บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน

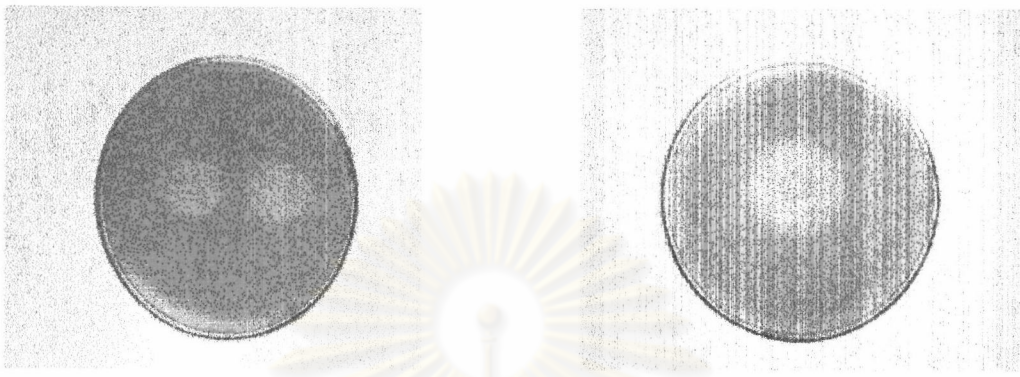
ในการทดลองนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างปลวก ดินจากรังปลวก เศษวัสดุกำลังย่อยสลาย ปุ๋ยหมัก และตัวเร่งปุ๋ยหมัก จากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 113 ตัวอย่าง มาทำการแยกหาแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง CMC, N-free medium และทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ C_x- Cellulase หรือ CMCase ตามวิธีของ Suyama และคณะ (1993) พบว่าแบคทีเรียจำนวน 12 สายพันธุ์ทำให้เกิดบริเวณใส (Clear zone) ซึ่งเป็นบริเวณที่ CMC ถูกย่อยสลาย (CMC hydrolysis zone) ดังรูปที่ 4.1 โดยเป็นสายพันธุ์ที่แยกจากดินรังปลวก 3 สายพันธุ์ วัสดุกำลังย่อยสลาย 6 สายพันธุ์ ปลวก 1 สายพันธุ์ ปุ๋ยหมัก 1 สายพันธุ์ และตัวเร่งปุ๋ยหมัก 1 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แหล่งที่มาของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจน ที่แยกได้ทั้ง 12 สายพันธุ์

แบคทีเรีย	แหล่งชนิดของตัวอย่าง	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง
สายพันธุ์ที่ 1	หัวเชื้อกทม.2	กทม.2
สายพันธุ์ที่ 2	กาบกล้วยผุ	จ.กาญจนบุรี
สายพันธุ์ที่ 3	ผักตบชวากำลังย่อยสลาย	กองปุ๋ยหมัก สวนจิตร
สายพันธุ์ที่ 4	ชานอ้อยกำลังย่อยสลาย	กองปุ๋ยหมัก สวนจิตร
สายพันธุ์ที่ 5	ฟางข้าวกำลังย่อยสลาย	จ.กาญจนบุรี
สายพันธุ์ที่ 6	ดินจากรังปลวก	จ.กาญจนบุรี
สายพันธุ์ที่ 7	ดินจากรังปลวก	จ.เพชรบุรี
สายพันธุ์ที่ 8	ปลวกดิน	จ.ปัตตานี
สายพันธุ์ที่ 9	น้ำขยะหอมที่ทำจากหัวเชื้อ กทม.2	กทม.2
สายพันธุ์ที่ 10	ชานอ้อยกำลังย่อยสลาย	กองปุ๋ยหมัก สวนจิตร
สายพันธุ์ที่ 11	ชานอ้อยกำลังย่อยสลาย	กองปุ๋ยหมัก สวนจิตร
สายพันธุ์ที่ 12	ดินจากรังปลวก	จ.พิษณุโลก

ก)

ข)



ค)

ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

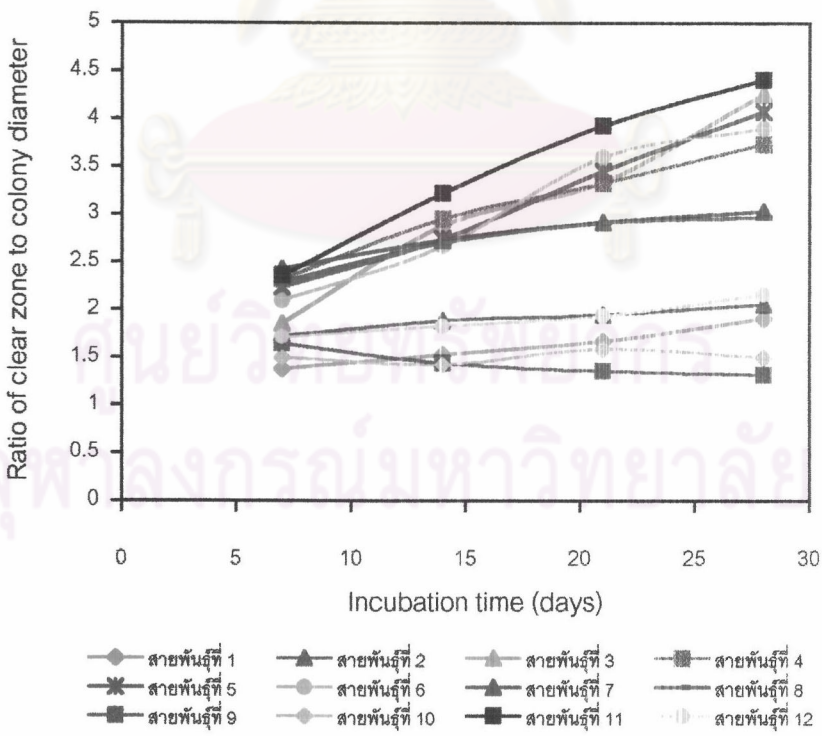
รูปที่ 4.1 บริเวณใส (clear zone) หรือบริเวณที่ CMC ถูกย่อยสลาย (CMC hydrolysis zone) ที่เกิดขึ้นรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่ระยะเวลาบ่มเชื้อต่าง ๆ ก) 7 วัน ข) 14 วัน ค) 21 วัน และ ง) 28 วัน

4.2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน

4.2.1 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส

4.2.1.1 การคัดเลือกขั้นแรก (Primary screening)

จากแบคทีเรียที่แยกได้ 12 สายพันธุ์ นำมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยวัดความสามารถในการสร้างเอนไซม์ C_x-Cellulase หรือ CMCase บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง CMC, N-free medium โดยการหาอัตราส่วนขนาดของบริเวณที่ CMC ถูกย่อยสลาย (บริเวณใส) ต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (Ratio of the size of CMC hydrolysis zone to colony diameter) ตามวิธีของ Hankin และ Anagnostakis (1977) ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ C_x- Cellulase โดยทำให้เกิดบริเวณใสรอบ ๆ โคโลนีของเชื้อ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี และขนาดของบริเวณใส คำนวณค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน ดังรูป 4.2 พบว่า ค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น เมื่อมีการบ่มเชื้อเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงว่ามีการสร้างเอนไซม์ C_x-Cellulase อย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น



รูปที่ 4.2 อัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่ระยะเวลาบ่มเชื้อต่าง ๆ

ที่เวลา 7 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 7 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงที่สุด โดยมีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 2.43 ในขณะที่สายพันธุ์ที่ 1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสต่ำที่สุด มีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 1.38 (ภาคผนวก ค.1) เมื่อนำค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.1) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 5) โดยที่สายพันธุ์ที่ 1 และ สายพันธุ์ที่ 10 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 9 10 และ 12 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 2 9 และ 12 สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 5 6 8 และ 11 สายพันธุ์ที่ 7 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 4 5 8 และ 11

ที่เวลา 14 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 11 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงที่สุด โดยมีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 3.22 ในขณะที่สายพันธุ์ที่ 10 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสต่ำที่สุด มีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 1.43 (ภาคผนวก ค.2) เมื่อนำข้อมูลอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.2) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 5) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 9 และ 10 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 และ 12 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 5 6 7 และ 8 สายพันธุ์ที่ 11 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 และ 4

ที่เวลา 21 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 11 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงที่สุด โดยมีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 3.93 ขณะที่สายพันธุ์ที่ 9 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสต่ำที่สุด มีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 1.36 (ภาคผนวก ค.3) เมื่อนำข้อมูลอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.3) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 5) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 9 และ 10 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 1 10 และ 12 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 4 7 และ 8 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 3 4 และ 6 และสายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 11

ที่เวลา 28 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 11 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสสูงที่สุด โดยมีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 4.41 ขณะที่

สายพันธุ์ที่ 9 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสต่ำที่สุด มีค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใส ต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 1.32 (ภาคผนวก ค.4) เมื่อนำข้อมูลค่าอัตราส่วนขนาด ของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทาง สถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.4) พบว่า มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 5) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 10 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 1 และ 12 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความ แตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 5 และ 6 สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 5 และ 6 สายพันธุ์ ที่ 7 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 8 สายพันธุ์ที่ 9 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 10 สาย พันธุ์ที่ 11 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 3 และ 5

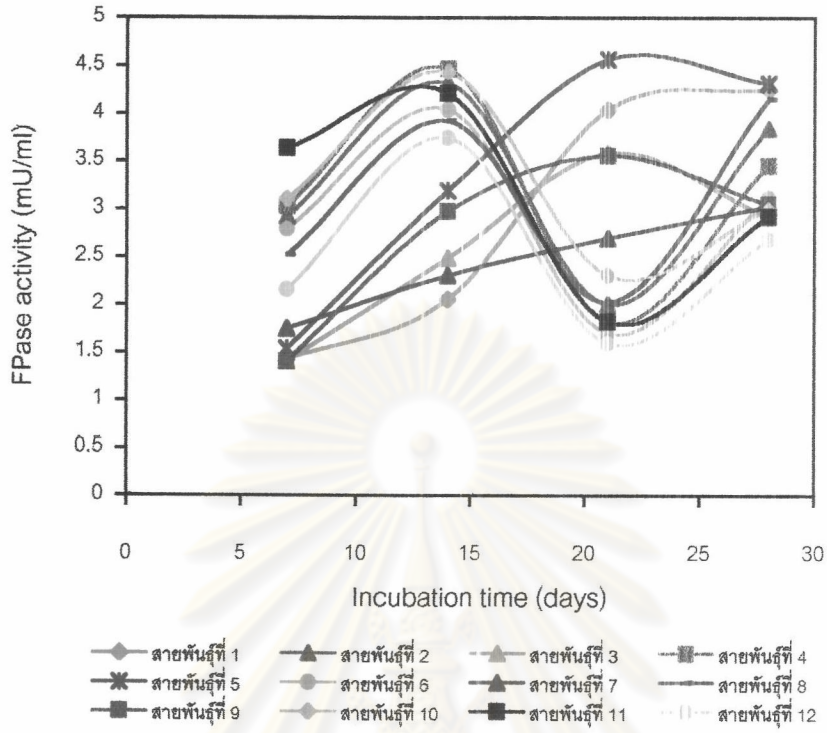
และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ ค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลางโคโลนี ระหว่างชนิดสายพันธุ์แบคทีเรีย กับ ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (two-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.5) พบว่า ทุก ๆ ระยะเวลาใน การบ่มเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ ชนิดของสายพันธุ์ก็มีความแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญ โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 9 และ 10 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 2 และ 12 ไม่มีความแตก ต่างกัน สายพันธุ์ที่ 3 4 5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 7 และ 8 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 11 มีความแตกต่างกับสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ ตลอดการทดลอง สามารถแบ่งแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพใน การย่อยสลาย CMC ได้เป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 11 กลุ่ม ที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือกลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3 4 5 และ 6 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7 และ 8 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2 และ 12 และกลุ่มที่ 5 มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1 9 และ 10 ตามลำดับ

4.2.1.2 การคัดเลือกขั้นที่สอง (Secondary screening)

นำแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ เซลลูเลส ที่ย่อยกระดาษกรอง (Filter paper) ที่ย่อยสลาย Avicel (Microcrystalline cellulose) และที่ย่อยสลาย α-Cellulose โดยการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Nelson,1944; Somogyi,1952)

4.2.1.2.1 ศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ที่ย่อยสลายกระดาษ กรอง (FPase) โดยการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase (FPase activity) ของแบคทีเรีย ทั้ง 12 สาย พันธุ์ ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน ดังแสดงในรูป 4.3



