บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปุ๋ยหมัก (Compost)

ปุ๋ยหมัก เป็นปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่ง เกิดจากการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ในสภาวะที่เหมาะสม (Golueke, 1977) ได้ผลผลิตสุดท้ายที่คงทนต่อการย่อยสลาย มีสีน้ำตาลปนดำ ไม่มีกลิ่นเหม็น มีอัตราส่วนของสารประกอบคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ต่ำ (วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์ และคณะ, 2528 อ้างถึงใน ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์, 2531) และปราศจากเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค เป็นสารที่ช่วยปรับปรุงดิน (Soil conditioner) ปรับปรุงโครงสร้างดินให้เหมาะต่อการเจริญของพืช ในขณะเดียวกัน สารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายจะปลดปล่อยสารประกอบอนินทรีย์ออกมา ช่วยเพิ่มปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Updegraff, 1972 อ้างถึงใน พิทยากร ลิ่มทอง, 2536)

2.2 กระบวนการปุ๋ยหมัก (Composting)

กระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นกระบวนการทางชีวเคมี ที่ย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ และแปรสภาพหรือเปลี่ยนรูปของธาตุอาหารให้อยู่ในรูปของอนุมูลหรือสารอนินทรีย์ (วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์, 2538) เป็นกระบวนการที่ธาตุอาหารและสารอินทรีย์ในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรถูกนำกลับมาใช้ประโยชน์อีกครั้ง

Bertoldi และคณะ (1985) กล่าวว่า กระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นกระบวนการออกซิไดส์ทางชีวภาพ ได้ผลผลิตเป็นสารอินทรีย์ที่มีความเสถียรสูง สามารถใส่ลงไปในดิน เพื่อปรับปรุงและบำรุงดินได้

Gray และคณะ (1971) กล่าวว่า กระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่มีเนื้อต่างชนิดกัน โดยกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ ในสภาพที่มีอากาศร้อนชื้น

Haug (1980,1993 อ้างถึงใน Kutzner, 2000) จำกัดความกระบวนการปุ๋ยหมักว่า เป็นการย่อยสลายและทำให้คงตัวทางชีววิทยาของวัสดุอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่เอื้อต่อการสะสมอุณหภูมิจนสูง ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างความร้อนโดยปฏิกิริยาทางชีววิทยา ได้ผลผลิตสุดท้ายที่มีความคงตัวเพียงพอที่จะนำไปเก็บและใส่ลงไปในดิน โดยไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

Kiyohiko และคณะ (1985) ให้คำจำกัดความของกระบวนการปุ๋ยหมักไว้ว่า เป็นกระบวนการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ที่มีโครงสร้างซับซ้อน และไม่เป็นเนื้อเดียวกันโดยกลุ่มของจุลินทรีย์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิทีส และรา ทั้งพวกที่ชอบอุณหภูมิปานกลางและพวกที่ชอบอุณหภูมิสูง

Schink (1999) ให้คำจำกัดความของกระบวนการปุ๋ยหมักว่า เป็นการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์แบบมีอากาศ ซึ่งมีการปลดปล่อยพลังงานความร้อนจำนวนมาก ได้ผลผลิตที่ถูกสุขอนามัย อุดมไปด้วยสารประกอบฮิวมิค และสามารถนำไปใช้เป็นสารปรับปรุงดินได้

Schuchardt (2000) จำกัดความกระบวนการปุ๋ยหมักว่า เป็นการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของของเสียทางชีวภาพ ภายใต้สภาวะที่ควบคุมอากาศ ได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นสารคล้ายฮิวมัส ที่มีความคงตัวทางชีววิทยา สามารถนำไปใช้เป็นสารปรับปรุงโครงสร้างดิน เป็นปุ๋ยได้

Valoon และ Duffy (2001) กล่าวว่า กระบวนการปุ๋ยหมักเป็นกระบวนการที่สารอินทรีย์ซึ่งเป็นของแข็ง เกิดการย่อยสลายกลายไปเป็นสารคล้ายฮิวมัสที่มีความคงทน เป็นกระบวนการทางจุลชีววิทยา เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิทีส และรา

กระบวนการปุ๋ยหมักคล้าย ๆ กับกระบวนการย่อยสลายทางชีววิทยาที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เช่น การย่อยสลายของเศษใบไม้ในป่าหรือการย่อยสลายของรากพืชที่ตายแล้ว กระบวนการปุ๋ยหมักในรูปแบบที่ง่ายที่สุด คือ การกองเศษพืชทิ้งไว้ ปกติเมื่อเศษพืชมีความชื้นที่เพียงพอก็จะเกิดกระบวนการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เพียงแต่จะใช้เวลานานกว่าจะเป็นปุ๋ยหมัก (Updegraff, 1972 อ้างถึงใน พิทยากร ลิ่มทอง, 2536)

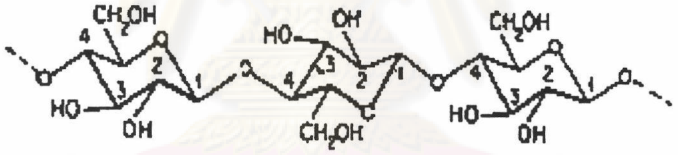
กระบวนการปุ๋ยหมัก สามารถใช้เป็นเทคโนโลยีเพื่อการกำจัดของเสีย เป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยลดปริมาณของเสีย โดยการนำของเสียกลับมาใช้ใหม่ ของเสียที่เป็นสารประกอบอินทรีย์เกือบทั้งหมด สามารถนำมาทำเป็นปุ๋ยหมักได้ กระบวนการปุ๋ยหมักจะทำให้เกิดการลดลงของปริมาตร น้ำหนัก และปริมาณน้ำ ให้ผลผลิตที่คงทนต่อการย่อยสลาย ช่วยกำจัดสารพิษที่เป็นอันตรายต่อพืช ลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค เป็นวิธีการกำจัดของเสียที่ถูกสุขอนามัย (Schuchardt, 2000) กระบวนการปุ๋ยหมักยังมีบทบาทสำคัญในด้านการเกษตร เนื่องจาก ปุ๋ยหมักเป็นแหล่งของอินทรียวัตถุที่ใส่ลงไปในดิน แทนที่อินทรียวัตถุที่หายไปจากการเกษตร จะเห็นได้ว่า กระบวนการปุ๋ยหมักสามารถช่วยแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อมในการจัดการของเสียและปัญหาปริมาณอินทรียวัตถุในดินได้ (Bertoldi และคณะ, 1985)

2.3 หลักของกระบวนการปุ๋ยหมัก (Principle of composting)

กระบวนการปุ๋ยหมัก เกิดขึ้นจากการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์โดยกลุ่มของประชากรจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทั้งแบคทีเรีย รา และ แอคติโนมัยซีทีส ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร คือ จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส เนื่องจากเซลลูโลสเป็นสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนหลักที่พบในพืชชั้นสูง และเป็นสารอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในธรรมชาติ (Alexander,1977) เซลลูโลสเป็นโครงสร้างของผนังเซลล์ของพืช มีอยู่ประมาณ 15-60 % ของน้ำหนักแห้งของพืช (Maier และคณะ, 2000) ประมาณว่ามีเซลลูโลสถูกสร้างขึ้น และถูกย่อยสลายไปเกิดขึ้น 10^{15} กิโลกรัมต่อปี (Voet และ Voet, 1995)

2.3.1 โครงสร้างของเซลลูโลส (Chemical structure of cellulose)

เซลลูโลส เป็นสารประกอบประเภทโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส (β-D-glucose) ประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคส (glucose residues) มาเรียงต่อกันเป็นสายยาว แบบ linear homopolymer ด้วยพันธะ β-1,4-glycosidic linkage ดังแสดงในรูปที่ 2.1



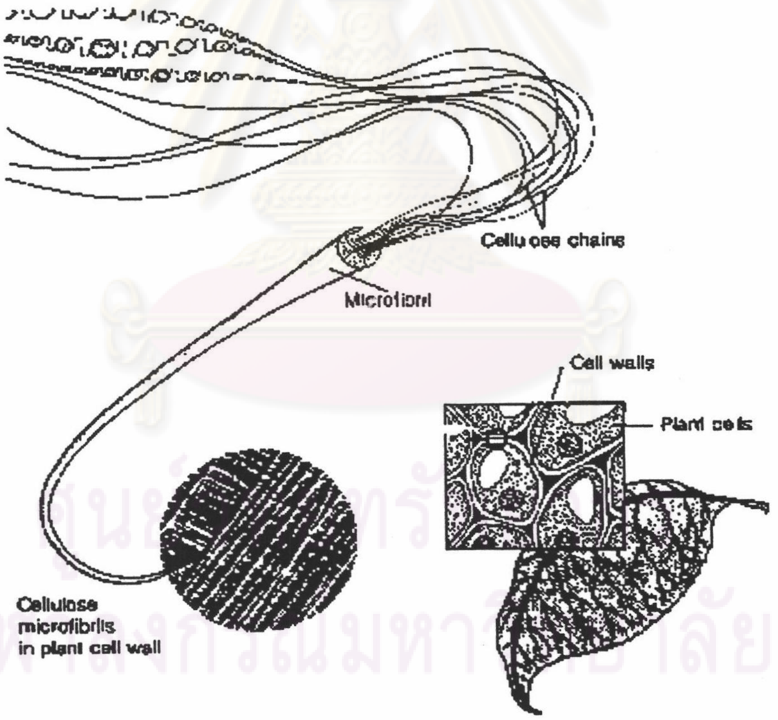
รูปที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลสซึ่งเชื่อมต่อด้วย β-1,4-glycosidic linkage (Coughlan, 1990)

นอกจากหน่วยย่อยของกลูโคสจะต่อกันด้วยพันธะ β-1,4-glycosidic linkage แล้ว ยังพบพันธะไฮโดรเจนซึ่งเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของหน่วยย่อย (Intrachain Hydrogen Bonding) และระหว่างสายของเซลลูโลสก็ยังพบพันธะไฮโดรเจน (Interchain Hydrogen Bonding) ทำให้สายของเซลลูโลสที่ขนานกันยึดเกาะเข้าด้วยกัน (Coughlan, 1990; Zabriskie และคณะ อ้างถึงใน พิทยากร ลิ่มทอง, 2531) โครงสร้างที่ยึดเกาะด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เซลลูโลส มีความแข็งแรง (Voet และ Voet, 1995)

ในธรรมชาติเซลลูโลสไม่ได้เกิดขึ้นในลักษณะเป็นสายยาวเดี่ยว ๆ แต่จะเรียงตัวรวมกันเป็นกลุ่มยาว เรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) ดังรูปที่ 2.2 โดยแต่ละสายของเซลลูโลสมา

เรียงขนานกัน มีขั้ว (Polarity) เหมือนกัน ยึดเกาะเข้าด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างสายของเซลลูโลสและแรง Van der Waals บริเวณที่สายของเซลลูโลสมีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ เรียกว่า Crystalline region และบริเวณที่สายของเซลลูโลสมีการจัดเรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบหรือเป็นระเบียบน้อยกว่า เรียกว่า Amorphous region (Coughlan, 1990 ; Shimada และ Takahashi, 1991; Lee และคณะ 1983 อ้างถึงใน พิทยากร ลิ่มทอง, 2531)

โดยทั่วไปเซลลูโลสธรรมชาติ (native cellulose) จะอยู่ในรูปของสารประกอบลิกโนเซลลูโลส โดยเซลลูโลสจะรวมอยู่กับ เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน การย่อยสลายเซลลูโลสเกิดขึ้นได้ยาก เนื่องจาก โครงสร้างของเซลลูโลส 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นส่วน crystalline ซึ่งมีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ ขณะที่ส่วน amorphous ซึ่งง่ายต่อการย่อยสลายมีอยู่เพียง 15 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และยังมีลิกนิน ซึ่งย่อยสลายได้ยากมาก อยู่ล้อมรอบช่วยป้องกันเซลลูโลสไว้ด้วย (Voet และ Voet, 1995)



รูปที่ 2.2 การจัดเรียงตัวของเซลลูโลสไมโครไฟบริลในผนังเซลล์ของพืช (Mathews และ Van Hold, 1990)

2.3.2 เอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase enzyme)

เซลลูเลส เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายการยึดเกาะแบบ β-1,4-glycosidic linkage ภายในสายของเซลลูโลส ประกอบด้วยเอนไซม์ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ Endoglucanase Cellobiohydrolase และ β-glucosidase (Wald และคณะ, 1984; Couhlan และ Ljungdahl, 1988; Shimada และ Takahashi, 1991; Ghosh และ Ghosh, 1992; Breznak และ Brune, 1994)

2.3.2.1 Endoglucanase หรือ endo-1,4-β-glucanase

ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย พันธะ β-1,4-glycosidic linkage ภายในสายของเซลลูโลส บริเวณ amorphous แบบสุ่ม สามารถย่อยสลาย amorphous cellulose เช่น phosphoric acid swollen cellulose อนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำ เช่น CMC (Carboxymethylcellulose) และ cello-oligosaccharide ขนาดต่าง ๆ ได้น้ำตาลกลูโคส disaccharide และ oligosaccharide ในการย่อยสลาย CMC ทำให้ความหนืดของ CMC ลดลง มีชื่อเรียกอื่น ๆ เช่น C_x-cellulase CMCase endo-cellulase หรือ endo-glucanase

2.3.2.2 Cellobiohydrolase หรือ exo-1,4-β-glucanase

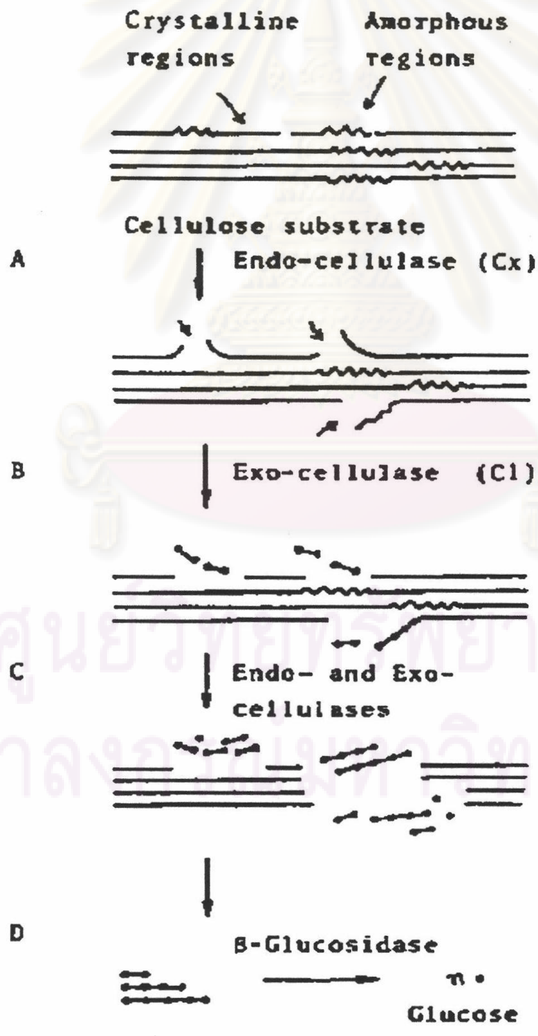
ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย พันธะ β-1,4-glycosidic linkage ที่ปลายด้าน nonreducing end ของ crystalline cellulose ให้ได้ cellobiose สามารถย่อยสลาย cello-oligosaccharide Avicel กระดาษกรอง และ ใยฝ้าย (Cotton) มีชื่ออื่น เช่น C_1-enzyme exoglucanase exo-cellulase หรือ Avicelase เป็นต้น

2.3.2.3 β-glucosidase

หรือ β-D-glucoside glucohydrolase หรือ cellobiase พบทั่วไปในพืชและจุลินทรีย์หลายชนิด ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ β-glucosidic bond ภายในโมเลกุลของ cellobiose และ oligosaccharide ได้น้ำตาล β-D-glucose 2 โมเลกุล

ในการย่อยสลาย native crystalline cellulose เกิดขึ้นจากการทำงานร่วมกัน (Synergism) ของระบบเอนไซม์เซลลูเลส เอนไซม์เซลลูเลสบริสุทธิ์เพียงองค์ประกอบเดียว ไม่สามารถย่อยสลาย crystalline cellulose ได้ ขณะที่การรวมกันของเอนไซม์ exo-cellulase และ endo-cellulase หรือ β-glucosidase จะส่งเสริมให้การย่อยสลาย crystalline cellulose เกิดขึ้นได้ดี และ β-glucosidase หรือ cellobiase จะช่วยกำจัด cellobiose ออกไป เนื่องจาก cellobiose เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ exo- และ endo-cellulase (Eriksson และ Wood, 1985 อ้างถึงใน Shimada และ Takahashi, 1991)

การทำงานร่วมกัน ของระบบเอนไซม์เซลลูเลส ในการย่อยสลาย crystalline cellulose โดยเอนไซม์เซลลูเลสที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ทำงานร่วมกันอย่างมีขั้นตอน (Wood and McCrae, 1968 อ้างถึงใน Shimada and Takahashi, 1991) ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่ง Wood ได้ตั้งทฤษฎี C_x-C_1 หรือ endo-exo อธิบายกลไกการย่อยสลายเซลลูโลส โดยระบบเอนไซม์เซลลูเลสอย่างมีขั้นตอน ไว้ว่า endo-cellulase (C_x) เป็นเอนไซม์ตัวแรกที่เข้าทำปฏิกิริยา ในส่วน amorphous region ของ crystalline cellulose แบบสุ่ม เพื่อเตรียม reaction site สำหรับเอนไซม์ exo-cellulase (step A) จากนั้น exo-cellulase (C_1) จะเข้าทำปฏิกิริยาตัดพันธะที่ปลายด้าน nonreducing end ทำให้ได้ cellobiose (step B) ปฏิกิริยาการย่อยสลายเป็นลำดับขั้น เกิดขึ้นซ้ำ ๆ ทำให้กลุ่มของสายเซลลูโลสถูกตัดย่อยลง (step C) ได้ cellobiose และ cello-oligosaccharide ซึ่งจะถูกย่อยสลายต่อไปโดยเอนไซม์ β-glucosidase ได้น้ำตาลกลูโคส (step D)



รูปที่ 2.3 ลักษณะการย่อยสลาย crystalline cellulose โดยระบบเอนไซม์เซลลูเลส (Wood และ McCrae, 1968 อ้างถึงใน Shimada และ Takahashi, 1991)

2.3.3 จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulolytic Microorganisms)

การย่อยสลายเซลลูโลสในธรรมชาติ ส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากการกระทำของจุลินทรีย์หลายชนิดทั้ง รา แบคทีเรีย และ แอคติโนมัยซิทีส ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ซึ่งจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสมีบทบาทสำคัญในกระบวนการปุ๋ยหมัก โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ จะใช้สารประกอบคาร์บอนในวัสดุอินทรีย์เป็นแหล่งของคาร์บอนในการสร้างส่วนประกอบของเซลล์ และเป็นแหล่งพลังงานในการดำรงชีวิต จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส มีอยู่ทั่วไป พบได้ในแหล่งอาศัยต่าง ๆ ที่หลากหลาย เช่น ดินนาและดินป่า มูลสัตว์ และบนซากพืชที่เน่าเปื่อยผุพัง มีชีวิตอยู่ได้ในสภาพที่เป็นกรดหรือด่าง ที่ระดับความชื้นสูงหรือต่ำ มีทั้งพวกที่ต้องการออกซิเจน (Aerobes) และ ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobes) พวกที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (Mesophiles) และ พวกที่ชอบอุณหภูมิสูง (Thermophiles) (Alexander, 1977; Couhlan และ Ljungdahl, 1988)

Alexander (1977) แบ่งจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส ออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางและต้องการออกซิเจน (Aerobic Mesophilic Microflora) ได้แก่

1.1 รา ในสกุล *Aspergillus, Chaetomium, Curvularia, Fusarium, Memoniella, Thielavia* และ *Trichoderma*

1.2 แบคทีเรีย ในสกุล *Cytophaga, Sporocytophaga, Bacillus, Vibrio,Pseudomonas* และ *Cellulomonas*

1.3 แอคติโนมัยซิทีส ได้แก่ *Streptomyces, Streptosporangium, Nocardia* และ *Micromonospora*

2. จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางและไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic Mesophilic Microflora)

จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสแบบไม่ใช้ออกซิเจนได้แก่ แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลางและสร้างสปอร์ แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูงและสร้างสปอร์ แบคทีเรียพวกที่มีรูปร่างเป็นแท่งหรือกลมไม่สร้างสปอร์ แอคติโนมัยซิทีส และราหลายชนิดที่เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ สำหรับราและแอคติโนมัยซิทีส มีความสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสแบบไม่ใช้ออกซิเจนน้อยมาก แบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่พบทั่วไปในธรรมชาติ ได้แก่ *Clostridium* พบได้ในดิน ปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ โคลนจากแม่น้ำ และในน้ำเสีย

ตารางที่ 2.1 สกุลของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulolytic Microorganisms) (Alexander, 1977; Eriksson และคณะ, 1990; Stutzenberger,1990)

Fungi	bacteria	Actinomycetes
Alternaria	*Acidothermus*	*Micromonospora*
Agaricus	*Acetivibrio*	*Microbispora*
Aspergillus	*Bacillus*	*Nocardia*
Chaetomium	*Bacteriodes*	*Pseudonocardia*
Cladosporium	*Caldocellum*	*Streptomyces*
Coprinus	*Cellulomonas*	*Streptosporangium*
Formes	*Cellvibrio*	*Themoactinomyces*
Fusarium	*Clostridium*	*Thermomonospora*
Humicola	*Corynebacterium*	
Mirothecium	*Cytophaga*	
Neurospora	*Eubacterium*	
Paecilomyces	*Herpetosiphon*	
Penicillium	*Polyangium*	
Phanerochate	*Pseudomonas*	
Polyporus	*Serrata*	
Rhizoctonia	*Sporocytophaga*	
Rhizopus	*Vibrio*	
Sclerotium		
Sordaria		
Talaromyces		
Trametes		
Torula		
Trichoderma		
Trichothecium		
Zygorhynchus		

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิสูง (Thermophilic Microflora)

มีทั้งพวกที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน มีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายที่อุณหภูมิสูง ทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว *Clostridium thermocellum* เป็น anaerobic thermophilic bacteria ที่พบได้ทั่วไปในกองปุ๋ยหมักช่วงอุณหภูมิสูง ส่วน aerobic thermophilic microorganism พวกรา ได้แก่ *Trichoderma viridae* แบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus stearothermophilus* และ แอคติโนมัยซิทีส ได้แก่ *Thermoactinomyces* sp., *Thermomonospora curvata*

2.3.4 ระยะต่าง ๆ ของกระบวนการปุ๋ยหมัก (The phases of the composting process)

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงเวลาของกระบวนการปุ๋ยหมัก แสดงถึง การเปลี่ยนแปลงแทนที่ของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลาย แบ่งช่วงของการเปลี่ยนแปลง ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการปุ๋ยหมัก ออกเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้ (Kutzner, 2000)

1. ระยะแรก แบคทีเรียและราที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ย่อยสลายสารที่ย่อยง่ายต่าง ๆ ทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นประมาณ 45 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิขนาดนี้กิจกรรมของจุลินทรีย์พวกนี้จะหยุดลง vegetative cell ของแบคทีเรีย และ hyphae ของรา จะตาย จะมีเพียงพวกสปอร์ที่ทนความร้อนเหลืออยู่เท่านั้น

2. ระยะที่สอง เป็นระยะที่อุณหภูมิสูง พวกแบคทีเรีย แอคติโนมัยซิทีส และราบางชนิดที่ชอบอุณหภูมิสูง มีบทบาทที่สำคัญในกระบวนการย่อยสลาย อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์พวกนี้อยู่ระหว่าง 50 และ 65 องศาเซลเซียส และกิจกรรมของจุลินทรีย์พวกนี้จะสิ้นสุดลงเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 70-80 องศาเซลเซียส

3. ระยะที่สาม เป็นช่วงที่คงที่ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ เพราะปริมาณความร้อนที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์กับความร้อนที่ระบายออก สมดุลกัน ประชากรจุลินทรีย์ที่ยังคงอยู่ ยังเป็นพวกแบคทีเรีย แอคติโนมัยซิทีส และรา ที่ชอบอุณหภูมิสูง

4. ระยะที่สี่ อุณหภูมิจะลดลงเป็นอุณหภูมิปานกลาง และลดลงจนเท่ากับอุณหภูมิภายนอก เป็นระยะที่กระบวนการปุ๋ยหมักสมบูรณ์ เติบโตเต็มที่ (Maturation phase) จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่รอดชีวิตมาจากช่วงที่อุณหภูมิสูง หรือพวกที่เจริญอยู่รอบนอก กลับเข้ามามีบทบาทในการย่อยสลายอีกครั้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการปุ๋ยหมัก

การย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการปุ๋ยหมัก เกิดขึ้นโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิด ซึ่งประสิทธิภาพการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยให้เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Kutzner, 2000; Krogmann และ Korner, 2000) ได้แก่

2.4.1 วัสดุที่ใช้ทำปุ๋ยหมัก (Organic waste as nutrients)

ส่วนใหญ่มักจะเป็นวัสดุเหลือใช้ที่มาจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร วัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรม วัสดุเหลือใช้จากบ้านเรือน และวัชพืช เป็นต้น ซึ่งองค์ประกอบของวัสดุอินทรีย์ (ตารางที่ 2.2) มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของกระบวนการปุ๋ยหมัก

ตารางที่ 2.2 ชนิดและปริมาณของสารประกอบอินทรีย์ที่พบในพืช (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541)

สารประกอบ	เปอร์เซ็นต์ (%)
น้ำตาล และแป้ง	1-5
เฮมิเซลลูโลส	10-28
เซลลูโลส	20-50
ไขมัน ขี้ผึ้ง แทนนิน	1-8
ลิกนิน	10-30
โปรตีนและกรดนิวคลีอิก	1-15

วัสดุอินทรีย์ที่มี คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน เป็นองค์ประกอบเหมาะสมที่สุดสำหรับเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์ วัสดุที่มีส่วนของลิกโนเซลลูโลสอยู่มากและมีปริมาณไนโตรเจนน้อย จะทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ช้า นอกจากองค์ประกอบของวัสดุอินทรีย์แล้ว ขนาดของวัสดุ ก็มีผลต่อกระบวนการปุ๋ยหมัก ขนาดของวัสดุยิ่งมีขนาดเล็ก จะทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้เร็ว เนื่องจากมีพื้นที่ผิวสัมผัสมาก ง่ายต่อการที่จุลินทรีย์จะเข้าทำปฏิกิริยา ซึ่งขนาดของวัสดุที่เหมาะสม น้อยกว่าหรือเท่ากับประมาณ 5 เซนติเมตร

2.4.2 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)

ในวัสดุอินทรีย์ส่วนใหญ่ สารประกอบคาร์บอนที่ใช้เป็นแหล่งพลังงาน และแหล่งของคาร์บอน ในการสร้างส่วนประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ มีปริมาณมาก จนเกินความจำเป็น ขณะที่สารประกอบไนโตรเจน ซึ่งจุลินทรีย์นำไปใช้ในการสังเคราะห์สารพวกโปรตีน และกรดนิวคลีอิก มีอยู่ค่อนข้างน้อย ไนโตรเจนจึงเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อ

ไนโตรเจนจึงเป็นสิ่งสำคัญในการพิจารณาเลือกวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก ว่ามีความยากหรือง่ายต่อการย่อยสลาย และ ใช้เป็นตัวกำหนดระดับความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ เมื่อพิจารณาจากค่า C/N ratio สามารถแบ่งวัสดุเหลือใช้ที่นำมาทำปุ๋ยหมัก ได้เป็น 2 ประเภท คือ วัสดุที่ย่อยสลายง่าย มีค่า C/N ratio ต่ำกว่า 100/1 และวัสดุที่ย่อยสลายยาก มีค่า C/N ratio มากกว่า 100/1 ซึ่งค่า C/N ratio ของเศษพืชชนิดต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.3 สำหรับฟางข้าว ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ในไร่นาที่มีปริมาณมาก และกระจายอยู่ทั่วไป มีค่า C/N ratio อยู่ในระดับปานกลางคือ ประมาณ 80/1 ถึง 100/1 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เป็นวัสดุตัวแทนที่ดีสำหรับวัสดุที่ย่อยสลายง่ายและยาก ดังนั้นการทำวิจัยส่วนใหญ่จึงมักใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุสำหรับทำปุ๋ยหมัก และใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุเปรียบเทียบกับวัสดุเหลือใช้ชนิดอื่น ๆ

ตารางที่ 2.3 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ของเศษพืชชนิดต่าง ๆ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2540)

ชนิดของเศษพืช	ค่า C/N ratio
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา	307
ขี้เลื่อยไม้เบญจพรรณ	249
ขุยมะพร้าว	167
แกลบ	152
กากอ้อย	142
ซังข้าวโพด	124
เศษปอกระเจา	115
ฟางข้าว	89
เปลือกถั่วลิสง	75
เปลือกเมล็ดกาแฟ	70

ค่า C/N ratio ที่เหมาะสมของวัสดุเริ่มต้นที่ใช้ทำปุ๋ยหมักควรเท่ากับ 25 ถ้าค่า C/N ratio เริ่มต้นของวัสดุ สูงกว่าค่าที่เหมาะสม จะทำให้กระบวนการปุ๋ยหมักเกิดขึ้นได้ช้า จุลินทรีย์จะต้องเจริญผ่านวงจรชีวิตหลายครั้ง โดยการออกซิไดส์คาร์บอนส่วนเกิน จนกระทั่ง ค่า C/N ratio สุดท้ายของวัสดุ มีค่าประมาณ 10/1 ถ้าค่า C/N ratio ต่ำกว่าค่าที่เหมาะสม จะเกิดการสูญเสียไนโตรเจนในรูปของก๊าซแอมโมเนีย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในสภาวะที่อุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างสูง พร้อมทั้งมีการระบายอากาศ (Bertoldi และคณะ, 1985; Shilesky และ Maniotis, 1969) และ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค่า C/N ratio ที่ใช้เป็นตัวกำหนดการเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ เท่ากับ 20/1 ซึ่งเมื่อใส่ลงไปในดินจะไม่เกิดผลเสียต่อพืช (Bertoldi และคณะ, 1983 อ้างถึงใน พิทยากร ลิ่มทอง, 2536)

2.4.3 ปริมาณความชื้น (Moisture)

เป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต และ การเจริญของจุลินทรีย์ น้ำจำเป็นสำหรับการละลายธาตุอาหาร เป็นตัวกลางในการส่งผ่านธาตุอาหาร และก๊าซออกซิเจนจากเศษวัสดุและอากาศไปยังจุลินทรีย์ เป็นตัวกลางในการส่งผ่านเอนไซม์เข้าย่อยสลายเศษวัสดุ และเป็นส่วนของเซลล์โปรโตพลาสต์ อัตราการย่อยสลายเกิดขึ้นสูงสุดที่ระดับความชื้น 50-60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ (พิทยากร ลิ่มทอง, 2536) วัสดุในการทำปุ๋ยหมักแต่ละชนิดมีความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity) แตกต่างกัน วัสดุบางชนิด เช่น ขี้เลื่อย ฟางข้าว มีความชื้นที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 75-90 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เศษหญ้า เศษอาหาร ความชื้นที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 50-60 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น (Kutzner, 2000) ปริมาณความชื้นต่ำ จะไปยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้กระบวนการปุ๋ยหมักเกิดขึ้นได้ช้า และที่ความชื้นสูง ทำให้การส่งผ่านออกซิเจนลดลง เกิดสภาวะไร้อากาศ ทำให้กิจกรรมการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนเกิดขึ้น กระบวนการปุ๋ยหมักเกิดขึ้นช้าลงได้เช่นกัน ในระหว่างกระบวนการปุ๋ยหมัก มีการระเหยของน้ำเกิดขึ้นตลอดเวลา เนื่องจากการให้อากาศแก่จุลินทรีย์ และเพื่อระบายความร้อนออกจากกองปุ๋ยหมัก ไม่ให้อุณหภูมิสูงเกิน 60-70 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณความชื้นในกองปุ๋ยลดลงจาก 50-70 เปอร์เซ็นต์ เหลือประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ลดลง จำเป็นต้องมีการเติมน้ำให้กับกองปุ๋ยหมัก เพื่อรักษาระดับความชื้นที่เหมาะสม (Kutzner, 2000)

2.4.4 การระบายอากาศ (Aeration)

กระบวนการปุ๋ยหมักเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในสภาพที่มีอากาศเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสร้างพลังงานของจุลินทรีย์ และใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่อยู่ในกองปุ๋ยหมักด้วย (Bertoldi และคณะ, 1985) การระบายอากาศจึงเป็นสิ่งจำเป็น นอกจากเพื่อให้ออกซิเจนแก่จุลินทรีย์แล้ว ยังช่วยระบายความร้อน ในระหว่างกระบวนการปุ๋ยหมัก อุณหภูมิของกองปุ๋ยอาจสูงถึง 80 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า ซึ่งสภาพนี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์เกิดการตาย (microbial suiside) (Finstein, 1989 อ้างถึงใน Kutzner, 2000) แม้ว่าในกองปุ๋ยหมัก จะมีการระบายอากาศเป็นอย่างดี แต่ก็ยังพบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ ความเป็นกรด-ด่างของกองปุ๋ยลดลง (โดยเฉพาะในช่วงแรกของการกองปุ๋ย) และ เกิดก๊าซ CH_4 และ N_2O

2.4.5 อุณหภูมิ (Temperature)

หลังจากกองปุ๋ยหมักประมาณ 2-4 วัน อุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากพลังงานความร้อนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลาย และคุณสมบัติการเก็บความร้อนของวัสดุอินทรีย์ ทำให้ความร้อนยังคงอยู่ไม่แพร่กระจายออกจากกองปุ๋ย ซึ่งการเกิดความร้อนและการรักษาความร้อนไว้ภายในกองปุ๋ย เป็นลักษณะพิเศษของกระบวนการปุ๋ยหมัก (Kutzner, 2000) ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะต่อการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ รวมถึงมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช มีค่าประมาณ 55 องศาเซลเซียส (พิทยากร ลิ่มทอง, 2536) การที่อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมักเพิ่มสูงขึ้น ทำให้สภาพแวดล้อมภายในกองปุ๋ยเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ เป็นปัจจัยในการคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ที่จะมีกิจกรรมในช่วงนั้นทำให้ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่เปลี่ยนแปลงไป เกิดการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ขณะที่อุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อย ๆ พบว่า จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ พวกที่ทนต่ออุณหภูมิสูง (thermoduric) และ พวกที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophiles) เช่น *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium* sp. และ แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ในจีนัส *Thermus* (Bertoldi และคณะ, 1985) หลังจากอุณหภูมิสูงสุดแล้วจะค่อย ๆ ลดลง จนถึงระดับที่จุลินทรีย์พวกที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (mesophiles) สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้

2.4.6 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรด-ด่างมีบทบาทไม่มากนักในกระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นปัจจัยที่จะเปลี่ยนแปลงไปตามกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในช่วงแรกของกระบวนการปุ๋ยหมัก pH จะลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายวัสดุที่ย่อยสลายได้ง่ายอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ มีผลทำให้ pH ค่อนข้างเป็นกรด แล้ว pH ก็จะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อกระบวนการปุ๋ยหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น และจะรักษาระดับ pH ไว้ ในช่วง 7.5-8.5 โดยทั่วไปสารอินทรีย์ที่มีค่า pH ในช่วง 3-11 สามารถนำมาทำเป็นปุ๋ยหมักได้ แต่ pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.5-8.0 (Bertoldi และคณะ, 1985) ซึ่งการใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ไม่ค่อยมีปัญหามากนัก เพราะโดยปกติค่า pH ของเศษพืชอยู่ในช่วงที่เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อย (เสียงแจ๋ว พิริยพฤนต์ และนวลจันทร์ ภาสดา, 2540)

2.4.7 จุลินทรีย์ในกระบวนการปุ๋ยหมัก (The Microorganisms of Composting)

กระบวนการปุ๋ยหมักเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิดมีบทบาทเกี่ยวข้องร่วมกัน กระบวนการปุ๋ยหมักจึงขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมักนั้นเอง ไม่มีความจำเป็นในการเติมจุลินทรีย์อื่นเพิ่มลงไป การปรับปรุงกระบวนการปุ๋ยหมักโดยการเติมจุลินทรีย์ (adapted cultures) เพิ่มลงไป พบว่า มีผลต่อกระบวนการปุ๋ยหมักเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย และชนิดของจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมในแต่ละช่วงของกระบวนการปุ๋ยหมัก ไม่ว่าจะเป็น แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง แอคติโนมัยซีทีส และรา ซึ่งไม่น่าจะเป็นจุลินทรีย์ตามธรรมชาติในวัสดุนั้น (Indigenous

microrganisms) สภาพแวดล้อมจะคัดเลือกจุลินทรีย์ให้เหมาะสม ในแต่ละช่วงของกระบวนการปุ๋ยหมักนั้นเอง (Kutzner, 2000)

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการปุ๋ยหมัก แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ (Kutzner, 2000) คือ

2.4.7.1 แบคทีเรีย (Bacteria)

ในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic phase) แบคทีเรียหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียตามธรรมชาติในเศษวัสดุนั้น จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ทำให้อุณหภูมิของกองปุ๋ยหมักสูงขึ้น แบคทีเรียที่พบในช่วงแรกของกระบวนการปุ๋ยหมัก ได้แก่ กลุ่มของแบคทีเรียรูปแท่งและรูปกลม ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เช่น *Micrococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Lactobacillus* sp. และ แบคทีเรียรูปแท่งติดสีแกรมลบ พวก Enterobacteriaceae Pseudomodaceae และแบคทีเรียรูปแท่งที่สร้างสปอร์ พวก Bacillaceae เป็นต้น ในช่วงที่อุณหภูมิสูง (thermophilic phase) จะพบแบคทีเรียพวก *Bacillus* และ *Thermus* เป็นหลัก ที่พบบ่อยคือ *Bacillus circulans* และ *Bacillus stearothermophilus*

2.4.7.2 แอคติโนมัยซิทีส (Actinomycetes)

แอคติโนมัยซิทีส ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการปุ๋ยหมัก มักจะเป็นแอคติโนมัยซิทีสที่เจริญในที่อุณหภูมิสูง พบว่า สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิสูงถึง 65 องศาเซลเซียส และการเจริญจะลดลงหรือหยุดชะงัก เมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่า 75 องศาเซลเซียส แอคติโนมัยซิทีสที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic actinomycetes) ที่พบอยู่เสมอในกระบวนการปุ๋ยหมัก ได้แก่ *Thermoactinomyces vulgaris, Thermomonospora curvata, Saccharomonospora viridis, Streptomyces thermovulgaris* และ Streptomycetes ที่สร้างสปอร์สีเทา

2.4.7.3 รา (Fungi)

ราจำนวนมากที่พบในวัสดุกำลังย่อยสลาย ส่วนใหญ่เป็นพวก Ascomycota และ Mitosporic Fungi ในกระบวนการปุ๋ยหมัก พบราอยู่เสมอ แต่ชนิดและปริมาณของราจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก ความชื้นและอุณหภูมิ ซึ่งราที่พบบ่อย ๆ ในกระบวนการปุ๋ยหมัก ได้แก่ *Aspergillus fumigatus, Humicola lanuginosa, Chaetomium thermophile, Cladosporium* sp., *Mucor* sp. เป็นต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.5 ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก (Benefits of Compost)

ปุ๋ยหมักที่สลายตัวดีแล้ว เป็นวัสดุอินทรีย์ที่ค่อนข้างคงทนต่อการย่อยสลาย เมื่อใส่ลงในดินจะสลายตัวอย่างช้า ๆ ไม่เป็นอันตรายต่อพืช ประโยชน์ของปุ๋ยหมักมีหลายด้าน นอกจากจะช่วยในการปรับปรุงบำรุงดินเพื่อเพิ่มผลผลิตด้านการเกษตรแล้ว ยังมีประโยชน์ในด้านสิ่งแวดล้อม และด้านเศรษฐกิจด้วย (สมศักดิ์ วังใน, 2521; ชูศักดิ์ วิทยาภัค, 2531; ปรัชญา ธัญญาดี และคณะ, 2540)

2.5.1 ประโยชน์ด้านการเกษตร

2.5.1.1 ช่วยปรับปรุงสมบัติต่าง ๆ ของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของพืช

2.5.1.1.1 สมบัติทางกายภาพ

ปุ๋ยหมักเป็นแหล่งของอินทรียวัตถุ ที่ช่วยส่งเสริมให้อนุภาคของดินจับตัวกันเป็นก้อน ทำให้โครงสร้างดินดีและร่วน อากาศถ่ายเทได้สะดวก การซึมผ่านของน้ำและความสามารถในการอุ้มน้ำของดินไว้ให้พืชใช้ได้นานขึ้น ทำให้โครงสร้างของเนื้อดินดีขึ้น ในดินเนื้อละเอียดอัดตัวแน่น เช่น ดินเหนียว อินทรียวัตถุจะทำให้ดินนั้นร่วนซุย ในดินเนื้อหยาบ เช่น ดินทรายจะช่วยทำให้ดินแน่นขึ้น

2.5.1.1.2 สมบัติทางเคมี

การใส่ปุ๋ยหมักเป็นการเพิ่มธาตุอาหารให้แก่ดิน เนื่องจากปุ๋ยหมักทำมาจากเศษพืชเป็นส่วนใหญ่ จึงมีธาตุอาหารต่าง ๆ ที่พืชต้องการค่อนข้างครบถ้วน ทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ถึงแม้จะมีปริมาณไม่มากเท่าปุ๋ยเคมี แต่ก็จะค่อย ๆ ปลดปล่อยให้เป็นประโยชน์ต่อพืชในระยะยาว อินทรียวัตถุ ช่วยทำให้ดินมีความสามารถดูดซับธาตุอาหารพืชได้สูงเนื่องจากมีพื้นผิวสัมผัสมากและมีประจุไฟฟ้าเป็นลบ จึงมีความสามารถดูดซับประจุบวกไว้ได้มาก มีค่าความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (CEC) ค่อนข้างสูง จึงเป็นแหล่งสะสมธาตุอาหาร ช่วยลดการสูญเสียธาตุอาหาร และอินทรียวัตถุที่มีธาตุอาหารพืชในรูปประจุบวกที่ถูกดูดซับอยู่ ก็จะค่อย ๆ ปลดปล่อยออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ เพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยเคมี ช่วยดูดยึดธาตุอาหารในปุ๋ยเคมีที่พืชนำไปใช้ไม่ทันบางส่วนไว้ ทำให้ธาตุอาหารไม่สูญหายไปจากดิน ช่วยลดความเป็นพิษของการมีธาตุอาหารบางอย่างในดินมากเกินไป เช่น การใส่ปุ๋ยหมักในดินกรด สามารถช่วยลดความเป็นพิษของอลูมินัมและแมงกานีส โดยอินทรียวัตถุจะช่วยดูดยึดธาตุอาหารทั้งสองไว้ ทำให้ปริมาณในสารละลายดินลดลง และอินทรียวัตถุยังช่วยรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างของดิน เพิ่มความต้านทานในการเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-ด่างของดิน (Buffer capacity) ทำให้การเปลี่ยนแปลงของ pH ไม่รวดเร็วจนเป็นอันตรายต่อพืช

2.5.1.1.3 สมบัติทางชีวภาพ

การใส่ปุ๋ยหมักในดิน เป็นการเพิ่มแหล่งธาตุอาหารให้แก่จุลินทรีย์ดิน ทำให้ปริมาณ แบคทีเรีย แอคติโนมัยซิทีส และราในดิน เพิ่มสูงขึ้น ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น จะมีผลช่วยยับยั้งการเจริญและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อโรคพืช ช่วยลดปริมาณของเชื้อโรคพืชบางชนิด การเจริญของจุลินทรีย์ดิน ทำให้เกิดกรดอินทรีย์หลายชนิด ซึ่งมีประโยชน์ต่อพืช บางชนิดพืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง บางชนิดมีผลต่อการปลดปล่อยและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืชอีกทีหนึ่ง ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืช (Rhizosphere) พวกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (Nitrogen-fixing bacteria) และแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟต (Phosphate-solubilizing bacteria) เพิ่มสูงขึ้น (Kunda and Guar, 1980 อ้างถึงใน ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์, 2531)

2.5.1.2 ช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดิน

ปุ๋ยหมักเป็นแหล่งธาตุอาหารพืช ที่จะปลดปล่อยออกมาให้พืชอย่างช้า ๆ และสม่ำเสมอ โดยทั่วไป ปุ๋ยหมักจะมีแร่ธาตุอาหารพืชที่สำคัญดังนี้ มีไนโตรเจนทั้งหมดประมาณ 0.4-2.5 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ประมาณ 0.2-2.5 เปอร์เซ็นต์ และโปแตสเซียมในรูปที่ละลายน้ำได้ ประมาณ 0.5-1.8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณธาตุอาหารหลักในปุ๋ยหมัก ไม่ได้เป็นประโยชน์ต่อพืชทันทีทั้งหมด บางส่วนพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง แต่ส่วนที่เหลือจะค่อย ๆ ปลดปล่อยให้เป็นประโยชน์ต่อพืช ถึงแม้ว่าปุ๋ยหมัก จะมีปริมาณธาตุอาหารหลักอยู่น้อยกว่าปุ๋ยเคมี แต่ปุ๋ยหมักยังมีธาตุอาหารรองอื่น ๆ ที่พืชต้องการ เช่น แคลเซียม กำมะถัน เหล็ก สังกะสี แมงกานีส โบรอน ทองแดง โมลิบดีนัม เป็นต้น ซึ่งปกติแล้วปุ๋ยเคมีจะไม่มี หรือมีเพียงบางธาตุเท่านั้น

2.5.2 ประโยชน์ด้านสิ่งแวดล้อม

2.5.2.1 กระบวนการปุ๋ยหมัก สามารถนำมาใช้ในการจัดการแก้ปัญหาของเสียอินทรีย์ได้ดีที่สุด เป็นการกำจัดของเสียที่สมบูรณ์ และได้พลังงานกลับคืนมาอย่างมีประสิทธิภาพโดยการแปรสภาพให้เป็นสารที่มีประโยชน์ ปลอดภัย ถูกสุขอนามัย ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ย (Fertilizer) สารปรับปรุงดิน (Soil conditioner) หรือเป็นแหล่งของธาตุอาหารพืช (nutrient source) เป็นการช่วยกำจัดขยะมูลฝอยโดยทั่วไป ทำให้บริเวณสะอาด ถูกหลักสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อม (Regan และ Jeris, 1970)

2.5.2.2 กระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นการทำให้วัสดุอินทรีย์เหลือทิ้ง มีความคงตัว ซึ่งกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น จะเปลี่ยนรูปแบบที่เน่าเสียได้ของวัสดุให้เป็นรูปแบบที่คงตัว ซึ่งไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หรือเกิดเพียงเล็กน้อยถ้าปล่อยลงดินหรือแหล่งน้ำ

2.5.2.3 กระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นการนำธาตุอาหารพืชกลับมาใช้ประโยชน์ใหม่ ในการปรับปรุงบำรุงดิน ซึ่งธาตุอาหารพืช N P K ที่มีอยู่ในวัสดุเหลือทิ้ง มักจะอยู่ในรูปอินทรีย์ ซึ่งพืชใช้ประโยชน์ได้ยาก ภายหลังกระบวนการปุ๋ยหมัก ธาตุอาหารจะอยู่ในรูปอนินทรีย์ เช่น ไนเตรต และฟอสเฟต ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ของพืช และการใช้ผลผลิตที่ผ่านกระบวนการปุ๋ยหมักกับดินจะช่วยลดการสูญเสียธาตุอาหารพืช โดยการชะล้าง ธาตุอาหารพืชในรูปอนินทรีย์ส่วนใหญ่ ไม่ละลายน้ำ ซึ่งจะถูกชะล้างได้น้อยกว่ารูปแบบที่ละลายน้ำ

2.5.3 ประโยชน์ด้านเศรษฐกิจ

2.5.3.1 ช่วยประหยัดและลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีที่มีราคาแพง ลดปริมาณการนำเข้าปุ๋ยเคมีจากต่างประเทศ ทำให้ลดการขาดดุลย์การค้าลงได้

2.5.3.2 ช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น

2.5.3.3 ช่วยลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกร ทำให้สินค้าเกษตรของประเทศสามารถแข่งขันในตลาดต่างประเทศได้

2.6 คุณภาพปุ๋ยหมัก (Compost quality)

กระบวนการปุ๋ยหมัก เป็นกระบวนการแปรสภาพวัสดุอินทรีย์เหลือทิ้ง ให้อยู่ในรูปที่มีความคงตัว เมื่อใส่ลงไปในดินไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ส่วนประกอบของวัสดุอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ง่าย เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ เหลือเพียงส่วนที่เป็นสารประกอบลิกโนเซลลูโลส สารประกอบฮิวมิค และ เซลล์ของจุลินทรีย์ที่ยังคงอยู่ แม้ว่าจะให้ความชื้นแก่ปุ๋ยหมักอีก ก็จะไม่เกิดการร้อนขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ภายใต้สภาวะที่มีอากาศหรือเกิดการหมักภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศจนเกิดกลิ่นเหม็นได้ ซึ่งข้อกำหนดที่สำคัญในเรื่องคุณภาพของปุ๋ยหมัก คือ ความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ เหมาะสมสำหรับใช้เป็นวัสดุปรับปรุงโครงสร้างดิน มีความคงตัวทั้งทางเคมีและชีวะ ไม่มีความเป็นพิษ และมีธาตุอาหารที่สมดุลย์ การพิจารณาปุ๋ยหมักว่า เป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ปลอดภัย พร้อมที่จะใส่ลงไปในดิน กรมพัฒนาที่ดิน (2540) กล่าวว่า ข้อกำหนดในการที่จะบ่งบอกว่าเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์คือ ค่า C/N ratio ของวัสดุควรมีค่าเท่ากับหรือต่ำกว่า 20/1 ซึ่งที่ระดับดังกล่าว เมื่อนำปุ๋ยหมักใส่ลงไปในดินแล้ว จะไม่เป็นอันตรายต่อพืช หลักเกณฑ์ในการพิจารณาปุ๋ยหมักที่มีการย่อยสลายที่สมบูรณ์และสะดวกในปฏิบัติการภาคสนาม มีดังนี้

1. สีของวัสดุ จะมีสีเข้มขึ้น อาจจะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ
2. ลักษณะของวัสดุ จะอ่อนนุ่ม ยุ่ย และขาดออกจากกันได้ง่าย ไม่แข็งกระด้าง และไม่เป็นก้อนเหมือนเมื่อเริ่มต้น
3. กลิ่นของวัสดุปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ จะมีกลิ่นคล้ายกลิ่นของดินตามธรรมชาติ
4. อุณหภูมิภายในกองปุ๋ยหมัก หลังจากกองปุ๋ยประมาณ 2-3 วัน อุณหภูมิภายในกอง

ปุ๋ยจะสูงประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิจะสูงอยู่ในระดับนี้ระยะหนึ่ง แล้วจึงค่อย ๆ ลดลงจนกระทั่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอก จึงถือว่าเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์

5. ลักษณะพืชที่เจริญบนกองปุ๋ย ต้นพืชที่มีระบบรากลึก สามารถเจริญบนกองปุ๋ยหมักได้ แสดงว่า เป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์แล้ว

6. ค่าวิเคราะห์ทางเคมีของค่า C/N ratio จะบอกได้อย่างแน่ชัดว่า เป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ซึ่งค่า C/N ratio ที่แสดงความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ เท่ากับหรือต่ำกว่า 20/1

Kutzner (2000) กล่าวว่า มีวิธีการทดสอบความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ทั้งทางด้านชีวภาพและเคมี ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 วิธีทดสอบความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ (Kutzner, 2000)

คุณสมบัติที่ต้องการ	วิธีการทดสอบ
ความสามารถในการร้อนขึ้นเองที่ลดลง	การร้อนขึ้นใน Dewar-flasks
การหายใจที่ลดลง	การใช้ออกซิเจน (O_2 uptake) และ/หรือ การเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 formation)
การหมักที่ลดลง	การผลิตกรดอินทรีย์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (pH <7)
การย่อยสลายของเซลลูโลสที่สมบูรณ์	การเจริญของ *Chaetomium* ที่ถูกจำกัด ไม่สร้าง fruiting bodies
C/N ration น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10/1	การวิเคราะห์ทางเคมี
NO_3-N>>NH_4^+-/NH_3-N	การวิเคราะห์ทางเคมี
สารประกอบฮิวมิคที่เกิดขึ้น	การวิเคราะห์ทางเคมี
ความเหมาะสมต่อพืช (ไม่มีสารที่เป็นพิษต่อพืช)	พืชพวกผักกาดหอม (lettuce) สามารถเจริญได้

แม้ว่าจะมีวิธีทดสอบความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักหลายวิธี แต่วิธีที่เหมาะสมและเชื่อถือได้ที่สุดคือวิธี Dewar flask วิธีอื่น ๆ เช่น การใช้ออกซิเจน ก็เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง วิธีทดสอบการหมักในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ไม่ค่อยใช้กันมากนัก วิธีที่ใช้ประโยชน์จากกิจกรรมของเอนไซม์ เช่น กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีในเรื่องการคงตัวของปุ๋ยหมัก และกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีด้านความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมัก วิธีทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสที่ใกล้เสร็จสมบูรณ์ โดยวิธี *Chaetomium* test ซึ่งราชนิดนี้จะไม่สร้างสายใยที่ชูขึ้นไปในอากาศ (Aerial

mycelium) และ fruiting bodies บนอาหารแข็งที่มีปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์เป็นแหล่งของสารอาหารเพียงแหล่งเดียว นอกจากนี้ปริมาณกรดฮิวมิคที่เกิดขึ้นในปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ สามารถนำมาใช้วัดความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักได้ และสุดท้ายสารประกอบที่มีกลิ่นคล้ายดินที่สร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยซิทีสในระยะสุดท้ายของกระบวนการปุ๋ยหมัก อาจจะใช้เป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์ของกระบวนการปุ๋ยหมักได้

ไนโตรเจนเป็นธาตุที่สำคัญในแง่ของความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ Finstein และ Miller (1985) พิจารณา ความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ในเทอมของกระบวนการไนตริฟิเคชั่น เมื่อมีไนไตรต์ และ/หรือ ไนเตรต เกิดขึ้นในวัสดุที่กำลังย่อยสลายในกระบวนการปุ๋ยหมัก แสดงว่าวัสดุนั้นพร้อมที่จะนำมาใช้เป็นปุ๋ยหมักได้

Bess (1999) กล่าวว่า ความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมัก (Compost Maturity) เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญอย่างหนึ่ง แสดงถึงคุณภาพของปุ๋ยหมัก ในเรื่องสารที่เป็นพิษต่อพืช (Phytotoxic compound) ปุ๋ยหมักที่ยังไม่สมบูรณ์ สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดและทำให้ปริมาณไนโตรเจนลดลงอย่างรวดเร็ว สามารถทดสอบความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักโดย การวิเคราะห์ค่าความนำไฟฟ้า (Electrical conductivity) และค่า pH และ Bess ยังได้กล่าวถึงเรื่องคุณภาพของปุ๋ยหมักว่า ในการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยหมัก นอกจากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืชในปุ๋ยหมัก NPK และธาตุอาหารรอง (Micronutrient) และ การวิเคราะห์ความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักแล้ว การประเมินปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมัก ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการพิจารณาคุณภาพของปุ๋ยหมักได้ ซึ่งมาตรฐานการวิเคราะห์องค์ประกอบของจุลินทรีย์ (Microbial content) ในปุ๋ยหมัก กำหนดโดยปริมาณของจุลินทรีย์ 6 กลุ่ม คือ แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic bacteria) แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic bacteria) รา (Fungi) แอคติโนมัยซิทีส (Actinomycetes) ซูโดโมแนส (Pseudomonads) และ แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน (Nitrogen-fixing bacteria) และได้มีการประเมินปริมาณของจุลินทรีย์ดังกล่าวในปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ และใช้เป็นคำแนะนำในการพิจารณาคุณภาพของปุ๋ยหมัก ในแง่ของการเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ดิน (Soil inoculant) ดังแสดงใน ตารางที่ 2.5

กรมพัฒนาที่ดิน ได้กำหนดคุณภาพและมาตรฐานของปุ๋ยหมักที่ดี เมื่อใส่ลงในดินแล้วไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อพืช ไว้ดังนี้

1. อัตราส่วนสารประกอบคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ไม่มากกว่า 20/1
2. เกรดปุ๋ยไม่ควรต่ำกว่า 0.5-0.5-1.0 (%ของ N, P_2O_5, K_2O ตามลำดับ)
3. ความชื้นของปุ๋ยหมักไม่ควรมากกว่า 35-40 % (โดยน้ำหนัก)
4. ปริมาณอินทรียวัตถุประมาณ 25-50 % (โดยน้ำหนัก)
5. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 6.0-7.5
6. ไม่ควรมีวัสดุเจือปนอื่น ๆ

ตารางที่ 2.5 เกณฑ์ในการประเมินปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ (Bess, 1999)

กลุ่มของจุลินทรีย์	ผลการวิเคราะห์ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์
แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic Heterotrophic bacteria)	ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ควรมีปริมาณ aerobic bacteria 10^{8}-10^{10} CFU/gdw ปุ๋ยหมักที่มี aerobic bacteria น้อยกว่า 10^{8} CFU/gdw เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ (Soil inoculum) ที่ไม่ดี และอาจจะไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อโรคพืช
แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobic bacteria)	อัตราส่วนของปริมาณแบคทีเรียพวก aerobes ต่อ anaerobes ในปุ๋ยหมักอย่างน้อยควรเท่ากับ 10/1 หรือ สูงกว่า การเจริญของพวก anaerobes แสดงว่า ปุ๋ยหมักมีการระบายอากาศที่ไม่เพียงพอ
รา (Fungi)	ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ควรมีปริมาณของราระหว่าง$1x10^{3}$ ถึง $1x10^{4}$CFU/gdw รามีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ การหมุนเวียนของสารอาหารในดิน และควบคุมโรคพืช
แอคติโนมัยซิทีส (Actinomycetes)	ปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ ควรมีปริมาณของแอคติโนมัยซิทีส อย่างน้อย 10^{6}-10^{8} CFU/gdw แอคติโนมัยซิทีสมีหน้าที่สำคัญหลายอย่างทั้งย่อยสลายและหมุนเวียนสารที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ไคตินและเซลลูโลสช่วยปรับปรุงโครงสร้างดิน และช่วยลดปริมาณเชื้อโรคพืช
ซูโดโมแนส (Pseudomonads)	ปุ๋ยหมักสมบูรณ์แล้ว ควรมีซูโดโมแนสอยู่ระหว่าง 10^{3}-10^{6} CFU/gdw ขึ้นอยู่กับวัสดุเริ่มต้นที่นำมาทำปุ๋ยหมัก (จำนวนอาจจะต่ำกว่าแต่ค่อนข้างจะสูงกว่า) Pseudomonads มีความสำคัญในการหมุนเวียนสารอาหาร ช่วยทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช และบางชนิดเกี่ยวข้องกับการควบคุมเชื้อโรคพืช
แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (Nitrogen-fixing bacteria)	ปริมาณของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่อย่างอิสระ มีความผันแปร ขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจน (Available nitrogen) แต่อาจจะอยู่ในช่วง 10^{3}-10^{6} CFU/gdw แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่อย่างอิสระจะเพิ่มขึ้นขณะที่ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักลดลง ทำให้เกิดมีความสัมพันธ์แบบผกผันระหว่างปริมาณไนโตรเจนกับปริมาณแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

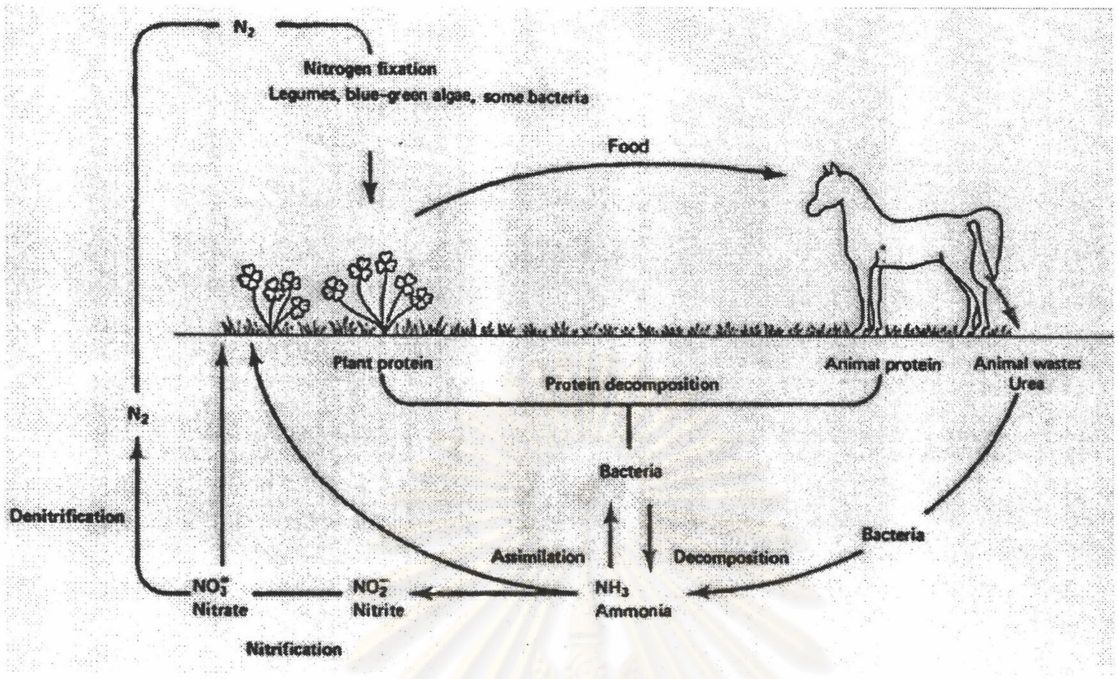
Schuchardt (2000) กล่าวว่า ปุ๋ยหมักที่จะนำมาใช้เป็นปุ๋ยและสารปรับปรุงดิน จะต้องมีคุณภาพดังนี้

1. มีสารอินทรีย์และโลหะหนักเจือปนในปริมาณต่ำ
2. มีองค์ประกอบของธาตุอาหารและอินทรียวัตถุในปริมาณที่เหมาะสม
3. มีค่า C/N ratio ที่ยอมรับได้
4. มีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลางหรือด่าง
5. เป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์แล้ว
6. ไม่มีสิ่งที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช
7. ไม่มีสารอื่นเจือปน เช่น พลาสติก แก้ว โลหะ หิน เป็นต้น
8. ไม่มีเมล็ดวัชพืชและชิ้นส่วนของพืชหลงเหลืออยู่
9. มีหินเป็นองค์ประกอบในปริมาณต่ำ
10. มีกลิ่นดินในป่า
11. มีสีน้ำตาลดำ

ปุ๋ยหมัก เป็นแหล่งของอินทรียวัตถุที่ใช้ในการปรับปรุงโครงสร้างของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญของพืช ขณะเดียวกันในด้านการบำรุงดิน ปุ๋ยหมักเป็นแหล่งของธาตุอาหารพืช ช่วยเพิ่มปริมาณธาตุอาหาร ความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดิน ปุ๋ยหมักเป็นประโยชน์ทั้งการปรับปรุงและบำรุงดิน มักจะคำนึงถึงปริมาณธาตุอาหารพืชในปุ๋ยหมักเป็นหลัก ซึ่งปุ๋ยหมักเป็นแหล่งของปุ๋ยไนโตรเจนราคาถูก แต่ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก มีความผันแปรอย่างมาก ขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจนในวัสดุที่นำมาทำปุ๋ยหมัก และการปลดปล่อยธาตุอาหารไนโตรเจนของปุ๋ยหมักเมื่ออยู่ในดินก็มีความผันแปรด้วยเช่นกัน (Bezdicek และ Fauci, 1997) จากค่าวิเคราะห์ทางเคมีของระดับธาตุอาหารพืชทั้งธาตุอาหารหลักและรองในปุ๋ยหมักที่ทำจากวัสดุต่าง ๆ ทั้งที่ย่อยสลายได้ง่ายและยาก กรมพัฒนาที่ดิน (2540) พบว่า ปริมาณธาตุอาหารหลักอยู่ในเกณฑ์ดังนี้ คือ ไนโตรเจน 1.00% ฟอสฟอรัส 0.35% และโปแตสเซียม 1.50% โดยมีระดับความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.0-8.5 ที่ระดับความคลาดเคลื่อนประมาณ 25% จะเห็นว่าปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักมีไม่มากนัก เมื่อเทียบกับปุ๋ยเคมี ทำให้เกษตรกรเลือกใช้ปุ๋ยเคมี ซึ่งมีราคาแพง การปรับปรุงคุณภาพของปุ๋ยหมักให้ดีขึ้น จะช่วยประหยัดและลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีลง โดยจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักและในดินบางชนิดสามารถช่วยเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยหมักได้ เช่น *Azotobacter* sp. สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้อย่างอิสระและพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เป็นการเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยหมัก (พิทยากร ลิ่มทอง และ เสียงแจ๋ว พิริยพฤนต์, 2540) ถ้าหากในกระบวนการปุ๋ยหมักมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้ในเวลาเดียวกัน ก็น่าจะช่วยเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยหมักให้ดีขึ้น

ไนโตรเจน เป็นธาตุที่สำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิต เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิก คลอโรฟิลล์ และสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอื่น ๆ สิ่งมีชีวิตไม่สามารถเจริญเติบโตได้ถ้าขาดธาตุไนโตรเจน แหล่งสะสมของธาตุไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศ มีก๊าซไนโตรเจน (N_2) อยู่มากถึง 78% ซึ่งพืชและสัตว์ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ก๊าซไนโตรเจนจะต้องถูกเปลี่ยนโดยการตรึงหรือรวมกับธาตุออกซิเจนหรือไฮโดรเจน ในรูปของแอมโมเนีย (NH_3) หรือแอมโมเนียม ไอออน (NH_4^+) และ ไนเตรตไอออน (NO_3^-) ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ จุลินทรีย์หลายชนิดมีบทบาทสำคัญ ได้แก่ แบคทีเรียที่เปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย โดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) แบคทีเรียที่เปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนไตรต์และไนเตรต โดยกระบวนการไนตริฟิเคชั่น (Nitrification) แบคทีเรียที่เปลี่ยนไนเตรตไปเป็นก๊าซไนโตรเจนหรือออกไซด์ของไนโตรเจน โดยกระบวนการดีไนตริฟิเคชั่น (Denitrification) และจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์แล้วปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาโดยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชั่น (Ammonification) หรือ มิเนอรัลไรซ์เซชั่น (Mineralization) ไนโตรเจนเข้าสู่ระบบของสิ่งมีชีวิต โดยก๊าซไนโตรเจนจากชั้นบรรยากาศ ถูกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (Nitrogen-fixing bacteria) เปลี่ยนก๊าซไนโตรเจน ให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย โดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) ซึ่งแอมโมเนียที่เกิดขึ้นนี้พืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง หรือละลายน้ำรวมกับไฮโดรเจนไอออน กลายเป็นแอมโมเนียมไอออน ซึ่งแบคทีเรียและพืชสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน สร้างโปรตีนได้ แบคทีเรียพวกไนตริฟายอิ่ง (Nitrifying bacteria) ซึ่งได้พลังงานจากการออกซิไดส์แอมโมเนีย ก็จะเปลี่ยนแอมโมเนียมไปเป็นไนไตรต์และเปลี่ยนไนไตรต์ไปเป็นไนเตรต โดยกระบวนการไนตริฟิเคชั่น (Nitrification) พืชจะดูดซึมไนเตรตไปใช้ สัตว์ได้รับไนโตรเจนโดยการกินพืชและสัตว์อื่น ๆ ผ่านทางสายใยอาหาร (Food web) สิ่งขับถ่าย ของเสียจากสัตว์ พืชสัตว์ และจุลินทรีย์ที่ตายลง ก็จะมีจุลินทรีย์มาทำหน้าที่ย่อยสลายของเสีย ซากพืช ซากสัตว์ และซากจุลินทรีย์ โปรตีนจะถูกย่อยสลาย และปลดปล่อยไนโตรเจนออกมาในรูปของแอมโมเนีย และยังมีแบคทีเรียพวกดีไนตริฟายอิ่ง (Denitrifying bacteria) ซึ่งจะรีดิวซ์ไนเตรตไปเป็นก๊าซไนโตรเจนกลับคืนสู่ชั้นบรรยากาศ วัฏจักรไนโตรเจนก็สมบูรณ์ ดังแสดงในรูปที่ 2.4 (Brock และ Brock, 1978)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.4 วัฏจักรไนโตรเจน (Brock และ Brock, 1978)

2.7 **การตรึงไนโตรเจน** (Nitrogen fixation)

การตรึงไนโตรเจนเป็นการเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจน (N_2) จากชั้นบรรยากาศให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งพืชและสัตว์สามารถนำไปใช้ได้ การตรึงไนโตรเจนนอกจากจะเกิดขึ้นโดยกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน (diazothroph) ได้แล้ว การตรึงไนโตรเจนยังเกิดขึ้น จากขบวนการฟ้าแลบ (lightning) ทำให้เกิดสารประกอบออกไซด์ของไนโตรเจน จากการเผาไหม้น้ำมันเชื้อเพลิง และฝนจะชะล้างสารประกอบออกไซด์ของไนโตรเจนเหล่านี้ลงสู่ดินในรูปของไนเตรต ในอุตสาหกรรมผลิตปุ๋ยเคมี โดยกระบวนการ Haber-Bosch process แต่การเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย จะเกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกระบวนการตรึงไนโตรเจน(Nitrogen fixation หรือ Dinitrogen fixation) เป็นหลัก ในแต่ละปี มีไนโตรเจนที่เกิดขึ้นจากการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพโดยสิ่งมีชีวิตถึง 60% ขณะที่ในอุตสาหกรรม เกิดขึ้นประมาณ 25% และส่วนที่เหลือ 15% เกิดจากขบวนการฟ้าแลบ แสงยูวี และอื่น ๆ (Burns และ Hardy, 1975; Postgate, 1982) ประมาณว่า การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพเกิดขึ้นมากกว่า 2 เท่าของการตรึงไนโตรเจนที่ไม่ใช่ทางชีวภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2.6 (Bezdicek และ Kennedy, 1998)

ตารางที่ 2.6 ค่าประมาณปริมาณก๊าซไนโตรเจนที่ตรึงได้ในระดับโลก (Bezdicek และ Kennedy, 1998)

ชนิดของการตรึงไนโตรเจน	ปริมาณก๊าซไนโตรเจนที่ถูกตรึง (N_2 fixed) 10^{12} กรัมต่อปีหรือ 10^6 เมตริกตันต่อปี
ไม่ใช่ทางชีวภาพ (Non-Biological)	
อุตสาหกรรม (Industrial)	ประมาณ 60
การเผาไหม้ (Combustion)	ประมาณ 20
ฟ้าแลบ (Lightning)	ประมาณ 10
ทั้งหมด	ประมาณ 80
ทางชีวภาพ (Biological)	
พื้นที่การเกษตร (Agricultural land)	ประมาณ 90
ป่าและพื้นที่ว่างเปล่า (Forest and Non-Agricultural land)	ประมาณ 50
ทะเล	ประมาณ 35
ทั้งหมด	ประมาณ 175

2.7.1 การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation)

การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต เกิดขึ้นประมาณ 175x10^6 เมตริกตันต่อปี คิดเป็นประมาณ 60 % ของการตรึงไนโตรเจนทั้งหมด (Bezdicek และ Kennedy, 1998) ซึ่งการตรึงไนโตรเจนโดยสิ่งมีชีวิตนั้น พบเฉพาะในกลุ่มของจุลินทรีย์ ทั้งในแบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) และแอคติโนมัยซิทีส บางชนิดตรึงไนโตรเจนได้เฉพาะเมื่ออยู่ร่วมกับพืชชั้นสูง การตรึงไนโตรเจนจากอากาศโดยจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่อย่างอิสระในธรรมชาติ (Free-living หรือ Non-Symbiotic Nitrogen Fixation) และ การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Symbiotic Nitrogen Fixation)

1. การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่อย่างอิสระในธรรมชาติ (Free-living หรือ Non-symbiotic Nitrogen Fixation)

เป็นการตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในดิน ในน้ำ บริเวณใบ (Phyllosphere) และบริเวณรากพืช (Rhizosphere) พบในแบคทีเรีย และไซยาโน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบคทีเรีย ทั้งพวกที่ต้องการออกซิเจน (Aerobe) พวกที่ต้องการออกซิเจนต่ำ (Facultative Anaerobe) และพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจน (Anaerobe) โดยได้พลังงานจากสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ หรือจากแสงโดยตรง (Tate, 2000) จุลินทรีย์อิสระที่ตรึงไนโตรเจนได้ แสดงไว้ในตารางที่ 2.7 (Benson, 1985; Brock, 1974; Roper และ Ladha, 1995; Tate, 2000)

ตารางที่ 2.7 จุลินทรีย์อิสระที่ตรึงไนโตรเจน (Benson, 1985; Brock, 1974; Roper และ Ladha, 1995; Tate, 2000)

ความต้องออกซิเจน	การสร้างพลังงาน	สกุล
Aerobe	Heterotrophic	*Azotobacter Beijerinckia*
		Acetobacter Pseudomonas
Facultative Anaerobe	Heterotrophic	*Klebsiella Enterobacter*
		Bacillus
Microaerophilic	Heterotrophic	*Xanthobacter*
		Azospirillum
Strict Anaerobe	Autotrophic	*Thiobacilli*
	Heterotrophic	*Clostridium Desulfovibrio*
		Desulfotomaculum
Aerobe	Phototrophic	*Anabaena*
	(Cyanobacteria)	*Nostoc*
Facultative Anaerobe	Phototrophic bacteria	*Rhodospirillum*
Strict Anaerobe	Phototrophic bacteria	*Chlorobium*
		Chromatium

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Symbiotic Nitrogen Fixation)

เป็นการตรึงไนโตรเจนที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตอย่างน้อยสองชนิด อาศัยอยู่ร่วมกัน ต่างฝ่ายต่างช่วยเหลือให้ประโยชน์ต่อกันและกัน เช่น แบคทีเรีย *Rhozobium* และ *Bradyrhizobium* ซึ่งทำให้เกิดปม (Nodule) ที่รากของพืชตระกูลถั่ว (Leguminous plant) การตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นจากการอยู่ร่วมกันของแบคทีเรียกับพืช โดยพืชทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และให้แหล่ง

คาร์บอนและแหล่งพลังงานในการตรึงไนโตรเจนแก่แบคทีเรีย แบคทีเรียจะตรึงไนโตรเจน และสังเคราะห์กรดอะมิโน ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้สร้างเนื้อเยื่อของพืชได้ ต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ร่วมกัน ไรโซเบียมแต่ละชนิดมีความสามารถในการสร้างปมกับพืชตระกูลถั่วได้อย่างเฉพาะเจาะจง (Host specificity) และตรึงไนโตรเจนได้ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (สมศักดิ์ วังใน, 2541) ยังมีการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยในพืชที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว (Nonleguminous plant) เช่น แอคติโนมัยซิทีส *Frankia* ที่อยู่ร่วมกับต้น alder แล้วทำให้เกิดปมรากที่ตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีไลเคนส์ การอยู่ร่วมกันระหว่างรากับสาหร่ายหรือไซยาโนแบคทีเรีย และไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena azollae* ที่อาศัยอยู่ในช่องว่างที่มีอยู่บนใบของพืชน้ำพวกเฟิร์น เช่น แหนแดง เป็นต้น

2.7.2 ชีวเคมีของการตรึงไนโตรเจน (Biochemistry of Nitrogen Fixation)

กระบวนการลดออกซิเจนของก๊าซไนโตรเจน ไปเป็นแอมโมเนียโดยจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นโดยการกระตุ้นของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ก๊าซไนโตรเจนจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอมโมเนีย ดังสมการ

$$N_2 + 8H^+ + \text{Energy} \longrightarrow 2NH_3 + H_2$$

การตรึงไนโตรเจนเป็นกระบวนการที่ต้องการพลังงานเป็นอย่างมาก ในสภาวะที่เหมาะสม ต้องการ MgATP อย่างน้อย 16 โมเลกุล แต่ในธรรมชาติโดยทั่วไปต้องการ MgATP 20-30 โมเลกุล ซึ่งการออกซิไดส์กลูโคส 1 โมเลกุล ให้พลังงาน ATP 38 โมเลกุล จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนจะต้องใช้พลังงานเกือบทั้งหมดในการรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจน 1 โมเลกุลไปเป็นแอมโมเนียมไอออน 2 โมเลกุล ซึ่ง ATP อาจจะได้มาจาก กระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthetic process) โดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและตรึงไนโตรเจน หรือได้พลังงานมาจากการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งความต้องการพลังงานสูง เป็นตัวจำกัดปริมาณก๊าซไนโตรเจนที่จะถูกรีดิวซ์โดยจุลินทรีย์ดินซึ่งได้พลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ การเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียให้เกิดขึ้นสูงสุด จำเป็นต้องมีแหล่งพลังงานที่มากเพียงพอและคงที่ เช่นที่เกิดขึ้นในธรรมชาติบริเวณรอบรากพืช (Rhizosphere) ซึ่งแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนได้พลังงานจากสารที่ปลดปล่อยออกมาจากราก (Root exudate) หรือจากการอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Symbiotic association) หรือ โดยตรงจากพลังงานแสง ในพวกไซยาโนแบคทีเรีย และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria) โดยทั่วไปปริมาณสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายง่ายในดินมักไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการตรึงไนโตรเจนได้สูง ในธรรมชาติการตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นสูงในบริเวณที่มีแหล่งพลังงานอย่างเพียงพอ เช่น การตรึงไนโตรเจนโดยพวกไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งได้พลังงานจากกระบวนการสังเคราะห์แสง หรือการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัย (Symbiotic Nitrogen Fixation) โดยที่แอคติโนมัยซิทีสหรือแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนได้

พลังงานจากการย่อยสลายสารที่ได้จากการสังเคราะห์แสงของพืช (Plant photosynthate) โดยตรง (Tate, 2000)

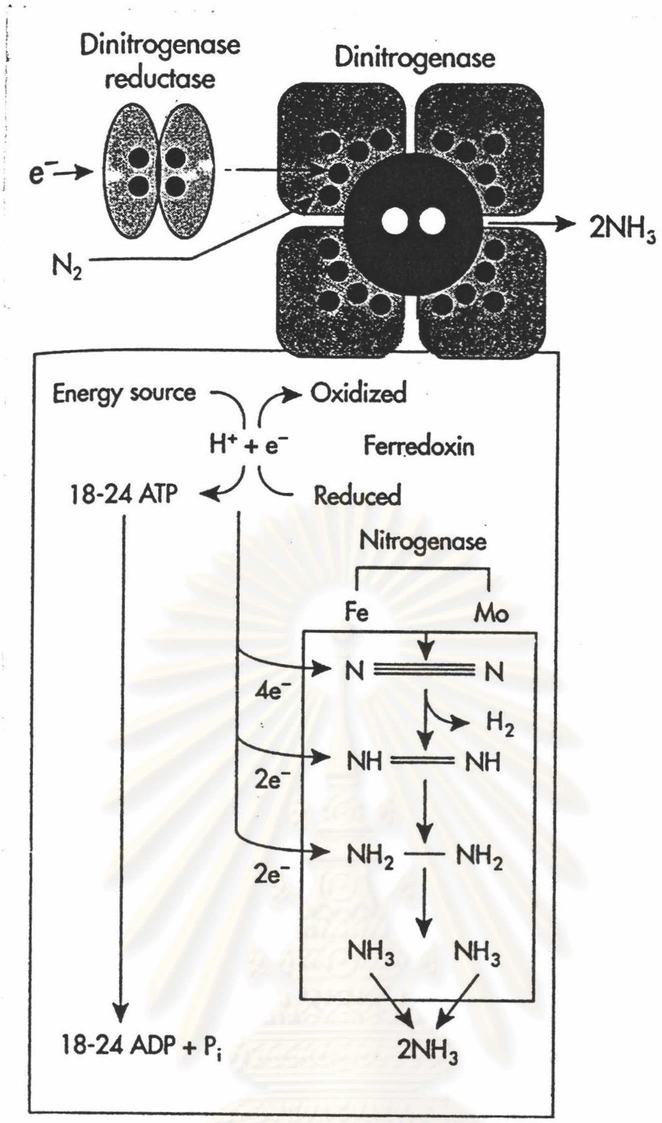
2.7.3 เอนไซม์ไนโตรจีเนส (Nitrogenase enzyme)

ไนโตรจีเนส เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการลดออกซิเจนของก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย ประกอบด้วยโปรตีนที่ต่างกัน 2 ส่วนคือ Dinitrogenase หรือ MoFe protein หรือ protein I และ Dinitrogenase reductase หรือ Fe protein หรือ protein II Dinitrogenase เป็นโปรตีนขนาดใหญ่ประมาณ 220-240 kdaltons ซึ่งจะจับและรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจน ขณะที่ Dinitrogenase reductase จะเป็นตัวส่งผ่านอิเลคตรอนให้กับเอนไซม์ Dinitrogenase (Tate, 2000)

กระบวนการหรือปฏิกิริยาการลดออกซิเจนของก๊าซไนโตรเจน ซึ่งกระตุ้นโดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส จะเกิดขึ้นได้ต้องอาศัย 1) ตัวให้อิเลคตรอน (Electron donor), 2) ตัวรับอิเลคตรอน (Electron acceptor), 3) แหล่งพลังงาน ซึ่งได้แก่ ATP (Adenosine-5-triphosphate) และ 4) divalent metal ion Mg^{++} Mn^{++} Co^{++} Fe^{++} และ Ni^{++} ซึ่งช่วยให้ ATP ทำงานได้ตามปกติ (สมศักดิ์ วังใน, 2541) ปฏิกิริยาโดยทั่วไปอาจเขียนได้ดังนี้ (Simpson และ Burris, 1984 อ้างถึงใน Kim และ Rees, 1994)

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16MgATP \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16MgADP + 16P_i$$

ในกระบวนการตรึงไนโตรเจน จะต้องใช้ MgATP 2 โมเลกุล ในการถ่ายทอดอิเลคตรอน 1 ตัวจากเอนไซม์ Dinitrogenase reductase ไปยังเอนไซม์ Dinitrogenase ในสภาวะที่เหมาะสมต้องการ ATP อย่างน้อย 16 โมเลกุล แต่ในธรรมชาติอาจจำเป็นต้องใช้ ATP ถึง 30 โมเลกุล โดยกระบวนการเริ่มต้นจากเอนไซม์ Dinitrogenase reductase รับอิเลคตรอนจากตัวให้อิเลคตรอน เช่น Ferredoxin แล้วจับกับ MgATP 2 โมเลกุล จากนั้นรวมกับ Dinitrogenase เกิดเป็นคอมเพล็กซ์ อิเลคตรอนจะถูกถ่ายทอดและ MgATP 2 โมเลกุลจะถูกไฮโดรไลส์ไปเป็น MgADP กับ Inorganic phosphate (P_i) แล้วโปรตีนทั้งสองก็แยกออกจากกัน และกระบวนการเกิดขึ้นซ้ำอีก หลังจาก Dinitrogenase เก็บสะสมอิเลคตรอนได้เพียงพอ ก็จะจับกับโมเลกุลของก๊าซไนโตรเจน และรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย (Giller และ Wilson, 1991) ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 การลดออกซิเจนของก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียที่กระตุ้นโดยระบบเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Atlas, 1995)

นอกจากก๊าซไนโตรเจนและโปรตอนแล้ว เอนไซม์ไนโตรจีเนสยังสามารถกระตุ้นปฏิกิริยาการลดออกซิเจนให้กับสารเคมี (Substrates) อื่น ๆ ได้อีก ดังแสดงในตารางที่ 2.8 จากความสามารถของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในการรีดิวซ์ substrate อื่นนอกจากก๊าซไนโตรเจน ทำให้ค้นพบวิธีวัดการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีทางอ้อม นั่นคือการลดออกซิเจน (การรีดิวซ์) ก๊าซอะเซทิลีน (Acetylene, C_2H_2) ไปเป็นเอธิลีน (Ethylene, C_2H_4) ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็ว ค่อนข้างแน่นอนและสะดวก การวิเคราะห์หาปริมาณอะเซทิลีนที่เหลือและเอธิลีนที่เกิดขึ้นก็ทำได้ง่าย โดยใช้วิธีการทาง Gas Chromatography (GC) และปริมาณอะเซทิลีนที่ถูกรีดิวซ์โดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับปริมาณก๊าซไนโตรเจนที่ถูกรีดิวซ์จริง ๆ (สมศักดิ์ วังใน, 2541)

ตารางที่ 2.8 ปฏิกิริยาการลดออกซิเจนที่กระตุ้นโดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Sprent, 1979)

สารเคมี (Substrate)	ผลที่ได้ (Product)
N_2	$2NH_3$
N_3^-	N_2, NH_3
N_2O	N_2, H_2O
HCN	CH_4, NH_3, CH_3NH_2
CH_3CN	C_2H_6, NH_3
CH_3NC	CH_3NH_2, CH_4, C_2H_6, C_2H_4, C_3H_8, C_3H_6
CH_2CHCN	C_3H_6, NH_3, C_3H_8
C_2H_2	C_2H_4
$2H^+$	H_2

เอนไซม์ไนโตรจีเนสมีความไวต่อออกซิเจนเป็นอย่างมาก (Oxygen sensitive) จะไม่ทำงานเมื่อมีออกซิเจน กระบวนการตรึงไนโตรเจน เป็นกระบวนการที่ไม่ต้องการออกซิเจน การตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้ในตำแหน่งที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจนส่วนใหญ่มีกลไกในการหลีกเลี่ยงหรือกำจัดออกซิเจน เพื่อป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งวิธีป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะสัมผัสกับออกซิเจนมีดังนี้ (Fuchs, 1999; Giller และ Wilson, 1991; Postgate, 1982; Tate, 2000)

1. การหลีกเลี่ยงที่จะสัมผัสกับออกซิเจน (Avoidance of Oxygen contact)

ในแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ เช่น *Clostridium pasteurianum* พวกที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (Facultative anaerobes) เช่น *Klebsiella pneumoniae* มีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นตัวควบคุมให้สังเคราะห์เอนไซม์ไนโตรจีเนส ภายใต้สภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำเท่านั้น (Gussin และคณะ, 1986 อ้างถึงใน Giller และ Wilson, 1991)

2. การป้องกันโดยระบบการหายใจ (Respiratory protection)

การเพิ่มอัตราการหายใจ ทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง เช่น *Azotobacter* sp. ในสภาพที่มีออกซิเจนจะออกซิไดส์แหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้น การป้องกันออกซิเจนวิธีนี้พบได้ในแบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระทั้งหลายและไซยาโนแบคทีเรีย

3. การป้องกันโดยการเปลี่ยนรูปแบบ (Conformational protection)

พบใน *Azotobacter* spp. เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะเกิดการเปลี่ยนรูปแบบ (Conformation change) โดยการจับกับโปรตีนขนาดเล็ก (Protective protein) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24,000 ดาลตัน การจับกับ protective protein ทำให้รูปแบบของเอนไซม์เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ไม่ทำงานแต่สามารถทนทานต่อออกซิเจนได้ เมื่อปริมาณออกซิเจนลดลงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ เอนไซม์ไนโตรจีเนสก็จะสามารถมีกิจกรรมได้เหมือนเดิม

4. การสร้างเมือก (Gum or Slime production)

เมือกหรือสารโพลีแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่รอบนอกผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เซลล์ใหญ่ขึ้น และช่วยเป็นผนังกั้น ลดอัตราการแพร่ของออกซิเจนเข้าสู่เซลล์ พบในพวก *Azotcbacter* spp. และ *Derxia gummosa*

5. การสร้างเซลล์ที่มีผนังหนา (Heterocyst production)

พบในแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงและไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะแยกไปอยู่ในโครงสร้างที่มีผนังเซลล์หนา ที่เรียกว่า heterocyst เพื่อลดการสัมผัสกับออกซิเจน

6. การสร้างเลกฮีโมโกลบิน (Leghemoglobin production)

ในปมรากพืชตระกูลถั่ว-ไรโซเบียม จะมีโมเลกุลที่คล้ายกับฮีโมโกลบิน เรียกว่า เลกฮีโมโกลบินกระจายอยู่ในปมราก เลกฮีโมโกลบินมีความสามารถในการจับออกซิเจนได้สูง ช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่จะสัมผัสกับเอนไซม์ไนโตรจีเนส

7. การย้ายไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (Migration to suitable environment)

แบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้ จะหลีกเลี่ยงออกซิเจน โดยการย้ายไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจน อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม หรืออยู่ร่วมกับพวกที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic Heterotroph) ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายจากออกซิเจนได้ เช่น *Azospirillum brasilens* จะหลีกเลี่ยงออกซิเจนโดยการเคลื่อนตัวไปอยู่ในบริเวณที่มีแรงดันออกซิเจนต่ำ และ พบในไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว และ *Derxia gummosa*

Giller และ Wilson, 1991 กล่าวว่า นอกจากต้นทุนแหล่งพลังงาน (Energy cost) ในการรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจนและความไว (Sensitivity) ของเอนไซม์ไนโตรจีเนสต่อออกซิเจนแล้ว สารประกอบไนโตรเจน ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจน ในแบคทีเรียอิสระที่ตรึงไนโตรเจน กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนส จะไม่เกิดขึ้น ถ้ามีสารประกอบไนโตรเจนปริมาณที่เพียงพออยู่ในเซลล์ของแบคทีเรียแล้ว การขาดแคลนสารประกอบไนโตรเจนและลักษณะทางพันธุกรรมในการควบคุมการสร้างเอนไซม์ไนโตรจีเนสในสภาวะที่มีออกซิเจนปริมาณต่ำ จะเป็นตัวควบคุมและชัก

นำให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนส แบคทีเรียอิสระที่ตรึงไนโตรเจนได้บางชนิดเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะหยุดทำงานชั่วคราวในสภาวะที่มีแอมโมเนีย เนื่องจากเอนไซม์ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Covalent modification) ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ 2 ชนิดคือ เอนไซม์ DART (Dinitrogenase reductase ADP-ribosyl transferase) ในสภาพที่มีแอมโมเนียมจะเติม ADP ให้กับเอนไซม์ dinitrogenase reductase ทำให้เอนไซม์ไนโตรจีเนสหยุดทำงานชั่วคราว และเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมลดลง เอนไซม์ DRAG (Dinitrogenase reductase activating glycohydrolase) จะทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับของ ADP-ribosylation ทำให้เอนไซม์ไนโตรจีเนสทำงานได้ตามปกติ พบใน *Rhodospirillum rubrum Azorhizobium caulinodans* อย่างไรก็ตาม การหยุดทำงานชั่วคราวของเอนไซม์ไนโตรจีเนสไม่ได้พบทั่วไปในแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนทั้งหมด เช่นไม่พบใน *Azotobacter* spp. หรือใน *Klebsiella pneumoniae*

2.7.4 การวัดการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพโดยสิ่งมีชีวิต (Measurement of Biological Nitrogen Fixation)

วิธีวัดการตรึงไนโตรเจนมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน เช่น วัดการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เพื่อดูความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (Tate, 2000) วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (N-analysis) โดยวิธี kjeldahl โดยวัดความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) ก่อนและหลังการเจริญในสภาพที่มีก๊าซไนโตรเจน (Burns และ Hardy, 1975) ติดตามธาตุไนโตรเจนด้วย ^{15}N และใช้วิธีการรีดิวซ์ก๊าซอะเซทิลีนเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ไม่มีวิธีที่สมบูรณ์แบบ (Hardy และคณะ, 1973) แต่ละวิธีมีข้อดีข้อบกพร่องต่างกันออกไป จึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะกับลักษณะงาน โดยหลีกเลี่ยงข้อบกพร่องของวิธีนั้นเสีย วิธีวัดการตรึงไนโตรเจน มีดังนี้

1. วัดการตรึงไนโตรเจนโดยตรวจสอบการเจริญ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากแหล่งไนโตรเจน (Nitrogen-free Cultivation)

ตรวจสอบการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากแหล่งไนโตรเจนเป็นวิธีที่ง่ายที่สุด วัดการเจริญจากการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพ (Biomass) หรือสังเกตความขุ่น (Optical density) ของอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรีย

2. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยวิธีเจลดาล (Kjeldahl method)

วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีทางเคมี ไม่สามารถบอกความแตกต่างของไนโตรเจนที่ได้ว่ามาจากก๊าซไนโตรเจนหรือมาจากแหล่งอื่น (Hardy และคณะ, 1973) มีความคลาดเคลื่อน ไนโตรเจนบางส่วนอาจสูญหายไปโดยกระบวนการดีไนตริฟิเคชั่น (Tate, 2000)

ทำให้ค่าที่ได้อาจน้อยกว่าความเป็นจริง เป็นวิธีที่มีความไวน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ มาก ไม่สามารถใช้วัดไนโตรเจนในปริมาณที่ต่ำได้

3. วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีไนโตรเจน-15 ($^{15}N_2$ method)

เป็นวิธีวัดการตรึงไนโตรเจนทางตรง โดยใช้ไอโซโทปที่เสถียรของไนโตรเจนวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ สามารถติดตามแหล่งของไนโตรเจนได้แน่นอนและถูกต้องที่สุด โดยใช้ไอโซโทป ^{15}N เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียภายใต้บรรยากาศที่มี ^{15}N แล้วตรวจหาปริมาณ^{15}N ในเซลล์ของแบคทีเรีย ด้วยเครื่อง Mass Spectrometer ซึ่งวิธีนี้มีความไวกว่าวิธีเจลดาลถึง 1000 เท่า ให้ผลแม่นยำเที่ยงตรง แต่มีข้อเสียคือ ต้องใช้เทคนิคค่อนข้างสูง และมีค่าใช้จ่ายสูงมาก

4. วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น (Acetylene reduction assay)

เป็นวิธีวัดกิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสทางอ้อม โดยใช้ความสามารถของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในการรีดิวซ์ substrate อื่นนอกจากก๊าซไนโตรเจน (Turner และ Gibson, 1980) ซึ่งอะเซทิลีนมีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากปกติจะไม่พบก๊าซอะเซทิลีนในบรรยากาศ และมีราคาไม่แพง สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง GC โดยเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะรีดิวซ์ก๊าซอะเซทิลีน (C_2H_2) ไปเป็นก๊าซเอธิลีน (C_2H_4) ซึ่งสามารถตรวจสอบก๊าซทั้งสองงชนิดได้ แม้ในปริมาณต่ำ ๆ ด้วยเครื่อง GC ข้อดีของวิธีนี้คือ มีความไวสูง ไวกว่าวิธีไนโตรเจน-15 ถึง 10^3-10^4 เท่า เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ใช้เทคนิคง่าย ๆ ใช้เครื่องมือไม่ยาก และราคาไม่แพง

ในการรีดิวซ์ก๊าซ C_2H_2 ไปเป็น C_2H_4 โดยเอนไซม์ไนโตรจีเนสมีความคล้ายคลึงกับการรีดิวซ์ N_2 ไปเป็น NH_3 เป็นอย่างมากแต่การรีดิวซ์ก๊าซ C_2H_2 1 โมล ไปเป็นก๊าซ C_2H_4 1 โมล ต้องใช้อิเลคตรอน 2 ตัว ในขณะที่การรีดิวซ์ N_2 1 โมลไปเป็น NH_3 2 โมล จะต้องใช้อิเลคตรอน 6 ตัว การแปรค่าปริมาณ C_2H_2 ที่ถูกรีดิวซ์ไปเป็นปริมาณการตรึงไนโตรเจน จึงควรมีค่าอัตราการเปลี่ยน C_2H_2 / N_2 (C_2H_2 / N_2 conversion factor) ในทางทฤษฎีเท่ากับ 3:1 (Hardy และคณะ, 1973) เมื่อต้องการทราบปริมาณไนโตรเจนที่ถูกตรึง จะสามารถคำนวณได้จากปริมาณก๊าซ C_2H_2 ที่ถูกรีดิวซ์ไปเป็นก๊าซ C_2H_4 หารด้วยค่า conversion factor ข้อเสียของวิธีนี้คือ ธรรมชาติของก๊าซอะเซทิลีนซึ่งสามารถระเบิดได้

2.8 การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก (Improvement Compost Quality)

กระบวนการปุ๋ยหมักเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์หลายชนิด และกิจกรรมของจุลินทรีย์เหล่านี้ เป็นปัจจัยที่กำหนดอัตราการย่อยสลายในกระบวนการปุ๋ยหมัก ในการทำปุ๋ยหมักจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ฟางข้าวหรือเศษพืชอื่น ๆ ซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก ดังนั้นกระบวนการปุ๋ยหมักจึงขึ้นอยู่กับกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส การศึกษาการทำหัวเชื้อปุ๋ยหมัก จึงมักจะศึกษาการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ เพื่อลดระยะเวลาในการทำปุ๋ยหมักให้สั้นลง

2.8.1 การศึกษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายเศษพืชเพื่อทำปุ๋ยหมัก

พิทยากร ลิ่มทอง (2531) ได้ศึกษาอิทธิพลของจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสต่อการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าว โดยทำการแยกราและแอคติโนมัยซีทีส ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากตัวอย่างดิน เศษพืช ปุ๋ยหมักและมูลสัตว์ คัดเลือกได้รา 4 สายพันธุ์ แอคติโนมัยซีทีส 3 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถสูงในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อยสลายกระดาษกรอง CMC (Carboxymethyl cellulose) และ Avicel ได้ศึกษาผลการเติมจุลินทรีย์ที่คัดเลือกในสภาพเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมต่อการย่อยสลายฟางข้าวในห้องปฏิบัติการที่ 50 องศาเซลเซียส และศึกษาผลการใช้จุลินทรีย์ผสม 2 ชนิดที่คัดเลือกต่อการย่อยสลายฟางข้าวในกองปุ๋ยหมักในภาคสนาม พบว่า การใช้เชื้อผสมชนิดที่ 2 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวดีที่สุด แตกต่างกับการไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์

พิทยากร ลิ่มทอง และคณะ, 2527 อ้างถึงใน พิทยากร ลิ่มทอง (2536) ได้ศึกษาการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายฟางข้าว ได้รา 3 สายพันธุ์ และแอคติโนมัยซีทีส 2 สายพันธุ์ ต่อมาได้ใช้เชื้อผสมของจุลินทรีย์เหล่านี้ในการผลิตหัวเชื้อหรือสารเร่งสำหรับทำปุ๋ยหมัก

วิศิษฐพร เผื่อนพิภพ (2529) ได้ศึกษาการแยกและคัดเลือกราที่มีความสามารถสูงในการย่อยสลายฟางข้าวภายใต้วิธีการหมักแบบธรรมชาติ คัดเลือกราที่แยกได้จากฟางข้าวแหล่งต่าง ๆ ได้รา *Aspergillus* sp. (A-8) รา *Aspergillus* sp. (B-25) และรา *Humicola* sp. (H-30) มีความสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสได้สูง เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เมื่อศึกษาการย่อยสลายฟางข้าวในโหลหมัก โดยการเติมราที่คัดเลือกได้ พบว่า อัตราการย่อยสลายของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมราชนิดเดียวหรือราผสม (2 สายพันธุ์) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับโหลหมักที่ไม่เติมรา โดยการเติมราชนิดเดียวได้ผลดีที่สุด และเมื่อศึกษาการหมักในระดับใหญ่ โดยหมักฟางข้าวในถังซีเมนต์ โดยเติมรา *Aspergillus* sp.

(A-8) หรือ รา *Aspergillus* sp. (B-25) พบว่าอัตราการย่อยสลายของฟางข้าวในถังที่เติมราจะเกิดขึ้นเร็วกว่าถังที่ไม่เติมรา

Golueke และคณะ (1954) ได้ศึกษาการใช้มูลสัตว์ ดิน แบคทีเรีย และปุ๋ยหมัก ซึ่งเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ ใส่ในกองปุ๋ยหมักที่ทำจากขยะ พบว่า ไม่ช่วยให้การย่อยสลายเร็วขึ้นกว่าการไม่ใส่ปัจจัยทั้ง 4 ดังกล่าว ซึ่งธรรมชาติของกระบวนการปุ๋ยหมัก และแบคทีเรียในวัสดุนั้นมีอยู่ในปริมาณที่เพียงพอแล้ว การใส่แบคทีเรียเพิ่มลงไปจึงไม่จำเป็น ซึ่งการใส่แบคทีเรียจะมีผลก็ต่อเมื่อมีปริมาณแบคทีเรียในกองปุ๋ยหมักน้อย และไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้รวดเร็ว ในกรณีนี้การใส่แบคทีเรีย น่าจะเห็นผลชัดเจน และการใส่จุลินทรีย์เพิ่มลงไปในกองปุ๋ยหมัก ควรต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ และจุลินทรีย์ที่ใส่ ควรจะต้องสามารถอยู่รอดและเพิ่มปริมาณได้ในสภาพแวดล้อมของกองปุ๋ย ซึ่งจะมีผลทำให้จุลินทรีย์ที่ใส่ในกองปุ๋ยแสดงกิจกรรมการย่อยสลายและส่งเสริมให้กิจกรรมการย่อยสลายเกิดเร็วขึ้น

2.8.2 การศึกษาจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้

แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการปุ๋ยหมัก ที่ได้มีผู้ทำการศึกษาวิจัย มักมีสมบัติในการย่อยสลายเซลลูโลสแต่เพียงอย่างเดียว ทำให้คุณภาพของปุ๋ยหมักที่ได้มีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนต่ำ จึงต้องเพิ่มธาตุอาหารไนโตรเจนด้วยการใช้ปุ๋ยเคมี หากสามารถแยกหาจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้พร้อมกัน มาเป็นหัวเชื้อปุ๋ยหมัก จะทำให้คุณภาพของปุ๋ยหมักจะดีขึ้น คือมีธาตุอาหารไนโตรเจนเพิ่มขึ้น

Metcalfe และ Brown (1957) ได้แยกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในจีนัส *Nocardia* ได้ 2 species จากดินใน chalk grassland ชนิดแรกคือ *Nocardia calcarea* สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ 2-4.5 มก.ต่อกลูโคสซูโครสหรือแมนนิทอล 1 กรัมในอาหารเลี้ยงเชื้อ และชนิดที่สอง คือ *Nocardia cellulans* สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี กลูโคส ซูโครส แมนนิทอล และเซลลูโลส เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ 12 มก.ต่อเซลลูโลสที่ถูกใช้ไป 1 กรัม

Waterbury และคณะ (1983) ได้แยกเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่จากต่อมเดสเฮย์ (Gland of Deshayes) ในหนอนเรือทะเล (Shipworm) 6 ชนิด พบว่ามีความสามารถทั้งย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้

Greene และ Freer (1986) ได้ศึกษาลักษณะการเจริญของแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน ที่แยกได้จากหนอนเรือทะเลโดย Waterbury และคณะ (1983) พบว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเซลลูโลส และปราศจากแหล่งไนโตรเจน เวลาที่เชื้อเจริญเพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (doubling times) ประมาณ 2 วัน การเจริญสูงสุดเมื่อบ่ม 12-16 วัน สภาวะที่เหมาะสม

ต่อการเจริญ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-65 ^{o}C pH 8.5 และความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ที่เหมาะต่อการเจริญ 0.3 M ในช่วงที่เชื้อเจริญ จะสร้างกรดซัคซินิค และ กรดอะซิติค สร้างกรดฟอร์มิคเมื่อเจริญในระยะคงที่ (stationary phase)

การศึกษาวิจัยในด้านการปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก ยังมีไม่มากนัก ส่วนใหญ่การศึกษาจะเน้นในด้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีต่อการย่อยสลาย และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการปุ๋ยหมัก น่าจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติม ในด้านการใช้จุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมช่วยส่งเสริมคุณภาพของปุ๋ยหมัก เช่น กิจกรรมการตรึงไนโตรเจน การละลายฟอสเฟต เป็นต้น

2.8.3 การศึกษาการปรับปรุงคุณภาพของปุ๋ยหมักโดยจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน

Roper และ Ladha (1995) ได้ทำการสำรวจเอกสารเกี่ยวกับการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation) โดย heterotrophic และ phototrophic bacteria ที่อยู่ร่วมกับฟางข้าว ซึ่งฟางข้าวมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลัก เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับใช้สร้างมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ และใช้ในการตรึงไนโตรเจนโดยแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่อย่างอิสระ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถทั้งย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจนได้พบว่ามีน้อย มีบางสายพันธุ์สามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้ โดยทั่วไป การย่อยสลายเซลลูโลส และการตรึงไนโตรเจน เกิดขึ้นโดยกลุ่มของจุลินทรีย์ผสม โดยที่แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจะใช้ cellobiose และ glucose ที่ได้จากการย่อยสลายของฟางข้าวโดยจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่แบบอิสระ มีทั้งพวกที่เป็น heterotrophic และ phototrophic bacteria การตรึงไนโตรเจนโดยแบคทีเรียพวกนี้ ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายของฟางข้าวและสภาพแวดล้อม ในนาข้าววัดอัตราการตรึงไนโตรเจนได้ 25 kg N/ha ใน 30 วัน ขณะที่บนพื้นดินที่ใส่ฟางข้าวสาลี วัดการตรึงไนโตรเจนได้ 12 kg N ใน 22 วัน ในห้องทดลองการใส่จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนลงในฟางข้าว ทำให้การตรึงไนโตรเจนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่ฟางข้าว และได้ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นถึง 72 mg/g straw consumed แสดงถึงศักยภาพของการใช้จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน เพื่อปรับปรุงปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก

Hasall (1993) ได้ศึกษาการใส่จุลินทรีย์ลงในฟางข้าวสาลีเพื่อเพิ่มการย่อยสลายสารประกอบลิกโนเซลลูโลสและกิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่เกิดร่วมกัน พบว่า *Cyathus stercoreus* ที่แยกได้จากฟางข้าวกำลังย่อยสลาย สามารถย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสได้ ช่วยทำให้อัตราการย่อยสลายของฟางข้าวเพิ่มขึ้น เมื่อวัดปริมาณ CO_2 ที่เกิดขึ้นและทำงานร่วมกับแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน 2 สายพันธุ์ คือ *Beijerinckia indica* B15 และ *Azospirillum* sp. DN64 ทำให้อัตรา

การตรึงไนโตรเจนเพิ่มขึ้น เมื่อวัดโดยวิธี C_2H_2 reduction เมื่อใส่ *B. indica* B15 ร่วมกับ *Cyathus stercoreus* ลงในฟางข้าว กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนส เพิ่มขึ้น 1.7-12.2 เท่า และใน native soil (pH 6.0) เพิ่มขึ้น 2.2 เท่า เมื่อใส่ *Azospirillum* sp. DN64 กับ *Cyathus stercoreus* กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนส ไม่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใส่ *Azospirillum* sp. DN64 กับราย่อยสลายเซลลูโลสหลายชนิดที่ผสมกัน

กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสเพิ่มขึ้น 22 เท่า อัตราการย่อยสลายของฟางข้าว สูงถึง 33% ใน 8 สัปดาห์ เมื่อใส่ *Cyathus stercoreus* แต่เหลือเพียง 16% เมื่อไม่ใส่ *Cyathus stercoreus* ด้วยการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส ย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจนได้ สามารถที่จะช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายของฟางข้าว และเพิ่มอัตราการตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้

การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจน โดยใช้จุลินทรีย์ สามารถทำได้ 2 วิธี วิธีแรก โดยการใช้จุลินทรีย์ 2 กลุ่ม ทำงานร่วมกัน คือ จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส ทำงานร่วมกับ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน และวิธีที่ 2 โดยใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถทั้งย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้พร้อม ๆ กัน ซึ่งวิธีแรกจะมีประสิทธิภาพน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียวที่มีความสามารถทั้งสองอย่าง (Hasall และคณะ, 1985) โดยการศึกษาครั้งนี้จะศึกษาการใช้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนได้ต่อการเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยหมัก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย