ผลของการหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวต่อพลวัตรของปริมาณเชื้อ *Escherichia coli* Miguli และ *Salmonella* spp.

Effect of Poultry Layer and Cow Manure Composting on Dynamic Population of *Escherichia coli* Migula and *Salmonella* spp.

ปิยะมาศ โสมภีร์[1/2/3/] อรวรรณ ฉัตรสีรุ้ง[1/2/] สมพร ชุนห์ลือชานนท์[1/2/]

Piyamat Somphee[1/2/3/] Arawan Shutsrirung[1/2/] Somporn Choonluchanon[1/2/]

ABSTRACT

The research was aimed to reduce contamination and factors affecting dynamic population of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Composting was compared with the non composting of poultry layer and cow feces. The experiment was conducted in RCB design with 3 replications at Mae Hia Agricultural Research Station and Training Centre during June to October 2009. Windrow system was used in the composting of manures. The compost heaps were maintained with humidity at 60-70% and regularly turning over every 15 days. The non composting materials were packed in the plastic bags (used fertilizer sacks). All treatments were periodically sampled at 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126 and 140 days for determination of dynamic microbial population, chemical analysis of the materials and calculation of correlation efficient between microbial population changing and analyzed factors. *E. coli* in composting cow manure were significant continuously decreased until completely disappeared after 84 days of composting. On the other hand, those in non composting were slowly decreased from 6.4

[1/] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50200

Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Mueang district, Chiang Mai province 50200

[2/] ศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

Centre of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/PERDO-CHE), Mueang district, Chiang Mai province 50200

[3/] สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 กรมวิชาการเกษตร อ.สรรพยา จ.ชัยนาท 17150

Office of Agricultural Research and Development Region 5, Department of Agriculture, Sapphaya district, Chai Nat province 17150

to 4.69 log MPN/g from the beginning to the end of experiment. In poultry layer manure, the *E. coli* were completely disappeared after 70 days of composting. Contrast with cow manure *E. coli* in the non composting poultry layer was slightly increased from 2.78 to 4.02 log MPN/g. For *Salmonella* spp., it was not found in poultry layer manure and cow manure when were composted for 56 and 98 days, respectively. However, *Salmonella* spp. was contaminated both in poultry layer and cow feces which were not composted. The decreasing of both microbial population was significantly correlated with the changing of C:N, EC, %OM, pH and temperature in composted poultry layer and cow manure. Nevertheless, the contaminated microbes in non composted cow feces were correlated with only C:N and the temperature, whereas the correlation was not found in the non composting poultry layer.

Key words: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., cow manure, poultry layer manure, composting

บทคัดย่อ

การทดลองเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อทั้งสองชนิดในมูลสัตว์ และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อพลวัตรของปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. โดยทำการทดลองหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัว เปรียบเทียบกับการไม่หมักวัสดุทั้งสองชนิด การทดลองวางแผนแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยสาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ระหว่างเดือนมิถุนายน - ตุลาคม พ.ศ. 2552 โดยวิธีการหมักวัสดุทั้งสองชนิดมีการให้ความชื้น 60-70% และพลิกกลับกองทุก 15 วัน เปรียบเทียบกับวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่ได้หมัก โดยบรรจุในถุงพลาสติก (กระสอบปุ๋ย) สุ่มเก็บข้อมูลทุก 1 3 5 7 14 21 28 42 56 70 84 98 112 126 และ 140 วัน เพื่อตรวจหาปริมาณเชื้อ วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมี และหาความสัมพันธ์ของปัจจัยบางอย่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อทั้งสองชนิด พบว่าปริมาณเชื้อ *E. coli* ในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมักมีปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลง และไม่พบการปนเปื้อนหลังจาก 70 วัน ในขณะที่วัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักปริมาณเชื้อ *E. coli* ไม่ลดลงจากเดิม อีกทั้งยังเพิ่มปริมาณมากขึ้นจาก 2.78 เป็น 4.02 log MPN/g สำหรับมูลวัวหมักไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* หลังจาก 84 วัน ส่วนมูลวัวที่ไม่หมักยังพบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* แต่ปริมาณลดลงจาก 6.40 เป็น 4.69 log MPN/g ส่วนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมักตรวจไม่พบการปนเปื้อนหลังจากหมักไป 56 วัน ขณะที่มูลวัวต้องหมักนาน 98 วัน จึงไม่พบการปนเปื้อน แต่วัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่

หมักยัง พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. จนถึงสิ้นสุดการทดลอง การลดลงของปริมาณเชื้อทั้งสองชนิดนี้ มีความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio) ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณอินทรียวัตถุ (%OM) ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) และอุณหภูมิ กับวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ได้ทำการหมัก อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนการลดลงของปริมาณเชื้อในมูลวัวที่ไม่หมัก มีความสัมพันธ์เฉพาะ C:N ratio และอุณหภูมิเท่านั้น ในขณะที่วัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างปัจจัยต่างๆกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

คำหลัก: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ปุ๋ยคอกจากมูลวัว ปุ๋ยคอกจากวัสดุรองพื้นคอกไก่ การทำปุ๋ยหมัก

คำนำ

ปุ๋ยอินทรีย์เป็นปุ๋ยที่ได้จากการสลายตัวในการหมักวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร หรือวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้วัสดุอินทรีย์เป็นวัตถุดิบ รวมทั้งมูลสัตว์และวัสดุรองพื้นคอกสัตว์ มูลวัวและวัสดุรองพื้นคอกไก่ จัดเป็นของเสียในระบบปศุสัตว์ ที่เกษตรกรนิยมนำมาใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อปรับปรุงบำรุงดินและลดการใช้ปุ๋ยเคมี เพราะปุ๋ยอินทรีย์มีธาตุอาหารพืชและอินทรียวัตถุค่อนข้างสูง เนื่องจากมูลสัตว์ประกอบไปด้วยส่วนของเศษซากพืชและสัตว์ ที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายไปบางส่วนระหว่างการย่อยอาหารของสัตว์ และส่วนที่เป็นปัสสาวะซึ่งอุดมไปด้วยเกลือ และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆที่ละลายน้ำได้ และเมื่อรวมกันก็จะมีองค์ประกอบที่สมบูรณ์ไปด้วยธาตุอาหารพืช จากลักษณะของมูลวัวที่มีเศษของพืชเป็นส่วนใหญ่ และวัสดุรองพื้นคอกไก่มีแกลบมากกว่า 70% ทำให้วัสดุทั้งสองชนิดสามารถช่วยอุ้มน้ำ และมีแรงยึดเหนี่ยวที่พอเหมาะ เมื่อใส่ลงไปในดินช่วยเพิ่มให้ดินอุ้มน้ำ และเก็บรักษาความชื้นได้ดี ทำให้อนุภาคหยาบของดินเกาะตัวกันดีขึ้น ส่วนดินเหนียวก็จะเพิ่มความร่วน และเพิ่มการระบายน้ำและอากาศ (ยงยุทธ, 2541) แต่ในมูลสัตว์หลายชนิดมีเชื้อจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคต่อคนและสัตว์ปนเปื้อนอยู่ด้วย โดยเฉพาะ *Eacherichia coli* Migula และ *Salmonella* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร (Feng *et al.*, 2002) บางรายหากได้รับเชื้อโรคเข้าไปในปริมาณมาก หรือเป็นเชื้อโรคสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง เช่น *E. coli* O1579:H7 อาจทำให้เสียชีวิตได้ (Spiehs and Goyal, 2010) เชื้อดังกล่าวมีรายงานการตรวจพบว่าปนเปื้อนในผลผลิตของพืชที่ใช้วัสดุอินทรีย์ดังกล่าวในการเพาะปลูก โดยเฉพาะพืชผักซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สินค้าในกลุ่มผักสดของประเทศไทยถูกชะลอการส่งออกหลายรายการ (นิรนาม, 2549) และกลายเป็นมาตรการการกีดกันทางการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในมูลสัตว์ต่างๆโดยเฉพาะมูลสัตว์สด (Turner, 2002) แต่ถ้ามีการหมักสามารถทำให้ *E. coli* O157 อยู่ในกองปุ๋ยคอกได้นาน 21 วัน ส่วนเชื้อ *Samonella*

typhimurium Loeffler สามารถอยู่ได้นาน 3-6 สัปดาห์ (Kudva *et al.*, 1998) จากการศึกษาของ Turner (2002) พบว่า *S. enterica* Serovar Newport ที่อยู่ในปุ๋ยคอกจากมูลวัว มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงแรก (1-3 วัน) ของการหมัก 400% แต่ปริมาณของเชื้อลดลงไปตามระยะเวลาของการหมักนาน 14 - 96 วัน ส่วนในมูลไก่สดเมื่อหมักไปได้ 2 วัน *E. coli* O157H:7 ลดลง 1 ถึง 2 log cfu/g ส่วนเชื้อ *S. typhimurium* ปริมาณลดลง 1 ถึง 2 log cfu/g หลังจากหมัก 5 ถึง 6 วัน การลดลงของ *S. typhimurium* และ *E. coli* O157H:7 เมื่อสภาพของมูลสัตว์ที่นำมาหมักมีความชื้นเพียง 10% และมีก๊าซแอมโมเนียเกิดขึ้นจากการหมักอย่างน้อย 1% (Himathongkham and Reimann, 1999) นอกจากนั้นการหมักมูลสัตว์และวัสดุต่างๆ เกิดการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยหลายอย่าง ที่มีผลกระทบต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด เช่น การเกิดความร้อนจากกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์บางกลุ่มที่ส่งผลให้อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักสูงกว่า 55°ซ (Turner, 2002) ทำให้เชื้อทั้งสองชนิดไม่สามารถเจริญได้ (Anon, 2001a) การลดลงขององค์ประกอบคาร์บอนและไนโตรเจน โดยถ้าวัสดุที่นำมาหมักมีค่า C:N สูง มีผลทำให้เชื้อก่อโรคนี้สามารถอยู่ได้ยาวนานกว่าวัสดุที่มีค่า C:N ต่ำกว่า (Haque and Vandepopuliere, 1994) ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงค่า pH การเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้า การระเหยของแอมโมเนีย แอลกอฮอล์ คีโตนและอื่นๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งสองชนิด จนทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ลดลงหรือตายได้ (Erickson *et al.*, 2010) แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของวัสดุอินทรีย์จากการหมักทำให้เชื้อจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไปโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *E. coli* และ *Salmonella* spp ที่ติดมากับมูลสัตว์

ดังนั้นจึงทำการทดลองหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่ และมูลวัวเพื่อใช้เป็นแนวทางในการการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. และหาปัจจัยที่มีผลต่อการลดลงของจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด ก่อนที่จะนำมาใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อใช้ในการเพิ่มธาตุอาหารพืชและปรับปรุงบำรุงดินของเกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การจัดการวัสดุ

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยสาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ ระหว่างเดือนมิถุนายน-ตุลาคม 2552 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ ใช้วัสดุสองชนิดคือ วัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัว เปรียบเทียบกันระหว่างการหมักและไม่หมัก วิธีการหมักได้ทำการกองวัสดุแต่ละชนิด บนพื้นดินภายใต้โรงเรือนแบบเปิด โดยกองให้มีขนาด 1.7 x 2.2 x 0.7 ม. ซึ่งเป็นขนาดที่สะดวกต่อการจัดการ (สุพจน์, 2544) ปรับความชื้นของกองวัสดุทั้งสองชนิดให้ได้ประมาณ 60-70% โดยก่อนนำวัสดุไปหมัก ผึ่งวัสดุไว้ในที่ร่มให้เหลือความชื้นประมาณ 10%

แล้วปรับความชื้นด้วยการฉีดพ่นน้ำ แล้วจึงปรับความชื้นโดยน้ำหนักตามความต้องการ (Muenchang, 2005) และทำการพลิกกลับกองทุก 15 วัน ทุกครั้งที่มีการกลับกองมีการเติมน้ำเพื่อรักษาความชื้นให้ได้ 60-70% เท่าเดิมเสมอ โดยเติมน้ำให้เท่ากับน้ำหนักที่หายไป ดำเนินการทั้งหมด 3 ซ้ำ สำหรับวัสดุที่ไม่มีการหมัก ได้บรรจุวัสดุแต่ละชนิดในถุงพลาสติก (ถุงปุ๋ย) ขนาด 50 x 90 ซม. โดยใส่ให้เหลือพื้นที่ไว้ประมาณ 20 ซม. เพื่อมัดปากถุง (ตามกรรมวิธีของเกษตรกร) ไม่มีการปรับความชื้น สุดท้ายจะได้น้ำหนักของวัสดุรองพื้นคอกไก่หนักประมาณ 30 กก./ถุง ส่วนมูลวัวมีน้ำหนักประมาณ 40 กก./ถุง วัสดุแต่ละชนิดทำทั้งหมด 3 ซ้ำ นำถุงของวัสดุที่บรรจุเรียบร้อยแล้วมาวางในโรงเรือน บริเวณเดียวกับการหมักวัสดุ

การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp.

สุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัว ซึ่งหมักบริเวณกลางกองและรอบกองที่ระดับความลึกประมาณ 30-40 ซม. แล้วสุ่มเก็บให้ทั่วทั้งกองทั้งด้านบนและด้านข้าง รวมทั้งหมด 10 จุดของแต่ละกอง คลุกเคล้าตัวอย่างให้เข้ากันก่อนนำไปวิเคราะห์ส่วนประกอบ และปริมาณเชื้อจุลินทรย์ สำหรับวัสดุที่บรรจุในถุงทำการสุ่มเก็บจากบริเวณกลางถุง 1 จุด และข้างถุง 2 จุด ในระดับความลึกประมาณ 20-30 ซม. ทำการเก็บตัวอย่างวัสดุหมักทุก 1 3 5 7 14 21 28 42 56 70 84 98 112 126 และ 140 วัน นำตัวอย่างที่สุ่มเก็บในแต่ละช่วงมาตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อทั้งสองชนิด โดยวิธีการตรวจสอบการปนเปื้อน *E. coli* ทำตามวิธีของ Feng และคณะ (2002) ซึ่งเป็นวิธี Most probable number (MPN) มีวิธีการดังนี้ ชั่งตัวอย่างวัสดุหมัก 50 ก. ใส่ลงใน Butterfield's phosphate-buffered; BPB 450 มล. ในถุง stomacher ขนาด 178 x 305 มล. (Bibby Sterilin, Staffs, UK) นำไปเขย่า (ซ้าย-ขวา) ด้วยเครื่องเขย่า (Yuamato shaker SA31, Japan) ด้วยความเร็ว 250 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายมา 1 มล. ใส่ลงใน BPB 9 มล. ได้เป็นระดับการเจือจางที่ 1:100 และนำที่ระดับการเจือจางนี้มา 1 มล. ใส่ลงในของ BPB 9 มล. ได้เป็นระดับการเจือจางที่ 1:1,000 แล้วนำแต่ละระดับการเจือจางมาอย่างละ 1 มล. ใส่ลงใน Lauryl sulfate tryptose broth (LST) (Merck, Darmstadt, Germany) ที่มีปริมาตร 10 มล. ซึ่งภายในมีหลอดดักก๊าซอยู่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±0.5°ซ เป็นเวลา 24-48±2 ชม. ตรวจสอบการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ จากนั้นนำสารละลายจากอาหาร LST 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหาร *E. coli* broth (EC) (Merck, Darmstadt, Germany) ปริมาตร 8 มล. ที่มีหลอดดักก๊าซอยู่ข้างใน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45.5°ซ เป็นเวลา 24-48±2 ชม. ตรวจสอบการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ เพื่อความถูกต้องของผลบนอาหาร Levine's eosin-methylene blue (L-EMB) agar (Merck, Darmstadt, Germany) โดยเทคนิค streak plate คือใช้ลูป

(loop) แตะอาหาร EC หลอดที่เกิดก๊าซ จากนั้นขีด (streak) ลงบนอาหาร L-EMB แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35°ซ เป็นเวลา 24±2 ชม. สังเกตลักษณะโคโลนีของเชื้อ *E. coli* ซึ่งมีสีดำอาจมีหรือไม่มีสีโลหะมันวาว (metallic sheen)

วิธีการตรวจสอบการปนเปื้อน *Salmonella* spp. ดัดแปลงวิธีของ Andrews และ Hammack (2007) คือชั่งตัวอย่าง 25 ก. ใส่ลงใน Trypticasein soy broth (TSB) (Lab-Scan, Bangkok, Thailand) ที่มีปริมาตร 225 มล. นำไปเขย่า (ซ้าย-ขวา) ด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมา 1 มล. ใส่ใน Tetrathionate broth (TT) (Merck, Darmstadt, Germany) (10 มล.) และอีก 0.1 มล. ใส่ในของอาหาร Rappaport และ vassiliadis broth (RV) (Merck, Darmstadt, Germany) (10 มล.) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42±0.2 °ซ เป็นเวลา 24±2 ชม. เมื่อครบกำหนดนำมาขีดบนอาหาร 3 ชนิดคือ Bismuth sulfite agar (BS) (Lab-Scan, Bangkok, Thailand), Hektone enteric agar (HE) (Lab-Scan, Bangkok, Thailand) และ Xylose lysine deoxecholate agar (XLD) (Merck, Darmstadt, Germany) บ่มที่อุณหภูมิ 35 °ซ เป็นเวลา 24±2 ชม. สังเกตลักษณะของโคโลนีบนอาหาร โดยโคโลนีของ *Salmonella* ที่เจริญบนอาหาร BS มีสีน้ำตาล สีเทาหรือสีดำ บางครั้งอาจมีสีโลหะมันวาว ส่วนลักษณะโคโลนีของ *Salmonella* ที่เจริญบนอาหาร HE มีสีเขียวแกมน้ำเงินหรือสีน้ำเงิน อาจมีหรือไม่มีสีจุดสีดำตรงกลาง หรือมีสีดำทั้งโคโลนี และลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร XLD มีสีชมพู อาจมีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลาง หรือมีสีดำทั้งโคโลนี

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพวัสดุหมักและไม่หมัก

วัดอุณหภูมิของวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัว ทั้งในแบบหมักและไม่หมักทุก 1 3 5 7 14 21 28 42 56 70 84 98 112 126 และ 140 วัน โดยวัดกลางกองและกลางถุงพลาสติกด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิแบบ pocket thermometers ซึ่งทำด้วยสแตนเลส (stainless steel probe) (Hanna, Mauritius) ตัวอย่างที่สุ่มเก็บแต่ละระยะนำมาวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆตามวิธีของนิรนาม (2548) โดยนำตัวอย่างมาอบที่อุณหภูมิ 75°ซ จนแห้ง จากนั้นนำมาบดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มล. ต่อมาวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ดังนี้คือ สัดส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน (C:N ratio) อินทรีย์คาร์บอน (organic carbon, OC) และอินทรียวัตถุ (organic matter, OM) โดยมีวิธีการคือ ชั่งตัวอย่างที่บดเรียบร้อยแล้วมา 0.1 ก. ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติม $K_2Cr_2O_7$ ที่มีความเข้มข้น 1 N จำนวน 10 มล. แล้วเติม H_2SO_4 (conc.) 10 มล. หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตร 100 มล. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นจึงหยด O-phenanthroline ferrous sulfate ประมาณ 6 หยด นำมาไตเตรตด้วย $FeSO_4.7H_2O$ ความเข้มข้น 0.5 N จนได้สารละลายสีเขียวและเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลปนแดง ซึ่งค่าที่ได้เป็นเปอร์เซ็นต์ของ

