การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน

นางสาว กัญญา ม่วงแก้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544
ISBN 974-17-0215-9
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPOST QUALITY IMPROVEMENT USING CELLULOLYTIC AND NITROGEN FIXING MICROORGANISMS

Miss Kanya Moungkaew

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science
Inter-department of Environmental Science
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2001

ISBN 974-17-0215-9

กัญญา ม่วงแก้ว : การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน (COMPOST QUALITY IMPROVEMENT USING CELLULOLYTIC AND NITROGEN FIXING MICROORGANISMS) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ;147 หน้า. ISBN 974-17-0215-9.

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน ได้ดำเนินการแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ตัวอย่างปลวก ดินจากรังปลวก ปุ๋ยหมัก ตัวเร่งปุ๋ยหมัก และเศษวัสดุกำลังย่อยสลาย ซึ่งเจริญได้ที่อุณหภูมิห้อง ได้แบคทีเรียทั้งหมด 12 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกได้แบคทีเรีย 1 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ที่ 5 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อย CMC กระดาษกรอง Avicel และ α-cellulose และมีประสิทธิภาพสูงสุดในการตรึงไนโตรเจน จึงได้ศึกษาปัจจัย ได้แก่ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 และอุณหภูมิที่เหมาะสม 30 องศาเซลเซียส สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี ในอาหารเหลวที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน มีแหล่งไนโตรเจนเป็นเปปโตน ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี ในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจน ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ต่อการย่อยสลายฟางข้าวเพื่อทำเป็นปุ๋ยหมัก โดยเปรียบเทียบการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เป็นหัวเชื้อในการทำปุ๋ยหมักกับชุดควบคุมไม่เติมแบคทีเรีย พบว่า ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เพิ่มขึ้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมไม่เติมแบคทีเรีย และค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในปุ๋ยหมักทั้งสองก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

สหสาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่อนิสิต กัญญา ม่วงแก้ว

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2544 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

4172213423 : MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEY WORD: COMPOST / COMPOSTING / COMPOST QUALITY / CELLULOLYTIC AND NITROGEN-FIXING BACTERIA / NITROGEN

KANYA MOUNGKAEW : COMPOST QUALITY IMPROVEMENT USING CELLULOLYTIC AND NITROGEN FIXING MICROORGANISMS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PRAKITSIN SIHANONTH, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASST. PROF.CHARNWIT KOSITANONT, Ph.D. 147 pp. ISBN 974-17-0215-9.

The objectives of this research is to study the improvement compost quality by using cellulolytic and Nitrogen fixing microorganisms. The research was conducted by the isolation of bacteria with cellulose utilization and N_2 fixation from various sources at room temperature. Twelve bacterial strains were isolated from termites, soil from termite's nests, composts, compost accelerators, and decomposing materials. Among those strains, highly efficient cellulase producing and nitrogen fixing strains were selected. By determining CMC, filter paper, Avicel, and alpha-cellulose degradating ability and acetylene reduction assay, strain no. 5 was selected.The carbon sources, nitrogen sources, pH of the medium and incubation temperature affected on growth rate, cellulose degradating ability, and nitrogen fixing efficiency of this bacterium. From the research, we found that strain no.5 had high growth rate when cultured in the medium composed of glucose as a carbon source, peptone as a nitrogen source with optimal pH 7 at 30 °C. High cellulose degradating ability was found when cultured in the medium composed of CMC as a carbon source and peptone as a nitrogen source with optimal temperature and pH, 45 °C and 7, respectively. And high Nitrogen-fixing efficiency was observed when cultured in Nitrogen-free medium with glucose as a carbon source with optimal pH 7 at 30 °C. The effect of strain no.5 on rice straw composting was also studied by comparing with untreated control. It was found that compost treated with bacterium gave significantly increase in Nitrogen content more than untreated control ($p<0.05$), and C/N ratio in the two composts had significant difference, too. ($p<0.05$).

Inter-department Environmental Science	Student's signature Kanya Moungkaew
Field of study Environmental Science	Advisor's signature Prakitsin Sihanonth
Academic year 2001	Co-advisor's signature Charnwit Kositanont

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากหลาย ๆ ท่าน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ แนะแนวทางในการทำวิจัย และสนับสนุนในด้านต่าง ๆ ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่คอยห่วงใย คอยไต่ถามความก้าวหน้าในการทำวิทยานิพนธ์เรื่อยมา ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ ประธานกรรมการ และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณานุกูล ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ายิ่งเป็นกรรมการสอบ พร้อมทั้งตรวจสอบและแก้ไขจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณมูลนิธิชิน โสภณพนิช บัณฑิตวิทยาลัย ทบวงมหาวิทยาลัย และสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ที่ช่วยสนับสนุนเงินทุนบางส่วนในการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ ในการทำงานวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณกรมพัฒนาที่ดิน คุณเสียงแจ่ว พิริยพฤนต์ ที่ช่วยให้คำแนะนำและข้อมูลในการทำวิจัย คุณสรวงธิดา ลิปิมงคล ที่กรุณาช่วยเหลือในเรื่องการวิเคราะห์ธาตุอาหารพืชเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ คุณวงศ์พงา เส็งสาย คุณปิยะนุช ปี่บัว ที่คอยให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ทางสถิติและการเขียนวิทยานิพนธ์ และขอบคุณทุกกำลังใจดี ๆ พี่จี ติ๊ด ต้อย น้องพี น้องพราว น้องนัฐ พี่เบิร์ด พี่น้ำมนต์ ป๊อป สาว กิ่ง แป๋ว รวม พิชญ์ คุณอร สุ อ้อย เจี๊ยบ น้อง ๆ 401 ที่น่ารักทุกคน คุณนาย นามิ นีน่า ปู โอ๋ พร กิต จ้อ พี่ออม เอ เพื่อน ๆ ที่กลุ่มแวดล้อม พี่เล็ก พี่บุ๋ม เล็กเล็ก โอ๋ พี่อิ๋ว คุณประภาศรี ไวท์กรุ๊ป และน้อง ๆ คนอื่นๆ ในภาคจุลฯ ที่มีน้ำใจให้กันตลอดมา

และท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ แม่และพ่อ ผู้ให้ชีวิต ให้โอกาสทางการศึกษา ให้การสนับสนุนเงินทุน และเป็นกำลังใจที่ดียิ่งเสมอมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ณ

สารบัญรูป ..... ด

คำย่อ ..... ต

บทที่

1. บทนำ 1

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2

2.1 ปุ๋ยหมัก 3

2.2 กระบวนการปุ๋ยหมัก 3

2.3 หลักของกระบวนการเป็นปุ๋ยหมัก 5

2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการปุ๋ยหมัก 12

2.5 ประโยชน์ของปุ๋ยหมัก 17

2.6 คุณภาพปุ๋ยหมัก 19

2.7 การตรึงไนโตรเจน 25

2.8 การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมัก 35

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

3.1 การแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนจากแหล่งต่าง ๆ 41

3.2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจนได้ 41

3.3 การศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกได้ 45

3.4 ศึกษาลักษณะโครงสร้างของแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกได้ 48

3.5 ศึกษาการหมักฟางข้าวในโหลหมักโดยใช้แบคทีเรียที่คัดเลือกได้ 49

4. ผลการวิจัย

4.1 การแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน 54

4.2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส และตรึงไนโตรเจน 56

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

4.3 การศึกษาสรีรวิทยาของแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกได้ 67

4.4 การศึกษาลักษณะโครงสร้างและการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์ SEM 80

4.5 ศึกษาการหมักฟางข้าว เมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เปรียบเทียบกับเมื่อไม่เติมแบคทีเรีย 82

5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 85

รายการอ้างอิง 94

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 102

ภาคผนวก ข สารเคมีและวิธีเตรียม 103

ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลอง 106

ภาคผนวก ง การทดสอบทางสถิติ 122

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 147

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

บทที่ 2

2.1 จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส 10

2.2 องค์ประกอบอินทรีย์หลักในพืช 12

2.3 ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ของเศษพืชชนิดต่าง ๆ 13

2.4 วิธีทดสอบความเป็นปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์ 20

2.5 เกณฑ์ในการประเมินปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักที่สมบูรณ์แล้ว 22

