

ผลงานลำดับที่ 1

เรื่อง ผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลาย
ต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Effect of using biological products for accelerating
the degradation of maize stubble

โดย

นางจันจิรา แสงสีเหลือง

เอกสารประกอบการขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

ผู้เชี่ยวชาญด้านบำรุงดินด้วยอินทรีย์วัตถุ

(นักวิชาการเกษตรเชี่ยวชาญ)

ตำแหน่งเลขที่ 5

กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

กรมพัฒนาที่ดิน

คำนำ

เทคโนโลยีชีวภาพจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเร่งการย่อยสลายเซลลูโลส มีความสำคัญในกระบวนการแปรรูปอาหารประกอบอินทรีย์คาร์บอนจากพืช ในการหมุนเวียนเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรแปรรูปเป็นธาตุอาหารพืช และแหล่งอินทรีย์วัตถุคืนกลับสู่ดิน มีการประยุกต์ใช้เชื้อราผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในเชิงอุตสาหกรรม เพื่อแปรรูปเซลลูโลสที่มาจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรผลิตเป็นปุ๋ยหมัก และผลิตภัณฑ์เอนไซม์ เช่น เชื้อรา *Corynascus verrucosus* เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงในกระบวนการหมัก มีประสิทธิภาพผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และทนต่อสภาพแวดล้อมแห้งแล้งได้ดี ในรายงานวิจัยฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง แบบผงละลายน้ำ 2 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์รา *Corynascus verrucosus* ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส วิธีและอัตราการใช้ประโยชน์ รวมถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สมบัติดิน การเจริญเติบโต ผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง ซึ่งผลสำเร็จของงานวิจัยนี้เป็นประโยชน์สำหรับผู้บริหารกรมพัฒนาที่ดิน ในการกำหนดนโยบายต่อยอดเป็นนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แบบผงละลายน้ำ ส่งเสริมสู่เกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ซึ่งในปี 2564 มีเนื้อที่เพาะปลูกมากถึง 7.03 ล้านไร่ ปริมาณผลผลิต 4.81 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) มีสัดส่วนของต่อซังข้าวโพด 1.245 ตันต่อตันผลผลิต คิดเป็นปริมาณวัสดุเหลือใช้ 5.99 ล้านตัน เมื่อประเมินจากมวลชีวภาพของต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เฉลี่ย 852 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นไนโตรเจน 4.52 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.28 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 18.83 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งเป็นแหล่งธาตุอาหารหลักของพืช ช่วยลดหรือทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีในพื้นที่เพาะปลูก รวมทั้งเป็นแหล่งอินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุในดิน เพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน เป็นเทคโนโลยีชีวภาพย่อยสลายเศษวัสดุทางการเกษตรที่ช่วยลดปัญหาการเผาเศษวัสดุทางการเกษตรในพื้นที่เกษตรกรรม สาเหตุการสูญเสียการกักเก็บอินทรีย์คาร์บอนในดิน ทำลายสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ในดิน และเกิดปัญหาดินเสื่อมโทรม รวมทั้งช่วยลดปัญหาฝุ่น PM2.5 PM10 และลดการปล่อยก๊าซพิษ เช่น คาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO₂) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO₂) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) เป็นต้น

การใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง แบบผงละลายน้ำ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่เพาะปลูก จะต้องมีความชื้นเพียงพอต่อกระบวนการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จึงควรดำเนินการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ชีวภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตเป็นช่วงดินมีความชื้น หรือช่วงหลังฝนตก พร้อมการไถกลบ และทิ้งไว้ให้เกิดการย่อยสลาย 10 วัน ก่อนการปลูกพืชต่อไป ซึ่งเป็นรูปแบบการจัดการต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในไร่นา

แบบง่าย ต้นทุนต่ำ และสร้างแรงจูงใจให้เกษตรกรปรับเปลี่ยนจากการเผาตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่เกษตร เป็นการหมุนเวียนกลับมาใช้ประโยชน์ ช่วยเพิ่มแหล่งธาตุอาหารพืช อินทรีย์วัตถุในดิน และความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมทั้งลดปัญหาดินเสื่อมโทรม ช่วยรักษาทรัพยากรดิน ส่งเสริมระบบการผลิตทางการเกษตรที่ไม่มีวัชพืชรบกวน เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นการพัฒนาที่ดินในพื้นที่เกษตรกรรมอย่างยั่งยืน

จันจิรา แสงสีเหลือง

กรกฎาคม 2568

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	(1)
สารบัญ	(3)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(7)
สารบัญตารางผนวก	(8)
สารบัญภาพผนวก	(9)
แบบการเสนอผลงาน ระดับเชี่ยวชาญ	1
ส่วนที่ 1 ข้อมูลบุคคล/ตำแหน่ง	1
ส่วนที่ 2 ผลงานที่เป็นผลการปฏิบัติงานหรือผลสำเร็จของงาน	3
1. ชื่อเรื่อง	3
2. ระยะเวลาการดำเนินการ	3
3. ความรู้ ความชำนาญงาน หรือความเชี่ยวชาญและประสบการณ์ที่ใช้ใน การปฏิบัติงาน	3
4. สรุปสาระสำคัญ ขั้นตอนการดำเนินการ และเป้าหมายของงาน	33
4.1 บทคัดย่อ และคำสำคัญ	33
4.2 Abstract and Keywords	35
4.3 หลักการและเหตุผล	37
4.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	38
4.5 การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง	39
4.6 วิธีดำเนินการ	59
4.7 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	79
4.8 สรุปและเสนอแนะ	146
5. ผลสำเร็จของงาน	148
6. การนำไปใช้ประโยชน์/ผลกระทบ	148
7. ความยุ่งยากและซับซ้อนในการดำเนินการ	150
8. ปัญหาและอุปสรรคในการดำเนินการ	151
9. ข้อเสนอแนะ	151
10. การเผยแพร่ผลงาน	152

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
11. ผู้มีส่วนร่วมในผลงาน	152
เอกสารอ้างอิง	154
ภาคผนวก	172
ภาคผนวก ก	173
ภาคผนวก ข	180
ภาคผนวก ค	184
ภาคผนวก ง	198

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การใช้ปุ๋ยกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตามค่าวิเคราะห์ดิน	7
2	ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื้อที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ของประเทศไทย ปี 2559/60 - 2564/65	8
3	ปริมาณวัสดุเหลือใช้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แยกตามจังหวัด พ.ศ. 2564	9
4	ชนิดของจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส	46
5	ยีนควบคุมการถอดรหัสที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของเซลลูเลส	48
6	การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการหมักแบบอาหารแข็ง	57
7	องค์ประกอบสารอาหารต่อน้ำหนัก 100 กรัม ของข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้	61
8	องค์ประกอบทางเคมีของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และน้ำหมักชีวภาพปลา	68
9	สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง	72
10	ปริมาณเชื้อราและค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากวัสดุขั้วสเตรต 3 ชนิด ตามช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ	81
11	ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	93
12	ค่าความชื้นของดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในสภาพโรงเรือนกระจก	96
13	ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	99
14	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตอซัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก	102
15	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อย สลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 1	106
16	ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 1	112
17	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลองจากการปลูกรอบที่ 1	113

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
18	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลา การย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2	116
19	ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย ต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2	120
20	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย ต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2	122
21	ค่าเปอร์เซ็นต์ความขึ้นดินจากการปลูกรอบที่ 1	126
22	ค่าเปอร์เซ็นต์ความขึ้นดินจากการปลูกรอบที่ 2	128
23	สมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 และ รอบที่ 2	133
24	ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1	136
25	น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1	137
26	ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 1	139
27	ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2	140
28	น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2	142
29	ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 2	144
30	การเปรียบเทียบคุณสมบัติด้านข้อดีและข้อจำกัดระหว่างผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	146

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะเบต้า - 1, 4 - ไกลโคซิดิก	10
2 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและตำแหน่งการเข้าทำลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ	12
3 โครงสร้างของลิกนิน	13
4 ขั้นตอนกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์ดิน	16
5 ลักษณะโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์	21
6 โครงสร้างเล็กโทส	22
7 โครงสร้างมอลโตเดกซ์ทริน	23
8 การทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส	41
9 กลไกการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยการทำงานของยีนเชื้อรา	50
10 ลักษณะแอสโคสปอร์ (ascospores) ของเชื้อรา <i>C. verrucosus</i> เป็นรูปทรงรี (ellipsoidal ascospores) ภาพ SEM 1,500 เท่า	54
11 ลักษณะเพอริเดียม (peridium) ของเชื้อรา <i>C. verrucosus</i> ที่ยื่นออกมาจากผนัง ascoma wall ภาพ SEM 1,000 เท่า	54
12 ลักษณะสปอร์แบบโคนิเดีย (conidia) ของเชื้อรา <i>C. verrucosus</i> ภาพ SEM 2,200 เท่า	55
13 แผนผังแปลงทดลองภาคสนาม	72
14 แผนผังจุดการฝังกลบถุงตาข่ายไนลอน	73
15 แผนผังวิธีการดำเนินการวิจัย	78
16 ปริมาณเชื้อราในผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา	83
17 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา	85
18 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา	87
19 ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1	109
20 ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2	118