อินทรีย์คาร์บอน ต่อมานำค่านี้ไปคูณกับ 1.7241 จะได้เป็นค่าของเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุ ส่วนสัดส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน ต้องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดก่อน ซึ่งมีวิธีทำดังนี้ คือชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 0.2 ก. เติม salicylic acid 0.5 ก., sodiumthiosulfate 1 ก.,, catalyst mixture 0.5 ก. และเติมกรด H_2SO_4 (conc.) ปริมาตร 10 มล. นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 250°ซ จนได้สารละลายใสไม่มีสี ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น นำมาปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น นำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจน (Gerhardt, USA) โดยใช้สารละลายตัวอย่างปริมาตร 25 มล. เติม NaOH ที่มีความเข้มข้น 40% ปริมาตร 40 มล. รองรับด้วย boric acid indicator solution 10 มล. ที่บรรจุอยู่ใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. กลั่นจนได้สารละลาย 100 มล. นำมาไตเตรตต่อด้วย H_2SO_4 เข้มข้น 0.02 N เมื่อได้ค่าเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดแล้วนำค่าที่ได้ไปหาสัดส่วนกับเปอร์เซ็นต์อินทรีย์คาร์บอนจะได้เป็น C:N ratio

ความเป็นกรดด่าง (pH) และความสามารถในการนำไฟฟ้า (electrical conductivity, EC) ชั่งตัวอย่าง 2.5 ก. เติมน้ำกลั่น 25 มล. คนให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Beckman, California, USA) และ EC meter (ECScan high, Ayer Rajah Crescent, Singapore)

ข้อมูลที่ได้นำมาประมวลผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม statistix 8.0 (Tallahassee, FL, USA) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้การทดสอบ Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างวิธีด้วย Least significant difference (LSD) และสำหรับสหสัมพันธ์ (correlation efficient) ใช้วิธี Pearson correlation

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp.

ในการนำวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวมาหมักเปรียบเทียบกับไม่หมัก พบว่าปริมาณเชื้อ *E. coli* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ตามระยะเวลาในการหมัก โดยวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวลดลงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งไม่พบการปนเปื้อนเมื่อหมักไปนาน 70 และ 84 วัน ตามลำดับ ในขณะที่มูลวัวที่ไม่หมักยังพบการปนเปื้อน *E. coli* แต่ปริมาณลดลงจากเดิม 6.40 log MPN/g เหลือ 4.69 log MPN/g ในส่วนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมัก ปรากฏว่าไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อนี้ที่ระยะ 56 วัน แต่มูลวัวต้องหมักนานถึง 70 วัน จึงไม่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. แต่วัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่มีการหมัก ยังมีการปนเปื้อน *Salmonella* spp. อยู่จนถึง 140 วัน (Table 1) การตายหรือการลดปริมาณลงของเชื้อโรคนี้เกิดจากปัจจัยหลายอย่างในกระบวนการหมัก เช่น การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักที่สูงจนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งสองชนิดไม่สามารถทนอยู่ได้ (Turner, 2002) การลดลงของค่า pH การเพิ่มขึ้นของค่า

Table 1. Quantity of *Escherichia coli* and contamination of *Salmonella* spp. in each periodically sampling of composting and non composting chicken layer and cow feces

Timing (days)	Quantity of *E.coli* (log MPN/g)[1/]				Contamination of *Salmonella* spp.[2/]			
	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
1	3.701.26	2.780.03	5.980.67	6.400.52	+	+	+	+
3	2.910.05	2.770.01	5.630.77	5.180.92	+	+	+	+
5	2.870.01	2.770.01	5.670.06	6.450.01	+	+	-	+
7	2.880.01	2.750.00	4.970.25	5.860.01	+	+	+	+
14	2.890.07	2.740.00	4.090.56	5.020.75	+	-	-	+
21	2.880.02	5.431.57	4.741.07	5.410.28	+	+	+	-
28	2.900.05	3.610.01	4.310.74	5.730.57	+	-	+	+
42	2.850.00	2.710.00	3.250.38	5.590.27	+	-	+	-
56	3.530.02	2.690.00	2.900.01	5.571.04	-	-	+	-
70	0.000.00	2.99 0.36	4.500.13	5.400.86	-	+	-	+
84	0.000.00	3.771.07	0.000.00	5.710.27	-	+	+	+
98	0.000.00	3.340.32	0.000.00	5.630.38	-	+	-	+
112	0.000.00	2.810.01	0.000.00	4.530.25	-	+	-	-
126	0.000.00	3.540.80	0.000.00	4.730.59	-	+	-	-
140	0.000.00	4.021.31	0.000.00	4.691.25	-	+	-	+

[1/] Each value represents mean standard deviation of three replications. M1 is poultry composting layer, M2 is non composting poultry layer, M3 is composting cow feces and M4 is non composting cow feces

[2/] The symbol + is positive test and - is negative test

การนำไฟฟ้า เป็นต้น ซึ่งทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ของจุลินทรีย์จนทำให้กิจกรรมลดลง หรือตายได้ (Vega-Mercado *et al.*, 1996; Petric and Selimbasic, 2008) แสดงว่าการหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวเป็นระยะเวลานานขึ้นมีผลทำให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ลดลงตามไปด้วย สอดคล้องกับรายงานของ You และคณะ (2006) ที่พบว่า *S. enterica* มีปริมาณลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยในช่วง 14 - 32 วัน ลดลงไป 1 $\log_{10}$ 28 - 64 วัน ลดลงไป 2 $\log_{10}$ และ 42 - 96 วัน ลดลงไป 3 $\log_{10}$ และเช่นเดียวกับการทดลองของ Kudva และคณะ (1998) *E. coli* O157:H7 มีปริมาณลดลงจาก 10^5-10^8 cfu/g เป็น 10^1-10^2 cfu/g เมื่อหมักปุ๋ยคอกนาน 12 เดือน

ส่วนการลดลงของมูลวัวที่ไม่ได้ผ่านกรรมวิธีการหมัก (บรรจุลงในถุงพลาสติก) ปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก

วัสดุมีสภาพแห้ง เพราะความชื้นเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญ การสืบพันธุ์ กิจกรรมและการอยู่รอดของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่สามารถดูดซับอาหารที่เป็นของแข็งผ่านทางผนังเซลล์โดยตรงได้ จำเป็นต้องอาศัยความชื้นหรือน้ำเป็นตัวทำลายอาหารที่เป็นของแข็ง เพื่อให้เซลล์สามารถดูดซับอาหารได้ โดยเชื้อ *E. coli* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดี ถ้าหากวัสดุที่อาศัยอยู่มีความชื้นน้อยกว่า 15% (Anon, 2010b) และจากการศึกษาของ Himathongkham และ Riemann (1999) พบว่า *E. coli* และ *S. typhimurium* ในปุ๋ยคอกที่ทำจากมูลไก่มีปริมาณลดลง (8 log unit) หากมีความชื้นภายในกองปุ๋ยหมักน้อยกว่า 10% นอกจากนี้ยังรวมไปถึงการสะสม CO_2 และการได้รับออกซิเจนน้อยเนื่องจากถูกบรรจุอยู่ในถุงพลาสติก ซึ่งออกซิเจนเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* (Anon, 2001a; Anon, 2010c)

แต่ในทางตรงกันข้ามวัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักกลับมีปริมาณเชื้อ *E. coli* มากขึ้นจากเดิม 2.78 log MPN/g เป็น 4.02 log MPN/g (Table 1) เนื่องจากในระยะการทดลอง 140 วัน (Figure 1) สังเกตได้ว่าปัจจัยต่างๆของวัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับมูลวัวที่ไม่หมัก รวมถึงวัสดุทั้งสองชนิดที่หมัก ที่มีการเปลี่ยนแปลงมากกว่า (Figure 1) จึงทำให้มีแหล่งของอาหารเหลือพอที่ทำให้เชื้อ *E. coli* เจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ต่อไปได้ และจากลักษณะของวัสดุรองพื้นคอกไก่ที่มีปริมาณแกลบเป็นส่วนมากถึง 70% ทำให้แกลบสามารถเก็บรักษาความชื้นได้ดีกว่า และเช่นเดียวกันพบว่าในบางช่วงตรวจไม่พบการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* spp. สลับกันกับตรวจพบการปนเปื้อนทั้งในวัสดุรองพื้นคอกไก่ และมูลวัวที่ไม่หมักที่ 14 28 ถึง 56 วัน ในวัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักที่ 21 42 56 112 และ 126 วัน ในมูลวัวไม่หมัก (Table 1) อาจเนื่องจากการในบางช่วงสภาพอากาศร้อนและแห้ง จึงมีผลทำให้เชื้อ *Salmonella* spp. ลดลงมากจนกระทั่งตรวจไม่พบ แต่เมื่อได้รับความชื้นในช่วงที่ฝนตกทำให้เชื้อ *Salmonella* spp. กลับมาเจริญและเพิ่มปริมาณขึ้นอีกครั้ง ประกอบกับการไม่หมักวัสดุทำให้ไม่มีปัจจัยที่มีผลกระทบต่อกิจกรรมของเชื้อ *Salmonella* spp. มากนัก เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Chandler และ Craven (1980) ที่พบว่า *E. coli* และ *S. typhimurium* ที่อยู่ในสภาพดินแห้งเป็นเวลา 14 วัน สามารถกลับมาเจริญใหม่ได้หากได้รับความชื้นพอเพียง

ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่างๆกับปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp.

การเปลี่ยนแปลงสัดส่วน C:N ของวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่มีการหมัก พบว่าเมื่อหมักนานขึ้นสัดส่วน C:N ลดลงอย่างชัดเจนตามระยะเวลาที่หมัก โดยมูลวัวหมักลดลงมากที่สุดจาก 15:1 เป็น 8:1 ขณะที่วัสดุรองพื้นคอกไก่ลดลงจาก 21:1 เป็น 12:1 สำหรับวัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักสัดส่วน C:N ก็ลดลงในระดับ

เดียวกันกับที่มีการหมัก ส่วนมูลวัวที่ไม่หมักค่า C:N ลดลงอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Figure 1a) และเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ (correlation efficient) กับปริมาณเชื้อ *E. coli* พบว่าการลดลงของ C:N จากการหมักวัสดุมีความสัมพันธ์กับการลดลงของเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีค่า r^2 เท่ากับ 0.60, และ 0.71 ตามลำดับ แต่วัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่ได้หมัก การเปลี่ยนแปลงค่า C:N ไม่มีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) แสดงว่าสัดส่วน C:N ลดลง ส่งผลให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ลดลงตามไปด้วย (Figure 1a) สอดคล้องกับรายงานของ Erickson และคณะ (2009) ที่พบว่าการนำวัสดุที่มีอัตราส่วน C:N เป็น 40:1 มาทำปุ๋ยหมักทำให้ *E. coli* O157:H7 สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ยาวนานกว่าใช้วัสดุที่มีอัตราส่วน C:N เป็น 30:1 และ 20:1

สำหรับค่าการนำไฟฟ้ามีความแตกต่างกันตามชนิดของวัสดุ กล่าวคือในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมัก ค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้นในระยะ 3-42 วัน (1.63- 2.76 dS/m) ของการหมัก หลังจากนั้นลดลงเหลือ 1.98 dS/m (140 วัน) ส่วนในมูลวัวหมัก ค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มสูงขึ้นในระยะ 1-112 วัน (1.24-3.04 dS/m) หลังจากนั้นค่าการนำไฟฟ้าลดลง (2.12 dS/m) สำหรับวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่หมักก็มีค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นในระยะแรก (1-14 วัน) หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนไม่มากหนัก (Figure 1b) แต่อย่างไรก็ตาม ค่าการนำไฟฟ้าที่สูงขึ้นของวัสดุทั้งสองชนิดที่นำมาหมักนี้ ก็อยู่ในช่วงมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ที่กำหนดโดยกรมวิชาการเกษตร (นิรนาม, 2548) เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อปรากฏว่า การหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่ให้ผลในเชิงบวกโดยมีค่า r^2 เท่ากับ 0.38 กล่าวคือเมื่อหมักเป็นระยะเวลานานขึ้น (56 วันเป็นต้นไป) ค่าการนำไฟฟ้าลดลง และปริมาณเชื้อ *E. coli* ก็ลดลงตามไปด้วย แต่ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อกับการหมักมูลวัวหมักมีความสัมพันธ์กันในเชิงลบ โดยมีค่า r^2 -0.53 แสดงว่าเมื่อหมักมูลวัวนานขึ้น (1-112 วัน) มีผลทำให้ค่าการนำไฟฟ้าสูงขึ้นแต่ปริมาณเชื้อ *E. coli* กลับลดลง ในขณะที่วัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่หมักไม่มีความสัมพันธ์ที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับการเพิ่มขึ้นหรือลดลง (Table 2) การสูงขึ้นของค่าการนำไฟฟ้านี้ส่งผลกระทบต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเกลือที่แลกเปลี่ยนได้ของธาตุอาหาร จากองค์ประกอบของวัสดุที่นำมาหมัก เมื่อธาตุอาหารละลายในน้ำเกลือของธาตุอาหารเหล่านี้จะแตกตัวเป็นประจุบวกและประจุลบ ซึ่งเป็นตัวนำไฟฟ้า ทำให้มีค่าความนำไฟฟ้าเกิดขึ้นและจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเกลือของธาตุอาหารที่ละลายอยู่ในน้ำ (Petric and Selimbaic, 2008) โดยเกลือมีผลทำให้เกิดแรงดันออสโมติก (osmotic) ต่อเซลล์จุลินทรีย์ทำให้น้ำภายในเซลล์ไหลออกมาจนเกิดการเสียสภาพของเซลล์ (plasmolysis) (Tokashvnad *et al.*, 2006)

การหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัว

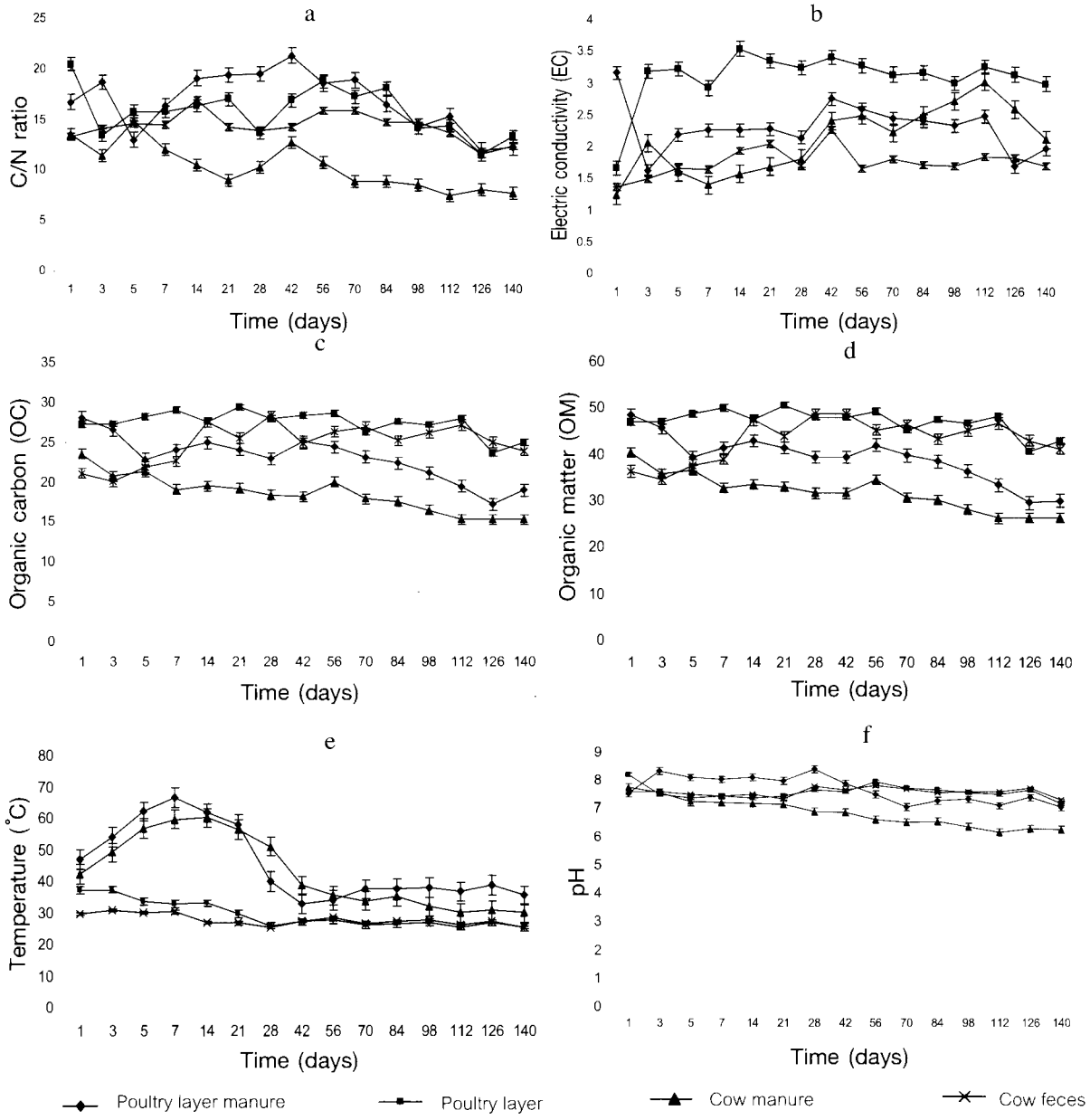

Figure 1. Dynamic changing properties of poultry layer and cow manures during 140 days of composting including ratio of carbon and nitrogen(C:N), electrical conductivity (EC), percent of organic carbon (OC), percent of organic matter (OM), potential of hydrogen ion (pH) and temperature, the error bars represent the standard error.

เป็นเวลานานขึ้นมีผลทำให้อินทรีย์คาร์บอน (OC) ลดลงอย่างเด่นชัด โดยในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมักลดลงจาก 28.12% เป็น 18.95% มูลวัวหมักลดลงจาก 23.49% เป็น 15.33% ในขณะที่วัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่หมักถึงแม้จะลดลงแต่ก็ยังสูงกว่าที่หมัก (Figure 1c) และเช่นเดียวกันการหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุ (OM) ลดลงแตกต่าง

กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวัสดุรองพื้นคอกไก่หมักลดลงจาก 48.47% เป็น 40.50% และมูลวัวหมักลดลงจาก 30.09% เป็น 26.43% ในขณะที่วัสดุทั้งสองชนิดที่ไม่หมักมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ คงเหลือสูงกว่าที่หมักคือ 42.97 และ 41.26% ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาการทดลอง 140 วัน (Figure 1d) ในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างอินทรีย์วัตถุกับปริมาณเชื้อ พบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกในวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวหมักเท่านั้น โดยมีค่า r^2 0.50 และ 0.59% (Table 2) ซึ่งการลดลงของอินทรีย์วัตถุและอินทรีย์คารบอน นั้นเกิดจากกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์พวก mesophilic microorganism และ themophlil microorganism เช่น *Thermoactinomycetes* sp., *Penicilium* sp., *Thermomonospora* sp., *Streptomyces* sp., *Aspergillus* sp., และ *Bacillus* sp., เป็นต้น (Gaur, 1987) ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในกองปุ๋ยหมัก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่หมักอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่เริ่มหมัก และขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 7 ของการหมัก วัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ 66.7°ซ ส่วนในมูลวัวหมักอุณหภูมิขึ้นสูงสุดที่ 60.3°ซ เมื่อหมักนาน 14 วัน จากนั้นอุณหภูมิลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 70 ของการหมักจึงเริ่มคงที่อยู่ในช่วง 30.1 - 37.5°ซ ซึ่งต่างจากในวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่หมักพบว่าอุณหภูมิสูงเฉพาะช่วงแรก (1 - 21 วัน) แต่ก็ยังต่ำกว่าอุณหภูมิในวัสดุทั้งสองชนิดที่หมัก หลังจากนั้นอุณหภูมิเริ่มคงที่เมื่อเข้าสู่วันที่ 28 - 140 โดยมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25.4° - 27.9°ซ (Figure 1e) และเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อพบว่าอุณหภูมิมีผลอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติต่อ

Table 2. Correlation (Pearson) of *E. coli* in poultry layer and cow manure both in composting and non composting on various factors at 1 - 140 days

Composting methods[1/]	Factors[1/]					
	C/N ratio	EC	OC(%)	OM(%)	Tm (C)	pH
M1	0.60**	0.38**	0.52**	0.50**	0.36**	0.65**
M2	-0.11^{NS}	-0.45^{NS}	-0.19^{NS}	-0.18^{NS}	-0.12^{NS}	-0.28^{NS}
M3	0.71**	-0.53**	0.59**	0.59**	0.79**	0.77**
M4	0.31*	-0.02^{NS}	0.07^{NS}	0.10^{NS}	0.41**	0.12^{NS}

[1/] M1 is poultry composting layer, M2 is non composting poultry layer, M3 is composting cow feces and M4 is non composting cow feces, NS = non significant, ** = highly significant, the symbol - is negative correlation

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมัก มูลวัวที่หมักและมูลวัวไม่หมัก โดยมีค่า r^2 0.36, 0.79 และ 0.41 ตามลำดับ (Table 2) การสูงขึ้นของอุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเกิดขึ้นจากกิจกรรมการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ของจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือพวก mesophilic bacteria ซึ่งจะเจริญและแพร่พันธุ์ได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 10 ° - 45°ซ และอีกกลุ่มคือ thermophilic bacteria พวกนี้จะเจริญได้ในอุณหภูมิระหว่าง 45 ° - 70°ซ (ฉัตรชัย, 2553) แต่ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะอุณหภูมิสูงได้ โดยอุณหภูมิที่ *E. coli* สามารถเจริญได้ดีคือ 6.5 ° - 49.4°ซ. สำหรับ *Salmonella* spp. สามารถเจริญได้ดีที่ 5.2 ° - 46.2°ซ (Anon, 2001a; Anon, 2010c) แต่อุณหภูมิของกองวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวหมักมีอุณหภูมิสูงกว่าที่ไม่หมัก จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดลดปริมาณลงและตายในที่สุด และจากการศึกษา Turner (2002) พบว่าการให้อุณหภูมิสูง 55°ซ กับการหมักตอซังและมูลสุกร มีผลทำให้ *E. coli* 11943 มีกิจกรรมลดลง และจากการศึกษาของ You และคณะ (2006) พบว่า *S. enterica* มีปริมาณเพิ่มขึ้นในปุ๋ยคอกที่เริ่มหมักในช่วง 1 - 3 วัน (400%) แต่หลังจากหมักไปแล้ว 35 วัน ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ก็ลดลงไปเรื่อยๆ ภาวะอุณหภูมิที่เกิดขึ้นดังกล่าวนี้นอกจากลดกิจกรรมหรือปริมาณ *E. coli* และ *S.* spp. แล้วยังสามารถที่จะลดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นๆได้อีกด้วย เช่น *Clostridium perfringens* Veillon & *Zuber Enterococus faecalis* Orla-Jensen (Islan *et al.*, 2004; Wacharasukan *et al.*, 2009)

การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวหมัก พบว่าเมื่อหมักนานขึ้น pH ลดลง โดยในมูลวัวหมักลดลงจาก 7.76 เป็น 6.23 ซึ่งลดมากกว่าวัสดุรองพื้นคอกไก่หมัก (7.53 เป็น 7.05) และนอกจากนี้ยังต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ในวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวที่ไม่หมัก (Figure 1f) เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *E. coli* พบว่ามีความสัมพันธ์กับการหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวเท่านั้น โดยมีค่า r^2 0.65 และ 0.77 (Table 2) กล่าวคือเมื่อหมักนานขึ้นปริมาณเชื้อลดลง และค่า pH ก็ลดลงตามไปด้วย ซึ่งการลดลงของ pH เกิดจากการระเหยของแอมโมเนีย เนื่องจากมีการปลดปล่อย H^+ จากกระบวนการ nitrification และ กระบวนการการระเหยของแอมโมเนีย จากกิจกรรมของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน (nitrifying bacteria) (Petric and Selimbasic, 2008) ซึ่งพบว่ามีการปลดปล่อย nitrogenase enzyme complex ออกมาทำให้ค่า pH ลดลง อยู่ระหว่าง 6.5-7.5 ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเหลวภายในไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์จุลินทรีย์ก่อโรค ทำให้แรงดันออสโมติก (osmotic) ไม่สมดุล (Vega-Mercado *et al.*, 1996) ถึงแม้ว่าเชื้อ *E. coli* สามารถอยู่ได้ในช่วง pH 4-9 ก็ตาม (Anon, 2010a) แต่เมื่อมีการลดลงของค่า pH ในขณะหมักวัสดุต่างๆ ก็ส่งผลกระทบต่อเชื้อ *E. coli* ได้ เช่น การศึกษาของ Larney และคณะ (2003)

พบว่าเมื่อหมักตอซังและเศษไม้เป็นเวลานาน 14 วัน ค่า pH ลดลงจาก 8.1 และ 7.3 เป็น 6.8 ตามลำดับ เช่นเดียวกับการหมักกากนม ทำให้ pH ลดลง 5.69 มีผลให้กิจกรรมของ *E. coli* ลดลง (Vega-Mercado *et al.*,1996)

แสดงว่าการลดลงของปริมาณเชื้อก่อโรคต่างๆภายในกระบวนการหมักมูลสัตว์นั้นต้องอาศัยหลายปัจจัยที่ส่งเสริมกันไม่ใช่เพียงปัจจัยใดปัจจัยหนึ่ง หากมีการจัดการที่ถูกต้องและเหมาะสมกับมูลสัตว์ต่างๆ ก่อนนำมาใช้ทางการเกษตรจะช่วยให้ผลผลิตที่ได้มีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลอง

การหมักวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวทำให้ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* โดยเมื่อหมักมูลวัวนาน 70 และ 84 วัน ในขณะที่วัสดุรองพื้นคอกไก่ที่ไม่หมักปริมาณเชื้อไม่ลดลงจากเดิมอีกทั้งยังเพิ่มปริมาณมากขึ้นจาก 2.78 เป็น 4.02 log MPN/g มูลวัวที่ไม่หมักพบว่ายังมีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* แต่ปริมาณก็ลดลงจากเดิม 6.40 เป็น 4.69 log MPN/g เมื่อหมักนาน 140 วัน สำหรับการปนเปื้อน *Salmonella* spp. ในวัสดุรองพื้นคอกไก่หมักตรวจไม่พบเมื่อหมักนาน 56 วัน แต่มูลวัวต้องหมักนาน 98 วัน จึงไม่พบการปนเปื้อน *Salmonella* spp. ส่วนวัสดุทั้งสองชนิดที่ไม่หมักยังพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ฉะนั้นก่อนนำวัสดุรองพื้นคอกไก่และมูลวัวไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ในการปลูกพืช ควรต้องหมักอย่างน้อย 70 - 98 วัน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE)

เอกสารอ้างอิง

ฉัตรชัย จันทร์เด่นดวง. 2553. *การทำปุ๋ยหมัก*. http://www.vcharkarn.com. vaaticle/ 38803, 11/6/2553.

นิรนาม. 2548. *คู่มือการวิเคราะห์ปุ๋ยอินทรีย์*. ควิกปริ้นท์ ออฟเซ็ท กรุงเทพฯ. 45 หน้า.

นิรนาม. 2549. *การส่งออกผักและผลไม้ที่จะต้องมีหนังสือรับรองการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ E. coli และ Salmonella* ในการส่งออก. กรมการค้าต่างประเทศ. http:// www.dft.moc.go.th/news/ news__detail.asp? news__id=264& category__id=3, 22 /6/ 2553.

ยงยุทธ โอสถสถา ศุภามาศ พนิชศักดิ์พัฒนา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชัยสิทธิ์ ทองจู. 2541. *ปฐพีวิทยาเบื้องต้น*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 546 หน้า.

สุพจน์ ชัยวิมล. 2544. ปุ๋ยหมัก หน้า 42-56. *ใน: เอกสารประกอบการสัมมนาเนื่องในโอกาสฉลองครบรอบ 10 ปี ของการจัดตั้งสถาบันพัฒนาและส่งเสริมปัจจัยการ*

ผลิตขึ้นในกรมส่งเสริมการเกษตร วันที่ 23 มกราคม 2544 ณ ห้องประชุมกรมส่งเสริมการเกษตรชั้น 5 (อาคารหลังที่ 1) กรุงเทพฯ. 42-56.

Andrews W.H. and T. Hammack. 2007. *Salmonella*. http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070149 #authors, 17/6/2010.

Anon. 2010a. *Bacterial Pathogen Growth an Inactivation*. FDA U.S. http://www.fda.gov/food/ GuidanceComphanceRegulatoryInformation?GuidanceDuc..., 11/6/2010.

Anon. 2010b. *Oxygen Requirement for Bacteria Growth.* Integrated Publish. http//www/ tpub.com /content/armymedical/MD0181/MD01810013.htm, 10/6/2010.

Anon. 2010c. *Environmental Conditions for Pathogenic Bacteria Growth*. Seafood Network Information Centre. http://seafood.vedavis.edu/pub/pathogen.htm, 11/6/2010.

Chandler D.S. and J.A. Craven. 1980. Relationship of soil moisture to survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in soils. *Australian J. of Agric. Res.* 31(3): 457-555.

Erickson M., C. Liao, J. Ma, L. Jiang, X. Doyle and P. Michael. 2009. Pathogen inactivation in cow manure compost. *Compost Sci. Utilization* 17: 229-236.

Erickson, M., G. Boyhan, C. Smith, L. Ma, X. Jiang and M.P. Doyle. 2010. Fate of manure-borne pathogen surrogates in static composting piles of chicken litter and peanut hulls. *Bioresources Tech.* 101: 1014-1020.

Feng P., S.D. Weagant and M.A. Grant. 2002. *Enumeration of Escherichia coli and the Coliform bacteria*. http://www.fda.gov/food/scienceresearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm064948.htm#authors, 17/6/2010.

Gaur A.C. 1987. Recycling of organic wastes by improved techniques of composting and other methods. *Res. and Conserv.* 13: 157-174.

Haque A.K.M.A. and J.M. Vandepopuliere. 1994. Compost cage layer manure with poultry litter. *Applied Poultry Res.* 3: 268-273.

Himathongkham S. and H. Riemann. 1999. Destruction of *Salmonella*

typhimurium, *Escherichia coli* O1579:H7 and *Listeria monocytogenese* in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. *FEMS Microb. Letters* 171:179-182.

Islan M., J. Morgan, M.P. Doyle, S. C. Phatak, P. Millner and X. Jiang. 2004. Fate of *Salmonella enterica* Serova, *Typhimurium* on carrots and radishes grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Applied and Environ. Microb.* 70(4): 2497-2502.

Kudva I.T., K. Blanch and C.J. Hovde. 1998. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Applied Environ. Microb.* 64(9): 3166-3174.

Larney F., L.J. Yanke, J.J. Miller and T.A. McAllister. 2003. Fate of Coliform bacteria in composted beef cattle feedlot manure. *Environ. Quality* 32: 1508-1515.

Meunchang S., S. Panichsakpatana and R.W. Weaver. 2005. Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. *Bioresource Tech.* 96: 437-442.

Petric I. and V. Selimbasic. 2008. Composting of poultry manure and wheat straw in a closed reactor: optimum mixture ration and evolution of parameters. *Biodegradation* 19: 53-63.

Spiehs M. and S. Goyal. 2010. *Best Management Practices for Pathogen Control in Manure Management Systems*. http://minnessota4h.net/distribution/livestocksystems/ DI8544.html, 28/6/2010.

Tokashvnad M.A., D. Hashemabadi, B. Kaviani and S.S. Hoor. 2006. Cane molasses: an ammonia suppressant in the composting manure and municipal wastes. *Environ. Sci.* 3: 567-573.

Turner C. 2002. The thermal inactivation of *Escherichia coli* in straw and pig manure. *Bioresource Tech.* 84: 57-61.

Vega-Mercado H., U.R. Pothakamury, F.J. Chang, G.V. Barbosa-Canovas and B.G. Swanson. 1996. Inactivation of *Escherichia coli* by combining pH, ionic strength and pulsed electric fields hurdles. *Food Res. Intern.* 29(2): 117-121.

Watcharasukarn M., P. Kaparaju, J.P.

Steyer, K.A. Krogfelt and I. Amgelidaei. 2009. Screening *Escherichia coli*, *Enterococus faecalis*, and *Clostridium perfringens* as indicator organisms in evaluating pathogen-reducing capacity in biogas pants. *Microb. Ecol.* 58:221-230.

You Y., S.C. Rankin, H.W. Aceto, C. E. Benson, J.D. Toth and Z. Dow. 2006. Survival of *Salmonella* spp. *enterica* Serovae Newport in manure and manure-amended soils. *Applied and Environ. Microb.* 72(9): 5777-5783.