2.6 ค่าประมาณปริมาณก๊าซไนโตรเจนที่ถูกตรึงได้ในระดับโลก 26

2.7 จุลิทรีย์อิสระที่ตรึงไนโตรเจนได้ 27

2.8 ปฏิกิริยาการลดออกซิเจนที่กระตุ้นโดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส 31

บทที่ 4

4.1 แหล่งที่มาของแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน ที่แยกได้ทั้ง 12 สายพันธุ์ 54

4.2 แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน 67

4.3 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิห้อง 68

4.4 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิห้อง 69

4.5 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิห้อง 70

4.6 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง 71

4.7 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง 72

4.8 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง 73

4.9 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 74

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

บทที่ 4

4.10 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 75

4.11 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 76

4.12 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง 77

4.13 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง 78

4.14 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง 79

4.15 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 80

4.16 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของปุ๋ยหมักฟางข้าว 84

บทที่ 5

5.1 ค่าวิเคราะห์เคมีของปุ๋ยหมักฟางข้าว 93

ภาคผนวก ค.

ค.1 อัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 106

ค.2 อัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 106

ค.3 อัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 107

ค.4 อัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 107

ค.5 ความสามารถในการย่อยสลาย CMC โดยแสดงเป็นค่าอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ 108

ค.6 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ภาคผนวก ค.

ค.7 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 109
ค.8 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 109
ค.9 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 110
ค.10 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ 110
ค.11 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 111
ค.12 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 111
ค.13 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 112
ค.14 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 112
ค.15 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ 113
ค.16 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 113
ค.17 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 114
ค.18 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 114
ค.19 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 115
ค.20 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ 115
ค.21 ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียที่แยกได้ 12 สายพันธุ์ โดยวัดปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น ด้วยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น 116
ค.22 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิห้อง 116
ค.23 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิห้อง 116
ค.24 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิห้อง 117
ค.25 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง 117
ค.26 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง 117

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ภาคผนวก ค.

ค.27 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง 117
ค.28 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 117
ค.29 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 118
ค.30 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลว CMC, N-free medium ที่แปรผันอุณหภูมิ 118
ค.31 อัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลว CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่อุณหภูมิห้อง 118
ค.32 แอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลว CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างที่อุณหภูมิห้อง 118
ค.33 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเจริญในอาหารเหลว CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่อุณหภูมิห้อง 119
ค.34 อุณหภูมิของปุ๋ยหมัก 119
ค.35 ค่าความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมัก 119
ค.36 ปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมัก 119
ค.37 ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในปุ๋ยหมัก 120
ค.38 ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก 120
ค.39 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของปุ๋ยหมัก 120
ค.40 ปริมาณฟอสฟอรัสในรูป P_2O_5 ในปุ๋ยหมัก 120
ค.41 ปริมาณโปตัสเซียมในรูป K_2O ในปุ๋ยหมัก 121
ค.42 ปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยหมัก 121

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ภาคผนวก ง.

ง.1 การทดสอบทางสถิติของอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 122

ง.2 การทดสอบทางสถิติของอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 122

ง.3 การทดสอบทางสถิติของอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 123

ง.4 การทดสอบทางสถิติของอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 124

ง.5 การทดสอบทางสถิติของอัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียกับระยะเวลาการบ่มเชื้อ 124

ง.6 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 125

ง.7 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 126

ง.8 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 127

ง.9 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 127

ง.10 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ FP ase ระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียกับระยะเวลาในการบ่มเชื้อ 128

ง.11 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 129

ง.12 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 129

ง.13 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 130

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ภาคผนวก ง.

ง.14 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 131

ง.15 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียกับระยะเวลาในการบ่มเชื้อ 131

ง.16 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 7 วัน 132

ง.17 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 14 วัน 133

ง.18 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 21 วัน 134

ง.19 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลา 28 วัน 134

ง.20 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ระหว่างชนิดสายพันธุ์ของแบคทีเรียกับระยะเวลาในการบ่มเชื้อ 135

ง.21 การทดสอบทางสถิติของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ 136

ง.22 การทดสอบทางสถิติของอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่แปรผันแหล่งคาร์บอน 137

ง.23 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่แปรผันแหล่งคาร์บอน 138

ง.24 การทดสอบทางสถิติของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่แปรผันแหล่งคาร์บอน 138

ง.25 การทดสอบทางสถิติของอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน 139

ง.26 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอนที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน 139

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ภาคผนวก ง.

ง.27 การทดสอบทางสถิติของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันแหล่งไนโตรเจน 140
ง.28 การทดสอบทางสถิติของอัตราการเจริญ ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 140
ง.29 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 141
ง.30 การทดสอบทางสถิติของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC, N-free medium ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 141
ง.31 การทดสอบทางสถิติของอัตราการเจริญ ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง 142
ง.32 การทดสอบทางสถิติของแอคติวิตีของเอนไซม์ CMCase ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง 142
ง.33 การทดสอบทางสถิติของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC, N-free medium ที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง 143
ง.34 การทดสอบทางสถิติของค่าความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรีย สายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 143
ง.35 การทดสอบทางสถิติของค่าปริมาณความชื้นของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรีย สายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 144
ง.36 การทดสอบทางสถิติของค่าอินทรีย์คาร์บอนของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรีย สายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 144
ง.37 การทดสอบทางสถิติของปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 144
ง.38 การทดสอบทางสถิติของค่า C/N ratio ของปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 145
ง.39 การทดสอบทางสถิติปริมาณฟอสฟอรัสในรูป P_2O_5 ในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรีย สายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 145

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ภาคผนวก ง.

ง.40 การทดสอบทางสถิติของปริมาณฟอสฟอรัสในรูปK_2Oในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 146

ง.41 การทดสอบทางสถิติของปริมาณแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 และไม่เติมแบคทีเรีย 146

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

บทที่ 2

2.1 ลักษณะโครงสร้างของเซลลูโลสซึ่งเชื่อมต่อด้วย β-1,4-glycosidic linkage 5

2.2 การจัดเรียงตัวของเซลลูโลสไมโครไฟบริลในผนังเซลล์ของพืช 6

2.3 ลักษณะการย่อยสลาย crystalline cellulose โดยระบบเอนไซม์เซลลูเลส 8

2.4 วัฏจักรไนโตรเจน 25

2.5 การลดออกซิเจนของก๊าซไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียที่กระตุ้นโดยระบบเอนไซม์ไนโตรจีเนส 30

บทที่ 4

4.1 บริเวณใส หรือบริเวณที่ CMC ถูกย่อยสลาย ที่เกิดขึ้นรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ที่ระยะเวลาการบ่มเชื้อต่าง ๆ 55

4.2 อัตราส่วนขนาดของบริเวณใสต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่ระยะเวลาบ่มเชื้อต่าง ๆ 56

4.3 แอคติวิตีของเอนไซม์ FPase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ 59

4.4 แอคติวิตีของเอนไซม์ Avicelase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ที่เวลาต่าง ๆ 61

4.5 แอคติวิตีของเอนไซม์ α-cellulase ของแบคทีเรีย 12 สายพันธ์ ที่เวลาต่าง ๆ 63

4.6 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน โดยวัดปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นของแบคทีเรีย 12 สายพันธุ์ 66

4.7 ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า 80

4.8 ภาพถ่ายของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) ก) เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง CMC N-free medium และ ข) เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง TSA 81

4.9 ปุ๋ยหมักฟางข้าว ที่ใช้เวลาในการหมักประมาณ 3 เดือนครึ่ง ก) ลักษณะของฟางข้าวเมื่อเริ่มต้น ภายใต้ความชื้นประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ข) ลักษณะของฟางข้าวเมื่อเวลา 3 เดือนครึ่ง ข. 1 เมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 ข. 2 เมื่อไม่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 5 82

ภาคผนวก ข

ข.1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส 105

คำย่อ

CMC, N-free medium	=	Carboxymethyl cellulose Nitrogen-free medium
CFU/gdw	=	colony forming unit per gram dry weight
ATP	=	Adenosine triphosphate
ADP	=	Adenosine diphosphate
log no./g	=	log no. ต่อกรัมปุ๋ยหมัก
nmoles	=	นาโนโมล
mU/ml	=	$1x10^{-3}$ หน่วยต่อมิลลิลิตร
^{o}C	=	องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย