันที่ 5-8 และสุดท้ายเป็นเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (ภาพที่ 33) จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 7-8

จุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูงเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 1 (ภาพที่ 32) ต่อมาจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (ภาพที่ 34) อะไมเลสและเคซีเนส (ภาพที่ 30 และ 28) จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาใกล้เคียงกันคือใน ช่วงวันที่ 1-8 หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะค่อย ๆ ลดจำนวนลงในช่วงวันที่ 14 ซึ่งอุณหภูมิเฉลี่ยในวันนี้มีค่าอยู่ในช่วง 35-36 °C ในระหว่างวันที่ 3-6 จะพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์มีจำนวนจุลินทรีย์ต่ำที่สุด ซึ่งเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นว่าการเติมจุลินทรีย์ลงไปจะช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในช่วงที่ปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิสูง จุลินทรีย์ที่เติมลงไปจะไปช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้มีการย่อยสลายอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนลดลงต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ เมื่อพิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์รวมจะพบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะเริ่มมีการเพิ่มจำนวนในวันที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการย่อยสลายเริ่มเกิดขึ้นในวันที่ 1 ของกระบวนการหมัก คือจุลินทรีย์ทุกกลุ่มมีการเพิ่มจำนวนและอุณหภูมิเริ่มเพิ่มสูงขึ้นโดยในวันแรกของ กระบวนการหมักอุณหภูมิมีค่าอยู่ในช่วง 30-32 °C และในวันที่ 2 อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 36-43 °C จากนั้นจำนวนจุลินทรีย์รวมจะค่อย ๆ ลดจำนวนลงจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 19 (ภาพที่ 26)

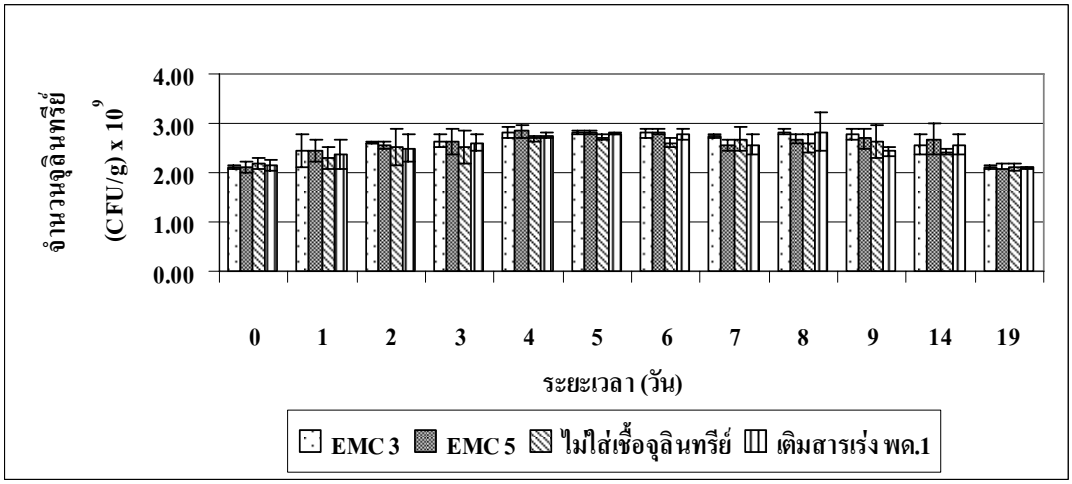
จากปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำการศึกษาโดยเฉพาะ C/N ratio ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งในการประเมินว่าปุ๋ยหมักมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จะเห็นได้ว่าหัวเชื้อ EMC 5 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการย่อยสลายปุ๋ยหมักจากกากองุ่น แต่เมื่อพิจารณาหัวเชื้อ EMC 3 แม้ว่ามีความหลากหลายของหัวเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า EMC 5 แต่มีความสามารถในย่อยสลายปุ๋ยหมักจากกากองุ่นได้ใกล้เคียงกันกับ EMC 5 และมี C/N ratio ผ่านเกณฑ์มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548

ในการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นพบว่าเมื่อปรับค่า C/N ratio เริ่มต้นก่อนหมักปุ๋ยในอยู่ที่ 30/1 ร่วมกับการเติมจุลินทรีย์ย่อยสลายที่อุณหภูมิสูงที่คัดกรองได้จะช่วยลดระยะเวลาในการหมักปุ๋ยให้สั้นลง (ระยะเวลาการหมัก 19 วัน) เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักปุ๋ยด้วยเศษหญ้าโดยมีค่า C/N ratio เริ่มต้นเท่ากับ 68.70 ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาถึง 49 วัน เพื่อให้ปุ๋ยหมักมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์โดยมีค่า C/N ratio ลดลง

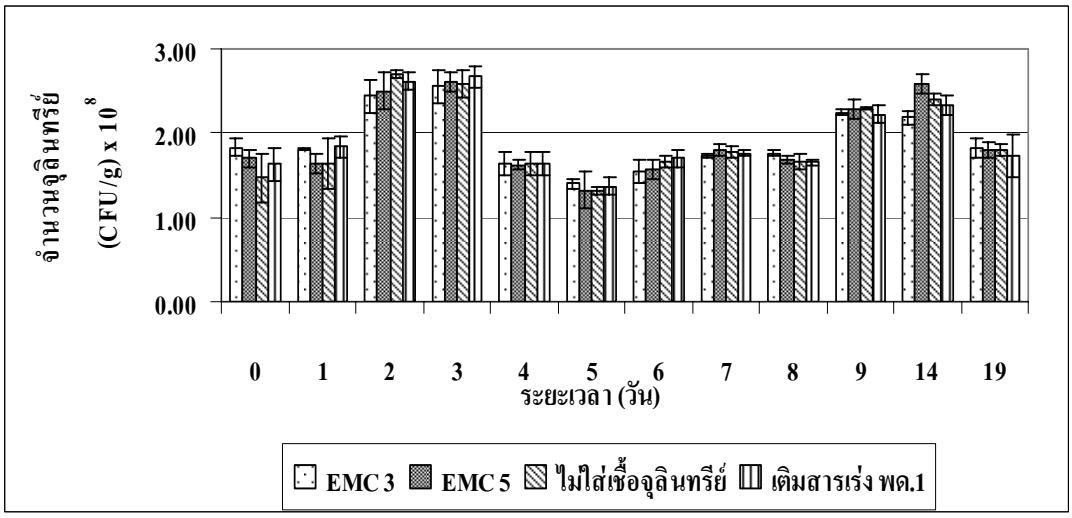
ต่ำกว่า 20/1 นอกจากนี้การเพิ่มกากองุ่นเป็นสับสเตรตร่วมกับเศษหญ้าในการหมักปุ๋ยพบว่าเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่าการหมักปุ๋ยด้วยเศษหญ้าเพียงอย่างเดียวโดยปุ๋ยหมักจากเศษหญ้ามีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 1.29-1.70 แต่เมื่อหมักเศษหญ้าร่วมกับกากองุ่นมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอยู่ในช่วงร้อยละ 2.47-2.58 ซึ่งไนโตรเจนทั้งหมดเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญของพืช ดังนั้นการใช้กากองุ่นเป็นวัสดุหมักร่วมกับเศษหญ้าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักได้



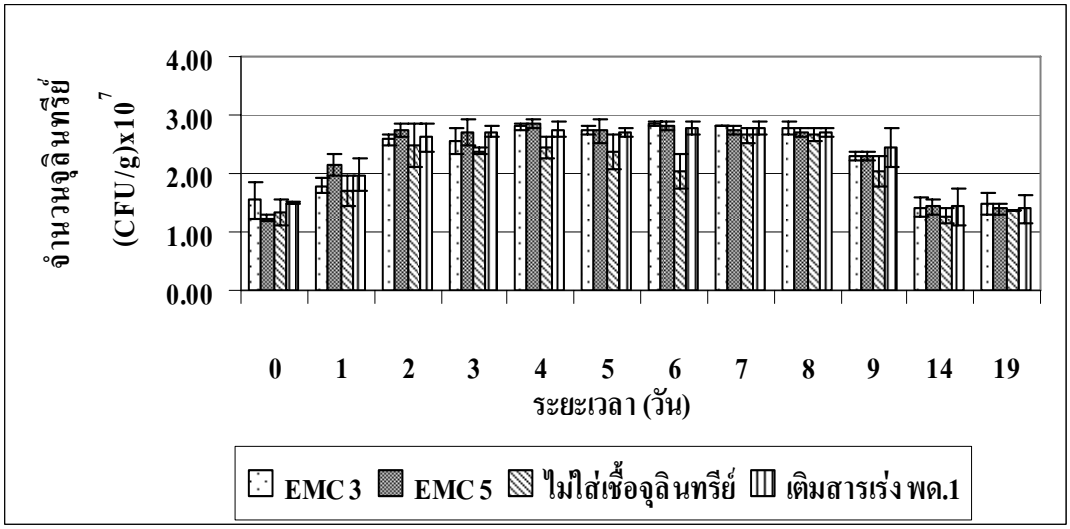
ภาพที่ 25 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 °C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



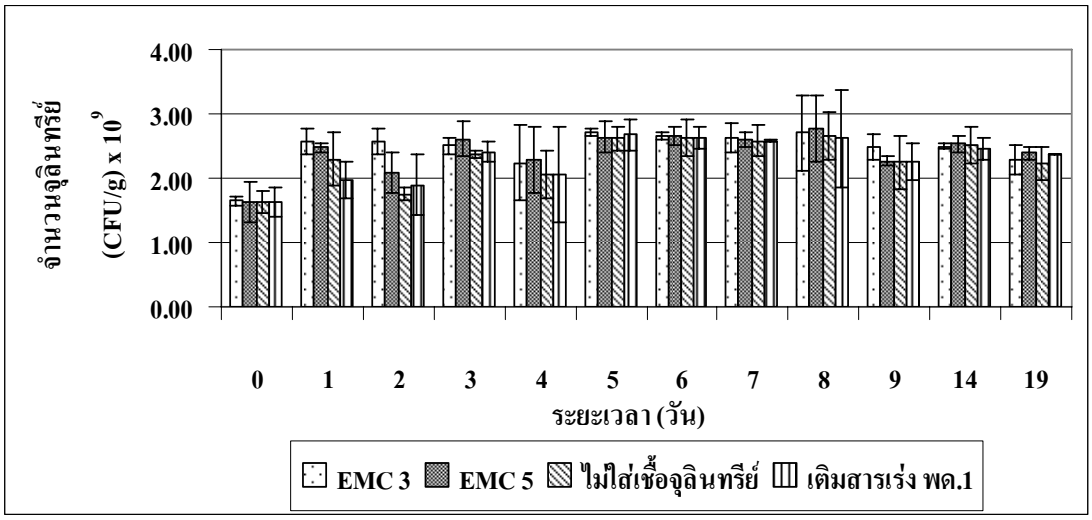
ภาพที่ 26 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 °C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



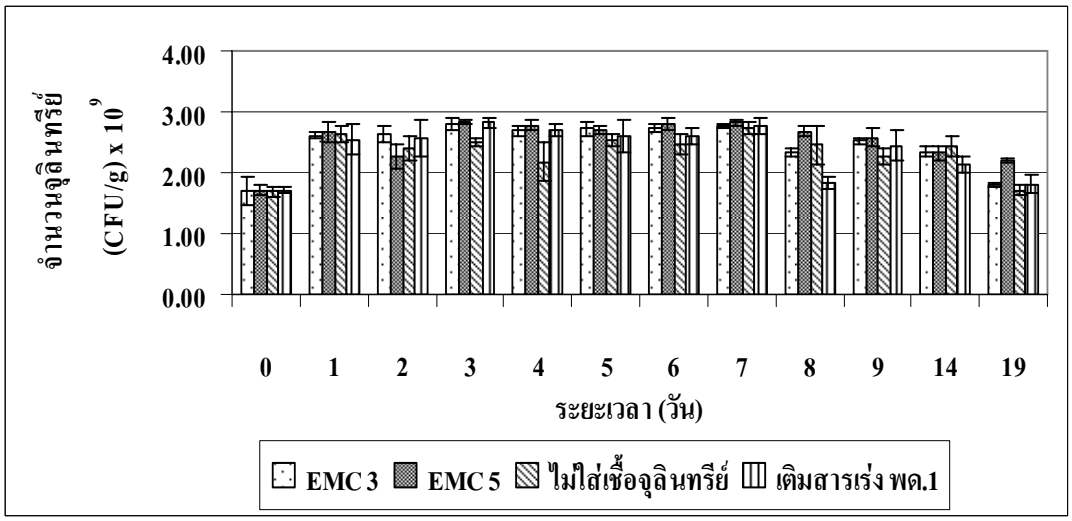
ภาพที่ 27 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



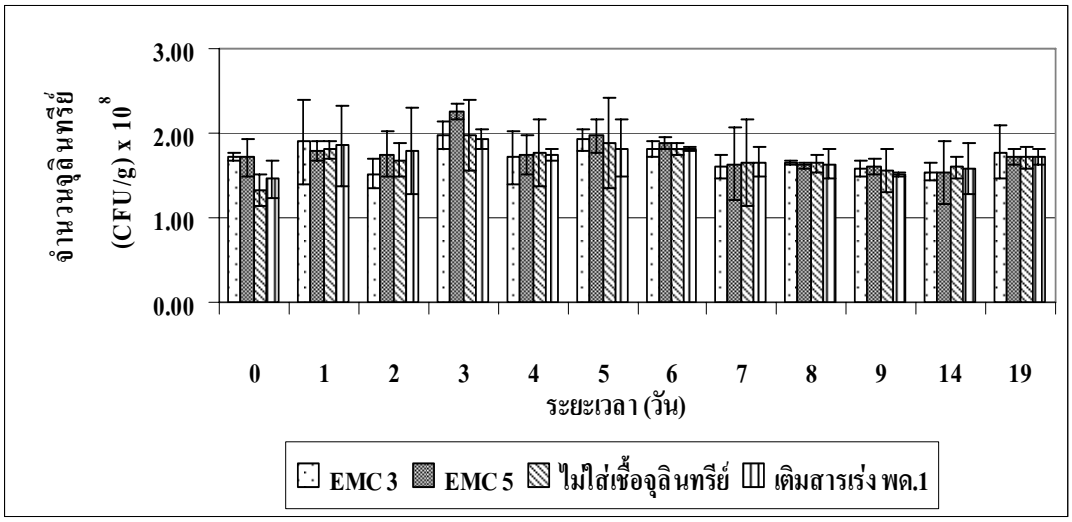
ภาพที่ 28 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



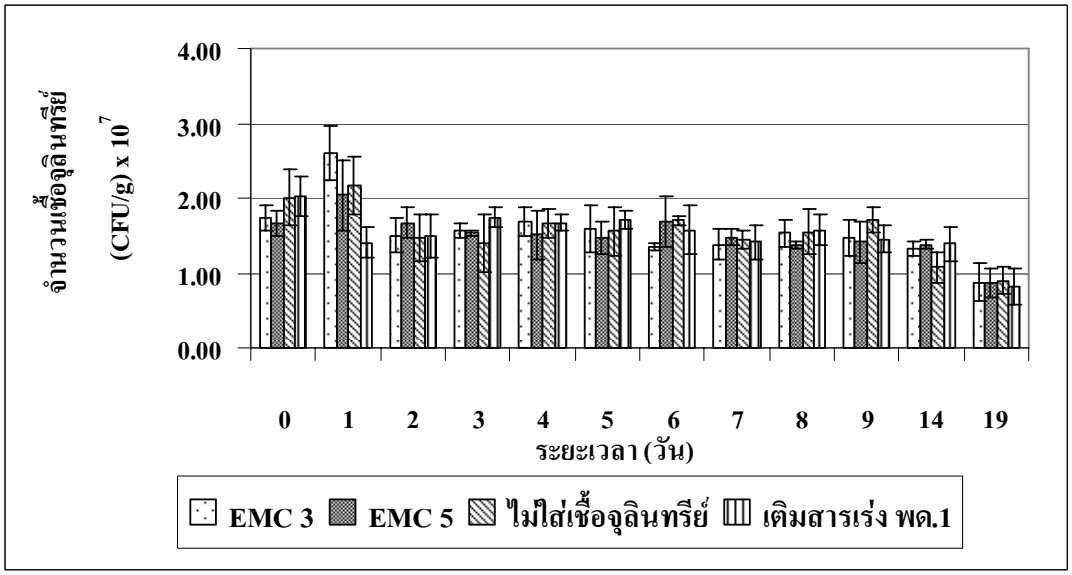
ภาพที่ 29 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



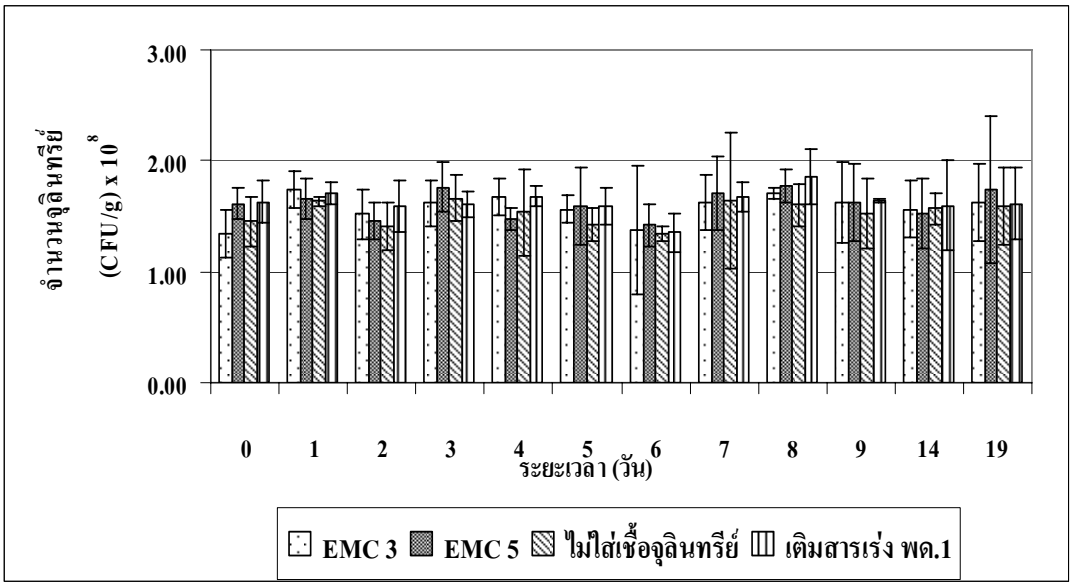
ภาพที่ 30 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



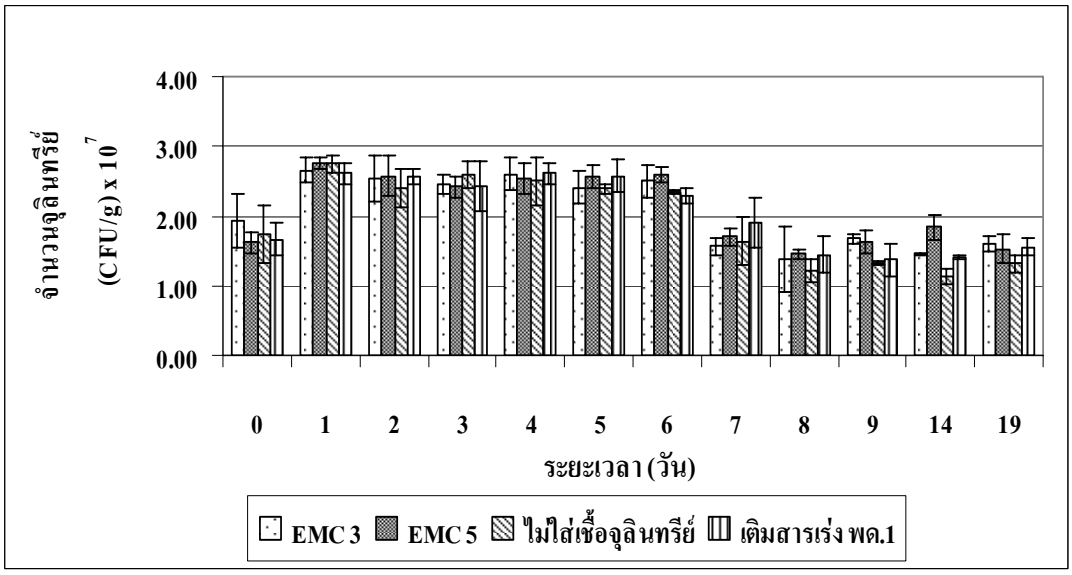
ภาพที่ 31 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



ภาพที่ 32 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



ภาพที่ 33 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



ภาพที่ 34 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเมื่อบ่มตัวอย่างเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50°C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น

4. การทดสอบการย่อยสลายเสร็จสมบูรณ์ของปุ๋ยอินทรีย์

เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการหมักปุ๋ยนำปุ๋ยหมักที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะของปุ๋ยหมักจากกากอุ่นดังแสดงในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่าปุ๋ยหมักจากกากอุ่นมีคุณสมบัติทางเคมีส่วนใหญ่เป็นไปตามมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ดัชนีการงอกของเมล็ด (Germination index; GI) เป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้สำหรับประเมินความเป็นพิษและระดับการย่อยสลายของปุ๋ยหมัก หากดัชนีการงอกของเมล็ดมากกว่าร้อยละ 50 แสดงว่าปุ๋ยหมักไม่มีความเป็นพิษต่อพืช (Chikae *et al*., 2006) แต่มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ. 2548 กำหนดว่าปุ๋ยหมักที่มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์แล้วจะต้องมีดัชนีการงอกของเมล็ดมากกว่าร้อยละ 80 จากภาพที่ 35 และตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยหมักจากกากอุ่นมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์และไม่มีความเป็นพิษต่อพืช เนื่องจากทุกชุดการทดลองมีดัชนีการงอกของเมล็ดพืชมากกว่าร้อยละ 80 โดยหัวเชื้อ EMC 5 มีดัชนีการงอกของเมล็ดสูงที่สุดคือร้อยละ 122.98 รองลงมาคือ EMC 3 ชุดที่เติมสารเร่งพด. 1 และชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ คือร้อยละ 116.15, 115.33 และ 114.48 ตามลำดับ องค์ประกอบของกากอุ่นนอกจากจะประกอบด้วยไฟเบอร์ แป้ง โปรตีน ไขมัน และส่วน ประกอบอื่น ๆ แล้วยังมีองค์ ประกอบอื่นที่มีความเป็นพิษต่อพืชด้วย เช่นโพลีฟีนอล และแทนนิน โดยเฉพาะโพลีฟีนอล หากปุ๋ยหมักมีการย่อยสลายอย่างไม่สมบูรณ์จะมีผลไปยับยั้งการงอกของรากพืชทำให้พืชเจริญเติบโตได้ไม่ดี (Fernàndez *et al*., 2008) นอกจากนี้ปุ๋ยหมักที่มีการย่อยสลายที่ไม่สมบูรณ์จะมีการสะสมของกรดคาร์บอนิกภายในกองปุ๋ย (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548) ซึ่งหากนำปุ๋ยไปใช้กับพืชจะส่งผลต่อการเจริญของรากพืชเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงต้องมีการนำปุ๋ยหมักจาก กากอุ่นที่หมักเสร็จสมบูรณ์แล้วมาทดสอบความเป็นพิษต่อพืชก่อนนำไปใช้

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อพืชและการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะของปุ๋ยหมักจากกากอุ่นพบว่ามีค่า pH, C/N ratio และมีปริมาณธาตุอาหารหลักได้มาตรฐานในการทำปุ๋ยหมักและไม่มีความเป็นพิษต่อพืชเนื่องจากมีการย่อยสลายของสารอินทรีย์อย่างสมบูรณ์ซึ่งใช้ระยะเวลาเพียง 20 วัน ระยะเวลาการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นที่ทำการทดลองให้ผลแตกต่างจาก Bertran *et al*. (2004) ที่หมักปุ๋ยจากก้านอุ่นร่วมกับสลัดจ์ในอัตราก้านอุ่น 2 ส่วนต่อสลัดจ์ 1 ส่วน ต้องใช้ระยะเวลาถึง 110 วัน โดยมีค่าดัชนีการงอกของเมล็ดร้อยละ 78 ยกเว้นความเข้มข้นของแคดเมียม (Cd) ซึ่งมีค่าระหว่าง 4.7-6.2 มก./กก. ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ว่าต้องมีความเข้มข้นไม่เกิน 5 มก./กก. ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ว่าต้องมีความเข้มข้นไม่เกิน 5 มก./กก. เพียงเล็กน้อย การเติมปุ๋ยหมักที่มีโลหะหนักปนเปื้อนในระดับสูงจะ

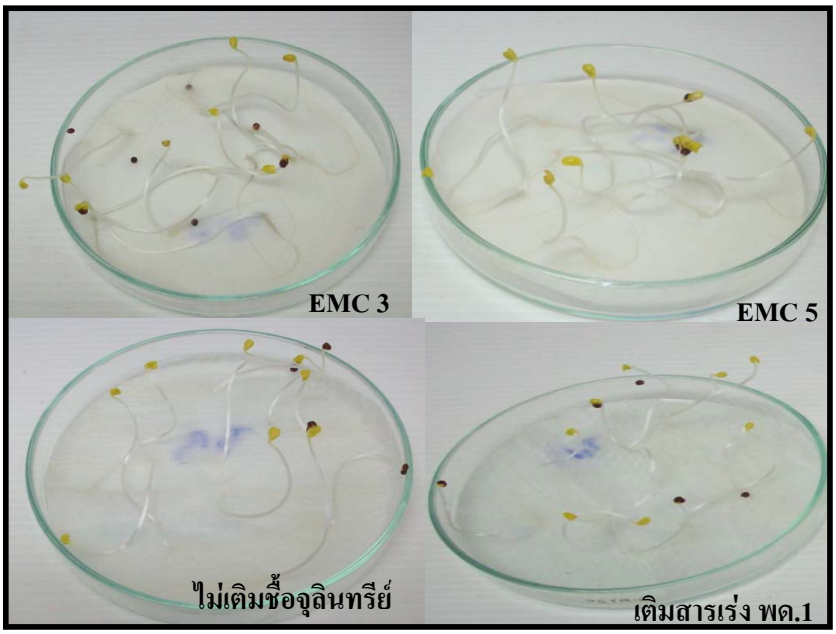
ส่งผลต่อการเจริญของพืช อาจตกค้างในดินทำให้เกิดข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์ที่ดิน และอาจสะสมในห่วงโซ่อาหารได้ อย่างไรก็ตามปุ๋ยหมักจากกากองุ่นนี้มีการปนเปื้อน Cd ในระดับต่ำ จึงอาจจัดการได้โดยการผสมวัสดุอื่นที่ไม่ปนเปื้อน Cd ในกระบวนการหมักปุ๋ย

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะของปุ๋ยหมักจากกากองุ่น

คุณลักษณะและ องค์ประกอบทางเคมี	มาตรฐาน	EMC3	EMC5	ไม่เติม จุลินทรีย์	เติมสารเร่ง พด.1
EC (dS/m)	≤ 6	9.56	9.27	9.85	9.31
P_2O_5 (%)	≥ 0.5	1.01	1.10	1.42	1.33
K_2O (%)	≥ 0.5	2.89	2.73	2.77	2.76
Cu (mg/kg)	≤ 500	39.7	39.4	40.3	44.1
Pb (mg/kg)	≤ 500	17.20	17.90	24.50	16.00
Cd (mg/kg)	≤ 5	4.70	5.20	5.90	6.20
Cr (mg/kg)	≤300	3.60	3.40	10.10	3.20
Hg (mg/kg)	≤ 2	2.63	<0.1	0.60	<0.1
As (mg/kg)	≤ 50	1.27	1.24	1.11	1.11
Germination Index (%)	≥80	116	123	114	115

ตารางที่ 6 ดัชนีการงอกเมล็ดพืชในการทดสอบการย่อยสลายเสร็จสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยใช้หัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ดัชนีการงอกของเมล็ดพืช (%)			
EMC 3	**EMC 5**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
116.15±1.10	122.98±3.07	114.48±0.99	115.33±1.64



ภาพที่ 35 การศึกษาดัชนีการงอกของเมล็ดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) ของปุ๋ยหมักจากกากองุ่น โดยทดสอบความเป็นพิษต่อพืชที่ผลิตจากหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

5. การทดสอบการใช้ปุ๋ยหมักในการปลูกพืช

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อพืชพบว่าปุ๋ยหมักจากกากองุ่นมีการย่อยสลายสารอินทรีย์อย่างสมบูรณ์และไม่มีผลยับยั้งการเจริญของยอดและรากพืช ดังนั้นจึงนำปุ๋ยหมักจากกากองุ่นมาทดลองปลูกพืชเพื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาด 3 ชนิดคือ ปุ๋ย A, ปุ๋ย B และปุ๋ย C โดยใช้ผักกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) ในการศึกษาเพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้จริงกับพื้นที่ทางการเกษตร

ความสูงของต้นกวางตุ้งจากการเพาะด้วยเมล็ดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้นโดยเมื่อระยะเวลาผ่านไป 34 วัน EMC 3และ EMC 5 มีความสูงของต้นกวางตุ้งใกล้เคียงกันคือ 25.40 และ 25.68 ซม. แต่ชุดการทดลองอื่น ๆ ที่ปลูกด้วยปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดมีความสูงของต้นกวางตุ้งต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้มีการใส่ปุ๋ยยกเว้นปุ๋ย C ที่มีความสูงของต้นกวางตุ้งเท่ากับ 18.98 ซม. ที่ระยะเวลา 34 วัน (ภาพที่ 36,37, 38) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางผนวกที่ ข 16) จำนวนใบของต้นกวางตุ้งจากการเพาะด้วยเมล็ดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้นยกเว้นในวันที่ 34 บางชุดการทดลองที่มีการหลุดร่วงของใบทำให้ใบมีจำนวนลดลง (ปุ๋ย B, ปุ๋ย C และไม่ใส่ปุ๋ย) โดย EMC 3 และ EMC 5 มีจำนวนใบมากที่สุดคือ 7 ใบ รองลงมาคือ ปุ๋ย B ปุ๋ย A,

ไม่ใส่ปุ๋ย และปุ๋ย C โดยมีจำนวนใบเท่ากับ 6, 4 ,4 และ 3 ใบ ตามลำดับ (ภาพที่ 39) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางผนวกที่ ข18)

ในวันที่ 35 ต้นกวางตุ้งที่ปลูกด้วยปุ๋ยหมัก EMC 3 และ EMC 5 มีน้ำหนักสดมากที่สุดคือ 7.56 และ 7.11 กรัม รองลงมาคือ ปุ๋ย B, ไม่ใส่ปุ๋ย, ปุ๋ย A และปุ๋ย C โดยมีน้ำหนักสดเท่ากับ 5.71, 0.44, 0.18 และ 0.16 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 7) น้ำหนักแห้งของต้นกวางตุ้ง มีผลการทดลองสอดคล้องกับน้ำหนักสด คือในวันที่ 35 ต้นกวางตุ้งที่ปลูกด้วยปุ๋ยหมัก EMC 3 และ EMC 5 มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดคือ 0.77 และ 0.79 กรัม รองลงมาคือ ปุ๋ย B, ไม่ใส่ปุ๋ย, ปุ๋ย A และปุ๋ย C โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.67, 0.07, 0.03 และ 0.03 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 8)

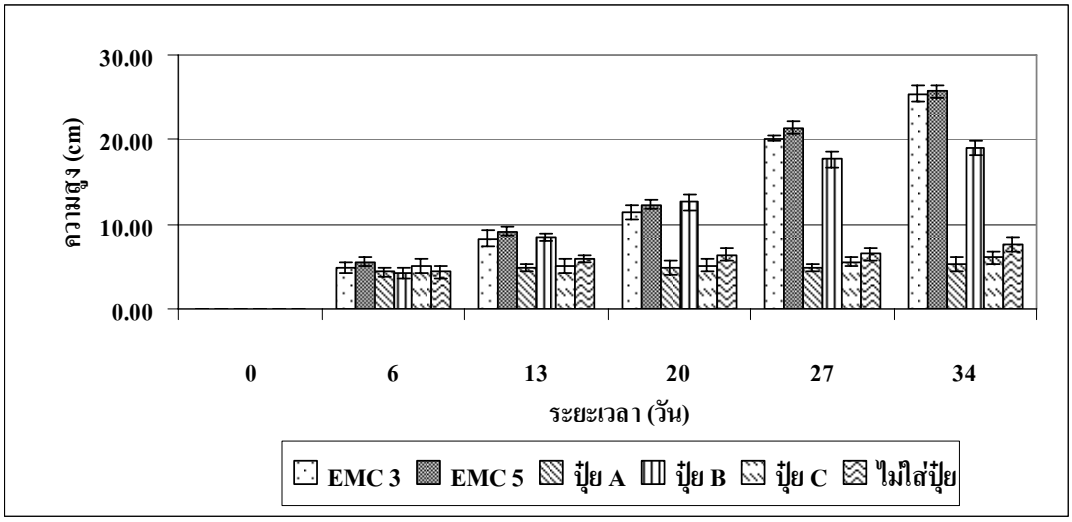
เมื่อทำการทดลองปลูกพืชซ้ำโดยใช้ต้นกล้ากวางตุ้งที่มีขนาดใกล้เคียงกันเพื่อควบคุมความสูงของต้นพืชเริ่มต้นให้มีขนาดใกล้เคียงกันในดินที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย จากนั้นจึงย้ายลงกระถางปลูกในแต่ละชุดการทดลอง ผลการทดลองพบว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับการเพาะด้วยเมล็ดพืชดังแสดงในภาพที่ 40, 41, 42, และตารางที่ 9, 10 เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางผนวกที่ ข20 และ ข22)

ปุ๋ยหมักกากองุ่นที่เติมหัวเชื้อ EMC 3 และ EMC 5 มีการเจริญเติบโตของพืชดีที่สุดเมื่อพิจารณาจากความสูงของต้นพืชจำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง เนื่องจากมีปริมาณธาตุอาหารหลักเพียงพอต่อการเจริญของพืช โดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 2.47-2.58 ฟอสฟอรัสร้อยละ 1.01-1.10 และโพแทสเซียมร้อยละ 2.73-2.89 ซึ่งปริมาณธาตุอาหารหลักดังกล่าวมีค่าสูงกว่ามาตรฐาน ดังนั้นเมื่อนำปุ๋ยหมักจากกากองุ่นมาปลูกพืชจึงทำให้พืชมีการเจริญเติบโตดีกว่าปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดและชุดการทดลองที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยเนื่องจากมีปริมาณธาตุอาหารเพียงพอในการเจริญเติบโตและมีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จึงไม่มีสารที่ไปยับยั้งการเจริญของพืชจึงส่งผลให้พืชที่ปลูกจากปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเจริญ เติบโตดีที่สุด

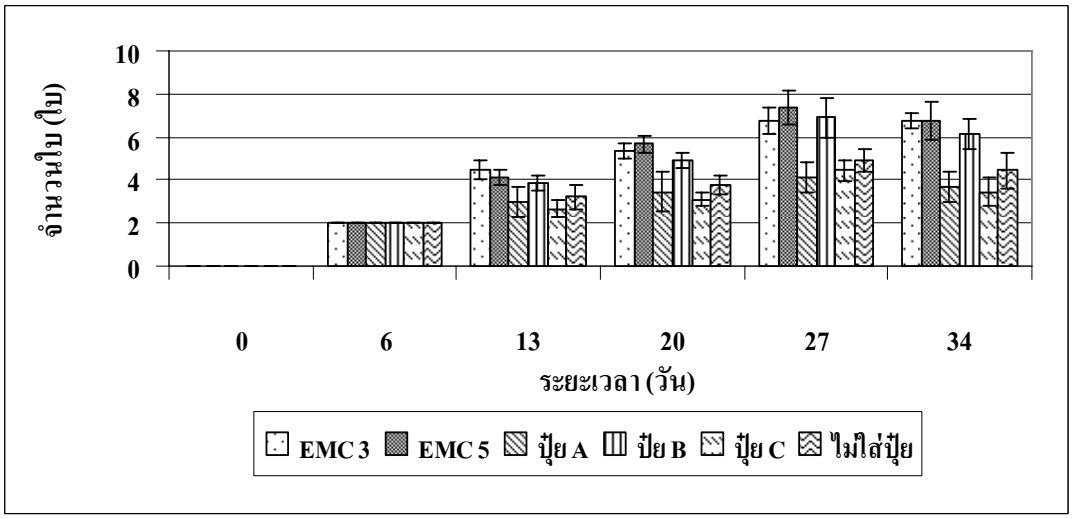
นอกจากนี้ผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยกลับมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าชุดการทดลองที่เติมปุ๋ย A และปุ๋ย C เนื่องมาจากปุ๋ยหมัก A และปุ๋ย C อาจมีการย่อยสลายที่ยังไม่สมบูรณ์จึงมีสารที่เป็นพิษจากการย่อยสลายที่ไม่สมบูรณ์หลงเหลืออยู่หรืออาจมีการปนเปื้อนของสารพิษหรือโลหะหนักบางอย่างปนเปื้อนอยู่จึงทำให้มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้อาจมีปริมาณธาตุอาหารหลักไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช จึงทำให้การเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกด้วยปุ๋ย A และ ปุ๋ย C ต่ำกว่าชุดควบคุม ที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยอินทรีย์

ภาพที่ 36 ความสูงของพืชโดยการเปรียบเทียบระหว่างปุ๋ยหมักจากกากอุ่นกับปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดระยะเวลา 6 วัน

ภาพที่ 37 ความสูงของพืชโดยการเปรียบเทียบระหว่างปุ๋ยหมักจากกากอุ่นกับปุ๋ยหมักที่จำหน่ายตามท้องตลาดระยะเวลา 34 วัน



ภาพที่ 38 ความสูงของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด



ภาพที่ 39 จำนวนใบของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด

ตารางที่ 7 น้ำหนักสดของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด

น้ำหนักสด (กรัม)					
EMC 3	**EMC 5**	**ปุ๋ยหมัก A**	**ปุ๋ยหมัก B**	**ปุ๋ยหมัก C**	**ไม่ใส่ปุ๋ย**
7.56±0.56	7.11±0.83	0.18±0.16	5.71±1.09	0.16±0.01	0.44±0.07

ตารางที่ 8 น้ำหนักแห้งของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยเมล็ด

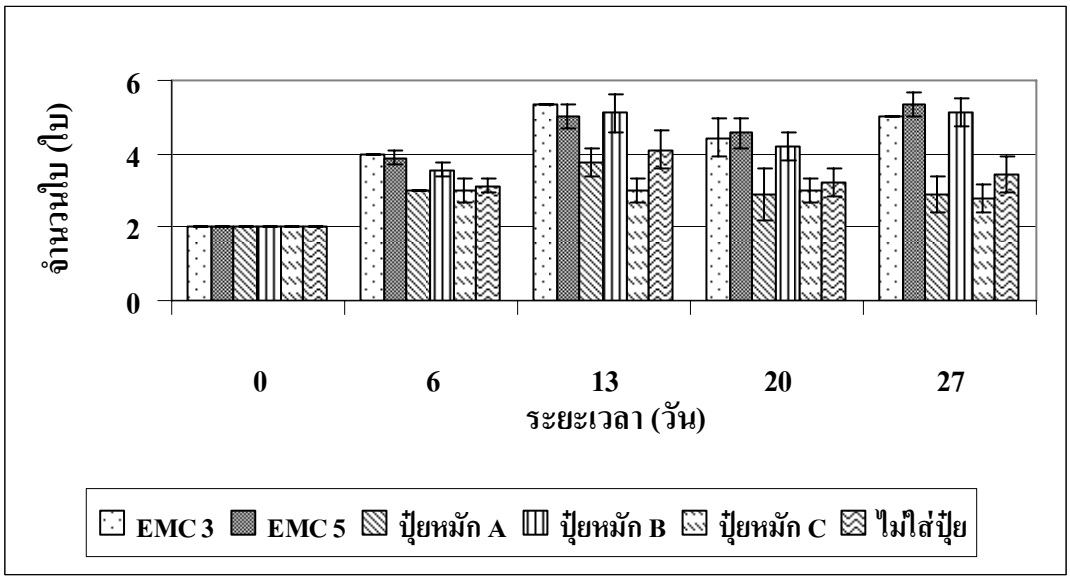
น้ำหนักแห้ง (กรัม)					
EMC 3	**EMC 5**	**ปุ๋ยหมัก A**	**ปุ๋ยหมัก B**	**ปุ๋ยหมัก C**	**ไม่ใส่ปุ๋ย**
0.77±0.11	0.79±0.06	0.03±0.01	0.67±0.30	0.03±0.00	0.07±0.02

ตารางที่ 9 น้ำหนักสดของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้า

น้ำหนักสด (กรัม)					
EMC 3	**EMC 5**	**ปุ๋ยหมัก A**	**ปุ๋ยหมัก B**	**ปุ๋ยหมัก C**	**ไม่ใส่ปุ๋ย**
5.27±0.80	5.46±0.83	0.14±0.07	3.41±0.54	0.13±0.01	0.26±0.05

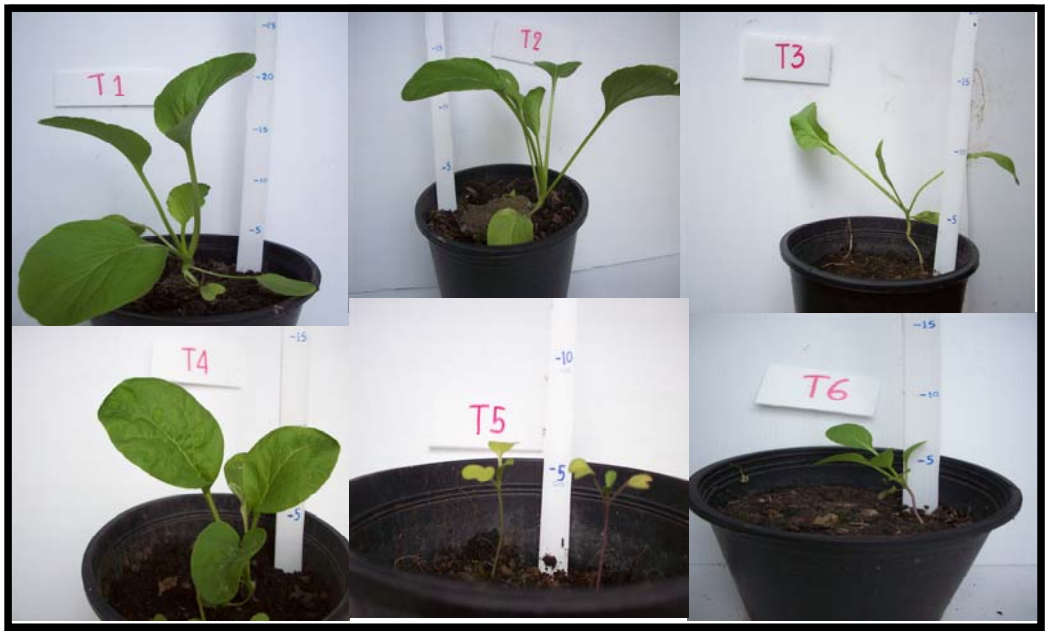
ตารางที่ 10 น้ำหนักแห้งของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้า

น้ำหนักแห้ง (กรัม)					
EMC 3	**EMC 5**	**ปุ๋ยหมัก A**	**ปุ๋ยหมัก B**	**ปุ๋ยหมัก C**	**ไม่ใส่ปุ๋ย**
0.65±0.07	0.68±0.10	0.02±0.02	0.41±0.08	0.02±0.01	0.03±0.00



ภาพที่ 40 จำนวนใบของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้า

ภาพที่ 41 ความสูงของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้าที่ระยะเวลา 6 วัน



ภาพที่ 42 ความสูงของต้นกวางตุ้งเมื่อนำมาปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นโดยการเปรียบเทียบกับปุ๋ยหมักที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดเมื่อเพาะด้วยต้นกล้าที่ระยะเวลา 27 วัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

การเติมจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดกรองได้ช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดีขึ้น โดยช่วยในการลดระยะเวลาในการผลิตปุ๋ยหมักทำให้ค่าใช้จ่ายและแรงงานที่ใช้ในกระบวนการผลิต ลดลงและเมื่อนำปุ๋ยหมักจากกากองุ่นมาทดสอบดัชนีการงอกของเมล็ดพืชพบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อพืช นอกจากนี้ยังมีปริมาณธาตุอาหารหลักสูง ทำให้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชดังนั้นการเติมจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงในการผลิตปุ๋ยหมักร่วมกับการใช้กากองุ่นเป็นสับสเตรตในการผลิตปุ๋ยหมักช่วยลดระยะเวลาการผลิตปุ๋ยและได้ปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพสูง

ปุ๋ยหมักจากกากองุ่นจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการจัดการของเสียที่เกิดขึ้นในโรงงาน ซึ่งมีต้นทุนในการจัดการต่ำเป็นการนำของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านการนำมาเป็นวัสดุปรับปรุงดิน เพิ่มธาตุอาหารแก่พืช ลดการปริมาณใช้ปุ๋ยเคมีและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

ข้อเสนอแนะ

กากองุ่นเป็นของเสียจากอุตสาหกรรมไวน์ซึ่งเป็นสับสเตรตที่น่าสนใจในการนำมาทำเป็นปุ๋ยหมัก จากข้อมูลที่ได้ศึกษามาพบว่าการหมักปุ๋ยให้มีอุณหภูมิสูง ($55^{o}C$-$60^{o}C$) จะฆ่าเชื้อก่อโรคได้ส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงควรศึกษาการเพิ่มอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักให้สูงขึ้นเพื่อเป็นการทำลายเชื้อโรคที่อาจปนเปื้อนภายในกองปุ๋ยหมัก นอกจากนี้ควรศึกษาความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ ในการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อหาความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการนำไปใช้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2546. **สารเร่งประเภทจุลินทรีย์ พด.1 พด.2 พด.3 สำหรับเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินและผลผลิตการเกษตร.** กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. **ปุ๋ยอินทรีย์ การผลิต การใช้ มาตรฐานและคุณภาพ.** ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร จำกัด, กรุงเทพ ฯ.

กลุ่มงานวิจัยเคมีดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. 2544. **คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช**. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร จำกัด, กรุงเทพ ฯ.

ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์. 2531. **การประเมินประสิทธิภาพการย่อยสลายเศษพืชของเชื้อจุลินทรีย์เร่งปุ๋ยหมัก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณัฐพร ลิมปนิธิวัฒน์. 2548. **การบำบัดดินปนเปื้อนน้ำมันหล่อลื่นโดยวิธีการหมักทำปุ๋ยร่วมกับการฟื้นฟูด้วยพืช.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ อัตตะนันทน์ และจงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2542. **แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการการวิเคราะห์ดินและพืช.** ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกตร ม.เกษตรศาสตร์.

ธีระพงษ์ สุขสว่าง. 2550. **การหมักกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เนริสา คุณประทุม. 2543. **การผลิตไซแลนเนสจาก *Trichoderma reesei*.**วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประกาศิต อินทรสำอางค์. 2549. **การแปรสภาพและคุณภาพของปุ๋ยหมักจากฟางข้าว ชานอ้อย ขี้เลื่อย เปลือกยูคาลิปตัสและตะกอนน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประสิทธ์ ดีวัฒนวงศ์. 2541. **การศึกษาการเติบโต การสร้างสปอร์ และกิจกรรมเอนไซม์ของ *Bacillus thuringiens*.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2547. **จุลชีววิทยาปฏิบัติการ.** เจ้าพระยาระบบการพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

วิชชุลดา ช่วยฉิม. 2544. **การคัดเลือแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสสำหรับย่อยเศษหัวกุ้ง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุวรรณา ภูวนวิทยาคม. 2528. **แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยเศษพืช.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมปอง หมื่นแจ้ง, สุวพันธ์ รัตนะรัต, สมบูรณ์ ประภาพรรณพงศ์, ภาวนา ลิกขนานนท์ และไพฑูรย์ พูลสวัสดิ์. 2549. **คู่มือปุ๋ยอินทรีย์ (ฉบับนักวิชาการ).** ชุมนุมสหกรณ์ การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. **คู่มือวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์.** ควิกปริ๊นท์ ออฟเซ็ท, กรุงเทพฯ.

อัจฉรา คอประเสริฐศักดิ์. 2542. **การศึกษาแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันและน้ำเสียประเภทไขมันสูง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Arvanitoyannis, I. S., D. Ladas and A. Mavromatis. 2006. Wine waste treatment methodology. **International Journal of Food Science and Technology** 41: 1117-1151.

Bertran, E., X. Sort and I. Trillas. 2004. Composting winery waste: sludges and grape stalks. **Bioresource Technology** 95: 203-208.

Bustamante, M.A., C. Paredes, F.C. Marhuenda-Egea, A. Perez-Espinosa, M.P. Bernal, R. Moral. 2008. Co-composting of distillery wastes with animal manures: Carbon and nitrogen transformations in the evaluation of compost stability**. Chemosphere** 72: 551-557**.**

Chikae, M., R. Ikeda, K. Kerman, Y. Morita and E. Tamiya. 2006. Estimation of maturity of compost from food wastes and agro-residues by multiple regression analysis. **Bioresource Technology** 97: 1979-1985.

Collins, C.H., Lyne, P.M. and Grange, J.M. 1989. **Microbiological method**. 6th ed. Hartnolls Ltd., England.

Diaz, M.J., E. MadejÓn, F. LÓpez, R. LÓpez and F. Cabrea. 2002. Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process. **Process Biochemistry** 37:1143-1150.

Fernàndez, F.J. V. Sànchez- Arias, J. Villasenor, L. Rodriguez. 2008. Evaluation of carbon degradation during co-composting of exhausted grape marc with different biowastes. **Chemosphere** 73: 670-677.

Ferrer, J., G. Paez, Z. Marmol, E. Ramones, C. Chandler, M. Marin and A. Ferrer. 2001. Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes. **Bioresource Technology** 76: 39–44.

Gasser , J.K.R. 1985. **Composting of agricultural and other wastes.** Elsevier applied science, London.

Ghose, T. K. 1987. Measurement of cellulase activities. **Pure and Applied Chemistry** 59 (2): 257-268

Hachicha, S., F. Sillamia, J. Cegarrab, R. Hachichaa, N. Drirac, K. Medhiouba, E. Ammara. 2009. Biological activity during co-composting of sludge issued from the OMW evaporation ponds with poultry manure—Physico-chemical characterization of the processed organic matter. **Journal of Hazardous Materials** 162: 402–409.

Kim, J.K., J.B. Kim, K. S. Cho and Y. K. Hong. 2007. Isolation and identification of microorganisms and their aerobic biodegradation of fish-meal wastewater for liquid-fertilization. **International Biodeterioration and Biodegradation** 59: 156-165.

León, R.S., L.A.C. Arroyo, A. A. Rodri'guez and M.Alameda. 2007. Chemical and biological characterization of slaughterhouse wastes compost. **Waste Management** 27: 1800-1807.

Liang, C., K.C. Das and R.W. McClendon. 2003. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. **Bioresource Technology** 86: 131–137.

Li, X., Zhang, R. and Pang, Y. 2008. Characteristics of dairy manure composting with rice straw. **Bioresource Technology** 99, 359–367

Luo, W., T. B. Chen, D. G. Zheng. D. Gao, Y. A. Zhang and W. Gao. 2008. Effect of moisture adjustments on vertical temperature distribution during forced-aeration static-pile composting of sewage sludge. **Resources Conservation and Recycling** 52 : 635–642.

Oreopoulou, V. 2006. **Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry**. Springer Scinece, USA.

Ramos, S.M.C., D. A. Bernal, N. T. Tapia and L. Dendooven. 2004. Composting of tannery effluent with cow manure and wheat straw. **Bioresource Technology** 94: 223-228.

Raut, M.P., S.P.M. Prince William, J.K. Bhattacharyya, T. Chakrabarti and S. Devotta. 2008. Microbial dynamics and enzyme activities during rapid composting of municipal solid waste – A compost maturity analysis perspective. **Bioresource Technology** 99: 6512-6519

Rogers, H. J., H. R. Perkins and J. B. Ward. 1980. **Microbial cell walls and membranes**. Chapman and hall Ltd, London.

Silva, L. A. D., F. C. Lopes, S. T. Silveira and A. Brandelli. 2009. Production of cellulolytic enzymes by aspergillus phoenicis in grape waste using response surface methodology. **Apply Biochemistry Biotechnology** 152: 295–305.

Stoffella, P.J. and B. A. Kahn. 2001. **Compost utilization in horticultural cropping systems.** Lewis publisters., USA.

Thummes, K., P. Kämpfer and U. Jäckel. 2006. Temporal change of composition and potential activity of the thermophilic archaeal community during the composting of organic material. **Systematic and Applied Microbiology 30** (5): 418-429

Tsai, S.H., C.P. Liu and S.S. Yang. 2007. Microbial conversion of food wastes for biofertilizer production with thermophilic lipolytic microbes. **Renewable Energy** 32: 904-915.

Tuomela M., M. Vikman, A. Hatakka and M. Itavaara. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology** 72: 169-183.

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

Wei, Z., B. Xi, Y. Zhao, S. Wang, H. Liu and Y. Jiang. 2007. Effect of inoculating microbes in municipal solid waste composting on characteristics of humic acid. **Chemosphere** 68: 368-374.

Yilmaz, T., A. Yuceer and M. Basibuyuk. 2008. A comparison of the performance of mesophilic and thermophilic anaerobic filters treating papermill waster. **Bioresource Technology** 99: 156-163.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลของความเข้มข้นหัวเชื้อจุลินทรีย์

ผลของความเข้มข้นหัวเชื้อจุลินทรีย์

การนำหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดกรองได้ไปใช้ประโยชน์ให้เกิดผลดีและมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นจำเป็นจะต้องหาความเหมาะสมของหัวเชื้อเริ่มต้นก่อนนำไปใช้ ซึ่งการทดลองในขั้นตอนที่ 2 และ 3 คือการหาความเหมาะสมของหัวเชื้อและการผลิตปุ๋ยหมักจากกากอุ่นมีระดับความเข้มข้นหัวเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นต่ำที่สุดคือ 10^6 CFU/ml ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงเลือกระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นที่ 10^4, 10^6 และ 10^8CFU/ml โดยพิจารณาจากปัจจัยต่าง ๆ เช่นเดียวกับการทดลองในขั้นตอนการผลิตปุ๋ยหมักจากกากอุ่น

วิธีทดลอง

1 ทำการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นโดยปรับค่า C/N ratio ให้มีค่าเท่ากับ 30/1 โดยใช้วัสดุหลักได้แก่ กากอุ่นจากบริษัทสยาม ไวเนอรี่ จำกัด 10 กก. เศษหญ้าจากสวนจตุจักร 15 กก. และมูลวัวที่จำหน่ายตามท้องตลาด 6 กก. เตรียมถังหมัก ดังข้อ 3.1 โดยศึกษาปุ๋ยหมักที่เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่มีประสิทธิภาพจากข้อ 2 ที่ความเข้มข้น 10^4, 10^6 และ 10^8 CFU/ml ปริมาตร 20 มล. ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2 การเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติปุ๋ยหมักเช่นเดียวกับข้อ 3.2

3 การศึกษาคุณสมบัติของปุ๋ยหมักดังข้อ 3.3

4 การศึกษาจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมักดังข้อ 3.4

5 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์

5.1 เอนไซม์เคซีเนส โดยดัดแปลงจากวิธีการวิเคราะห์ของ Anson 1938 (อ้างถึงในประสิทธิ, 2541)

5.2 เอนไซม์อะไมเลส โดยดัดแปลงจากวิธีการวิเคราะห์ของ Fuwa (1954) (อ้างถึงในประสิทธิ , 2541)

5.3 เอนไซม์เซลลูเลส โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี FPA (Filter Paper Assays) (Gohse, 1987)

ผลการทดลอง

1. อุณหภูมิ

อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักวันแรกอยู่ในช่วง 24.3-25.1 (ช่วงอุณหภูมิปานกลาง) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 ของการหมักโดยมีอุณหภูมิสูงที่สุดในระยะอุณหภูมิสูงในวันที่ 5 ซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 50°C-52°C หลังจากวันที่ 6 อุณหภูมิจะค่อย ๆ ลดลงอยู่ในช่วง 30°C-48°C (ภาพผนวกที่ ก1) ชุดการทดลองที่ 1 มีความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ 10^8 CFU/ml มีอุณหภูมิเฉลี่ยในระยะ อุณหภูมิสูง สูงที่สุดคือ 52.67°C เนื่องจากมีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงทำให้จุลินทรีย์มีจำนวนมากจึงเกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้สูงโดยมีสาเหตุจากมีร้อนเกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ส่งผลให้อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ส่วนชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์10^6 และ10^4 CFU/ml มีอุณหภูมิเฉลี่ยในระยะอุณหภูมิสูงคือ 52.33°C และ 52.00°C ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความร้อนจากกระบวนการย่อยสลายภายในกองปุ๋ยหมักจะเห็นได้ว่าอุณหภูมิแปรผันตรงกับความเข้มข้นของหัวเชื้อคือเมื่อมีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้กระบวนการย่อยสลายในระยะอุณหภูมิสูงทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้น ชุดการทดลองที่ 4 ที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์พบว่าอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักมีค่าต่ำที่สุดเนื่องจากในระยะอุณหภูมิสูงมีเพียงจุลินทรีย์ตามธรรมชาติเท่านั้นที่ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงทำให้จุลินทรีย์บางส่วนที่ไม่สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ถูกยับยั้งการเจริญการย่อยสลายจึงเป็นไปได้ช้าส่งผลให้อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักมีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองที่มีการเติมจุลินทรีย์ย่อยสลาย

2. อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด

การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในระหว่างกระบวนการหมักปุ๋ยพบว่าอินทรีย์คาร์บอนมีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลองโดยในวันแรกของกระบวนการหมักอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 41.21-42.57 (ตารางผนวกที่ ก1) และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 19 วัน มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์แล้วพบว่าอินทรีย์คาร์บอนลดลงเหลือร้อยละ 34.15-38.49 (ตารางผนวกที่ ก2) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางผนวกที่ ข26) ความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์แปรผันตรงกับการย่อยสลายของอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดโดยความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุดจะมีการย่อยสลายของอินทรีย์คาร์บอนสูงที่สุด และเมื่อลดความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ลงพบว่าอินทรีย์คาร์บอนมีการย่อยสลายได้น้อยลงตามระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทร์ที่เติมลงไป และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้เติมเชื้อจุลินทรีย์พบว่าทุกชุดการทดลองมีการย่อยสลายของ

อินทรีย์คาร์บอนมากกว่าโดยพิจารณาจากค่าอินทรีย์คาร์บอนที่ลดลง สาเหตุการลดลงของอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมดดังอธิบายไว้แล้วในขั้นต้น

3. ไนโตรเจนทั้งหมด

ไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างกระบวนการหมักปุ๋ยในช่วงเริ่มกระบวนการหมักมีค่าร้อยละ 1.28-1.33 (ตารางผนวกที่ ก1) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป 19 วัน ไนโตรเจนทั้งหมดมีค่าร้อยละ 1.80-1.96 (ตารางผนวกที่ ก2) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางผนวกที่ ข28) ซึ่งปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักได้มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ 2548 ไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็นผลจากสารอินทรีย์เกิดการย่อยสลายและสูญเสียคาร์บอนไปในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งคาร์บอนจะมีการสูญเสียในสัดส่วนที่สูงกว่าไนโตรเจนทำให้สัดส่วนไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้น

4. C/N ratio

C/N ratio มีแนวโน้มลดลงตลอดการทดลองคือในวันแรกของกระบวนการหมัก C/N ratio มีค่าประมาณ 30/1 (ตารางผนวกที่ ก1) และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีค่าอยู่ในช่วง 18.37-20.55 (ตารางผนวกที่ ก2) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางผนวกที่ ข30) โดยมีเพียงชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10^8 CFU/ml และ 10^8 CFU/ml เท่านั้นที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ 2548

ชุดการทดลองที่ 1 ความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ 10^8 CFU/ml C/N ratio มีแนวโน้มลดลง โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักอินทรีย์คาร์บอนต่อไนโตรเจนมีค่าร้อยละ 18.92 ชุดการทดลองที่ 2 ความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ 10^6 CFU/ml C/N ratio มีแนวโน้มลดลงเช่นกัน โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวน การหมัก C/N ratio มีค่าร้อยละ 18.37 ซึ่งชุดการทดลองที่ 2 มี C/N ratio ต่ำกว่าชุดการทดลองที่ 1 เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงกว่า หากพิจารณาจาก C/N ratio สามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นที่ควรนำไปใช้คือ 10^6 CFU/ml เนื่องจากใช้ความเข้มข้นหัวเชื้อเริ่มต้นที่น้อยกว่าแต่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้จนกระทั่งมี C/N ratio ที่ต่ำกว่า

ในชุดการทดลองที่ 3 ความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ 10^4 CFU/ml C/N ratio เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีค่าเท่ากับ 20.12 ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ เนื่องจากยัง

กระบวนการย่อยสลายยังไม่สมบูรณ์ หากต้องการให้มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำกว่า 20/1 ต้องใช้ระยะเวลาที่นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามที่ระดับความเข้มข้น 10^4 CFU/ml เมื่อระยะเวลาผ่านไป 19 วัน อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์

5. ความชื้น

ในช่วงแรกของกระบวนการหมักพบว่าความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยในวันที่ 1 ของกระบวนการหมักความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 68.36-71.59 (ตารางผนวกที่ ก1) ในวันที่ 10 ความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 71.76-75.90 ความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากขณะที่เริ่มหมักปุ๋ยเศษพืชยังยังไม่เกิดการย่อยสลาย ดังนั้นความสามารถในการอุ้มน้ำมีน้อยแต่เมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น เศษพืชซึ่งเป็นสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายมากขึ้นความสามารถในการอุ้มน้ำก็มีมากขึ้นดังอธิบายแล้วในข้างต้น หลังจากนั้นความชื้นมีแนวโน้มลดลงในทุกชุดการทดลองโดยเมื่อระยะเวลาผ่านไป 19 วันความชื้นอยู่ในช่วง ร้อยละ 69.30-70.95 (ตารางผนวกที่ ก2) สาเหตุที่ความชื้นมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากในระหว่างกระบวน การย่อยสลายจะมีความร้อนเกิดขึ้นทำให้ ภายในกองปุ๋ยหมักมีการระเหยของน้ำ ส่งผลให้ความชื้นภาย ในกองปุ๋ยหมักลดต่ำลง

6. pH

การเปลี่ยนแปลง pH ในวันแรกของกระบวนการหมักมีค่าอยู่ในช่วง 6.63-6.76 (ตารางผนวกที่ ก1) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง โดยเมื่อสิ้นสุดการหมักมีค่าอยู่ในช่วง 7.48-7.67 (ตารางผนวกที่ ก2) ซึ่งแบบแผนการเปลี่ยนแปลง pH ตามการทดลองในข้างต้น

7. จำนวนจุลินทรีย์

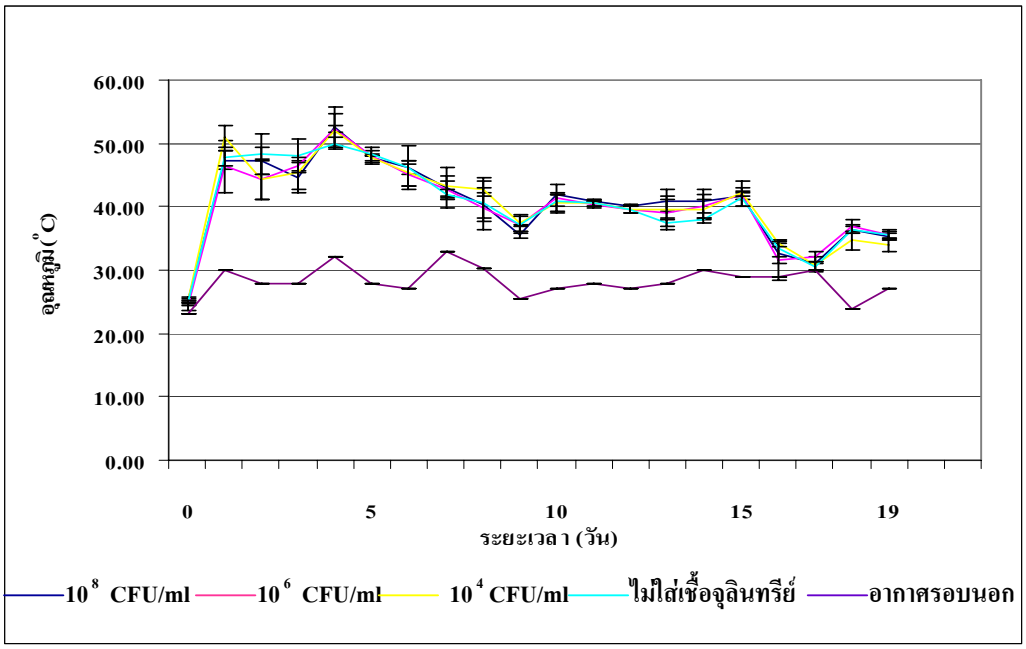
จุลินทรีย์ที่บ่มด้วยอุณหภูมิ 30 ^{o}C ทุกกลุ่มมีการเปลี่ยนแปลงเป็นไปในแนวทางเดียวกันคือมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 0 และ 2 และจะมีจำนวนลดลงในวันที่ 4 เมื่อพิจารณาจากจำนวนจุลินทรีย์รวม พบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีจำนวนเพิ่มขึ้นในวันที่ 2 และมีแนวโน้มลดลงในวันที่ 4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นเชื้อสูง (10^8, 10^6 CFU/ml) จุลินทรีย์รวมมีจำนวนสูงกว่าชุดที่มีความ เข้มข้นของหัวเชื้อ 10^4 CFU/ml และชุดที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ จึงอาจสรุปได้ว่าหากมีความเข้มข้นของเชื้อที่เติมลงไปมากเพียงพอจะช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ภายในกองปุ๋ยหมักให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นได้ (ภาพผนวกที่ก 2, 4, 6, 8, และ 10) ส่วนจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสเมื่อบ่มด้วยอุณหภูมิ 50 ^{o}C มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 2 และ 4 เมื่อ

พิจารณาร่วมกับการผลิตเอนไซม์พบว่าเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ภาพผนวกที่ก4 และ ก13) โดยชุดการทดลองที่มีการเติมจุลินทรีย์มีกิจกรรมเชื้อจุลินทรีย์เนื่องมาจากมีปริมาณเอนไซม์มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 4 เนื่องจากมีการเติมจุลินทรีย์ EMC 3 ลงไปในกองปุ๋ยเพื่อช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ส่วนชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์แต่จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากมีจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงอยู่ภายในกองปุ๋ยหมัก เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นซึ่งเหมาะสำหรับการทำงาน ของเชื้อจุลินทรีย์จึงทำให้ทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนขึ้นและเมื่อพิจารณาจากปริมาณเอนไซม์อะไมเลสวันที่ 0 สูงกว่าวันที่ 4 (ภาพผนวกที่ ก14) เนื่องมาจากในวันที่ 0 มี จำนวนจุลินทรีย์มากกว่าทำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ออกมาเพื่อมาย่อยสลายสารอินทรีย์ แต่ชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 10^4 CFU/mlในวันที่ 0 เชื้อมีจำนวน 2.47 x10^7 CFU/g และในวันที่ 4 มีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 1.06 x10^9 CFU/g ซึ่งปริมาณเอนไซม์มีจำนวนลดลงแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ อะไมเลสไม่ได้มาจากจุลินทรีย์ที่เติมลงไปแต่เกิดจากเชื้อที่มีอยู่แล้วในกองปุ๋ยหมักซึ่งแสดงให้เห็นได้จากชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์โดยในวันที่ 0 เชื้อจุลินทรีย์มีจำนวน 1.51 x10^7 CFU/g และค่อย ๆ เพิ่มจำนวนขึ้นจนกระทั่งวันที่ 4 มีเชื้อจุลินทรีย์ปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 1.28x10^9 CFU/g และปริมาณเอนไซม์ก็มีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วยจาก 0.02 ยูนิตในวันที่ 0 และเพิ่มขึ้นเป็น 0.05 ยูนิตในวันที่ 4 (ภาพผนวกที่ ก11) เชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 4 และมีการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเนื่องจากมีปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น (ภาพผนวกที่ ก11 และ ก14) เชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสของชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นหัวเชื้อ 10^8, 10^6 CFU/ml มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยความเข้มข้นของหัวเชื้อในปริมาณที่สูงเพียงพอ (10^8, 10^6 CFU/ml) จะช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบ เทียบกับ10^4 CFU/ml และชุดที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ (ภาพผนวกที่ ก9)

จุลินทรีย์รวมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 4 ซึ่งเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิสูง แสดงว่าจุลินทรีย์ไม่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตยกเว้นชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์พบว่าจำนวนจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลงเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติถูกยับยั้งการเจริญเติบโต (ภาพผนวกที่ ก3)

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของหัวเชื้อในการนำไปใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์คือความเข้มข้น 10^6 CFU/ml เมื่อพิจารณาจากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ลดลงต่ำที่สุด



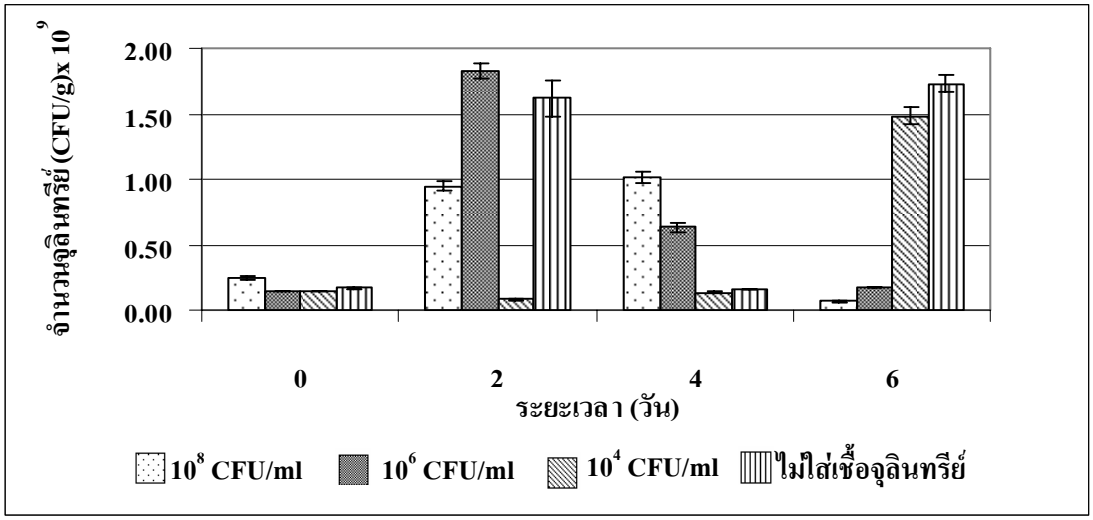
ภาพผนวกที่ ก1 อุณหภูมิตลอดระยะเวลาการหมักปุ๋ยที่มีความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นระดับต่าง ๆ

ตารางผนวกที่ ก1 คุณลักษณะเริ่มต้นของปุ๋ยหมักจากกากอุ่นที่หัวเชื้อความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

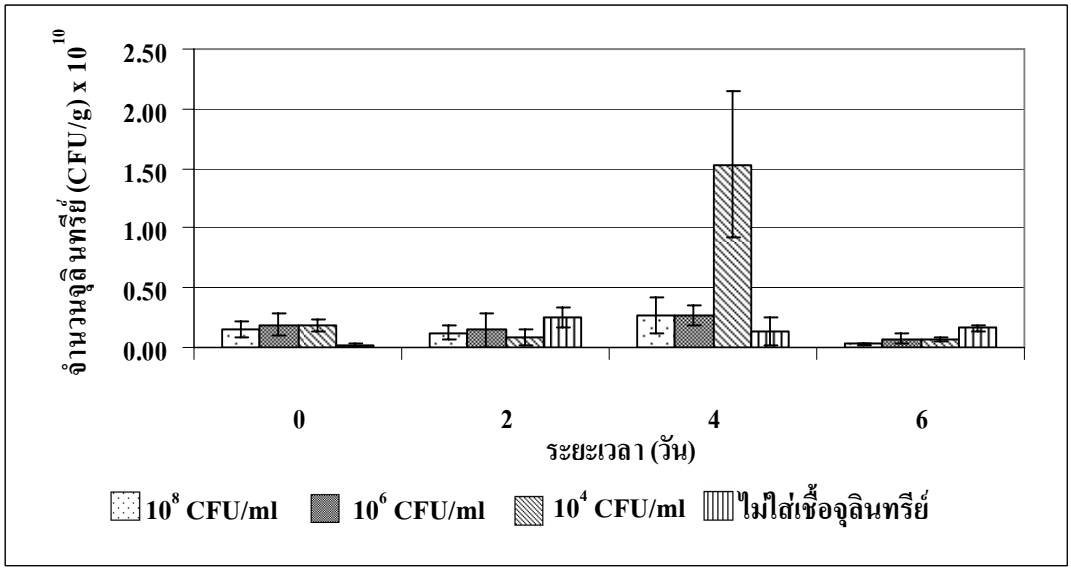
	เริ่มต้นกระบวนการหมัก			
คุณลักษณะ	**10^8**	**10^6**	**10^4**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**
TOC	42.05±1.5	41.79±0.62	42.57±1.37	41.21±0.53
TN	1.29±0.03	1.33±0.01	1.32±0.01	1.28±0.04
C/N	31.98±0.04	31.43±0.63	31.54±0.96	32.20±0.75
pH	6.76±0.01	6.65±0.15	6.67±0.11	6.63±0.10
Moisture	68.89±1.18	74.51+0.76	68.36+1.36	71.59+1.27

ตารางผนวกที่ ก 2 คุณลักษณะของปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักที่หัวเชื้อความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

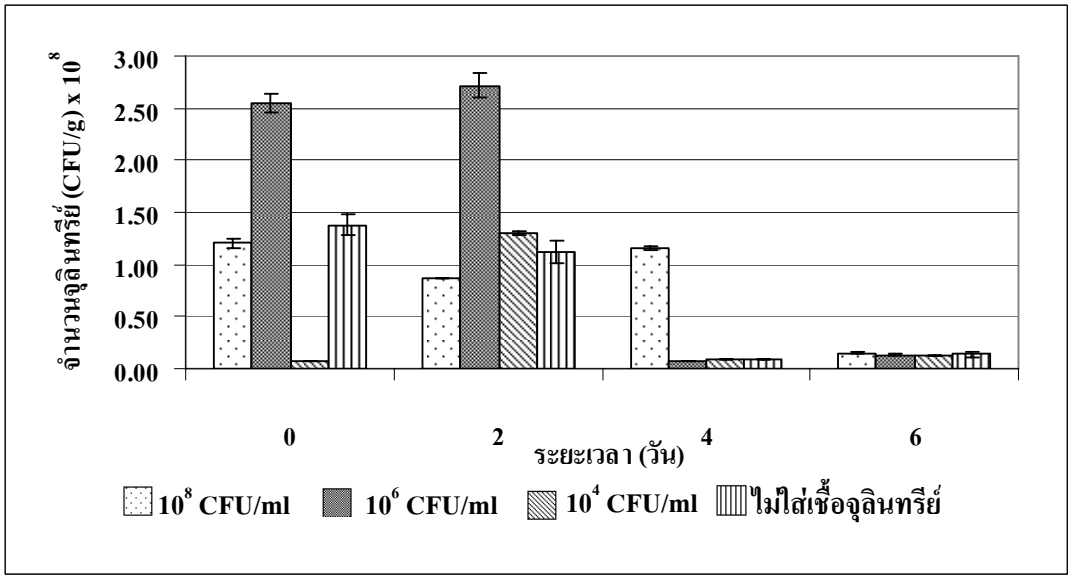
	สิ้นสุดกระบวนการหมัก			
คุณลักษณะ	**10^8**	**10^6**	**10^4**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**
TOC	34.15±1.46	35.99±1.46	36.30±1.431	38.49±1.44
TN	1.81±0.03	1.96±0.03	1.80±0.00	1.87±0.01
C/N	18.92±1.00	18.37±0.68	20.12±1.85	20.55±1.67
pH	7.67±0.07	7.48±0.13	7.53±0.13	7.49±0.14
Moisture	70.09+3.44	70.95+2.53	69.37+4.14	69.57+3.89



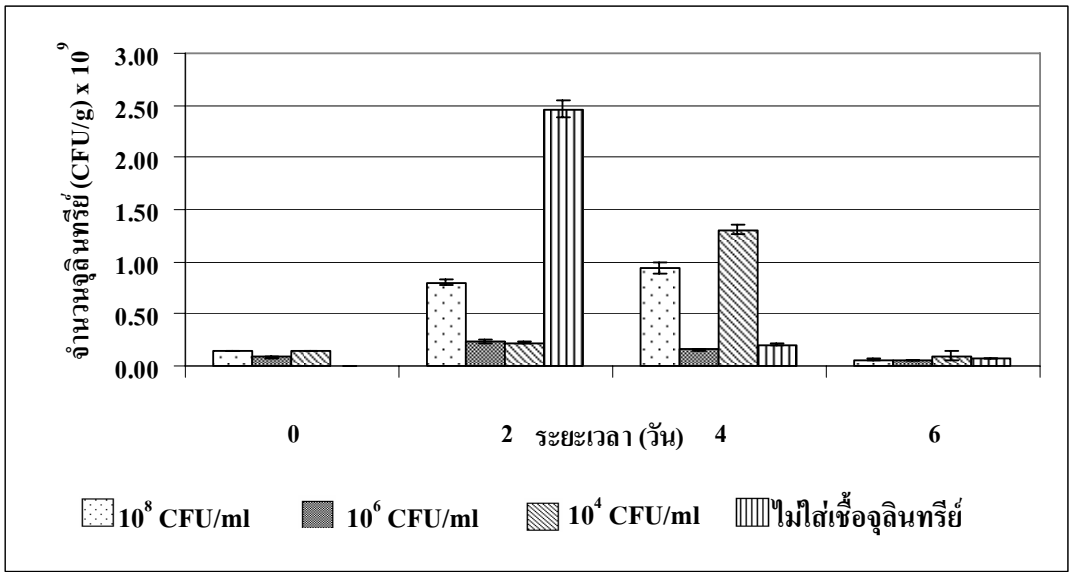
ภาพผนวกที่ ก2 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



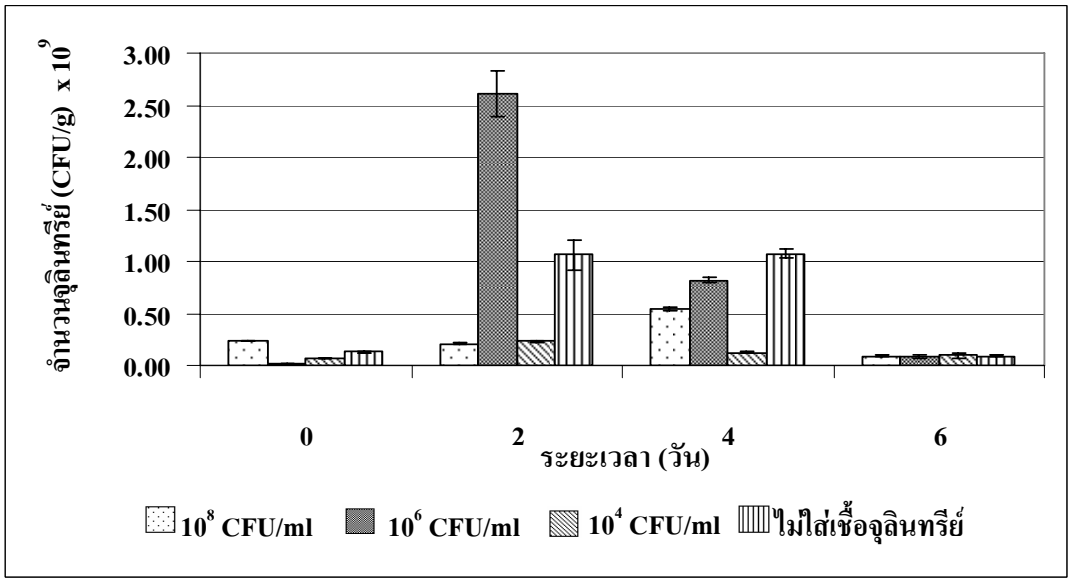
ภาพผนวกที่ ก3 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รวมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่น



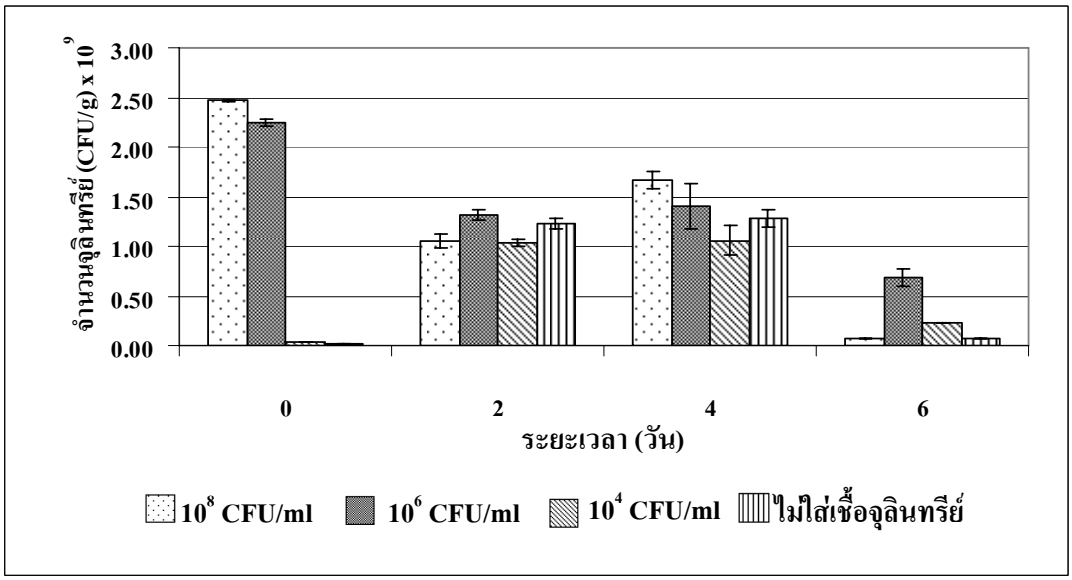
ภาพผนวกที่ ก4 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C



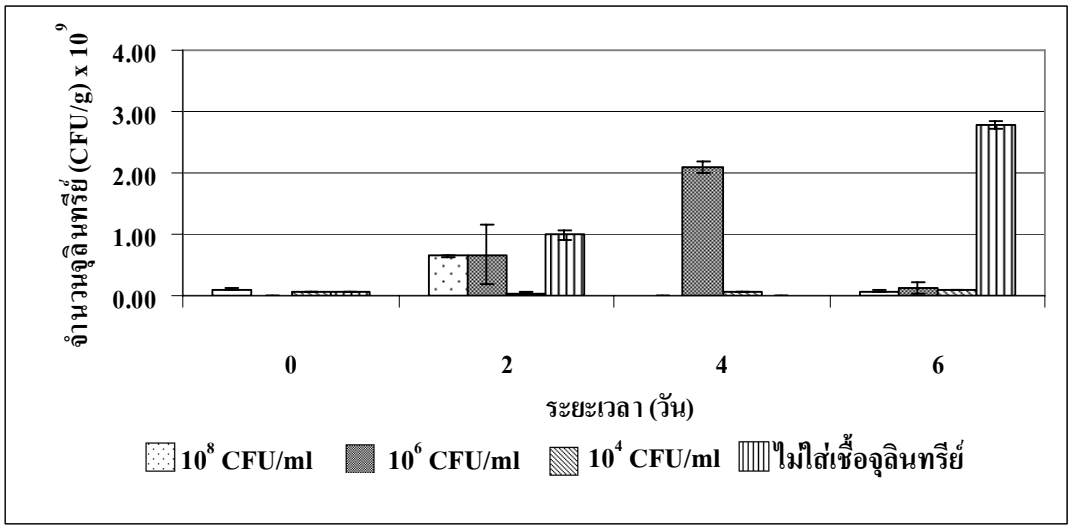
ภาพผนวกที่ ก5 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เคซีเนสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C



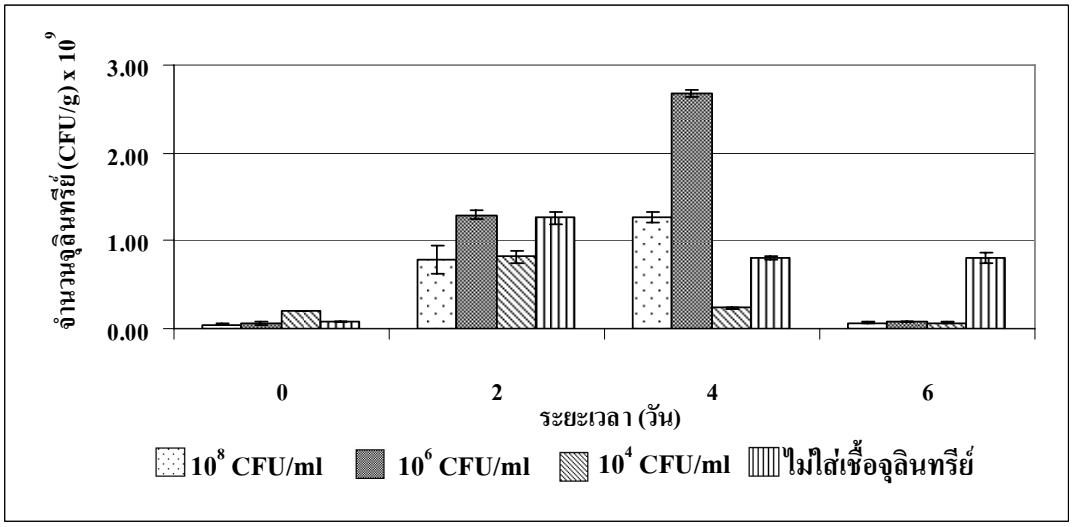
ภาพผนวกที่ ก6 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C



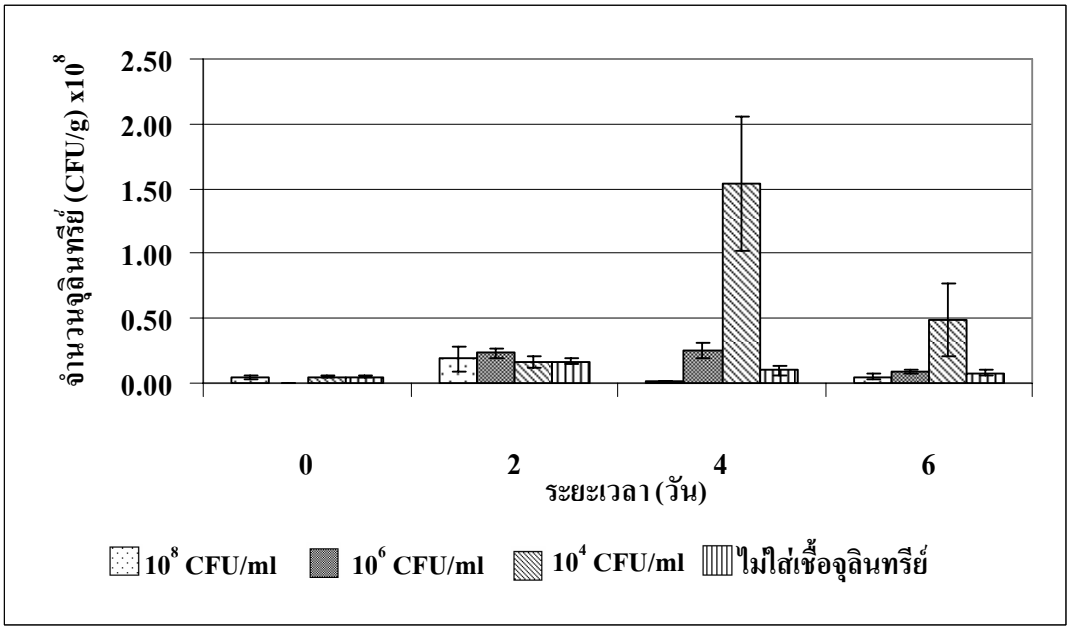
ภาพผนวกที่ ก7 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 °C



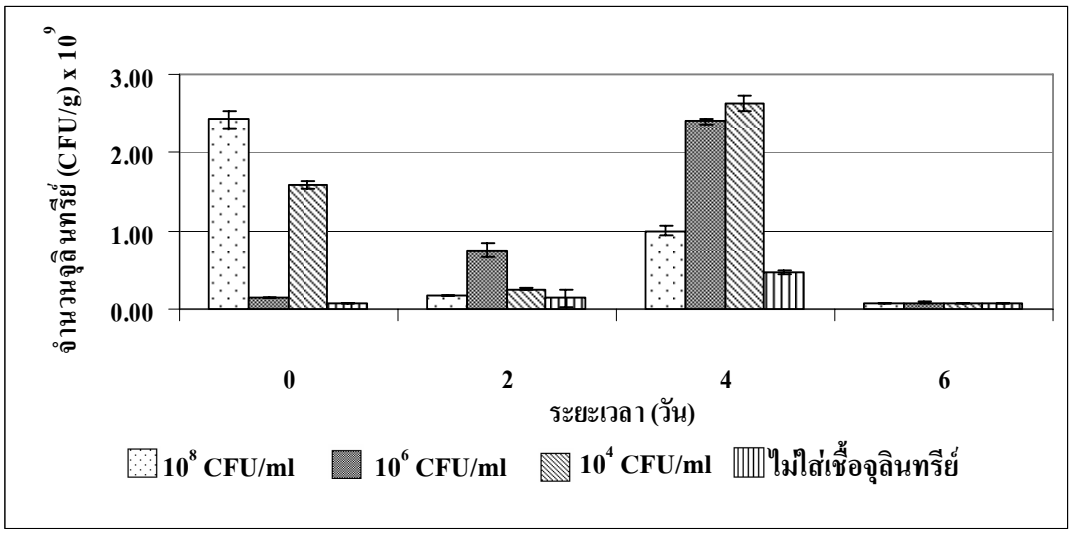
ภาพผนวกที่ ก8 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C



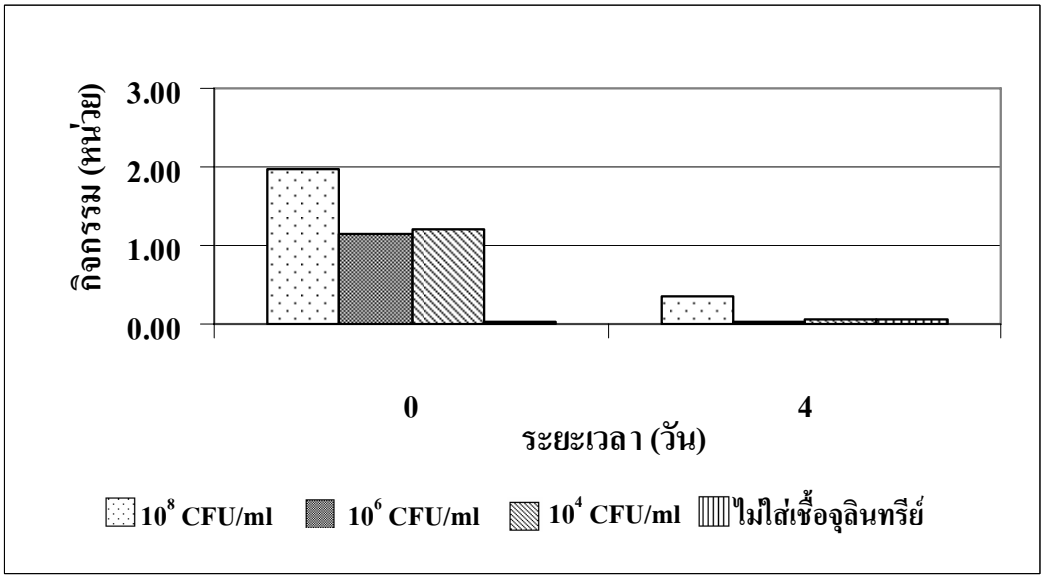
ภาพผนวกที่ ก9 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 ^{o}C



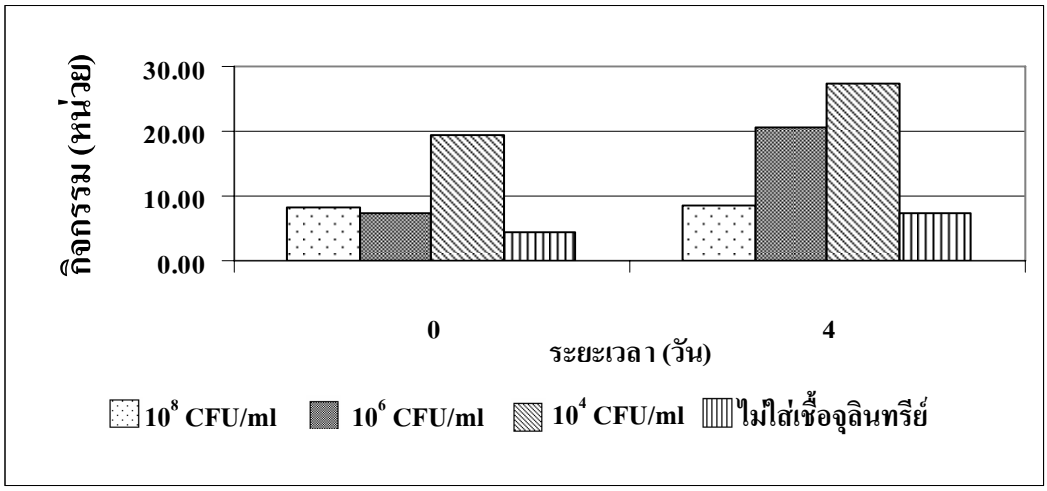
ภาพผนวกที่ ก10 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C



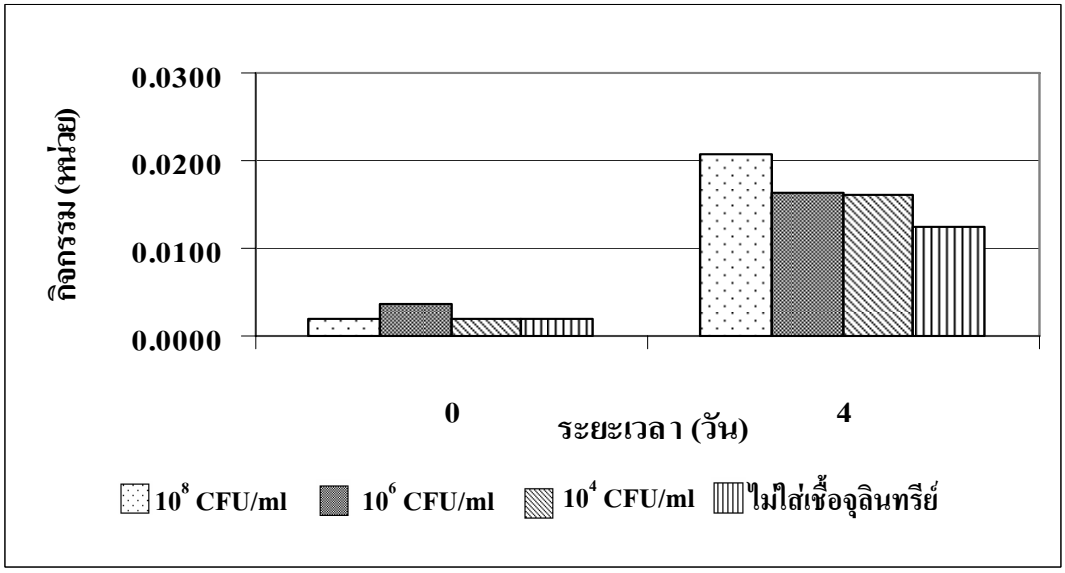
ภาพผนวกที่ ก11 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสระดับความเข้มข้นหัวเชื้อต่าง ๆ ในระหว่างการหมักปุ๋ยกากองุ่นเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 ^{o}C



ภาพผนวกที่ ก12 ปริมาณเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ภายในปุ๋ยหมักในชุดการทดลองต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ ก13 ปริมาณเอนไซม์เคซีเนสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ภายในปุ๋ยหมักในชุดการทดลองต่าง ๆ



ภาพผนวกที่ก 14 ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจุลินทรีย์ภายในปุ๋ยหมักในชุดการทดลองต่าง ๆ

ภาคผนวก ข

ตารางข้อมูลผลการทดลองและค่าทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ข1 อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้า

วัน	อุณหภูมิ (°C)							
	T1	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**	**T7**	**อากาศ**
0	29.8	29.3	29.7	28.8	28.8	28.5	28.7	24.2
	49.2	44.8	51.8	48.2	48.2	46.8	47.8	37.7
	44.5	41.8	45.8	42.5	44.8	42.2	46.0	34.7
	38.5	40.5	41.8	40.5	40.8	39.8	42.5	34.7
	45.5	45.8	47.5	50.7	52.2	45.5	47.8	35.17
5	34.5	34.3	35.0	34.8	35.0	34.3	34.3	28.5
	40.3	39.5	40.8	41.0	41.3	40.3	41.2	31.8
	45.2	42.5	47.5	52.8	48.8	48.5	44.3	34.2
	41.5	44.5	43.8	41.5	41.5	41.5	40.8	34.5
	40.5	40.5	41.5	40.8	40.5	40.7	40.2	34.8
10	44.5	40.7	40.3	40.2	43.2	42.50	42.5	35.3
	42.5	40.0	41.0	41.0	40.3	39.3	40.8	35.8
	41.5	39.8	39.8	40.50	41.8	40.8	40.8	36.5
	42.0	41.5	40.8	38.8	43.5	41.5	41.5	37.5
	41.5	40.5	40.8	40.7	40.8	40.8	40.5	36.8
15	41.0	40.8	40.8	41.0	41.7	40.8	40.8	35.5
	41.5	41.8	41.5	41.8	41.7	41.8	41.3	34.50
	41.8	45.3	40.8	42.8	41.5	42.5	43.3	36.5
	41.8	42.8	40.5	42.8	41.8	42.7	42.5	36.5
	40.8	42.0	40.8	40.8	41.7	41.5	41.2	35.5
20	41.8	40.8	40.8	42.0	41.5	41.5	40.5	35.5
	42.0	41.5	40.5	41.2	40.8	41.2	40.3	32.0

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

วัน	อุณหภูมิ (°C)							
	T1	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**	**T7**	**อากาศ**
	41.5	41.5	40.8	40.5	40.5	41.8	38.8	27.8
	38.8	40.5	41.8	41.2	40.5	40.5	40.5	27.7
	38.8	40.8	39.5	40.8	40.5	39.5	38.7	27.7
25	40.3	41.5	41.5	41.5	40.8	40.8	40.7	35.2
	38.8	40.7	40.5	40.5	40.8	38.2	40.8	36.2
	38.2	38.8	38.2	40.5	40.3	38.2	39.2	35.7
	40.8	40.3	38.2	38.8	39.2	39.7	38.7	35.7
	38.2	38.3	37.2	38.8	38.2	37.3	38.0	28.00
30	38.0	38.2	37.5	37.7	38.8	38.0	37.5	31.5
	38.5	38.5	37.5	38.5	38.0	38.2	37.7	34.7
	37.8	38.5	37.5	37.8	36.5	37.5	36.5	35.0
	36.5	37.2	37.5	37.5	38.5	37.3	38.5	34.8
	37.8	38.8	38.5	37.3	38.0	37.2	37.8	34.3
35	40.8	41.2	38.7	37.8	38.5	39.2	38.5	34.5
	39.2	40.5	41.3	40.8	40.8	40.0	40.8	35.5
	38.5	38.8	39.0	37.8	38.2	37.0	38.5	34.8
	38.5	38.8	38.5	38.2	37.2	37.2	37.7	35.0
	36.5	37.7	38.2	38.7	38.8	37.7	37.0	38.8
40	33.8	34.3	35.2	34.5	34.7	34.3	34.5	29.0
	35.5	35.8	34.8	34.8	34.5	35.8	34.5	28.5
	34.8	34.5	36.2	33.5	35.2	33.8	35.2	29.17
	34.8	35.2	34.5	35.9	33.8	34.7	34.3	32.7
	35.8	37.8	38.2	39.0	37.3	35.7	36.5	37.5
45	39.2	38.2	37.8	38.5	39.0	40.2	38.8	38.7

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

วัน	อุณหภูมิ (°C)							
	T1	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**	**T6**	**T7**	**อากาศ**
	37.5	38.5	38.5	37.3	38.0	38.0	38.2	38.3
	37.5	38.2	39.0	36.7	36.5	37.7	38.8	35.3
	36.7	37.3	37.8	38.5	36.7	37.8	37.5	34.5
49	36.7	37.2	36.5	37.5	36.5	37.0	37.0	34.0

ตารางผนวกที่ ข2 ค่าอินทรีย์คาร์บอนระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

	ระยะเวลา (วัน)					
ชุดการทดลอง	**0**	**9**	**19**	**29**	**39**	**49**
1. EMC 1	51.07	42.21	35.17	31.82	31.15	30.86
2. EMC 2	51.07	49.54	30.42	28.74	28.86	26.29
3. EMC 3	51.07	42.51	34.61	30.98	26.29	26.29
4. EMC 4	51.07	40.07	29.86	31.26	30.58	30.58
5. EMC 5	51.07	44.96	32.1	28.46	31.72	26.57
6. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	51.07	43.12	36.29	35.31	32.29	32.29
7. เติมสารเร่ง พด.1	51.07	42.28	32.1	26.79	28.29	33.72

ตารางผนวกที่ ข3 อิทธิพลของชุดการทดลอง อิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	5	8499.9	1699.98	155.94	0.0001**
error	120	1308.18	10.91		
Trt	6	128.54	21.42	0.26	0.95^{ns}
error	119	9679.54	81.34		
TimexTrt	30	536.21	17.87	2.33	0.0013^{ns}**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการลดค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอน (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**9**	**19**	**29**	**39**	**49**
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด	51.07^{a}	43.67^{b}	32.94^{c}	30.48^{d}	29.88^{d}	29.51^{d}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอน (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง						
	EMC1	**EMC2**	**EMC3**	**EMC4**	**EMC5**	**ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด	37.05^{a}	35.82^{a}	35.29^{a}	35.57^{a}	35.81^{a}	38.40^{a}	35.87^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข4 ค่าไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**9**	**19**	**29**	**39**	**49**
1. EMC 1	0.75	1.04	1.07	1.07	1.28	1.29
2. EMC 2	0.75	0.89	1.08	1.05	1.23	1.32
3. EMC 3	0.75	0.88	0.99	1.44	1.29	1.43
4. EMC 4	0.75	0.83	1.19	1.28	1.27	1.41
5. EMC 5	0.75	0.87	1.33	1.17	1.33	1.44
6. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	0.75	0.91	1.28	1.3	1.24	1.31
7. เติมสารเร่ง พด.1	0.75	0.81	1.26	1.25	1.4	1.7

ตารางผนวกที่ ข5 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	5	6.78	1.36	107.91	0.0001**
error	120	1.51	0.01		
Trt	6	0.25	0.04	0.53	0.78^{ns}
error	119	8.07	0.07		
TimexTrt	30	0.93	0.03	7.17	.0001**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ ข5 (ต่อ)

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยไนโตรเจนทั้งหมด (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**9**	**19**	**29**	**39**	**49**
ไนโตรเจนทั้งหมด	0.75[e]	0.89[d]	1.17[c]	1.22[c]	1.29[b]	1.41[a]

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนทั้งหมด (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง						
	EMC1	**EMC2**	**EMC3**	**EMC4**	**EMC5**	**ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
ไนโตรเจนทั้งหมด	1.08[a]	1.05[a]	1.13[a]	1.12[a]	1.15[a]	1.1[3a]	1.19[a]

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0. 05)

ตารางผนวกที่ ข6 C/N ratioระหว่างการหมักปุ๋ยจากเศษหญ้าเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**9**	**19**	**29**	**39**	**49**
1. EMC 1	68.7	40.64	32.72	29.85	24.41	23.83
2. EMC 2	68.7	55.95	28.27	27.45	23.43	19.89
3. EMC 3	68.7	49.08	35.14	21.74	20.47	18.71
4. EMC 4	68.7	48.66	25.06	24.8	24.03	21.61
5. EMC 5	68.7	52	24.13	24.41	23.89	1.44
6. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	68.7	47.53	28.2	27.25	26.13	24.62
7. เติมสารเร่ง พด.1	68.7	53.87	25.41	21.83	20.4	19.87

ตารางผนวกที่ ข7 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อC/N ratioของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	5	38121.12	7630.42	388.95	.0001**
error	120	2354.17	19.62		
Trt	6	93.81	15.64	0.05	0.1^{ns}
error	119	40412.48	339.60		
TimexTrt	30	1019.43	33.98	2.3	0.0015**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการลดค่าเฉลี่ย C/N ratio

	ระยะเวลา (วัน)					
ปัจจัยในการทดลอง	**0**	**9**	**19**	**29**	**39**	**49**
C/N ratio	68.7^{a}	49.68^{b}	28.42^{c}	25.32d	23.25^{de}	20.95^{e}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการลดลงของค่า C/N ratio

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง						
	EMC1	**EMC2**	**EMC3**	**EMC4**	**EMC5**	**ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
C/N ratio	36.69^{a}	37.28^{a}	35.59^{a}	35.38^{a}	35.26^{a}	37.07^{a}	35.01^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข8 อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

วัน	อุณหภูมิ (°C)				
	EMC3	**EMC5**	**ไม่ใส่เชื้อ**	**เติมพด.1**	**อากาศ**
0	32.00	31.00	31.00	30.67	29.00
	43.67	39.33	40.33	36.00	34.00
	50.33	49.00	49.67	48.67	34
	49.67	51.33	48.33	49.00	35.00
	49.00	50.00	46.67	48.33	35.00
5	44.00	41.00	41.33	40.33	34.00
	40.67	43.00	40.00	41.00	35.00
	41.33	41.00	40.33	40.33	31.00
	35.33	38.67	37.67	36.00	27.00
	36.00	38.00	36.33	36.00	29.00
10	39.67	42.00	41.00	39.33	35.00
	40.33	40.33	39.00	38.00	33.00
	39.33	39.00	37.67	38.67	34.00
	37.00	36.00	35.67	35.00	33.00
	35.33	35.00	36.33	35.67	33.00
15	35.33	35.67	35.33	36.00	34.00
	36.67	36.00	35.67	36.00	33.00
	35.00	35.00	35.67	35.00	32.00
	36.00	36.67	34.33	35.67	31.00
	36.67	36.00	35.67	35.33	31.00

ตารางผนวกที่ ข9 ค่าอินทรีย์คาร์บอนระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
1. EMC 3	48.51	47.70	46.49
2. EMC 5	48.16	46.31	44.68
3. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	49.44	49.01	47.07
4. เติมสารเร่ง พด.1	48.14	48.14	48.14

ตารางผนวกที่ ข10 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	2	23.54	11.77	4.27	0.02**
error	33	90.92	2.75		
Trt	3	23.19	7.73	2.71	0.06^{ns}
error	32	91.27	2.85		
TimexTrt	6	10.35	1.72	0.72	0.63^{ns}

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ ข10 (ต่อ)

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการลดค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอน (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด	48.5625[a]	47.7908[ab]	46.5967[b]

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอน (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง			
	EMC 3	**EMC 5**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด	47.57[ab]	46.39[b]	48.50[a]	48.14[a]

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางผนวกที่ ข11 ค่าไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
1. EMC 3	1.61	2.19	2.56
2. EMC 5	1.61	2.55	2.29
3. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	1.64	2.10	2.48
4. เติมสารเร่ง พด.1	1.62	2.37	2.58

ตารางผนวกที่ ข12 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	2	5.31	2.65	238.09	0.0001**
error	33	0.37	0.11		
Trt	3	0.69	0.02	0.13	0.94^{ns}
error	32	5.60	0.18		
TimexTrt	6	0.08	0.01	1.45	0.23 ^{ns}

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยไนโตรเจนทั้งหมด (%)

	ระยะเวลา (วัน)		
ปัจจัยในการทดลอง	**0**	**9**	**19**
ไนโตรเจนทั้งหมด	1.62^{a}	2.24^{b}	2.54^{c}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยไนโตรเจน (%)

	ชุดการทดลอง			
ปัจจัยในการทดลอง	**EMC 3**	**EMC 5**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
ไนโตรเจนทั้งหมด	2.12^{a}	2.15^{a}	2.07^{a}	2.19^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข13 C/N ratioระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากอุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
1. EMC 3	30.14	21.91	18.24
2. EMC 5	30.00	20.39	44.68
3. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	30.21	23.39	19.02
4. เติมสารเร่ง พด.1	29.79	20.33	17.91

ตารางผนวกที่ ข14 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ย C/N ratio ของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	2	896.88	448.43	287.29	0.0001**
error	33	51.51	1.56		
Trt	3	14.81	4.94	0.17	0.92^{ns}
error	32	933.59	29.17		
TimexTrt	6	8.08	1.35	1.13	0.38^{ns}

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ ข14 (ต่อ)

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการลดค่าเฉลี่ย C/N ratio

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
C/N ratio	30.03[a]	21.51[b]	18.18[c]

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการลดอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง			
	EMC 3	**EMC 5**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**	**เติมสารเร่ง พด.1**
อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	23.43[a]	22.65[a]	24.21[a]	22.68[a]

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข15 ความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**6**	**13**	**20**	**27**	**34**
1. EMC 3	0.00	4.80	8.33	11.33	20.17	25.40
2. EMC 5	0.00	5.56	9.14	12.35	21.38	25.68
3. ปุ๋ย A	0.00	4.35	4.82	4.84	4.88	5.35
4. ปุ๋ย B	0.00	4.28	8.42	12.58	17.67	18.98
5. ปุ๋ย C	0.00	5.01	5.11	5.17	5.58	6.03
6. ไม่ใส่ปุ๋ย	0.00	4.39	5.88	6.37	6.51	7.70

ตารางผนวกที่ ข16 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูกอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจาก กากอุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	5	2618.34	523.68	20.57	.0001**
error	102	2597.19	25.46		
Trt	5	1331.75	266.35	7	.0001**
error	102	3883.78	38.07		
TimexTrt	25	1241.54	49.66	149.58	.0001**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้ง (cm)

	ระยะเวลา (วัน)					
ปัจจัยในการทดลอง	**0**	**6**	**13**	**20**	**27**	**34**
ความสูง	0^{d}	4.73^{c}	6.95^{bc}	8.77^{b}	12.70^{a}	14.86^{a}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้ง (cm)

	ชุดการทดลอง					
ปัจจัยในการทดลอง	EMC 3	EMC 5	ปุ๋ย A	ปุ๋ย B	ปุ๋ย C	ไม่ใส่ปุ๋ย
ความสูง	11.67^{a}	12.35^{a}	4.04^{b}	10.32^{a}	4.48^{b}	5.14^{b}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข17 จำนวนใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**6**	**13**	**20**	**27**	**34**
1. EMC 3	0.00	2.00	4.43	5.33	6.78	6.78
2. EMC 5	0.00	2.00	4.11	5.67	7.33	6.78
3. ปุ๋ย A	0.00	2.00	3.00	3.44	4.11	3.67
4. ปุ๋ย B	0.00	2.00	3.89	4.89	6.89	6.11
5. ปุ๋ย C	0.00	2.00	2.67	3.11	4.45	3.44
6. ไม่ใส่ปุ๋ย	0.00	2.00	3.22	3.78	4.89	4.47

ตารางผนวกที่ ข18 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูกอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยจำนวนใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	5	417.36	83.47	84.13	.0001**
error	102	101.2	0.99		
Trt	5	54.32	10.86	2.39	.0431**
error	102	464.24	4.55		
TimexTrt	25	35.34	1.41	8.82	.0001**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ ข18 (ต่อ)

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยจำนวนใบกวางตุ้ง (ใบ)

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)					
	0	**6**	**13**	**20**	**27**	**34**
จำนวนใบ	0^{e}	2^{d}	3.56^{c}	4.37^{b}	5.74^{a}	5.20^{a}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยจำนวนใบกวางตุ้ง (ใบ)

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง					
	EMC 3	EMC 5	ปุ๋ย A	ปุ๋ย B	ปุ๋ย C	ไม่ใส่ปุ๋ย
จำนวนใบ	4.22^{ab}	4.31^{a}	2.70^{bc}	3.96^{abc}	2.61^{c}	3.06^{abc}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางผนวกที่ ข19 ความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)				
	0	**6**	**13**	**20**	**27**
1. EMC 3	4.18	6.87	10.19	17.61	19.94
2. EMC 5	4.86	6.58	10.34	15.95	19.97
3. ปุ๋ย A	3.50	4.12	4.83	5.27	6.49
4. ปุ๋ย B	4.37	5.45	8.09	11.67	16.11
5. ปุ๋ย C	3.68	4.22	4.21	4.98	6.94
6. ไม่ใส่ปุ๋ย	4.14	4.64	5.42	6.36	8.84

ตารางผนวกที่ ข20 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูกอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	4	967.16	241.79	15.21	0.0001**
error	85	1350.8	15.89		
Trt	5	788.56	157.71	8.66	0.0001**
error	84	1529.4	18.21		
TimexTrt	20	425.52	21.28	9.34	0.0001**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้ง (cm)

	ระยะเวลา (วัน)				
ปัจจัยในการทดลอง	**0**	**6**	**13**	**20**	**27**
ความสูง	4.12^{d}	5.31^{cd}	7.18^{c}	10.30^{b}	13.05^{a}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยความสูงต้นกวางตุ้ง (cm)

	ชุดการทดลอง					
ปัจจัยในการทดลอง	EMC 3	EMC 5	ปุ๋ย A	ปุ๋ย B	ปุ๋ย C	ไม่ใส่ปุ๋ย
ความสูง	11.76a	11.54a	4.84b	9.14a	4.81b	5.88b

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข21 จำนวนใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

	ระยะเวลา (วัน)				
ชุดการทดลอง	**0**	**6**	**13**	**20**	**27**
1. EMC 3	2.00	4.00	5.33	4.44	5.00
2. EMC 5	2.00	3.89	5.00	4.55	5.33
3. ปุ๋ย A	2.00	3.00	3.78	2.89	2.89
4. ปุ๋ย B	2.00	3.56	5.11	4.22	5.11
5. ปุ๋ย C	2.00	3.00	3.00	3.00	2.78
6. ไม่ใส่ปุ๋ย	2.00	3.11	4.11	3.22	3.44

ตารางผนวกที่ ข22 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการปลูก อิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยใบกวางตุ้งเมื่อปลูกด้วยปุ๋ยหมักจากกากองุ่นเปรียบเทียบกับปุ๋ยที่จำหน่ายตามท้องตลาดและไม่ใส่ปุ๋ย

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	**df**	**Sum of Squares**	**Mean Square**	**F Value**	**Pr>F**
Time	4	61.95	15.49	25.3	0.0001**
error	85	52.03	0.61		
Trt	5	31.65	6.33	6.46	0.0001**
error	84	82.32	0.98		
TimexTrt	20	13.7	0.69	6.16	0.0001**

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ ข22 (ต่อ)

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยใบกวางตุ้ง (ใบ)

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)				
	0	**6**	**13**	**20**	**27**
ใบ	2.00^{d}	3.43^{c}	4.39^{a}	3.72^{bc}	4.09^{ab}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยใบกวางตุ้ง (ใบ)

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง					
	EMC 3	**EMC 5**	**ปุ๋ย A**	**ปุ๋ย B**	**ปุ๋ย C**	**ไม่ใส่ปุ๋ย**
ใบ	4.15^{a}	4.15^{a}	2.91^{b}	4.00^{a}	2.75^{b}	3.18^{b}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางผนวกที่ ข23 อุณหภูมิระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ

วัน	อุณหภูมิ (^{o}C)				
	10^{8}	**10^{6}**	**10^{4}**	**ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์**	**อากาศ**
0	25.17	24.33	25.17	24.83	23.00
	47.33	46.33	51.00	47.67	30.00
	47.33	44.33	44.33	48.33	28.00
	44.67	46.33	45.33	48.00	28.00
	52.67	52.33	52.00	50.00	32.00
5	47.83	48.00	47.67	48.33	28.00
	46.20	45.07	45.30	46.20	27.00
	43.00	42.67	43.33	42.00	33.00
	40.40	39.93	42.83	40.60	30.20

ตารางผนวกที่ ข23 (ต่อ)

วัน	อุณหภูมิ (^{0}C)				
	10^{8}	10^{6}	10^{4}	ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	อากาศ
	35.47	37.07	37.43	37.27	25.50
10	42.00	41.33	40.67	41.00	27.00
	41.00	40.33	40.67	40.67	28.00
	40.00	39.67	39.67	39.67	27.00
	41.00	39.00	39.67	37.50	28.00
	40.83	40.00	39.67	37.83	30.00
15	41.67	42.00	42.33	41.33	29.00
	32.67	31.67	34.33	33.33	29.00
	31.00	32.00	30.67	30.50	30.00
	36.50	37.00	34.67	36.50	24.00
	35.33	35.67	34.00	35.50	27.00

ตารางผนวกที่ ข24 ค่าอินทรีย์คาร์บอนระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	9	19
1. 10^{8}	42.04	40.21	34.15
2. 10^{6}	41.79	39.70	35.99
3. 10^{4}	42.57	41.30	36.30
4. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	41.21	41.02	38.49

ตารางผนวกที่ ข25 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	2	210.65	105.32	18.15	0.0001**
error	33	191.48	5.80		
Trt	3	13.00	4.33	0.36	0.78^{ns}
error	32	389.13	12.16		
TimexTrt	6	23.20	3.87	0.60	0.73^{ns}

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการลดค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอน (%)

	ระยะเวลา (วัน)		
ปัจจัยในการทดลอง	**0**	**9**	**19**
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด	41.90^{a}	40.56^{a}	36.23^{b}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อค่าเฉลี่ยอินทรีย์คาร์บอน (%)

	ชุดการทดลอง			
ปัจจัยในการทดลอง	**10^{8}**	**10^{6}**	**10^{4}**	**ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์**
อินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด	40.24^{a}	40.06^{a}	39.16^{a}	38.80^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ ข26 ค่าไนโตรเจนทั้งหมดระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
1. 10^8	1.29	1.82	1.81
2. 10^6	1.33	1.97	1.96
3. 10^4	1.32	1.80	1.80
4. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	1.28	1.87	1.87

ตารางผนวกที่ ข27 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ยไนโตรเจนของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	2	2.50	1.25	96.99	0.0001**
error	33	0.43	0.01		
Trt	3	0.08	0.03	0.30	0.82^{ns}
error	32	2.85	0.09		
TimexTrt	6	0.03	0.01	0.33	0.91^{ns}

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางผนวกที่ ข27 (ต่อ)

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยไนโตรเจนทั้งหมด (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
ไนโตรเจนทั้งหมด	1.31[b]	1.87[a]	1.86[a]

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการเพิ่มค่าเฉลี่ยไนโตรเจน (%)

ปัจจัยในการทดลอง	ชุดการทดลอง			
	10^8	**10^6**	**10^4**	**ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์**
ไนโตรเจนทั้งหมด	1.64[a]	1.76[a]	1.76[a]	1.67[a]

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางผนวกที่ ข28 อัตราส่วน C/N ratio ระหว่างการหมักปุ๋ยจากกากองุ่นเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่าง ๆ

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (วัน)		
	0	**9**	**19**
1. 10^8	31.98	22.16	18.92
2. 10^6	31.43	20.10	18.38
3. 10^4	31.54	22.96	20.11
4. ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์	32.20	21.95	20.55

ตารางผนวกที่ ข29 อิทธิพลของชุดการทดลองอิทธิพลของเวลาในระหว่างการหมักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อค่าเฉลี่ย C/N ratio ของปุ๋ยที่หมักด้วยหัวเชื้อความเข้มข้นต่างๆ

ก. ตารางแสดงค่า F Value และ MS Error

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr>F
Time	2	1025.67	512.83	269.13	0.0001**
error	33	62.88	1.91		
Trt	3	15.01	5.00	0.15	0.93^{ns}
error	32	1073.54	33.55		
TimexTrt	6	8.55	1.43	0.87	0.53^{ns}

หมายเหตุ 1. ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข. อิทธิพลของเวลาต่อการลดค่าเฉลี่ย C/N ratio

	ระยะเวลา (วัน)		
ปัจจัยในการทดลอง	**0**	**9**	**19**
C/N ratio	31.79^{a}	21.79^{b}	19.49^{c}

ค. อิทธิพลของชุดการทดลองต่อการลด C/N ratio

	ชุดการทดลอง			
ปัจจัยในการทดลอง	**10^{8}**	**10^{6}**	**10^{4}**	**ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์**
C/N ratio	24.35^{a}	23.30^{a}	24.86^{a}	24.90^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และอักษรที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ภาคผนวก ค

วิธีทดลองและสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์เคซีเนส

1 สารเคมี

1.1 สารละลายเข้มข้น 1.2% โดยชั่งเคซีน 1.2 กรัมใน 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร นำไปต้มและคนจนละลาย รอจนกว่าสารละลายเคซีนจะเย็นลงจากนั้นปรับ ปริมาตรของสารละลายจนเป็น 100 มล. นำไปต้มและคนจนละลายรอจนสารละลายเคซีนเย็น จากนั้นปรับปริมาตรของสารละลายจนเป็น 100 มล.ด้วย 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.

1.2 Trichloroacetic acid solution (TCA) 0.44 M เป็นสารละลายที่ใช้ตกตะกอนโปรตีน เตรียมโดยชั่ง Trichloroacetic acid 78.92 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1000 มล.

1.3 1 M Folin–ciocalteu reagent ผสมในน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:2 เตรียมก่อนใช้

1.4 0.05 M phosthate buffer pH 7.0 เตรียมโดยผสมสารละลาย A กับ B แล้วปรับ pH ให้ได้ 7.0 สารละลาย A : M/20 $Na_2HPO_4.12H_2O$ โดยใช้ 8.95 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล. สารละลาย B : M/20 K_2HPO_4 โดยใช้ 3.40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มล.

1.5 0.55 M Na_2CO_3 ซึ่งเตรียมโดยชั่ง Na_2CO_3 58.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

2 การวิเคราะห์

2.1 ใส่สารละลายเคซีน 1.2% ปริมาตร 5 มล. ลงไปในหลอดทดสอบ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 10 นาที

2.2 เติมสารละลายเอนไซม์ตัวอย่างที่เจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมลงไป 1 มล. จับเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}C$

2.3 หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย TCA 5 มล. ผสมให้เข้ากันทันที ตั้งทิ้งไว้ตกตะกอนจนสมบูรณ์ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

2.4 กรองตะกอนโปรตีนออกโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

2.5 นำส่วนใสที่กรองไว้ 1 มล. ใส่ลงในหลอดทดสอบเติม Na_2CO_3 5 มล. ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

2.6 เติม 1 N Folin-ciocateu 2 มล. ผสมให้เข้ากันทันที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดสีชัดเจน

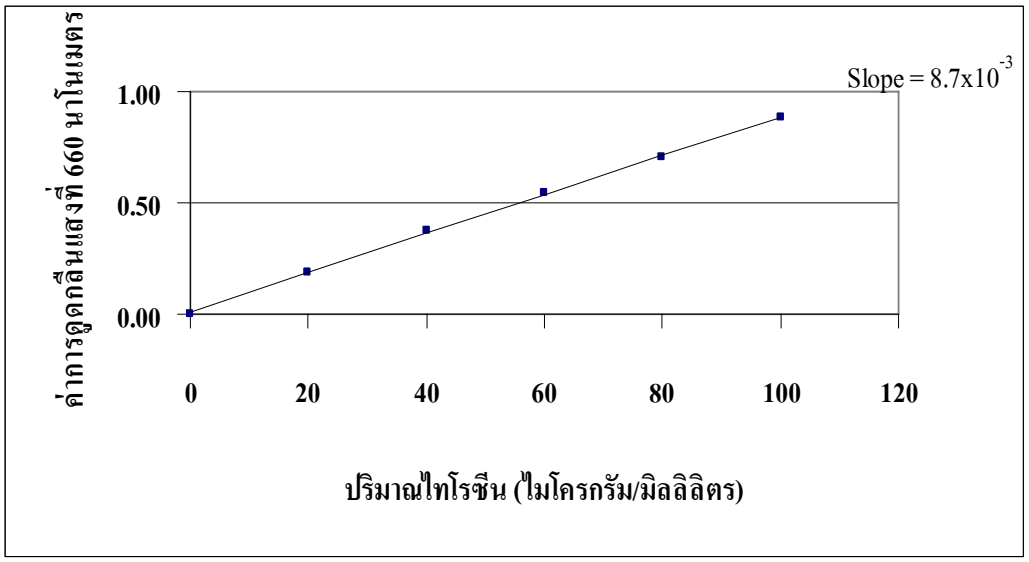
2.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ปรับค่า Blank โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์แทนสารละลายตัวอย่างค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทโรซีน

3 การทำกราฟมาตรฐานของไทโรซีน

เตรียมสารละลายมาตรฐานไทโรซีนความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งไทโรซีน 0.01 กรัม เติม HCl เข้มข้น 2-3 หยด แล้วนำมาละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. โดยใช้ขวดปรับปริมาตร นำสารละลายมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นไทโรซีนเท่ากับ 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารนี้มา 1 มล.ใส่หลอดทดสอบ ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 2.5-2.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับจำนวนไมโครกรัมของไทโรซีน ดังภาพผนวกที่ ค1

การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์เคซีเนสเป็นหน่วยของเอนไซม์

1 หน่วยของเคซีเนส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยเคซีนให้ได้ไทโรซีน 1 ไมโครกรัม ในเวลา 10 นาที ในสภาวะของการวิเ คราะห์



ภาพผนวกที่ ค1 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรกับปริมาณไทโรซีน (ug/ml) ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เคซีเนส

$$\text{หน่วยของเอนไซม์โปรติเอสต่อมิลลิลิตร (unit/ml)} = \frac{(E-E_0) \times b \times c}{E_s \times a \times t}$$

โดยที่ E = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ที่วัดได้เมื่อให้เอนไซม์ย่อยสารตั้งต้นเคซีนเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C

E_0 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ที่วัดได้เมื่อหยุดกิจกรรมในการย่อยของเอนไซม์ก่อนที่จะเติมสารตั้งต้นเคซีน

E_s = ค่าคงที่ที่ได้จากค่าความชันของกราฟมาตรฐานไทโรซีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

a = ปริมาตรสารละลายเอนไซม์ที่ใช้ในการตรวจสอบกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ซึ่งใช้ความเข้มข้นราวละ 1.0 มล.

b = ปริมาตรของสารละลายทั้งหมดก่อนไปทำปฏิกิริยาให้เกิดสี คือปริมาตรของสารละลายเอนไซม์ สารละลายเคซีน และสารละลายที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน(TCA) รวมกันในที่นี้ใช้ปริมาตรรวมเท่ากับ 11 มิลลิลิตร

c = จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายเอนไซม์เริ่มต้น

t = เวลาที่เอนไซม์ทำการย่อยสารตั้งต้นเคซีนในที่นี้ใช้เวลา 10 นาที

การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

1. สารเคมี

1.1 สับสเตรตเอนไซม์เตรียมโดยชั่ง soluble starch 0.5 กรัม ละลายใน (Tri hydroxymethyl) aminomethane (Tris) buffer pH 7.0 ปริมาตร 50 มล. ต้มจนเดือดทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรจนครบ 100 มล.

1.2 Tri (hydroxymethyl) aminomethane (Tris) buffer pH 7.0 เตรียมโดยผสมสาร A และ B แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 7.0 สารละลาย A : 0.2 M Tri (hydroxymethyl) aminomethane เตรียมโดยชั่งสาร Tri (hydroxymethyl) aminomethane 24.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มล.สารละลาย B : 0.2 M กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

1.3 Iodine stock solution เตรียมโดยละลายโปรแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) 0.5 กรัม ในน้ำ 3-5 มล. จากนั้นเติมไอโอดีนเกร็ด (I_2) 1.269 กรัม และเติมน้ำทีละน้อยคนจนไอโอดีนละลาย ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. หากมีตะกอนกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายไอโอดีนไว้ในขวดสีชา และเก็บไว้ในที่มืด

1.4 1 N HCl

2. การวิเคราะห์

2.1 นำสับสเตรต 2 มล. ใส่ลงในหลอดทดสอบ แล้วบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 50 ^{o}C เป็นเวลา 10 นาที

2.2 เติมสารละลายตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม 1 มล. ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 50 ^{o}C เป็นเวลา 10 นาที

2.3 ดูดสารละลายสับสเตรต ที่ใส่สารละลายตัวอย่างแล้ว 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลาย 0.167 uM ไอโอดีน 5 มล. ซึ่งเตรียมใหม่ ๆ (0.2 มล.iodine stock solution ผสมกับ 1 N HCl 1 มล. ปรับปริมาตรให้เป็น 60 มล. โดยใช้น้ำกลั่น) สีของไอโอดีนเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำแป้งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร โดยค่า Blank ใช้สารละลายตัวอย่างที่ชั่วโมงเดียวกับตัวอย่างทุกตัวอย่างและต้องเจือจางเท่ากับตัวอย่างทุกตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ด้วยโดยต้องผ่านการต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาทีก่อน

การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส

1 ยูนิต (unit) หมายถึง ปริมาณของค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป 1 หน่วย ในเวลา 10 นาทีในสภาวะที่ทำการวิเคราะห์

$$\text{หน่วยของเอนไซม์อะไมเลสต่อมิลลิลิตร (unit/ml)} = \frac{B-S}{B} \times d$$

โดยที่ B = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank ที่ 700 นาโนเมตร

S = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 700 นาโนเมตร

d = จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายเอนไซม์เริ่มต้น

การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

1. นำ crude enzyme ปริมาตร 0.5 มล. ใส่ลงในหลอดทดลอง

2. เติม 0.05 sodium citrate buffer pH 4.8 ปริมาตร 1 มล. และกระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาด 1.0x6.0 ซม. (50 มก.) เขย่าให้เข้ากัน

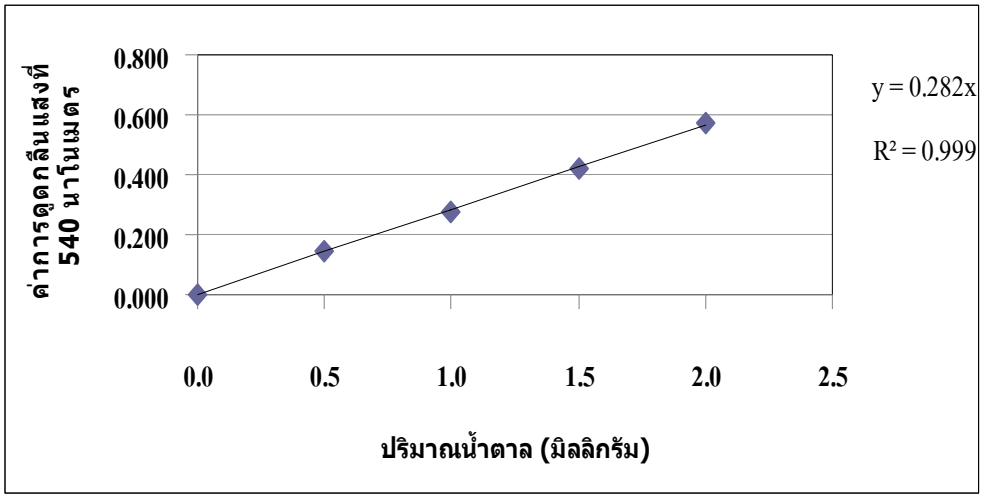
3. นำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 50 $^{\circ}$C นาน 1 ชั่วโมง

4. เติมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) regent ปริมาตร 3 มล. เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5. เติมน้ำกลั่นหลอดละ 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นแสง 540 นาโนเมตร โดยใช้ 0.05 M sodium citrate buffer เป็นหลอดควบคุม (blank) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากกราฟมาตรฐานเพื่อนำไปใช้คำนวณหาค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากสูตรมาตรฐานการคำนวณยูนิตของเอนไซม์เซลลูโลส

1 หน่วยของเอนไซม์ = 1μM ของสารตั้งต้นที่ถูกย่อยใน 1 นาที

$$= \frac{\text{(มิลลิกรัมกลูโคส)x (0.093)}}{\text{มิลลิลิตรของเอนไซม์}}$$



ภาพผนวกที่ ค2 กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร กับปริมาณน้ำตาล (มก.) ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส

วิเคราะห์คุณสมบัติของปุ๋ยหมักโดยวิธีดังต่อไปนี้

1. วิเคราะห์แคดเมียม (Cd), โครเมียม (Cr), ทองแดง (Cu), ตะกั่ว (Pb) ทำการย่อยตัวอย่างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และกรดไนตริก (HNO_3) แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าความเข้มข้น Cd, Cr, Cu และ Pb ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer หรือ ICP-OES

2. วิเคราะห์สารหนู (As) ย่อยตัวอย่างด้วยกรด แล้วนำสารละลายที่ได้มาวัด As ด้วยเครื่อง Hydride Vapor Generator และ Atomic Absorption Spectrophotometer หรือ ICP-OES

3. วิเคราะห์ปรอท (Hg) ย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้วนำสารละลายที่ได้มาวัด Hg ด้วยเครื่อง Cold Vapor Mercury Analyzer Flameless Atomic Absorption Spectrophotometer หรือ ICP-OES

4. วิเคราะห์ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity: EC) ด้วยเครื่อง Conductivity meter

5. วิเคราะห์ฟอสฟอรัส (Total P_2O_5) ย่อยตัวอย่างปุ๋ยด้วยกรดผสม (HClO4:HNO3 = 1:1) จากนั้นทำให้เกิดสีกับสารละลาย ammonium metavanadate (Barton's solution) วัดปริมาณด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

6. วิธีวิเคราะห์โพแทสเซียม (Total K_2O) โดยวิธี Flame Photometer (สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, 2548)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Lipase test medium (Tween 80 agar)

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
$CaCl_2.2H_2O$	0.1	กรัม
Tween 80	10	มล.
น้ำกลั่น	1000	มล.

Tween 80 ให้นึ่งฆ่าเชื้อแยกจากส่วนประกอบอื่นแล้วจึงผสมกันทีหลัง

Sodium caseinnate agar (Skimmed milk agar)

Sodium caseinase หรือ skimmed milk	2.0	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
K_2HPO_4	0.2	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.2	กรัม
$FeSO_4$	trace	
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มล.

Starch agar

Soluble starch	2.0	กรัม
Nutrient agar	1000	มล.

เตรียม nutrient agar 1000 มล. แล้วเติม soluble starch 2 กรัม

Cellulose agar

Cellulose powder	1.0	กรัม
Yest extract	0.1	กรัม
NaCl	0.01	กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	0.25	กรัม
K_2HPO_4	0.025	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.0125	กรัม
$FeSO_4$	0.00025	กรัม
$MnSO_4.4\ H_2O$	0.0025	กรัม
Agar	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มล.

Nutrient agar

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มล.

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวปัญฑารีย์ ค้าทวี
วัน เดือน ปี ที่เกิด	22 ธันวาคม 2526
สถานที่เกิด	เขตปทุมวัน จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยบูรพา
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	นำเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ในการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 12 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สกว.-สสว.) ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (สกว.-สสว.) ประจำปี 2550