รูปที่ 4.3 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ

ที่เวลา 7 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 11 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase สูงที่สุด เท่ากับ 3.638 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 3 และสายพันธุ์ที่ 9 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.409 mU/ml (ภาคผนวก ค.6) เมื่อนำข้อมูลแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.6) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 10) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 5 7 และ 9 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 6 8 10 และ 12 สายพันธุ์ที่ 11 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 10 และ 12

ที่เวลา 14 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 4 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase สูงที่สุด เท่ากับ 4.473 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 1 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ต่ำที่สุด เท่ากับ 2.053 mU/ml (ภาคผนวก ค.7) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.7) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 10) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 7 และ 9 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 6 8 10 11 และ 12 และ

สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 7 และ 9 สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 5 8 และ 12 สายพันธุ์ที่ 8 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 5 9 และ 12

ที่เวลา 21 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 5 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase สูงที่สุด เท่ากับ 4.566 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 12 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.599 mU/ml (ภาคผนวก ค.8) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.8) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 10) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 และ 9 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 6 8 10 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกับทุก ๆ สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 7 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 10 สายพันธุ์ที่ 10 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 4 8 และ 11

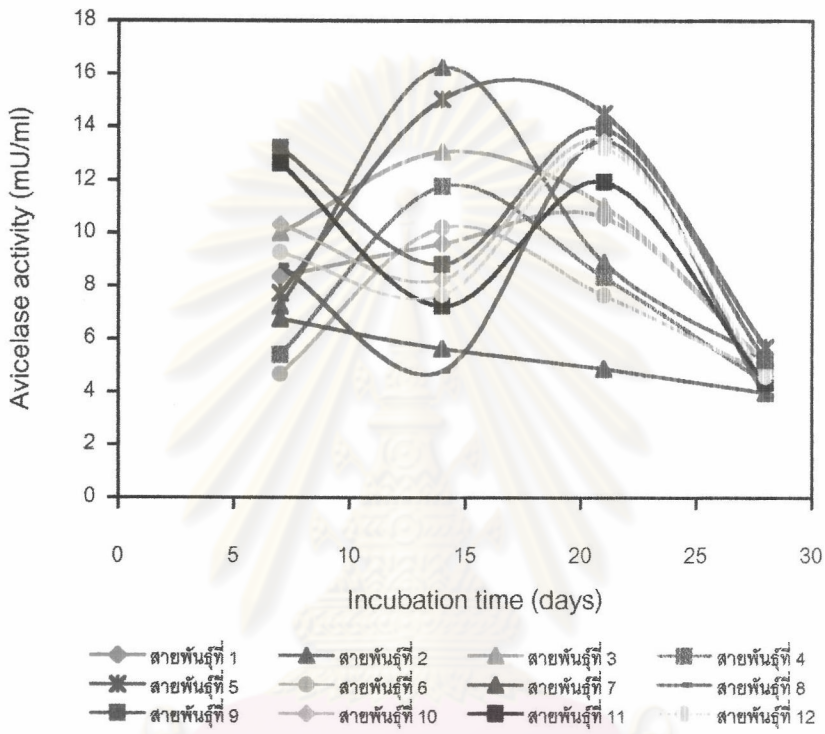
ที่เวลา 28 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 5 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase สูงที่สุด เท่ากับ 4.315 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 12 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ต่ำที่สุด เท่ากับ 2.688 mU/ml (ภาคผนวก ค.9) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.9) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 10) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 2 4 5 และ 8 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 2 4 6 7 9 10 และ 11 สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 6 7 9 10 11 และ 12

เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียกับระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (two-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.10) พบว่า ทุก ๆ ระยะเวลาของการบ่มเชื้อ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียก็มีความแตกต่างกัน (ภาคผนวก ค. 10) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 6 7 9 และ 12 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 4 6 8 10 และ 11 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 4 8 10 และ 11 สายพันธุ์ที่ 8 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 6 11 และ 12

เมื่อพิจารณาแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรียทั้ง12 สายพันธุ์ตลอดการทดลอง สามารถแบ่งแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกระดาษกรองได้เป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2 4 5 8 10 และ 11 กลุ่มที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1และ 6 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 12 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3 และ 9 และกลุ่มที่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7

4.2.1.2.2 ศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ที่ย่อยสลาย Avicel (Microcrystalline cellulose)

โดยการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase (Avicelase activity) ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน ดังแสดงในรูป 4.4



รูปที่ 4.4 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ที่เวลาต่าง ๆ

ที่เวลา 7 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 9 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase สูงที่สุด เท่ากับ 13.196 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 6 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ต่ำที่สุด เท่ากับ 4.679 mU/ml (ภาคผนวก ค.11) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.11) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 15) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 และ 5 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 10 และ 12 สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 6 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 และ 7 สายพันธุ์ที่ 8 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 และ 5 สายพันธุ์ที่ 9 และ 11 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 12 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 และ 8

ที่เวลา 14 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 2 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase สูงที่สุด เท่ากับ 16.235 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 8 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ต่ำที่สุด เท่ากับ 4.786 mU/ml (ภาคผนวก ค.12) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.12) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 15) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 9 สายพันธุ์ที่ 2 3 4 และ 5 มีความแตกต่างกับทุกสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 สายพันธุ์ที่ 7 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 8 สายพันธุ์ที่ 9 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 10 และ 12 สายพันธุ์ที่ 11 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 10 และ 12

ที่เวลา 21 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 5 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase สูงที่สุด เท่ากับ 14.504 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 7 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ต่ำที่สุด เท่ากับ 4.871 mU/ml (ภาคผนวก ค.13) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.13) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 15) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 8 9 และ 10 สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 สายพันธุ์ที่ 7 มีความแตกต่างกับทุก ๆ สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 9 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 8 10 และ 12 สายพันธุ์ที่ 11 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3

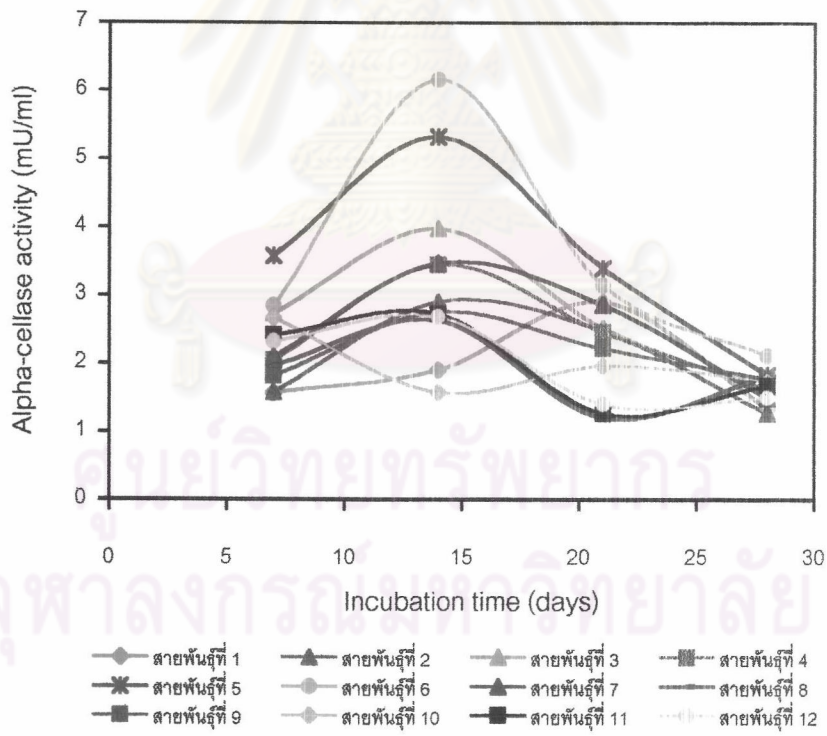
ที่เวลา 28 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 5 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase สูงที่สุด เท่ากับ 5.705 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 8 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.866 mU/ml (ภาคผนวก ค.14) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.14) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 15) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 2 3 4 6 9 10 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 2 3 และ 9 สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 7 8 10 11 และ 12

และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรีย กับระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (two-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.15) พบว่า ทุก ๆ ระยะเวลาของการบ่มเชื้อ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 12 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 10 และ 11 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับสาย

พันธุ์ที่ 8 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 9 สายพันธุ์ที่ 6 และสายพันธุ์ที่ 7 มีความแตกต่างกับทุก ๆ สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 10 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 11 และสายพันธุ์ที่ 12

เมื่อพิจารณาแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ ตลอดการทดลอง สามารถแบ่งแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย Avicel ได้เป็น 9 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 และ 9 กลุ่มที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 10 และ 11 กลุ่มที่ 5 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 12 กลุ่มที่ 6 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1 กลุ่มที่ 7 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 4 และ 8 กลุ่มที่ 8 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 6 และกลุ่มที่ 9 มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7

4.2.1.2.3 ศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ที่ย่อยสลาย α-Cellulose โดยการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase (α-Cellulase activity) ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 14 21 และ 28 วัน ดังแสดงในรูป 4.5



รูปที่ 4.5 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ

ที่เวลา 7 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 5 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase สูงที่สุด เท่ากับ 3.583 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 1 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.571 mU/ml (ภาคผนวก ค.16) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.16) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 20) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 4 7 8 และ 9 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 6 10 11 และ12 สายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกับทุก ๆ สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 10 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 7 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 11 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 4 7 8 9 และ 12

ที่เวลา 14 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 6 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase สูงที่สุด เท่ากับ 6.165 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 10 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.577 mU/ml (ภาคผนวก ค.17) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.17) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 20) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับ สายพันธุ์ที่ 10 สายพันธุ์ที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 8 9 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 7 สายพันธุ์ที่ 3 5 และ 6 มีความแตกต่างกับทุกสายพันธุ์

ที่เวลา 21 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 5 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase สูงที่สุด เท่ากับ 5.326 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 10 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.577 mU/ml (ภาคผนวก ค.18) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.18) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 20) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 3 4 และ 7 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 4 และ 9 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 6 สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 และ 7 สายพันธุ์ที่ 8 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 9 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 10 อย่างมีนัยสำคัญ

ที่เวลา 28 วัน พบว่า สายพันธุ์ที่ 6 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase สูงที่สุด เท่ากับ 2.116 mU/ml ขณะที่สายพันธุ์ที่ 2 มีแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.268 mU/ml (ภาคผนวก ค.19) เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (One-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.19) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 20) โดยที่ สายพันธุ์ที่

1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 7 และ 12 สายพันธุ์ที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 4 7 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 4 8 9 10 และ 11 สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 5 สายพันธุ์ที่ 8ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 3 4 7 9 10 11และ 12

เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติ แอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase (α-Cellulase activity) ระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรีย กับระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (two-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.20) พบว่า ทุก ๆ ระยะเวลาของการบ่มเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 20) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 2 8 10 11 และ 12 สายพันธุ์ที่ 3 มีความแตกต่างกับทุกสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 7 สายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 6 สายพันธุ์ที่ 9 ไม่มีความแตกต่างกับสายพันธุ์ที่ 1 2 10 11 และ 12

เมื่อพิจารณาแอคติวิตีของเอนไซม์ α-Cellulase ของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ตลอดการทดลอง สามารถแบ่งแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย α-Cellulose ได้เป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 และ 6 กลุ่มที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 4 และ 7 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1 2 9 10 11 และ 12 และกลุ่มที่ 5 มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 8

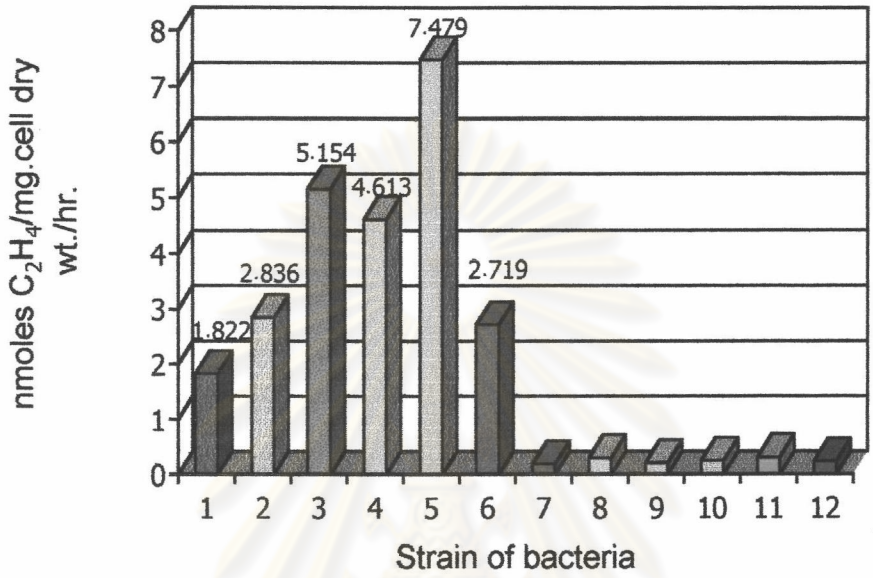
จากการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด มีแอคติวิตีของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดค่อนข้างสูง

4.2.2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน

ทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน โดยวัดอัตราการตรึงไนโตรเจน จากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ด้วยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น เทคนิค จากผลการศึกษา พบว่าแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ต่างกัน ดังแสดงในรูป 4.6 โดยที่แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด มีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น เท่ากับ 7.479 nmoles/mg.cell dry wt./hr. ขณะที่สายพันธุ์ที่ 7 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนต่ำที่สุด มีปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น เท่ากับ 0.188 nmoles/mg.cell dry wt./hr. (ภาคผนวก ค.21)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA)โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.21) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 21) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 มีความแตกต่างกับทุก

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค. 21) โดยที่ สายพันธุ์ที่ 1 มีความแตกต่างกับทุกสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 2 และ สายพันธุ์ที่ 6 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 3 และ สายพันธุ์ที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกับทุกสายพันธุ์ ขณะที่สายพันธุ์ที่ 7 8 9 10 11 และ 12 ไม่มีความแตกต่างกัน



รูปที่ 4.6 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน โดยการวัดปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์

เมื่อพิจารณาค่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นของแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ สามารถแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้เป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 รองลงมาคือ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 3 และสายพันธุ์ที่ 4 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 2 และ 6 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 1 และกลุ่มที่ 5 มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 7 8 9 10 11 และ 12 ตามลำดับ

จากผลการศึกษาในข้อ 4.2.1 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อยสลาย CMC กระดาษกรอง Avicel และ α-cellulose ได้แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส (ตารางที่ 4.2) ดังนี้ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลาย CMC ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 11 รองลงมา ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 สายพันธุ์ที่ 4 สายพันธุ์ที่ 3 และ สายพันธุ์ที่ 6 ตามลำดับ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกระดาษกรอง ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 สายพันธุ์ที่ 2 และสายพันธุ์ที่ 10 แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย Avicel ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 สายพันธุ์ที่ 9 และสายพันธุ์ที่ 3 และแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย α-cellulose ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 6 และสายพันธุ์ที่

5 และจากผลการศึกษาในข้อ 4.2.2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน ได้แก่ สายพันธุ์ที่ 5 และรองลงมา คือ สายพันธุ์ที่ 3 และ สายพันธุ์ที่ 4 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน

ประสิทธิภาพการย่อยเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจน	แบคทีเรีย
การย่อย CMC	สายพันธุ์ที่ 11, 5, 4, 3 และ 6
การย่อยกระดาษกรอง	สายพันธุ์ที่ 5, 2, 10, 4, 8 และ 11
การย่อย Avicel	สายพันธุ์ที่ 5, 9 และ 3
การย่อย α-cellulose	สายพันธุ์ที่ 6,5 และ 3
การตรึงไนโตรเจน	สายพันธุ์ที่ 5, 3 และ 4

ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีและเป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงที่สุด ไปศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรีย และเป็นหัวเชื้อในการหมักฟางข้าวต่อไป

4.3 การศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกได้

ได้ศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 โดยการแปรผันแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ และ ความเป็นกรด-ด่าง ที่มีผลต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

4.3.1 การศึกษาความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอน

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็น กลูโคส CMC แมนนิทอล และซูโครส ในปริมาณที่เท่ากัน แล้วเปรียบเทียบการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

4.3.3.1 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญ

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่มีส่วนผสมของแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน มากกว่า เมื่อมี CMC ซูโครส และ แมนนิทอล

เป็นแหล่งคาร์บอน ดังแสดงในตาราง 4.3 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง เป็น 5.0 4.4 3.6 และ 0.8 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.22)

เมื่อนำข้อมูลน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันแหล่งคาร์บอน มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.22) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ค.22) โดยที่ น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มี กลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่มีความแตกต่างกับในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มี ซูโครส เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่มีความแตกต่างกับ ในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน และน้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มี แมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน มีความแตกต่างกับในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนอื่น อย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.3 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิห้อง

แหล่งคาร์บอน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร)
Glucose	5.0^{a}
CMC	4.4^{ab}
Mannitol	0.8^{c}
Sucrose	3.6^{b}

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.1.2 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อความสามารถในการสร้างเอนไซม์ CMCase

เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็น กลูโคส CMC แมนนิทอล และ ซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์หาแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase โดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของโซโมกิ-เนลสัน จากการศึกษาพบว่า ในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน มีผลทำให้ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สูงที่สุด รองลงมาเป็นในอาหารที่มี ซูโครส กลูโคส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 โดยมีค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase 12.651 4.595 4.412 และ 1.097 mU/ml ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.23)

เมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารที่แปรผันแหล่งคาร์บอน มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.23) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน มีความแตกต่างกับในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนอื่น อย่างมีนัยสำคัญ และ แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารที่มี กลูโคส ซูโครส และ แมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.4 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิห้อง

แหล่งคาร์บอน	แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase (mU/ml)
Glucose	4.412[b]
CMC	12.651[a]
Mannitol	1.097[b]
Sucrose	4.595[b]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.1.3 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

เมื่อทำการแปรผันแหล่งคาร์บอนโดยใช้ กลูโคส CMC แมนนิทอล และ ซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น เทคนิค ตามวิธีในข้อ 3.2.2.1 และคำนวณอัตราการตรึงไนโตรเจนตามวิธีในข้อ 3.2.2.2 จากการศึกษา พบว่า กลูโคส มีผลทำให้ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาเป็น CMC และ ซูโครส ในขณะที่ แมนนิทอล มีผลน้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.5 โดยมีค่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างเป็น 13.564 10.792 5.403 และ 2.931 nmoles/mg.cell dry wt./hr. ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.24)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันแหล่งคาร์บอน มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.24) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นใน

อาหารที่มีกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่มีความแตกต่างกับ ในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน และปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารที่มีซูโครส เป็นแหล่งคาร์บอน ไม่มีความแตกต่างกับ ในอาหารที่มีแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิห้อง

แหล่งคาร์บอน	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น (nmoles/mg.cell dry wt./hr.)
Glucose	13.564[a]
CMC	10.792[a]
Mannitol	2.931[b]
Sucrose	5.403[b]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.2 การศึกษาความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจน

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ โซเดียมไนเตรต แอมโมเนียมคลอไรด์ และเปปโตน ในปริมาณที่เท่ากัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

4.3.2.1 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญ

วัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน และมีส่วนผสมของแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีที่สุด ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจน เป็นเปปโตน รองลงมาเป็น โซเดียมไนเตรต ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน และ แอมโมเนียมคลอไรด์ ดังแสดงในตารางที่ 4.6 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 5.8 3.5 3.4 และ 2.7 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.25)

เมื่อนำข้อมูลน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.25) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็น โซเดียมไนเตรต ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน และ

แอมโมเนียมคลอไรด์ ไม่มีความแตกต่างกัน ขณะที่น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็น เปปโตน มีความแตกต่างกับในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนอื่น อย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.6 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง

แหล่งไนโตรเจน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร)
$NaNO_3$	3.5^b
NH_4Cl	2.7^b
Peptone	5.8^a
N-free	3.4^b

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.2.2 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส

เมื่อทำการแปรผันแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ โซเดียมไนเตรต แอมโมเนียมคลอไรด์ และเปปโตน เปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สามารถย่อยสลาย CMC ได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็น เปปโตน รองลงมาเป็น โซเดียมไนเตรต เมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน และแอมโมเนียมคลอไรด์ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 โดยมีค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase เป็น 96.098 85.810 33.531 และ 29.820 mU/ml ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.26)

เมื่อนำข้อมูลแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.26) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารที่มีแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจนกับเมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ไม่มีความแตกต่างกัน และแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็น โซเดียมไนเตรต ไม่มีความแตกต่างกับในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน

ตารางที่ 4.7 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง

แหล่งไนโตรเจน	แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase (mU/ml)
$NaNO_3$	85.810[a]
NH_4Cl	29.820[b]
Peptone	96.098[a]
N-free	33.531[b]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.2.3 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

เมื่อทำการแปรผันแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ โซเดียมไนเตรต แอมโมเนียมคลอไรด์ และเปปโตน เปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ตามวิธีในข้อ 3.3.1.3 วิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจน จากการศึกษา พบว่า เมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สูงที่สุด รองมาเมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนเป็น โซเดียมไนเตรตและเปปโตน และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ต่ำที่สุด ในอาหารที่มีแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน ดังแสดงในตารางที่ 4.8 โดยมีค่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเป็น 9.100 4.994 4.761 และ 4.275 nmoles/mg.cell dry wt./hr. ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.27)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.27) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน มีความแตกต่างกับเมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารที่เติมแหล่งไนโตรเจนไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.8 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง

แหล่งไนโตรเจน	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น (nmoles/mg.cell dry wt./hr.)
$NaNO_3$	4.994^{b}
NH_4Cl	4.275^{b}
Peptone	4.761^{b}
N-free	9.100^{a}

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.3 **การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน**

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium โดยแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อเป็น 30 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย

4.3.3.1 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญ

วัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาเป็นที่อุณหภูมิ 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 4.9 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 5.0 4.8 1.7 และ 1.5 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.28)

เมื่อนำค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่อุณหภูมิต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.28) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ น้ำหนักเซลล์แห้งที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกัน และน้ำหนักเซลล์แห้งที่อุณหภูมิ 55 และ 65 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.9 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร)
30	5.0[a]
45	4.8[a]
55	1.7[b]
65	1.5[b]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.3.2 ผลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส

เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เป็น 30 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อตามวิธีในข้อ 3.3.1.2 ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase พบว่า ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สูงสุด ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส รองลงมาเป็นที่ 30 55 และ 65 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 4.10 โดยมีแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase เป็น 48.697 36.027 26.086 และ 17.170 mU/ml ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.29)

และเมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.29) พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทุก ๆ อุณหภูมิ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.10 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase (mU/ml)
30	36.027[b]
45	48.697[a]
55	26.086[c]
65	17.17[d]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4.3.3.3 ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เป็น 30 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อตามวิธีในข้อ 3.3.1.3 และวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจน โดยใช้เทคนิค อะเซทิลีน รีดักชั่น ตามวิธีในข้อ 3.2.2.1 และคำนวณอัตราการตรึงไนโตรเจนตามวิธีในข้อ 3.2.2.2 จากการศึกษา พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 4.11 โดยมีค่าของปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเป็น 8.842 7.800 3.433 และ 2.269 nmoles/mg.cell dry wt./hr. ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.30)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ที่อุณหภูมิต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.30) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกัน และปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นที่อุณหภูมิ 55 และ 65 องศาเซลเซียส ก็ไม่มีความแตกต่างกันด้วย

ตารางที่ 4.11 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น (nmoles/mg.cell dry wt./hr.)
30	8.842[a]
45	7.800[a]
55	3.433[b]
65	2.269[b]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.4 การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่มีต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 4 5 6 7 และ 8 เปรียบเทียบการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และ ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย

3.4.1 ผลของความเป็นกรด-ด่างที่มีต่อการเจริญ

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีที่สุด ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 รองลงมาเป็นที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8 6 5 และ 4 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 3.7 3.5 2.7 1.1 และ 1.0 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.31)

และเมื่อนำค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ในอาหารที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.31) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกัน น้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่างค่าอื่น ๆ และน้ำหนักเซลล์แห้งในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 และ 8 ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.12 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง

pH	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร)
4	1.0[c]
5	1.1[c]
6	2.7[b]
7	3.7[a]
8	3.5[a]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.4.2 ผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่อความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส

เมื่อทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium เป็น 4 5 6 7 และ 8 ในการเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ตามวิธีในข้อ 3.3.1.2 ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase จากการศึกษา พบว่า ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สูงที่สุด ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 รองลงมาเป็นที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8 6 5 และ 4 ดังแสดงในตารางที่ 4.13 โดยมีแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase เท่ากับ 15.002 13.807 11.916 11.751 และ 11.342 mU/ml ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.32)

และเมื่อนำแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.32) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4 5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกัน และแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 และ 8 ก็ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.13 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง

pH	แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase (mU/ml)
4	11.342[b]
5	11.751[b]
6	11.916[b]
7	13.807[a]
8	15.002[a]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3.4.3 ผลของความเป็นกรด-ด่างที่มีต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

เมื่อทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เป็น 4 5 6 7 และ 8 เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ตามวิธีในข้อ 3.3.1.3 วิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจน โดยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น เทคนิค ตามวิธีในข้อ 3.2.2.1 และคำนวณอัตราการตรึงไนโตรเจนตามวิธีในข้อ 3.2.2.2 จากการศึกษา พบว่า ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 สูงที่สุด ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 รองลงมาคือที่ ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เท่ากับ 8 6 5 และ 4 ดังแสดงในตารางที่ 4.14 โดยมีค่าปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเป็น 12.006 9.914 3.417 1.542 และ 0.668 nmoles/mg.cell dry wt./hr. ตามลำดับ (ภาคผนวก ค.33)

เมื่อนำข้อมูลปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น เมื่อแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.33) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4 5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกัน และปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 และ 8 ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.14 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง

pH	ปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น (nmoles/mg.cell dry wt./hr.)
4	0.668[b]
5	1.542[b]
6	3.417[b]
7	12.006[a]
8	9.914[a]

หมายเหตุ: ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

จากการทดลองศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 อันได้แก่ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน มีแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 และสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยปราศจากแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

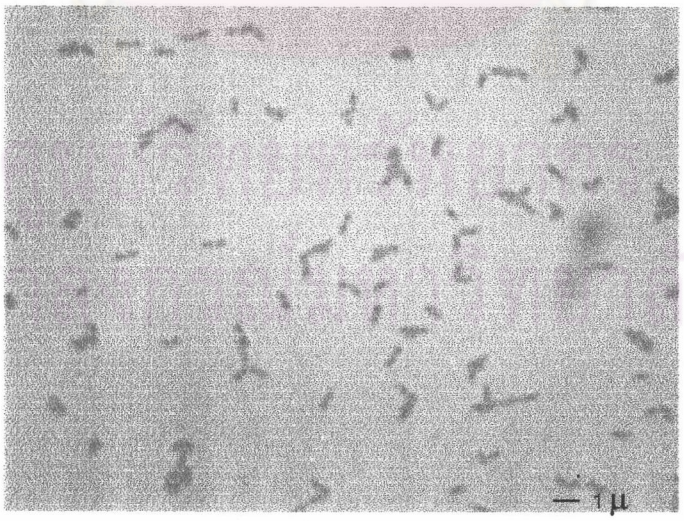
ตารางที่ 4.15 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5

คุณสมบัติ	ชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม	ชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม
การเจริญ	กลูโคส	เปปโตน	30	7
การย่อยสลายเซลลูโลส	CMC	เปปโตน	45	7
การตรึงไนโตรเจน	กลูโคส	ปราศจากแหล่งไนโตรเจน	30	7

4.4 ศึกษาลักษณะโครงสร้างและการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์ SEM

4.4.1 ลักษณะโครงสร้างและการย้อมติดสีแกรมของเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5

ได้ทำการศึกษาลักษณะรูปร่าง และการย้อมติดสีแกรมของเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 โดยการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีลักษณะเป็นแท่ง (rod) ย้อมติดสีแกรมลบ และไม่สร้างสปอร์ ดังรูปที่ 4.7

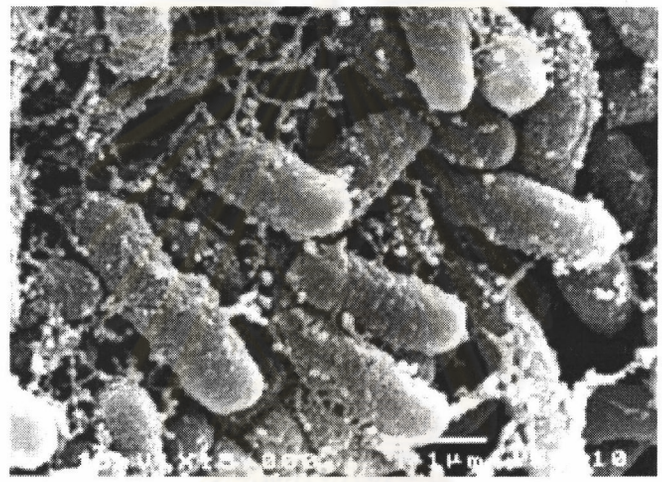


รูปที่ 4.7 ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

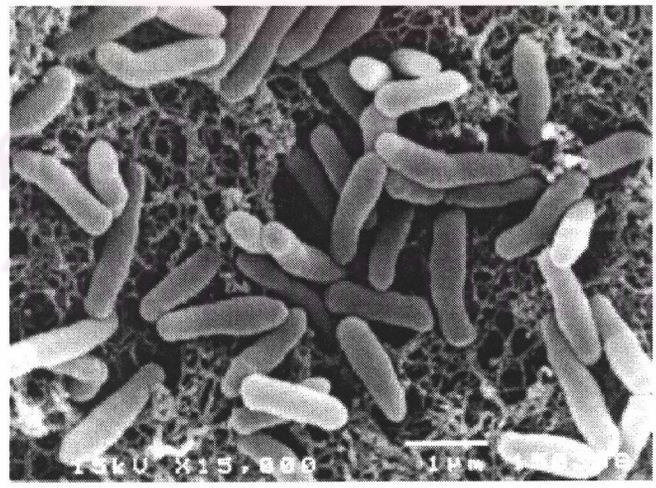
4.4.2 ลักษณะโครงสร้างของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM)

ได้ทำการศึกษาลักษณะรูปร่างของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM เพื่อให้เห็นลักษณะที่ชัดเจนขึ้นพบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีรูปร่างเป็นแท่ง (rod) เมื่อเจริญบนอาหารที่ต่างกัน ลักษณะของเซลล์จะต่างกัน บนอาหารแข็ง CMC, N-free medium เซลล์จะมีขนาดค่อนข้างใหญ่ มีการขับสารบางอย่างซึ่งคล้าย ๆ สารเมือกออกมา และมีผิวเซลล์ที่ไม่เรียบ ดังรูป 4.8ก ขณะที่เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง TSA เซลล์จะมีขนาดเล็กกว่า และมีผิวเรียบ ดังรูปที่ 4.8ข

ก)



ข)



รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM)

ก) เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง CMC, N-free medium ข) เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง TSA

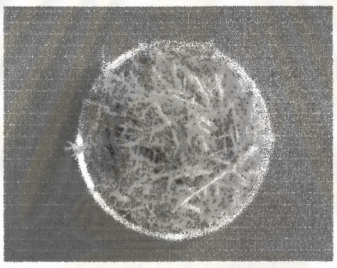
5. ศึกษาการหมักฟางข้าว เมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน มาใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักฟางข้าวในโหลหมัก เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรีย ใช้เวลาในการหมักประมาณ 3 เดือนครึ่ง ทำการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่ได้ โดยการศึกษา ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณความชื้น อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ปริมาณธาตุอาหารพืช ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (N) ปริมาณฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (P_2O_5) และ ปริมาณโปตัสเซียมในรูปที่ละลายน้ำได้ (K_2O) และ ตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในช่วงระยะเวลา 3 เดือนครึ่ง

5.1 ลักษณะทั่วไปของปุ๋ยหมัก

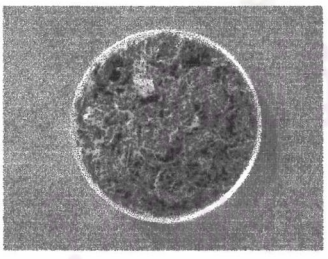
ปุ๋ยหมักจากฟางข้าวที่ได้ เมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่ได้เติมแบคทีเรีย มีลักษณะนุ่ม เปื่อยยุ่ย มีสีน้ำตาลปนดำ และไม่มีกลิ่นเหม็น ดังรูปที่ 4.9

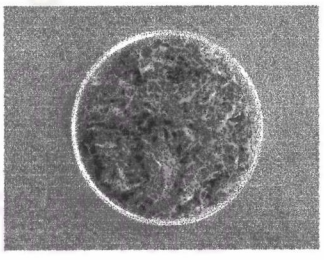
ก)



ข)

ข.1 ข.2





รูปที่ 4.9 ปุ๋ยหมักฟางข้าว ที่ใช้เวลาในการหมักประมาณ 3 เดือนครึ่ง

ก) ลักษณะของฟางข้าวเมื่อเริ่มต้น ภายใต้ความชื้นประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์

ข) ลักษณะของฟางข้าวเมื่อเวลา 3 เดือนครึ่ง

ข. 1 เมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ข. 2 เมื่อไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5

5.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิของปุ๋ยหมักฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย เท่ากับ 26 องศาเซลเซียส (ภาคผนวก ค.34) ใกล้เคียงกับอุณหภูมิเฉลี่ยของสภาพแวดล้อมภายนอก รายงานโดยกรมอุตุนิยมวิทยา ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 27.1 องศาเซลเซียส

5.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักฟางข้าว ที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย เท่ากับ 7.02 และ 7.11 ดังแสดงในตารางที่ 4.16 (ภาคผนวก ค.35) เมื่อนำค่าความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมัก มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.34) พบว่า ความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกัน

5.4 ปริมาณความชื้น

ปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมักฟางข้าว ที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย เท่ากับ 40.19% และ 46.47% ดังแสดงในตารางที่ 4.16 (ภาคผนวก ค.36) เมื่อนำค่าปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมัก มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.35) พบว่า ปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

5.5 อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

จากค่าวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon, OC) (ภาคผนวก ค.37) และปริมาณไนโตรเจน (ภาคผนวก ค. 38) นำมาคำนวณ C/N ratio ของปุ๋ยหมักฟางข้าว พบว่า ปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย มีค่า C/N ratio เท่ากับ 20 และ 25 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.16 (ภาคผนวก ค.39) เมื่อนำค่า C/N ratio ของปุ๋ยหมัก มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.38) พบว่า ค่า C/N ratio ของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

5.6 ปริมาณธาตุอาหารพืช (NPK)

ปุ๋ยหมักจากฟางข้าวที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีปริมาณธาตุอาหารพืช ดังนี้ มีไนโตรเจน (N) 1.66% ฟอสฟอรัส (P_2O_5) 0.24% และโปตัสเซียม (K_2O) 0.91% ตามลำดับ ขณะที่ปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีปริมาณธาตุอาหารพืช ดังนี้ มีไนโตรเจน 1.41% ฟอสฟอรัส 0.18% และโปตัสเซียม 0.97% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.16 (ภาคผนวก ค.38 ค.40 และ ค.41) โดยที่ปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่าปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรีย ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสและโปตัสเซียมในปุ๋ยหมักทั้งสองมีปริมาณใกล้เคียงกัน เมื่อนำข้อมูลปริมาณธาตุอาหารพืชในปุ๋ยหมัก มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.37 ง.39 และ ง.40) พบว่า ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ปริมาณโปตัสเซียม ในปุ๋ยหมักทั้งสอง ไม่มีความแตกต่างกัน

6.7 ตรวจสอบความอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ในปุ๋ยหมัก

นำปุ๋ยหมักฟางข้าวที่ได้ มาตรวจสอบหาความอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 พบว่า ในปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 มีแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนอยู่เช่นกัน ในปริมาณ 4.391 log no./กรัม ขณะที่ ปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ก็ยังคงมีแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 อยู่ ในปริมาณ 6.651 log no./กรัม (ภาคผนวก ค.42) เมื่อนำข้อมูลปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก มาวิเคราะห์ทางสถิติ (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ภาคผนวก ง.41) พบว่า ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยหมักทั้งสอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.16 ผลการวิเคราะห์ปุ๋ยหมักฟางข้าว

ปุ๋ยหมัก	อุณหภูมิ (°C)	pH	ความชื้น (%)	C/N ratio	OC (%)	N (%)	P_2O_5 (%)	K_2O (%)
เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5	26	7.02	40.19	20[a]	33.41	1.66[a]	0.24[a]	0.91
ไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5	26	7.11	46.47	25[b]	35.23	1.41[b]	0.18[b]	0.97

หมายเหตุ: ในแต่ละคอลัมน์ ตัวเลขที่มีอักษรมุมบนด้านขวาที่ต่างกัน แสดงว่า ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05