# บทที่ 5

## สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปรับปรุงคุณภาพของปุ๋ยหมัก โดยจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน เพื่อทำปุ๋ยหมักจากเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว และเพิ่มปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในปุ๋ยหมักให้สูงขึ้นพร้อม ๆ กัน ซึ่งอาจเป็นแนวทางที่จะนำไปสู่การลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีและลดปัญหาปริมาณวัสดุเหลือใช้ที่มีอยู่มากมายลงได้ ซึ่งได้ดำเนินการแยกและคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน จากแหล่งต่าง ๆ ศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกได้ และวิเคราะห์คุณภาพปุ๋ยหมักที่ได้เมื่อเติมแบคทีเรียดังกล่าวเปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรีย

โดยการทดลองนี้สามารถแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน ได้ทั้งหมด 12 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยการคัดเลือกขั้นแรก ตรวจสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ $C_x$ cellulase หรือ CMCase บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งปราศจากไนโตรเจนที่มี Carboxymethyl cellulose หรือ CMC เป็นแหล่งคาร์บอน การย่อยสลายของ CMC จะเห็นเป็นบริเวณใส (clear zone) เกิดขึ้นรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรีย ภายหลังการย้อมอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยสีคองโก เรด (Suyama และคณะ, 1993) การวัดการสร้างเอนไซม์ $C_x$ celluase ในเชิงคุณภาพ อาจทำได้โดยการคำนวณค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใส (บริเวณที่ CMC ถูกย่อยสลาย) ต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ให้ค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ในอัตราส่วนที่สูงมีแนวโน้มที่จะมีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ $C_x$ celluase (Hankin และ Anagnostakis, 1977)

แต่เอนไซม์ $C_x$ cellulase เพียงองค์ประกอบเดียวไม่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสธรรมชาติ (Native cellulose) ได้ (Reese และคณะ, 1950) ดังนั้นการคัดเลือกขั้นที่สอง จึงทำการคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถสูงในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ส่วนที่ย่อยสลายกระดาษกรอง (FPase) ที่ย่อยสลาย Avicel (Avicelase) และที่ย่อยสลาย $\alpha$-cellulose ($\alpha$-cellulase) ซึ่งเซลลูโลสทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับโครงสร้างของเซลลูโลสธรรมชาติ ทำการประเมินแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส โดยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Somogyi-Nelson และทำการคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน โดยวิธี อะเซทิลีน รีดักชั่น เทคนิค

จากผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ CMCase FPase Avicelase และ $\alpha$-cellulase ได้ค่อนข้างสูงตลอดระยะเวลาการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน และมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Waterbury และคณะ ในปี 1983 ที่พบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จากต่อมเดสเฮย์ (Desheys) ในหนอนเรือทะเล (shipworm) สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนที่มี powdered cellulose (Sigmacell type 100) กระดาษกรอง (Whatman no.1) และ CMC เป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานเพียงแหล่งเดียว โดยที่แบคทีเรียของ Waterbury และคณะ เมื่อเจริญในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนซึ่งมี powdered cellulose พบว่า สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 23 และ 24 nmoles $C_2H_4$ per milligram of protein per minute ที่ชั่วโมงที่ 41 และ 64 ตามลำดับ ขณะที่แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 7.5 nmoles $C_2H_4$ per milligram of cell dry weight per hour จึงได้คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไปทำการศึกษาสรีรวิทยา และนำไปใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักฟางข้าว เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักต่อไป

ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 โดยการแปรผันหาแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย

เมื่อนำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มาทำการแปรผันหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

**ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญ**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีที่สุด ในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีแหล่งคาร์บอน เป็น กลูโคส ซึ่งคล้ายคลึงกับผลของ Cannon และคณะ ในปี 1974 อ้างถึงใน Rennie (1981) ที่รายงานว่า กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในกลุ่ม Enterobacteriaceae และพบว่า *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae* และ *Erwinia herbicola* สามารถเจริญและตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุด ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

ส่วนในอาหารที่มี CMC ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 จะมีการเจริญและตรึงไนโตรเจนได้น้อยกว่า โดยที่ Cannon และคณะ (1974) อ้างถึงใน Rennie (1981) ก็ได้รายงานว่า *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae* และ *Erwinia*

*herbicola* ก็สามารถเจริญและตรึงไนโตรเจนได้ในอาหารที่มี ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน แต่ไม่ดีเท่ากับเมื่อมี กลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก กลูโคสมีโครงสร้างเป็นโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) ซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ง่ายกว่า CMC ซึ่งมีโครงสร้างเป็นโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และซูโครสซึ่งมีโครงสร้างเป็นไดแซคคาไรด์ (disaccharide) แต่ก็สามารถนำไปใช้ได้เช่นกัน โดยแบคทีเรียจะย่อยสลาย CMC ให้เป็นกลูโคส และย่อยซูโครสให้เป็นกลูโคสและฟรุคโตส ซึ่งน้ำตาลทั้งสองตัวนี้ สามารถนำเข้าสู่กระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) สร้างพลังงานของแบคทีเรียได้ ส่วนในอาหารที่มีแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีการเจริญและการตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นได้น้อย แสดงว่า แบคทีเรียไม่สามารถนำแมนนิทอลไปใช้ได้

**ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการสร้างเอนไซม์ $C_x$ celluase หรือ CMCase**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สามารถสร้างเอนไซม์ CMCase ได้ดีที่สุดในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจน ที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่ง Reese และคณะ (1950) ได้รายงานว่า เอนไซม์ CMCase เป็นเอนไซม์ที่สลายพันธะ 1, 4 -β-glucosidic linkage จะถูกสร้างขึ้นในอาหารที่มีสารประกอบซึ่งมีโครงสร้างที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ β-glucosidic linkage เช่น ที่พบใน CMC เซลลูโลส เป็นต้น และจากผลการทดลอง ยังพบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีการสร้างเอนไซม์ CMCase ขึ้นในปริมาณไม่มากนัก ในอาหารที่มี กลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า กลูโคสและน้ำตาลที่ละลายได้อื่น ๆ ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ CMCase ซึ่ง Fukumori และคณะ ในปี 1985 อ้างถึงใน Stutzenberger (1990) ก็ได้ศึกษาการสร้างเอนไซม์ CMCase โดย Bacillus สายพันธุ์ที่ชอบด่าง แล้วพบว่า แหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส ซูโครส และมอลโตส มีผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ CMCase อย่างรุนแรง

**ผลของแหล่งคาร์บอนต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด ในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีแหล่งคาร์บอน เป็น กลูโคส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยที่กล่าวไว้ข้างต้นในเรื่องผลต่อการเจริญ โดยที่ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เป็น 1.3 2.5 และ 4.6 เท่าของอาหารที่มี CMC ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ตามลำดับ

เมื่อนำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มาทำการแปรผันหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

**ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญ**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน และมีแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน ซึ่ง Roy และ Sobir Sen (1961) ได้รายงานว่า การเจริญของ *Derxia indica* เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในอาหารที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไป มากกว่า เมื่อเจริญในสภาวะที่มีแต่ก๊าซไนโตรเจน และสามารถใช้ โซเดียมไนเตรต และเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนได้เป็นอย่างดี ส่วนการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็น โซเดียมไนเตรต และเมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ก็มีการเจริญแต่จะเจริญได้น้อยกว่าขณะที่เมื่อมีแอมโมเนียมคลอไรด์ เป็นแหล่งไนโตรเจน การเจริญจะเกิดขึ้นได้น้อยที่สุด

**ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สามารถย่อยสลายเซลลูโลส (CMC) ได้ดี ในอาหารที่มี เปปโตนและโซเดียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยที่แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase จะสูงที่สุด เมื่อมีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน

จากผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญ และความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส จะเห็นได้ว่า เปปโตน เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีต่อทั้งการเจริญและการย่อยสลายเซลลูโลส ทั้งนี้อาจเนื่องจาก เปปโตนเป็นแหล่งของกรดอะมิโน ซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนได้โดยตรง ส่วนไนเตรตและแอมโมเนียม แบคทีเรียจะต้องเปลี่ยนให้เป็นอะมิโนกรุ๊ป แล้วใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน สร้างโปรตีนต่อไป (Black, 1999) เช่นเดียวกับในอาหารที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน แบคทีเรียจะต้องเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนจากอากาศไปเป็นแอมโมเนีย แล้วใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน สร้างโปรตีนต่อไป

**ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน**

จากผลการศึกษา พบว่า การตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เกิดขึ้นสูงสุดในอาหารที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน ขณะที่ในอาหารที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจะลดลง Hardy และคณะ (1973) ได้รายงานว่า แบคทีเรียสกุล Azotobacter สามารถใช้ไนโตรเจนได้ทั้งในรูปของก๊าซและสารประกอบไนโตรเจน ในสภาพที่มีสารประกอบไนโตรเจนปริมาณมาก การตรึงไนโตรเจนจะลดลง ซึ่งสารประกอบไนโตรเจนทั้งในรูปของ ไนเตรต หรือแอมโมเนียม จะมีผลยับยั้งการสร้างเอนไซม์ไนโตรจีเนส การตรึงไนโตรเจน และการรีดิวซ์ก๊าซอะเซทิลีน ไม่พบการรีดิวซ์ก๊าซอะเซทิลีนเกิดขึ้น ใน *Azotobacter vinelandii, Clostridium pasteurianum, Klebsiella pneumoniae* และ *Gloeocapsa* ที่เจริญในอาหารที่มีสารประกอบไนโตรเจน นอกจากนี้ Dalton และ Postgate (1969) อ้างถึงใน Hardy และคณะ ในปี 1973 ได้รายงานว่า ในบางครั้งสารประกอบไนโตรเจน ก็มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของ *Azotobacter* เช่น เมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ปริมาณของ *Azotobacter* จะเพิ่มมากขึ้น ขณะที่การ

ตรึงไนโตรเจนจะลดลง แต่เมื่อสารประกอบไนโตรเจนลดลง การตรึงไนโตรเจนก็จะพัฒนาขึ้น เช่นเดียวกับการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว ไนเตรตและแอมโมเนียมที่มีอยู่ในปริมาณต่ำ ๆ จะช่วยกระตุ้นให้พืชตระกูลถั่วเจริญเติบโตได้ดี รวมทั้งการเกิดปมในระยะต่อไปก็ดีด้วย แต่ถ้ามีในปริมาณสูง จะทำให้การเกิดและการเจริญของปมของพืชตระกูลถั่วไม่เกิดขึ้นหรือถ้าเกิดขึ้นก็มีเพียงจำนวนไม่มากนัก และการตรึงไนโตรเจนก็เกิดขึ้นในอัตราที่ต่ำหรืออาจไม่เกิดขึ้นเลย (สมศักดิ์ วังใน, 2541)

เมื่อนำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มาทำการแปรผันหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

**ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญ**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส การเจริญจะลดลง แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 จัดเป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophile) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 20-50 องศาเซลเซียส ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นพวกที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (Nester และคณะ, 1998) ขณะที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส การเจริญของแบคทีเรียจะลดลง อาจเกิดขึ้นเนื่องจาก อุณหภูมิมีผลต่อการละลายของออกซิเจน เมื่ออุณหภูมิสูง การละลายของออกซิเจนจะลดลง (Brouzes และ Knoweles, 1973 อ้างถึงใน จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ, 2541)

**ผลของอุณหภูมิต่อการย่อยสลายเซลลูโลส**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ย่อยสลาย CMC ได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิคนละจุดกับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ และมีรายงานของ Stutzenberger ในปี 1990 ที่พบว่า *Acidothermus cellulolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่ 55 องศาเซลเซียส ขณะที่อุณหภูมิที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส จะอยู่ที่ 75 องศาเซลเซียส แสดงว่าระบบของเอนไซม์
เซลลูเลส สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงได้

**ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน**

จากผลการศึกษา พบว่า ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เกิดขึ้นสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจะลดลง แสดงว่า การทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนสไม่ทนต่ออุณหภูมิสูง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hardy และคณะ ในปี 1986b อ้างถึงใน Hardy และคณะ (1973) ที่รายงานว่า การตรึงไนโตรเจน

(การรีดิวซ์ก๊าซอะเซทิลีน) ในปมรากของถั่วเหลือง เพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพิ่มขึ้นจาก 10 เป็น 20 องศาเซลเซียส การตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นสูงสุดเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 30 องศาเซลเซียส และการตรึงไนโตรเจนจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อเอนไซม์ไนโตรจีเนส ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์ลดลงหรือหยุดชะงัก เมื่ออุณหภูมิต่ำหรือสูงกว่า 20-30 องศาเซลเซียส โดยที่เมื่ออุณหภูมิต่ำเกินไป ปฏิกิริยาของเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะช้าลงหรือหยุดชะงัก แต่เอนไซม์จะไม่ถูกกระทบกระเทือนโดยตรง ขณะที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส แอคติวิตีของเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะลดลง และที่อุณหภูมิสูงมาก ๆ การที่เอนไซม์ไนโตรจีเนสไม่ทนต่อความร้อนและการไม่มีกลไกในการป้องกันเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์ไนโตรจีเนสเกิด denature โครงสร้างเปลี่ยนไป การตรึงไนโตรเจนจึงเกิดขึ้นลดลงหรือหยุดชะงัก (สมศักดิ์ วังใน, 2541)

เมื่อนำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มาทำการแปรผันหาค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

**ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน**

จากผลการศึกษา พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สามารถเจริญ ย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจนได้ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 4-8 แต่การเจริญ การย่อยสลายเซลลูโลสและการตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้ดีที่สุด ที่ pH ประมาณ 7 ซึ่งBuchanan และคณะ ในปี 1984 อ้างถึงใน ธงชัย มาลา (2535) ได้รายงานไว้ว่า สภาพความเป็นกรด-ด่างที่ *Azomonas* สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 4.5-9.0 แต่ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Azomonas* คือ 7.0-7.5

การย่อยสลายเซลลูโลสของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ซึ่งเกิดขึ้นได้ดีที่ pH เท่ากับ 7 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Storvick และ King (1960) อ้างถึงใน Stutzenberger (1990) ที่รายงานว่า เอนไซม์ endoglucanase (CMCase) ที่แยกได้จาก *Cellvibrio gilvus* จะทำงานได้ดีที่ pH เท่ากับ 7

และ pHที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ก็เท่ากับ 7 ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mishustin และ Shil' Nikova (1971) อ้างถึงใน ธงชัย มาลา (2535) ที่รายงานว่า การตรึงไนโตรเจนของ *Azotobacter* จะเกิดได้ในสภาพดินที่เป็นกลาง คือในช่วง pH 5.5-7.2 ในดินที่มีสภาพเป็นกรดจะยับยั้งการเพิ่มจำนวนและอัตราการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย

เมื่อทำการหมักฟางข้าวในโหลหมัก โดยการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรีย เพื่อศึกษาการปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก ใช้เวลาในการหมักนาน 3 เดือนครึ่ง ซึ่งกระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นภายใต้วิธีการหมักแบบธรรมชาติ จึงใช้ระยะเวลาในการหมักนาน อาจนานประมาณ 3-4 เดือน หรืออาจใช้เวลาเป็นแรมปี (วรพจน์ รัมพณีนิล, 2529) และได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยหมักที่ได้ โดยวัดอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณความชื้น ค่า C/N ratio ปริมาณธาตุอาหารพืชหลัก (NPK) และตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5

จากผลการวิเคราะห์อุณหภูมิของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า อุณหภูมิของปุ๋ยหมักทั้งสอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและใกล้เคียงกับอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมภายนอก แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีผลต่ออุณหภูมิของปุ๋ยหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมแบคทีเรีย

จากผลการวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า ความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักทั้งสอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีผลต่อความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมแบคทีเรีย

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า ปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมักทั้งสอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีผลต่อปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมแบคทีเรีย

จากผลการวิเคราะห์ค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า ค่า C/N ratio ของปุ๋ยหมักทั้งสอง มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีผลต่อค่า C/N ratio ของปุ๋ยหมักฟางข้าว มากกว่าการไม่เติมแบคทีเรีย โดยในปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 การย่อยสลายของฟางข้าว เกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในฟางข้าวและแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่เติมลงไป แสดงว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สามารถเจริญเติบโตแข่งขันกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในฟางข้าว และแสดงกิจกรรมในการย่อยสลายฟางข้าว ทำให้อัตราการย่อยสลายของฟางข้าวเพิ่มขึ้น ค่า C/N ratio จึงลดลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชหลัก (NPK) ในปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า

ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมแบคทีเรีย ทั้งนี้ปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรีย เกิดขึ้นเนื่องจาก ธาตุไนโตรเจนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากกระบวนการย่อยสลายของฟางข้าว และแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่เติมลงไป สามารถเจริญเติบโตแข่งขันกับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติในฟางข้าว และสามารถแสดงกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน ทำให้ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียเพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรีย

ปริมาณฟอสฟอรัส (P) ในรูปของ $P_2O_5$ ในปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในปุ๋ยหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมแบคทีเรีย

ปริมาณโปตัสเซียม (K) ในรูปของ $K_2O$ ในปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีผลต่อปริมาณโปตัสเซียมในปุ๋ยหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมแบคทีเรีย

จากผลการตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า การเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีผลต่อความอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในปุ๋ยหมักฟางข้าว ทั้งนี้จากผลการศึกษา พบว่า ในปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ก็มีแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน อยู่เช่นกัน แต่ในปริมาณที่น้อยกว่าในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 แสดงว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เป็นแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติในฟางข้าว การเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เพิ่มลงไป ทำให้ปริมาณของแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนเพิ่มขึ้น และสามารถแสดงกิจกรรมในการย่อยสลายฟางข้าวและตรึงไนโตรเจนได้ดีขึ้น

จะเห็นว่า การเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีผลต่อคุณภาพของปุ๋ยหมักที่ได้ มากกว่าการไม่เติมแบคทีเรีย ในธรรมชาติก็มีแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้อยู่เช่นกัน แต่การเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เพิ่มลงไป เป็นการช่วยเพิ่มกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน ซึ่งจะช่วยให้ดีขึ้นในระยะยาว จากค่า C/N ratio ในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ซึ่งลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรีย และปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการไม่เติมแบคทีเรีย แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่เติมลงไป ช่วยเพิ่มการย่อยสลายเซลลูโลส และ เพิ่มปริมาณไนโตรเจนได้ตามวัตถุประสงค์

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ การย่อยสลายเซลลูโลสและการตรึงไนโตรเจน แต่ไม่ได้มีการนำสภาวะที่เหมาะสมนั้นมาใช้จริงในการทำปุ๋ยหมัก ได้ใช้การหมักวิธีแบบธรรมชาติ โดยไม่ได้มีการปรับสภาพของฟางข้าวให้เหมาะสมต่อแบคทีเรียก่อน ซึ่งทำให้ใช้เวลาในการหมักค่อนข้างนาน และ ปริมาณไนโตรเจนที่ได้ อาจไม่สูงมากนัก หากในการศึกษาครั้งต่อไป ได้มีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์หัวเชื้อปุ๋ยหมัก และนำสภาวะนั้นมาใช้ในการทำปุ๋ยหมัก โดยปรับสภาพของฟางข้าวให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว น่าจะทำให้จุลินทรีย์หัวเชื้อปุ๋ยหมักสามารถแสดงกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้ดี ซึ่งอาจจะช่วยลดระยะการทำปุ๋ยหมักให้สั้นลง และช่วยเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยหมัก ทำให้ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนเพิ่มขึ้น

จากผลการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรีย สรุปค่าวิเคราะห์เคมีของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่ได้ ดังในตารางที่ 5.1

**ตารางที่ 5.1** ค่าวิเคราะห์เคมีของปุ๋ยหมักฟางข้าว

| ปุ๋ยหมักฟางข้าว | % N | % $P_2O_5$ | % $K_2O$ | C/N ratio | pH | % moisture |
|---|---|---|---|---|---|---|
| เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 | 1.66 | 0.24 | 0.91 | 20 | 7.02 | 40 |
| ไม่เติมแบคทีเรีย | 1.41 | 0.18 | 0.97 | 25 | 7.11 | 46 |

เมื่อพิจารณาคุณภาพของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย จากค่าวิเคราะห์เคมีของปุ๋ยหมัก พบว่า คุณภาพของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ใกล้เคียงกับมาตรฐานของปุ๋ยหมักที่มีคุณภาพดี ที่กำหนดโดยกรมพัฒนาที่ดิน คือมีเกรดปุ๋ยไม่ต่ำกว่า 0.5-0.5-1.0 (% ของ N- $P_2O_5$- $K_2O$) มีค่า C/N ratio ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 20/1 มีปริมาณความชื้นไม่มากกว่าร้อยละ 35-40 และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 6.0-7.5