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ปริมาณเชื้อรา <i>C. verrucosus</i> 23 ในผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)	173
2 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)	174
3 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)	175
4 ประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละตำรับการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1	176
5 ประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละตำรับการทดลองจากการปลูกรอบที่ 2	178
6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	181
7 องค์ประกอบสารอาหารต่อน้ำหนัก 100 กรัมของข้าวเส้าให้	199

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวกที่		หน้า
1	กราฟมาตรฐานของกลูโคสในการหาค่ากิจกรรมเอนไซม์โดยวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS	181

แบบการเสนอผลงาน

ระดับเชี่ยวชาญ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลบุคคล/ตำแหน่ง

ชื่อผู้ขอประเมิน นางจันจิรา แสงสีเหลือง

ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ

หน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งปัจจุบัน

1. วิจัย แยก และคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายสารเคมีทางการเกษตร และกำจัดโลหะหนักที่ตกค้างในดินและน้ำ พัฒนาเป็นเทคโนโลยีการบำบัดสารมลพิษทางดินและน้ำ เพื่อลดการปนเปื้อนสารมลพิษสู่ผลผลิตทางการเกษตร และการผลิตทางการเกษตรอย่างยั่งยืน
2. ศึกษา วิจัย กลไกการย่อยสลายการเปลี่ยนรูปโครงสร้างของสารเคมีทางการเกษตรและโลหะหนัก เพื่อลดมลพิษทางดินและน้ำ
3. วิจัย แยก คัดเลือกจุลินทรีย์ดินควบคุมศัตรูพืช เพื่อลดการใช้สารเคมีทางการเกษตร และลดการปนเปื้อนโลหะหนักในดินและน้ำ
4. วิเคราะห์จุลินทรีย์จัดการมลพิษทางดินและน้ำ เพื่อสนับสนุนงานทางวิชาการ
5. ปฏิบัติงานอื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

ตำแหน่งที่จะแต่งตั้ง นักวิชาการเกษตรเชี่ยวชาญ

หน้าที่ความรับผิดชอบของตำแหน่งที่จะแต่งตั้ง

1. ศึกษา วิเคราะห์ วิจัย กำหนดวิธีการประเมินผล และพัฒนาเกี่ยวกับงานวิชาการด้านบำรุงดิน โดยใช้อินทรีย์วัตถุและวัสดุอื่น ๆ มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวภาพด้านจุลินทรีย์ในการแปรสภาพอินทรีย์วัตถุได้เป็นผลิตภัณฑ์อินทรีย์สารประกอบด้วยธาตุอาหารและสารเสริมการเจริญเติบโตของพืช สำหรับเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน รวมถึงการกำหนดคุณภาพ มาตรฐาน และพัฒนาระบบฐานข้อมูลของผลิตภัณฑ์อินทรีย์สารและชีวภาพ สำหรับบำรุงดิน เพื่อพัฒนาหรือแก้ไขปัญหาดรภัยการดิน ให้มีความเหมาะสมกับพื้นที่
2. ให้คำปรึกษา แนะนำ และควบคุมทางวิชาการเกี่ยวกับงานบำรุงดินด้วยอินทรีย์วัตถุ เป็นที่ปรึกษาของกรมพัฒนาที่ดินในงานวิชาการด้านบำรุงดินด้วยอินทรีย์วัตถุ เพื่อสนับสนุนการดำเนินงานของหน่วยงาน และใช้เป็นข้อมูลในการพิจารณากำหนดนโยบาย แผนงาน และมาตรการปฏิบัติงานในพื้นที่ให้เป็นไปตามหลักวิชาการ

3. เป็นผู้แทนกรมพัฒนาที่ดินในการประชุมทางวิชาการด้านบำรุงดิน ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ติดต่อประสานงาน และร่วมมือทางวิชาการด้านบำรุงดินกับผู้เชี่ยวชาญและองค์การระหว่างประเทศ เพื่อชี้แจงข้อมูลแลกเปลี่ยนความคิด และข้อเสนอแนะทางวิชาการ เพื่อให้เกิดความร่วมมือในทางวิชาการ

4. ปฏิบัติงานอื่น ๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย เพื่อสนับสนุนให้กรมพัฒนาที่ดินในภาพรวมบรรลุภารกิจที่กำหนดไว้

ส่วนที่ 2 ผลงานที่เป็นผลการปฏิบัติงานหรือผลสำเร็จของงาน

1. เรื่อง ผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

Effect of using biological products for accelerating the degradation of maize stubble

2. ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม พ.ศ. 2564 - มีนาคม พ.ศ. 2566

ทะเบียนวิจัย 65 - 66 - 03 - 12 - 020005 - 005 - 104 - 01 - 23

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
กรมพัฒนาที่ดิน

แปลงทดลองพื้นที่ ตำบลท่ามะขาม อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

3. ความรู้ ความชำนาญงาน หรือความเชี่ยวชาญและประสบการณ์ที่ใช้ในการปฏิบัติงาน

เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย ผู้จัดทำได้มีการประยุกต์ใช้ความรู้ด้านเกษตรศาสตร์ สาขาพืชศาสตร์ และสาขาปฐพีศาสตร์ ความรู้ด้านจุลชีววิทยา ได้แก่ จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส กิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลส ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพ และความรู้ด้านสถิติเพื่อการวิจัยทางการเกษตร มีรายละเอียดดังนี้

3.1 ความรู้ด้านเกษตรศาสตร์ สาขาพืชศาสตร์ และสาขาปฐพีศาสตร์

3.1.1 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

1) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชในวงศ์ (family) Gramineae เผ่า (tribe) Maydeae พืชในเผ่านี้มีลักษณะสำคัญ คือ มีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่แยกกัน แต่อยู่ภายในต้นเดียวกัน จัดอยู่ในสกุล (genus) *Zea* และชนิด (species) *mays* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* L. (ไสว, 2534) และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2542) มีดังต่อไปนี้

ราก มีระบบรากฝอย (fibrous root system) ซึ่งเจริญมาจาก 2 ส่วน คือ รากที่เจริญมาจากคัพภะ (embryo) และต่อไปหน่อ หรือลำต้นจะงอกขึ้นมาในด้านตรงกันข้ามกับราก และในระหว่างนี้รากที่สอง ที่สาม ตามออกมาตามลำดับ รากดังกล่าวนี้เป็นรากชั่วคราว หรือรากชั้นต้น (primary root) หลังจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เจริญได้ 1 สัปดาห์ถึง 10 วัน รากถาวร (adventitious root) งอกขึ้นรอบข้อในระดับใต้ผิวดินประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร และรากอากาศ (aerial or brace root) จัดรวมอยู่ในพวกรากถาวรนี้

ลำต้น ประกอบด้วยข้อและปล้อง บริเวณข้อมีเนื้อเยื่อเจริญ จุดกำเนิดราก ตา และรอยกาบใบ ปกติลำต้นมีความสูงตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 2.5 เมตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นในช่วง 2.5 - 5.0 เซนติเมตร

ใบ ประกอบด้วย ตั้วใบ กาบใบ และหูใบ (ligule) กาบใบจะหุ้มลำต้น ส่วนแผ่นใบจะแผ่กางออก มีเส้นกลางใบ ขั้วโพดเลี้ยงสัตว์ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้ทนต่ออัตราการปลูกสูง มักมีลักษณะใบตั้ง แผ่นใบด้านบนมีขนเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการรับแสง ส่วนแผ่นใบด้านล่างจะเรียบ และมีปากใบจำนวนมาก

ดอก ขั้วโพดเลี้ยงสัตว์มีดอกตัวผู้รวมกันเป็นช่อ เรียกว่า ช่อดอกตัวผู้ (tassel) และช่อดอกตัวเมีย อยู่บนต้นเดียวกัน แต่แยกตำแหน่งกัน โดยช่อดอกตัวผู้อยู่ที่ส่วนยอดของลำต้นเป็นแบบ panicle มีแกนกลางช่อดอก (rachis) และบนกิ่งแขนงนี้เป็นที่เกิดของกิ่งแขนงชั้นที่สอง ส่วนกลุ่มดอกย่อย (spikelet) เกิดเป็นคู่ คือ ชนิดที่มีก้าน (pedicelled spikelet) และไม่มีก้าน (sessile - spikelet) แต่ละกลุ่มดอกประกอบด้วย 2 ดอกย่อย ดอกย่อยที่อยู่ส่วนบนมีการเจริญเติบโตดีกว่าดอกย่อยที่อยู่ส่วนล่าง แต่ละดอกย่อยประกอบด้วยกลีบดอก เรียกว่า กาบล่าง (lemma) และกาบบน (palea) มีเกสรตัวผู้ 3 อัน เยื่อรองรับไข่ (lodicule) 2 อัน และเกสรตัวเมียที่ไม่ทำหน้าที่อีก 1 อัน โดยทั่วไปดอกตัวผู้จะโปรยละอองเกสรอยู่นาน 5 - 8 วัน ส่วนช่อดอกตัวเมียหรือฝัก เกิดจากตาที่มุมใบข้อที่ 6 นับจากใบธงลงมา มีช่อดอกที่มีแกนกลาง (spike) การพัฒนาของช่อดอกเริ่มขึ้นเมื่อขั้วโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 40 - 45 วันหลังออก ก้านฝักหรือก้านช่อดอก (shank) ถูกหุ้มด้วยกาบใบ หรือเปลือกหุ้มฝัก (husk) โดยกลุ่มดอกตัวเมียเกิดเป็นคู่เรียงกันเป็นแถวยาวบนแกนกลางช่อดอก หรือซัง (cob) ดังนั้นฝักขั้วโพดจึงมีจำนวนแถวของเมล็ดเป็นแถวคู่ กลุ่มดอกที่มีก้านสั้นถูกห่อหุ้มด้วยกลีบ (glume) สั้น ๆ 2 กลีบภายใน แต่ละกลุ่มมีดอกย่อย 2 ดอก ซึ่งดอกย่อยดอกบนเท่านั้นที่เจริญ แต่ละดอกย่อย (chaff) มีเกสรตัวเมีย 1 อัน เยื่อรองรับไข่ 2 อัน และเกสรตัวผู้ที่เป็นหมัน (rudimentary stamen) 3 อัน ก้านเกสรตัวเมื่อยาว 10 - 30 เซนติเมตร เรียกว่า ไหม (silk) ไหมแต่ละเส้นจะมีขนที่สามารถรับละอองเกสรตัวผู้ได้ตลอดความยาว เส้นไหมบริเวณโคนฝักจะเกิดขึ้นก่อนตามด้วยส่วนกลางฝัก แต่เส้นไหมบริเวณกลางฝักจะยึดตัวโผล่พ้นกาบหุ้มฝักก่อน จึงได้รับการผสมก่อน ทำให้เมล็ดบริเวณกลางฝักมีความสมบูรณ์และมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณโคน และปลายฝัก ไหมจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแห้งเหี่ยว เมื่อดอกได้รับการผสม โดยขั้วโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ฝัก จะมีไหม 400 - 1,000 เส้น ทำให้เกิดเมล็ด 400 - 1,000 เมล็ด

ผลและเมล็ด ผลแบบผลรวม (caryopsis) ที่มีเยื่อหุ้มผล (pericarp) ติดอยู่กับส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) มีลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ สี ไม่มีสี เยื่อหุ้มผล และเยื่อหุ้มเมล็ดรวม (hull) ขั้วโพดเลี้ยงสัตว์จะสะสมแป้งไว้ในส่วนของเอนโดสเปิร์ม (endosperm)

ซึ่งการสะสมแป้งจะสิ้นสุด เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เจริญเติบโตถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา โดยจะปรากฏแผ่นเยื่อสีดำ หรือน้ำตาลดำที่บริเวณโคนของเมล็ด

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชที่ถูกจำแนกไว้ในกลุ่มที่มีกระบวนการสังเคราะห์แสงเป็นแบบ C_4 ทำให้มีอัตราการสังเคราะห์แสงสูง และมีจุดคาร์บอนไดออกไซด์คอมเพนเซชันพอยท์ (CO_2 compensation point) ต่ำ โดยอัตราการสังเคราะห์แสงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มของแสงจนถึงสภาพที่มีแสงแดดเต็มที่ โดยจะส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูงถึง 60 มิลลิกรัม CO_2 ต่อตารางเดซิเมตรต่อชั่วโมง (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ ด้านลำต้น ออกดอก และสร้างเมล็ด มีการดูดใช้ธาตุอาหารไปสะสมอยู่ในส่วนของต้น ใบ กาบฝัก เมล็ด และชัง หากพืชขาดธาตุอาหารจะชะงักการเจริญเติบโต ทำให้การดูดใช้ธาตุอาหารจากดินถูกจำกัด เมื่อพืชขาดธาตุอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตลดลง ดังนั้นการจัดการธาตุอาหารสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้เหมาะสมกับสมบัติดินในพื้นที่ปลูก ที่ตอบสนองต่อความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จึงมีความสำคัญดังรายละเอียด ดังนี้

2) อิทธิพลของธาตุอาหารต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เจริญเติบโตได้ดีและให้ผลผลิตสูง เมื่อได้รับธาตุอาหารอย่างเพียงพอและสมดุล ซึ่งความต้องการธาตุอาหารหลักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต (ยงยุทธ และคณะ, 2551) ได้แก่

ไนโตรเจน (nitrogen, N) เป็นธาตุอาหารหลักมีความสำคัญตั้งแต่การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ระยะแรกจนถึงการสร้างเมล็ด โดยระยะที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต้องการไนโตรเจนมากที่สุด คือ ระยะที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ออกดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พืชทางเคมี พบว่า ในช่วงอายุประมาณ 18 - 30 วัน และ 39 - 65 วัน ข้าวโพดมีการดูดใช้ไนโตรเจนสูงถึง 7 และ 50 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ดังนั้นถ้าในช่วงอายุการเจริญเติบโตดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจนในดินไม่เพียงพอ จะส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ฟอสฟอรัส (phosphorus, P) ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชที่ตอบสนองต่อความต้องการปุ๋ยฟอสฟอรัสตลอดฤดูปลูก โดยมีความต้องการในระยะเริ่มแรกมากกว่าในระยะอื่น ๆ ส่วนในระยะออกดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย ฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างความสมบูรณ์ให้กับส่วนต้นและเมล็ด นอกจากนี้ยังพบว่า การดูดใช้ฟอสฟอรัสจากดินของรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งรากเจริญเติบโตเต็มที่ (กรมวิชาการเกษตร, 2548) อย่างไรก็ตามฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่มีปัญหาด้านการขาดแคลนในดินไร่ทั่วไป โดยเฉพาะดินที่มีสภาพเป็นกรด สำหรับอัตราปุ๋ยฟอสฟอรัสที่ควรใส่เพื่อยกระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จากเดิมสู่ระดับที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ต้องการ พบว่า ระดับวิกฤตของฟอสฟอรัสในดินออกซิซอลส์ (Oxisols) จากผลการวิเคราะห์ดินด้วยวิธี Mehlich 1 วิธี Bray 1 และวิธี Bray 2 มีค่าเท่ากับ 6 9 และ 10 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัมตามลำดับ (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

โพแทสเซียม (potassium, K) เป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต ความแข็งแรงของลำต้น และการสร้างเมล็ด ซึ่งในสภาพดินที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแต่ละภาคของประเทศไทย ส่วนใหญ่มักไม่ค่อยมีปัญหาด้านการขาดแคลนโพแทสเซียม นอกจากจะมีบทบาทในการสร้างเมล็ดแล้ว ส่วนที่เหลือมักถูกสะสมอยู่ในลำต้นเป็นส่วนใหญ่ และจะถูกไถกลบลงดินตามเดิม (กรมวิชาการเกษตร, 2548) แต่ในพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อย่างต่อเนื่องจะมีโพแทสเซียมอยู่ในเกณฑ์ต่ำ สำหรับระดับวิกฤตของโพแทสเซียมในดินแอลฟิซอลส์ (Alfisol) มีเนื้อดินเป็นดินร่วน และดินอัลทิสอลส์ (Ultisol) มีเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย ซึ่งทั้งสองเนื้อดินจะมีระดับวิกฤตของโพแทสเซียมประมาณ 55 และ 45 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548)

สำหรับธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริม พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต้องการในปริมาณที่ไม่มากนัก เพราะในดินส่วนใหญ่มีธาตุอาหารดังกล่าวในปริมาณที่เพียงพอ ยกเว้นในดินที่มีสภาพไม่เหมาะสม อาจส่งผลให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ขาดธาตุอาหารรองและธาตุอาหารเสริมได้ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่, 2542)

คำแนะนำการใช้ปุ๋ยธาตุอาหารหลักสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้รับธาตุอาหารหลักอย่างเพียงพอ และสมดุลตอบสนองต่อการเจริญเติบโตได้ดี และให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูง (กรมวิชาการเกษตร, 2564)

3) การใช้ปุ๋ยธาตุอาหารหลักสำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การใช้ปุ๋ยกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยพิจารณาจากผลการวิเคราะห์ดิน เมื่อนำผลการวิเคราะห์ดินมาเทียบค่าในตารางที่ 1 จะได้อัตราปุ๋ยธาตุหลักที่ควรใช้กับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ซึ่งปลูกในดินนั้น เช่น ดินมีอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ต่ำทั้ง 3 ค่า อัตราปุ๋ยที่ใช้ คือ 15 กิโลกรัมของไนโตรเจน (N) ต่อไร่ 10 กิโลกรัมของฟอสฟอรัส (P_2O_5) ต่อไร่ และ 15 กิโลกรัมของโพแทสเซียม (K_2O) ต่อไร่ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (2564) ค่าแนะนำดินที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ 500 - 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ ในช่วงเตรียมดิน เพื่อเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน และแบ่งใส่ปุ๋ยเคมี 2 ครั้ง ดังนี้

(1) ปุ๋ยรองพื้น ใส่รองกันร่อนตอนปลูก ใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราครึ่งหนึ่งกับใช้ปุ๋ยฟอสเฟต และปุ๋ยโพแทสเซียมทั้งหมด ดังนั้นปุ๋ยรองพื้นจึงประกอบด้วย 7.5 กิโลกรัมของไนโตรเจนต่อไร่ 10 กิโลกรัมของฟอสฟอรัสต่อไร่ และ 15 กิโลกรัมของโพแทสเซียมต่อไร่

(2) ปุ๋ยแต่งหน้า ใส่เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อายุ 30 วัน คือ 7.5 กิโลกรัมของ ไนโตรเจนต่อไร่

ตารางที่ 1 การใช้ปุ๋ยกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตามค่าวิเคราะห์ดิน

รายการวิเคราะห์		อัตราปุ๋ยที่ใส่	วิธีการใส่ปุ๋ย
1. อินทรีย์วัตถุ (OM, %)	< 1	15 กก. N/ไร่ + ปุ๋ยอินทรีย์	ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งหนึ่ง รองกันร่องตอนปลูก
		500 - 1,000 กก./ไร่	และส่วนที่เหลือใส่เมื่อ
	1 - 2	10 กก. N/ไร่	ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อายุได้ 30 วัน
	> 2	5 กก. N/ไร่	
2. ฟอสฟอรัส (P, มก./กก.)	< 10	10 กก. P ₂ O ₅ /ไร่	ใส่รองกันร่องตอนปลูก
	10 - 15	5 กก. P ₂ O ₅ /ไร่	
	> 15	2.5 กก. P ₂ O ₅ /ไร่	
3. โพแทสเซียม (K, มก./กก.)	< 60	15 กก. K ₂ O/ไร่	ใส่รองกันร่องตอนปลูก
	60 - 100	10 กก. K ₂ O/ไร่	
	> 100	5 กก. K ₂ O/ไร่	

ที่มา: กรมวิชาการเกษตร (2564)

4) พื้นที่ปลูกและปริมาณวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย

(1) ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ เนื้อที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ จากการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทย ตั้งแต่ปี 2559/60 - 2564/65 มีพื้นที่เพาะปลูกเฉลี่ย 6.85 ล้านไร่ ผลผลิตรวมทั้งประเทศ เฉลี่ย 4.77 ล้านตัน และค่าเฉลี่ยผลผลิต 695.67 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) (ตารางที่ 2) เมื่อเก็บเกี่ยวส่วนฝักไปใช้ประโยชน์แล้ว ส่วนที่เหลือ ได้แก่ เศษวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีอยู่เป็นจำนวนมากที่เหลือทิ้งในไร่นา

ตารางที่ 2 ข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื้อที่เพาะปลูก ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ของ
ประเทศไทย ปี 2559/60 - 2564/65

ปี	เนื้อที่เพาะปลูก (ล้านไร่)	ผลผลิต (ล้านตัน)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)
2559/60	6.49	4.39	676
2560/61	6.58	4.82	733
2561/62	6.93	5.07	732
2562/63	7.02	4.54	646
2563/64	7.03	4.81	684
2564/65*	7.06	4.96	703
ค่าเฉลี่ย	6.85	4.77	695.67

หมายเหตุ *ค่าประมาณการข้อมูลการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทย ปี 2564/65

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2564)

(2) ปริมาณวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย

พื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กระจายในหลายจังหวัดทั่วประเทศไทย จากผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ปี 2564 เมื่อประเมินปริมาณวัสดุเหลือใช้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์คูณด้วย ค่าสัดส่วนการเกิดมูลชีวภาพ ได้แก่ ลำต้น ยอด และใบ 1.245 ตันต่อตันผลผลิต ชัง 0.216 ตันต่อตันผลผลิต และเปลือก 0.208 ตันต่อตันผลผลิต (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) พบว่า จังหวัดที่มีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มาก และเกิดวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มี ศักยภาพเชิงปริมาณของชีวมวลภายในประเทศไทยมากที่สุด 10 อันดับแรก ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 926,548.69 ตันต่อปี รองลงมา คือ จังหวัดนครราชสีมา มีปริมาณ วัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 810,716.75 ตันต่อปี จังหวัดตาก มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 690,575.45 ตันต่อปี จังหวัดน่าน มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 649,135.85 ตันต่อปี จังหวัดลพบุรี มีปริมาณ วัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 475,871.96 ตันต่อปี จังหวัดนครสวรรค์ มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 460,223.41 ตันต่อปี จังหวัดเลย มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 405,558.66 ตันต่อปี จังหวัด เชียงใหม่ มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 354,814.38 ตันต่อปี จังหวัดลำปาง มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ ทั้งหมด 331,131.27 ตันต่อปี และจังหวัดแพร่ มีปริมาณวัสดุเหลือใช้ทั้งหมด 314,768.39 ตันต่อปี ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณวัสดุเหลือใช้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แยกตามจังหวัด พ.ศ. 2564

อันดับ	จังหวัด	ผลผลิต (ตัน)	ปริมาณวัสดุเหลือใช้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ตัน)			
			ลำต้น/ยอด/ใบ	ซัง	เปลือก	รวม
1	เพชรบูรณ์	555,152.00	691,164.24	119,912.83	115,471.62	926,548.69
2	นครราชสีมา	485,750.00	604,758.75	104,922.00	101,036.00	810,716.75
3	ตาก	413,766.00	515,138.67	89,373.46	86,063.33	690,575.45
4	น่าน	388,937.00	484,226.57	84,010.39	80,898.90	649,135.85
5	ลพบุรี	285,124.00	354,979.38	61,586.78	59,305.79	475,871.96
6	นครสวรรค์	275,748.00	343,306.26	59,561.57	57,355.58	460,223.41
7	เลย	242,995.00	302,528.78	52,486.92	50,542.96	405,558.66
8	เชียงใหม่	212,591.00	264,675.80	45,919.66	44,218.93	354,814.38
9	ลำปาง	198,401.00	247,009.25	42,854.62	41,267.41	331,131.27
10	แพร่	188,597.00	234,803.27	40,736.95	39,228.18	314,768.39
11	เชียงราย	187,202.00	233,066.49	40,435.63	38,938.02	312,440.14
12	พิษณุโลก	170,720.00	212,546.40	36,875.52	35,509.76	284,931.68
13	แม่ฮ่องสอน	127,757.00	159,057.47	27,595.51	26,573.46	213,226.43
14	อุตรดิตถ์	123,259.00	153,457.46	26,623.94	25,637.87	205,719.27
15	สระบุรี	119,550.00	148,839.75	25,822.80	24,866.40	199,528.95

หมายเหตุ ค่าประเมินปริมาณวัสดุเหลือใช้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ปี 2564

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2564)

5) สมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

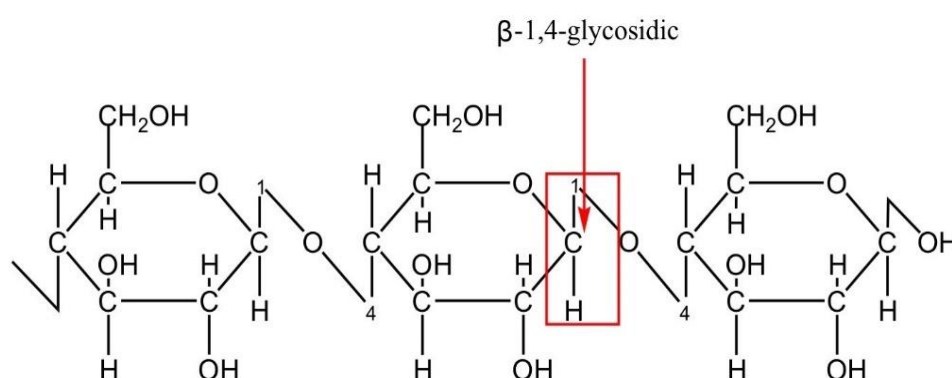
วัสดุเหลือใช้จากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ ต้น ซัง และเปลือกฝักข้าวโพด เป็นส่วนของพืชที่มีสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อเยื่อ มีส่วนประกอบหลัก 3 ประเภท ดังนี้

(1) เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลส มีสูตรโมเลกุล คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ เป็นส่วนประกอบหลักที่สำคัญของผนังเซลล์พืช ซึ่งประกอบด้วยสารคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ชนิดโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และ

มีขนาดใหญ่ที่สุดในธรรมชาติ ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักที่ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับเนื้อเยื่อของผนังเซลล์พืช โครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส (glucose) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เป็นหมู่หลัก มาเรียงต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ที่ตำแหน่งเบต้า - 1, 4 - ไกลโคซิดิก (β - 1, 4 - glycosidic bond) ได้เป็นสายยาวที่ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสกว่า 1,000 - 10,000 โมเลกุล เนื่องจากเซลลูโลสประกอบด้วยกลูโคสเพียงชนิดเดียว และเป็นโพลิเมอร์สายตรงไม่มีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา ซึ่งเซลลูโลสเป็นโฮโม - โพลิเมอร์ (homo - polymer) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า - 1, 4 - ไกลโคซิดิก (β - 1, 4 - glycosidic linkage) ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 1 และ 4 (ภาพที่ 1) (วิทวัส, 2562)

สมบัติของเซลลูโลส เซลลูโลสเป็นเส้นใยชนิดไม่ละลายน้ำ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่น ไม่ละลายในด่างและตัวทำละลาย แต่สามารถดูดซับน้ำไว้ได้ จึงทำให้ที่บริเวณผิวเกิดการพองตัวเมื่อมีการดูดซับน้ำ เนื่องจากเส้นใยเซลลูโลสจับตัวหนาเป็นเส้นหยาบ ซึ่งมีทั้งโมเลกุลที่เรียงตัวไปในทิศทางเดียวกัน และสวนทางกัน ทำให้เส้นใยแข็งแรงไม่เปราะง่าย แต่มีบางส่วนที่โมเลกุลเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ จับกันไม่แน่น เป็นส่วนที่สามารถดูดซับน้ำได้จึงเกิดการพองตัว ซึ่งความสามารถในการพองตัวทั้งในน้ำ และสารละลายจะแตกต่างกันไป เมื่อเรียงลำดับตามความสามารถในการพองตัวของเซลลูโลสในสารละลาย สามารถเรียงลำดับจากน้อยไปมาก คือ ตัวทำละลายอินทรีย์ < น้ำ < เกลือ < กรด < ด่าง



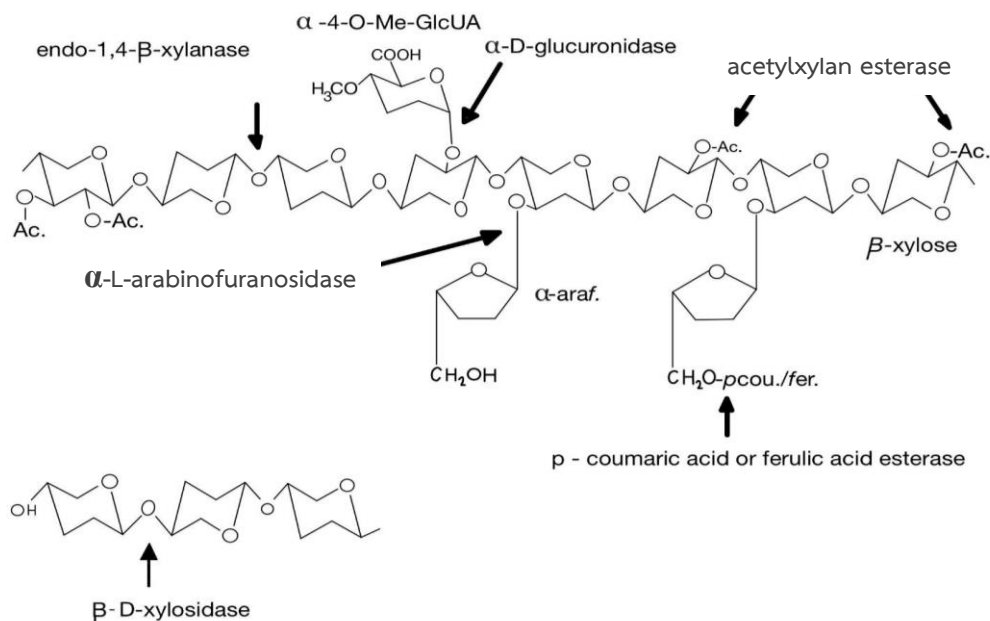
ภาพที่ 1 การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะเบต้า - 1, 4 - ไกลโคซิดิก

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Chem Sources Ltd. (2006)

(2) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลส มีสูตรโมเลกุล คือ $(C_6H_{12}O_5)_2n$ เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ พบมากรองจากเซลลูโลส โดยพบประมาณ 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ในผนังเซลล์พืช ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ประเภทเฮเทอโรโพลิแซ็กคาไรด์ (heterogeneous polysaccharide) เฮมิเซลลูโลส เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยไซแลน (xylan) กลูโคแมนแนน (glucomannan) กาแล็กแทน (galactans) และกลูแคน (glucan) โดยเฮมิเซลลูโลสจะประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิดเชื่อมต่อกัน ซึ่งน้ำตาลส่วนใหญ่ ได้แก่ ไซโลส (xylose) แมนโนส (mannose) กาแล็กโทส (galactose) กลูโคส (glucose) มาต่อเชื่อมเป็นโซ่หลัก และมีน้ำตาลชนิดอื่นมาต่อกันเป็นโซ่แขนง ได้แก่ น้ำตาลอะราบินโนส (arabinose) และกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) (Bajpai, 2016) เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายด้วยกรดได้ดีกว่าเซลลูโลส สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเช่นกัน เนื่องจากโครงสร้างของไซแลน ทำให้การย่อยสลายเกิดได้ยาก จึงต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่มย่อยไซแลน ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโครงสร้างหลัก ได้แก่ เอนโด - 1, 4 - เบต้า - ไซแลเนส (endo - 1, 4 - β - xylanases) และเบต้า - ดี - ไซโลซิเดส (β - D - xylosidase) และเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโซ่กิ่ง ได้แก่ แอลฟา - กลูคูโรนิดเอส (α - glucuronidase) โดยเอนไซม์ทั้งสองกลุ่มทำงานร่วมกันในการเปลี่ยนไซแลนให้เป็นน้ำตาลไซโลส (Beg *et al.*, 2001) แสดงโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและตำแหน่งการเข้าทำลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ดังภาพที่ 2

สมบัติของเฮมิเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสจะทำหน้าที่เป็นสารยึดเซลลูโลสไว้ด้วยกัน และทำหน้าที่เสริมความแข็งแรงให้กับเส้นใย ซึ่งเฮมิเซลลูโลสจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ และสัตว์กระเพาะเดี่ยวสามารถละลายได้ในสารละลายต่างเจือจาง สมบัติทางกายภาพที่สำคัญ คือ มีความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) และการแลกเปลี่ยนแคตไอออน (cation exchange) เมื่ออยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ของมนุษย์ (วิทวัส, 2562)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสและตำแหน่งการเข้าทำลายด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

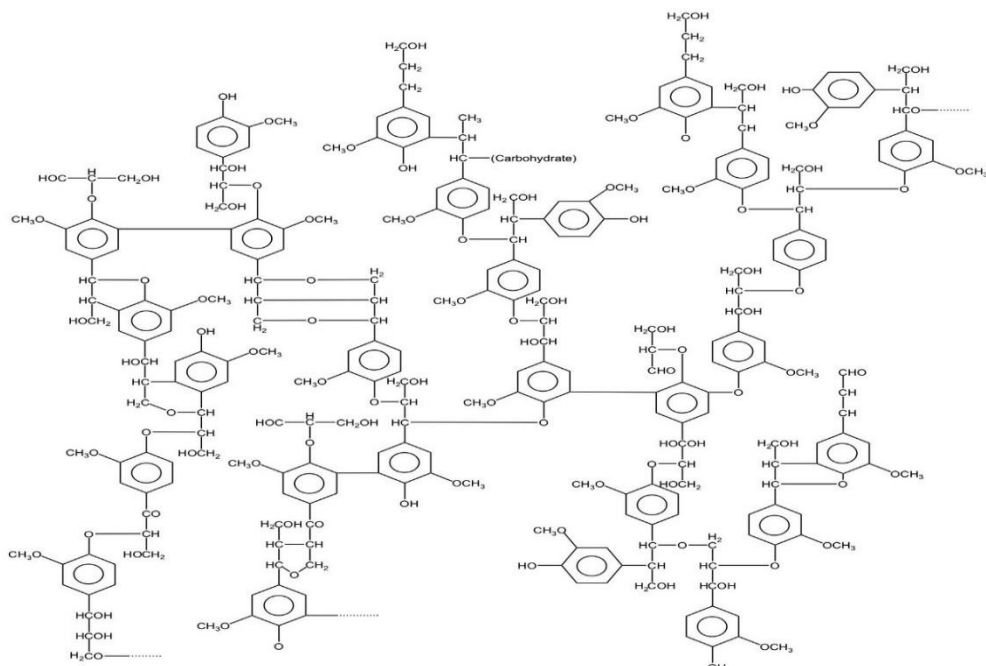
ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Collins *et al.* (2005)

(3) ลิกนิน (lignin)

ลิกนิน มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{12}O_4$ เป็นสารประกอบเชิงซ้อน ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน รวมกันเป็นหน่วยย่อย ซึ่งเป็นสารอะโรมาติก (aromatic) โครงสร้างหน่วยย่อย 3 ส่วน ได้แก่ พาราคูมาริลแอลกอฮอล์ (p-coumaryl alcohol) โคนิเฟอร์ิลแอลกอฮอล์ (coniferyl alcohol) และซินาปิลแอลกอฮอล์ (sinapyl alcohol) สามารถเกิดการเชื่อมต่อกันจนได้เป็นสายโซ่โมเลกุลขนาดใหญ่ (ภาพที่ 3)

สมบัติของลิกนิน ลิกนินมีสมบัติไม่สามารถละลายน้ำ ไม่มีคุณสมบัติในการยืดหยุ่น จึงทำให้โครงสร้างของพืชที่มีปริมาณลิกนินสูงจะมีความแข็งแรงทนทาน ลิกนินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในโครงสร้างของเนื้อเยื่อพืช โดยพบในส่วนของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง อยู่ร่วมกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เป็นส่วนประกอบของเปลือก ซัง ราก และลำต้น จะถูกสร้างจากส่วนโคนต้นไปสู่ยอด เมื่อพืชมีอายุมากขึ้นปริมาณลิกนินจะเพิ่มมากขึ้นด้วย (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2552) โดยพืชที่มีปริมาณลิกนินสูงจะมีความแข็งแรงมาก ในขณะที่พืชที่มีอายุน้อยจะมีปริมาณลิกนินที่ต่ำเช่นเดียวกัน ในธรรมชาติลิกนินจะช่วยห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากศัตรูทำลาย

เนื้อไม้ อีกทั้งเป็นตัวเพิ่มความแข็งแรงของผลึกลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) ดังนั้นต้องทำการปรับสภาพไม้ เพื่อลดปริมาณลิกนินก่อนการเปลี่ยนแปลงเซลลูโลสเป็นกลูโคส (Singh *et al.*, 2014)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของลิกนิน

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Food network solution (2015)

6) องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุเศษเหลือจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

(1) ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ คือ วัตถุแห้ง 25.30 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 9.25 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.90 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อใย 26.80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของแกนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีเซลลูโลส 45.00 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 35.00 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 15.00 เปอร์เซ็นต์ (เมฆ และคณะ, 2553) มีองค์ประกอบของธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน 0.53 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม 2.21 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 62.00 จึงจัดเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ย่อยสลายได้ง่าย (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

(2) เปลือกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ คือ วัตถุแห้ง 89.20 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 4.20 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 3.40 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 25.70 เปอร์เซ็นต์

เก่า 1.60 เปอร์เซ็นต์ เซลลูโลส 43.80 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 39.60 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 14.30 เปอร์เซ็นต์ (พลอยปภัส, 2561)

(3) ชังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ คือ ส่วนแกนกลางของฝักข้าวโพด ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ คือ โปรตีน 1.64 เปอร์เซ็นต์ เก้า 5.46 เปอร์เซ็นต์ เซลลูโลส 45.00 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 35.00 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 15.00 เปอร์เซ็นต์ (วิทวัส, 2562) มีองค์ประกอบของธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน 0.43 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.13 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 0.59 เปอร์เซ็นต์ และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 114.83 จึงจัดเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ย่อยสลายยาก (พิทยากร และ ฉวีวรรณ, 2541)

3.1.2 ความรู้ด้านปฐพีศาสตร์

สมบัติดินในพื้นที่ศึกษา (กรมพัฒนาที่ดิน, 2557; กรมพัฒนาที่ดิน, 2562) มีรายละเอียด ดังนี้

ชุดดินนครปฐม (Np)	กลุ่มชุดดินที่ 7
การจำแนกดิน (USDA)	Fine, mixed, active, isohyperthermic Aeric Endoaqualfs
วัตถุต้นกำเนิด	ตะกอนน้ำพา
สภาพพื้นที่	ราบเรียบถึงค่อนข้างราบเรียบ มีความลาดชัน 0 - 2 เปอร์เซ็นต์
การระบายน้ำ	ค่อนข้างเร็ว
การซึมผ่านได้ของน้ำ	ช้า
การไหลบ่าของน้ำบนผิวดิน	ช้า

ลักษณะสมบัติของดินเป็นดินลึก ดินบนเป็นดินร่วน ดินร่วนเหนียวปนทรายแป้ง หรือดินร่วนปนดินเหนียว สีนํ้าตาลปนเทา หรือนํ้าตาลเข้ม ปฏิกริยาดินเป็นกรดจัดถึงเป็นกรดเล็กน้อย มีความเป็นกรดเป็นด่าง อยู่ในช่วง 5.0 - 6.5 ดินล่างตอนบนเป็นดินเหนียว หรือดินร่วนปนดินเหนียว สีนํ้าตาลปนเทาเข้ม ปฏิกริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นด่างปานกลาง และมีความเป็นกรดเป็นด่าง อยู่ในช่วง 6.5 - 8.0 ในตอนล่างจะพบมวลก้อนกลมของเหล็กและแมงกานีส รวมทั้งมวลก้อนกลมของปูน ที่ระดับความลึกมากกว่า 80 เซนติเมตร พบจุดประสีนํ้าตาลแก่ หรือนํ้าตาลปนเหลืองตลอดชั้นดิน

3.2 ความรู้ด้านจุลชีววิทยา

3.2.1 จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส

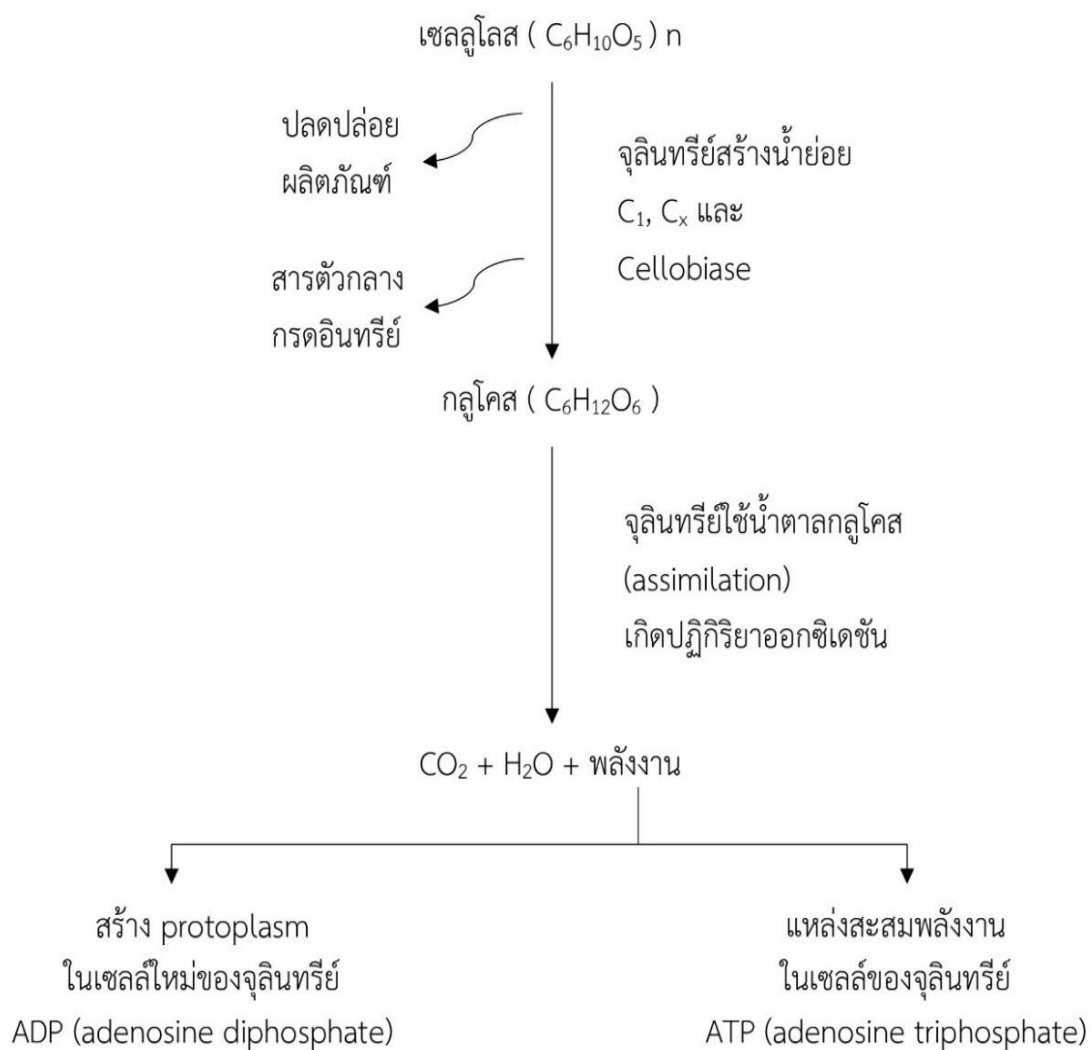
จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในขั้นการแปรสภาพสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบของวัสดุอินทรีย์ที่ได้มาจากพืช ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส

และลิกนิน ในกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์สารเหล่านี้ โดยจุลินทรีย์ในดินจากการผลิตเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ จะมีบทบาทสำคัญกว่าเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ในกลุ่มของเรา และแอกติโนมัยซิส จะมีการผลิตเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมี เพื่อดำเนินกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อพืชและจุลินทรีย์ดินสูงกว่าแบคทีเรีย ซึ่งมีการผลิตเอนไซม์เซลล์สูงภายในเซลล์ ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าเนื่องจากเราเป็นจุลินทรีย์ที่มีการพัฒนาโครงสร้างซับซ้อนและมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจะต้องมีการพัฒนาเป็นส่วนของเส้นใย สปอร์ และส่วนที่เป็นถุงเก็บสปอร์ในราหลายชนิด จึงจำเป็นต้องมีการผลิตเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งมีปริมาณสูงอยู่ในระดับที่เพียงพอต่อการแปรสภาพสารอินทรีย์ เพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงานและอาหารสำหรับการเจริญและเพิ่มจำนวนประชากรของเรา ในส่วนของแอกติโนมัยซิสจะมีลักษณะเช่นเดียวกันกับรา เนื่องจากแอกติโนมัยซิสมีการพัฒนาโครงสร้างสูงขึ้นกว่าแบคทีเรีย มีลักษณะคล้ายคลึงกับรา สำหรับแบคทีเรียเป็นโครงสร้างอย่างง่าย เป็นเซลล์เดี่ยวไม่สลับซับซ้อนเหมือนราและแอกติโนมัยซิส เป็นสาเหตุที่แบคทีเรียมีความต้องการพลังงานในระดับต่ำกว่าราและแอกติโนมัยซิส ซึ่งจุลินทรีย์ในดินประกอบด้วยแบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซิส ต่างมีบทบาทสำคัญในการดำเนินกิจกรรมของกระบวนการทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการแปรสภาพอินทรีย์สารในดิน ที่มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยมีความเกี่ยวข้องกับอินทรีย์วัตถุในดิน (Alexander, 1977)

3.2.2 กิจกรรมการย่อยสลายเซลล์ลูโลส

เซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของพืชชั้นสูง และเซลล์ของจุลินทรีย์ในดิน ซึ่งมีองค์ประกอบมากถึง 40 - 50 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักโครงสร้างของเซลล์ลูโลส เป็นสารคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายโมเลกุล ไม่ละลายน้ำ มีหน่วยองค์ประกอบของกลูโคสเชื่อมต่อกันเป็นลูกโซ่ โดยที่เซลล์ลูโลสแต่ละโมเลกุลจะมีหน่วยย่อยของกลูโคสตั้งแต่ 1,400 - 10,000 โมเลกุล ดังนั้นความสำคัญของเซลล์ลูโลสที่มีต่อพืชและจุลินทรีย์ในดิน คือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้กับจุลินทรีย์ดิน สำหรับใช้สร้างองค์ประกอบของโปรโตพลาสซึม (protoplasm) ภายในเซลล์จุลินทรีย์ ที่ทำหน้าที่ในการแปรสภาพสารอินทรีย์คาร์บอน จะผลิตเอนไซม์เพื่อเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมี (ภาพที่ 4) โดยการย่อยสลายเซลล์ลูโลส เพื่อทำให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง กลูโคสจะถูกปลดปล่อยออกมา ซึ่งพืชและจุลินทรีย์ในดินสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อาจกล่าวได้ว่าการย่อยสลายเซลล์ลูโลสจะมีผลทำให้สารประกอบของคาร์บอนมีระดับปริมาณลดลง เนื่องจากการเชื่อมกันของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสมีขนาดเล็กลง ซึ่งเกิดขึ้นจากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นมา ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายเซลล์ลูโลส ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และกรดอินทรีย์ เช่น แลคติก (lactic acid) และคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวนี้จะถูกนำไปใช้เป็นอาหารและพลังงาน โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดินหลายชนิด รวมทั้งระบบรากพืชชั้นสูงในดิน กิจกรรมของจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลล์ลูโลสจากวัสดุเศษพืช

จะพบว่า ระดับน้ำตาลกลูโคส และคาร์บอนไดออกไซด์ ที่วัดได้จะเป็นดัชนีสำคัญที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส เมื่อพบว่า ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลามีค่าเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสจากวัสดุเศษพืชมีการสังเคราะห์เอนไซม์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้ความเป็นประโยชน์ในการแปรสภาพสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนอยู่ในรูปอนินทรีย์สูงขึ้น (Alexander, 1977)



ภาพที่ 4 ขั้นตอนกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์ดิน

ที่มา: วรณลดา (2538)

3.3 ความรู้ด้านการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

3.3.1 ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ (bio product)

ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ (bio product หรือ bio - based products) เป็นสารประกอบธรรมชาติที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และสารประกอบที่เข้ากันได้ทางชีวภาพ ผลิตภัณฑ์ชีวภาพส่วนใหญ่มาจากแหล่งโดยตรง หรือโดยอ้อม ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเหล่านี้ในงานเกษตรกรรมใช้เป็นสารปรับปรุงดินและปุ๋ยอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ชีวภาพไม่เป็นพิษต่อทั้งพืชและผู้บริโภค ผลิตภัณฑ์ชีวภาพมีหลากหลายรูปแบบ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น น้ำมันหอมระเหย ชีวชีง และน้ำผึ้ง ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น ขนสัตว์ หนัง และขนนก และผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ สารกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพ สารกระตุ้นทางชีวภาพ และปุ๋ยชีวภาพเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพทางการเกษตร ซึ่งแตกต่างกันในแง่ของหน้าที่และกลไกการออกฤทธิ์ สารกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพเป็นสารชีวภาพที่ใช้ควบคุมศัตรูพืชและโรคที่เกิดจาก แบคทีเรีย เชื้อรา หรือแมลง สารกระตุ้นทางชีวภาพเป็นวัสดุที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช เช่น ฮอโมน เอนไซม์ หรือวิตามินบางชนิด และปุ๋ยชีวภาพเป็นวัสดุอินทรีย์ที่ให้สารอาหารแก่พืช เช่น ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก มีบทบาทที่แตกต่างกันของสารเหล่านี้ ได้แก่ การปกป้องพืชผล การส่งเสริมการเจริญเติบโต และการเพิ่มธาตุอาหาร (Sojka and Saeid, 2022)

ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ได้มาจากกระบวนการผลิตที่มาจากวัตถุดิบพืชและสัตว์จากธรรมชาติ และกระบวนการผลิตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีคุณสมบัติที่เป็นธรรมชาติ และมีความปลอดภัย (ธงชัย, 2560)

ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ความหมาย เป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต มีองค์ประกอบ 3 สิ่งที่สำคัญ คือ 1) การใช้ทรัพยากรชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นเชื่อมโยงกับกระบวนการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการผลิต 2) ผลผลิตมีพื้นฐานการอนุรักษ์ การรักษาสิ่งแวดล้อมเพื่อความยั่งยืน และ 3) มีการแบ่งปันผลประโยชน์ที่เป็นธรรมระหว่างชุมชนกับผู้ผลิต และทำให้ชุมชนมีความกินดีอยู่ดี ซึ่งผลผลิตต่าง ๆ นั้นอาจเกิดได้ในทุกขั้นตอนการผลิต เช่น อาจจะเป็นวัตถุดิบให้กับสินค้า หรืออาจเป็นสินค้า เป็นต้น (EuropaBio's Industrial Biotechnology Council, 2013)

3.3.2 รูปแบบผลิตภัณฑ์ชีวภาพ

การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์เป็นสิ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากเกษตรกรจะสามารถนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่การเกษตรได้ง่ายสะดวก และคงประสิทธิภาพจุลินทรีย์ได้ดี จึงจำเป็นต้องมีรูปแบบและการใช้วัสดุรองรับที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งรูปแบบผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่มีความเหมาะสมต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ที่เพียงพอต่อการเกิดประสิทธิภาพต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่ จะต้องพิจารณาถึงความมีชีวิตรอด

ของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ตั้งแต่ในกระบวนการผลิต การเก็บรักษา และการขนส่ง จนถึงการนำไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่ ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์เมื่อนำไปใช้ในพื้นที่การเกษตร เช่น แสง กรณีที่เมื่อใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์แล้วอยู่บนดินและกระทบกับแสงโดยตรง รวมทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติของดิน เช่น เนื้อดิน อุณหภูมิ และความเป็นกรดเป็นด่าง ซึ่งรูปแบบของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ มีหลายรูปแบบ ได้แก่ รูปแบบของแข็ง เช่น รูปแบบผง ใช้วัสดุรองรับที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น พีทมอส ปุ๋ยหมัก ขี้เลื่อย วัสดุอนินทรีย์ เช่น เวอร์มิคูไลต์ และซีโอไลต์ เป็นต้น ส่วนรูปแบบของเหลวเป็นสารแขวนลอย หรือสารแขวนลอยที่เป็นน้ำ ผลิตภัณฑ์ชีวภาพรูปแบบของเหลวจะมีจุลินทรีย์แขวนลอยอยู่ในอาหารเหลว เช่น น้ำ น้ำมันแร่ น้ำมันอินทรีย์ น้ำมันในน้ำ และสารแขวนลอยที่มีโพลิเมอร์เป็นส่วนประกอบหลัก โดยน้ำมันที่ใช้มีหลากหลายชนิด เช่น ตัวทำละลายอะโรมาติก พาราฟิน และน้ำมันพืช เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบของเหลวประกอบด้วย ซูโครส (sucrose) กลีเซอรอล (glycerol) ทรีฮาโลส (trehalose) และโพลีไวนิลไพร์โรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) เป็นสารปกป้องเซลล์ที่ช่วยในการเพิ่มความอยู่รอดของจุลินทรีย์ และคงปริมาณไวสูง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบของเหลวในกลุ่มแบคทีเรีย เช่น *Azotobacter* sp. *Azospirillum* sp. *Bacillus* sp. เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบของเหลวในกลุ่มเชื้อรา เช่น *Trichoderma* sp. (Samaksh et al., 2023) และรูปแบบของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ แบบผงแห้ง มีเทคนิคการผลิตหลายแบบ เช่น วิธีการทำแห้งแบบพ่นละออง (spray drier) การทำแห้งด้วยลมร้อน เช่น ตู้อบลมร้อน (hot air drier) เป็นเทคนิคการใช้ความร้อนในการระเหยนํ้าออกจากผลิตภัณฑ์ เพื่อลดความชื้นให้อยู่ในระดับต่ำ หากอุณหภูมิสูงเกินไปมีผลต่อการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ และการคงสภาพของผลิตภัณฑ์ในการเก็บรักษา ขณะที่การทำแห้งด้วยเทคนิคแบบแช่เยือกแข็งได้รับความนิยมนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย เพื่อเตรียมวัสดุทางชีวภาพ เนื่องจากขั้นตอนนี้มีประสิทธิภาพในการรักษาวัสดุทางชีวภาพได้เป็นระยะเวลานาน สามารถรักษาคุณค่าและคุณภาพทางชีวภาพได้ดีกว่าการทำแห้งแบบทั่วไป ด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งใช้อุณหภูมิต่ำ จึงช่วยลดการสูญเสียของวัสดุชีวภาพจากความร้อน ลดการทำลายเนื้อเยื่อและโครงสร้างของจุลินทรีย์ ทำให้ได้วัสดุชีวภาพที่มีคุณภาพสูง และรักษาคุณภาพในระยะเวลายาวนานได้ดี (de Jesus and Filho, 2014)

3.3.3 เทคนิคการผลิตทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying)

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) หมายถึง การทำให้แห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง โดยทำให้นํ้าที่อยู่ในเซลล์ซึ่งเป็นของเหลวเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งที่เป็นผลึกน้ำแข็งเล็ก ๆ ก่อน จากนั้นจะทำการลดความดันสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งสามารถระเหิด (sublimation) กลายเป็นไอนํ้า ภายใต้อุณหภูมิเท่ากับ หรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส จะทำให้นํ้าแข็งเกิดการระเหิดที่ความดัน 4.7 มิลลิเมตรปรอท หรือต่ำกว่า โดยการเก็บรักษาด้วยการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นวิธีการเพื่อให้ได้ความเสถียรที่เหมาะสมที่สุด แต่เทคนิค

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ในการรักษาสภาพเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ ต้องการสารปกป้องสภาพเชื้อราที่เหมาะสมในการปกป้องเซลล์จากการทำลายของน้ำแข็ง ดังนั้นการเลือกใช้สารปกป้องที่เหมาะสม จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง เพื่อรักษาเสถียรภาพเส้นใยเชื้อราให้อยู่ในสภาพคงความมีชีวิตรอดได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ลักษณะทางสรีรวิทยา หรือกายวิภาค และการเก็บรักษาจากการทำให้แห้งภายใต้แรงดันที่ลดลงจากสภาวะเยือกแข็ง โดยการระเหิดของน้ำแข็ง เป็นเทคนิคการเก็บรักษาสปอร์ของเชื้อราที่ประสบความสำเร็จ ข้อดีของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง คือ มีความคงตัวที่ดีของเซลล์รักษาสภาพได้ดี อายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน สามารถจัดเก็บสะดวก ในสภาพแวดล้อมของอุณหภูมิห้อง (Raper and Alexander, 1945)

การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นเทคนิคใหม่ของการทำให้แห้ง เพื่อเก็บรักษาวัสดุทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ โปรตีน วิตามิน และแบคทีเรียได้เป็นเวลานาน โดยการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นกระบวนการทำให้แห้งที่ใช้หลักการดึงเอาโมเลกุลของน้ำออกจากซับสเตรต (substrate) โดยอาศัยการระเหิดของน้ำจากสภาพของแข็งกลายเป็นไอ ซับสเตรตที่แห้งโดยวิธีนี้จะถูกทำให้อยู่ในสภาพเยือกแข็ง และการระเหิดของน้ำเกิดขึ้นได้ เนื่องจากความดันและอุณหภูมิในการทำให้แห้งอยู่ต่ำกว่าจุดวิกฤตของก๊าซ ของเหลว ของแข็ง หรือสารละลายในซับสเตรต ดังนั้นวิธีการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง สามารถคงประสิทธิภาพของวัสดุทางชีวภาพ รักษาคุณภาพเป็นระยะเวลานานได้ดีกว่าการทำแห้งแบบทั่วไป เนื่องจากการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นการทำให้แห้ง ขณะที่มียุณหภูมิต่ำ จึงลดการสูญเสียของวัสดุชีวภาพจากความร้อน ลดการทำลายเนื้อเยื่อ และโครงสร้างเซลล์จุลินทรีย์ และลดความเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้อยู่ในรูปของแข็ง เช่น รูปแบบผง และรูปแบบเม็ด ทำให้ได้วัสดุชีวภาพที่มีคุณภาพสูง และมีการคืนตัวที่ดี ซึ่งมีปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ปริมาณออกซิเจน และความชื้นในผลิตภัณฑ์แห้ง (de Jesus and Filho, 2014) แต่อย่างไรก็ตามการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่าใช้จ่ายสูง เมื่อเปรียบเทียบกับ การทำให้แห้งด้วยเครื่องทำให้แห้งที่ใช้ลมร้อนทั่วไป ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่ผลิตด้วยวิธีการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง เช่น การผลิตผงกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* โดยผสมมอลโตเดกซ์ตริน ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกลีเซอรอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตสูง 70.59 เปอร์เซ็นต์ (ไกรศักดิ์, 2559) และการผลิตผงกล้าเชื้อ *B. subtilis* โดยผสมมอลโตเดกซ์ตริน และการใช้แป้งถั่วเหลืองความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จากการเก็บรักษาเชื้อนาน 90 วัน มีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตมากกว่า 10^7 CFU ต่อกรัม และมีศักยภาพการผลิตเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส ไม่แตกต่างกันกับการใช้กล้าเชื้อสด (ฐิติกร, 2559)

การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งเพื่อเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ในขั้นตอนของกระบวนการทำให้แห้งเอนไซม์ ช่วยรักษาสภาพเอนไซม์ไม่ให้เกิดการสูญเสียกิจกรรม และผลผลิตขั้นสุดท้ายเสี่ยงต่อการเสื่อมประสิทธิภาพ การออกแบบกระบวนการทำให้แห้ง

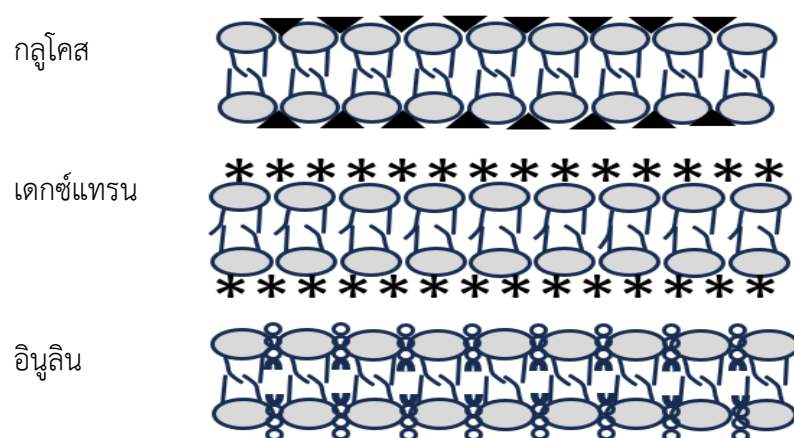
ที่เหมาะสมจะช่วยคงคุณค่าของกิจกรรมเอนไซม์ สำหรับการป้องกันการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ มีการใช้วิธีการทำให้คงตัวหลายวิธี วิธีการทำให้คงตัวสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ (1) การเติมสารเติมแต่ง (2) การใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ (3) การทำให้เคลื่อนที่ไม่ได้ด้วยการเชื่อมโยงกับเฟส (phase) ของแข็ง หรือละลายได้ และ (4) เทคนิคทางวิศวกรรมโปรตีน ซึ่งสารเติมแต่งเป็นสารที่ให้คุณสมบัติที่ต้องการแก่ตัวทำละลาย เช่น ช่วยให้คงตัวเคลือบผิว และช่วยให้คงรูปปรับคุณภาพตัวอย่างของสารเติมแต่ง ได้แก่ น้ำตาล กลีเซอรอล โพลีเอทิลีนไกลคอล และกรดอะมิโน เป็นต้น (Maryanty *et al.*, 2020) ดังนั้นสารเติมแต่งหรือสารปกป้องเซลล์ จึงมีความสำคัญสำหรับการทำผงแห้งเพื่อเก็บรักษาเชื้อและเอนไซม์ในการรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไว้นาน

3.3.4 สารปกป้องเซลล์ (protective agent)

สารปกป้องเซลล์ หมายถึง ตัวกลางที่ใช้ในการห่อหุ้มจุลินทรีย์ เพื่อป้องกันจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม กระบวนการผลิตเพื่อเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ สารชีวภัณฑ์ หรือสารออกฤทธิ์ ที่ต้องผ่านกระบวนการผลิตรูปแบบต่าง ๆ เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย จะต้องผ่านกระบวนการผลิตที่มีปัจจัยของอุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้อง เชื้ออาจถูกทำลายโดยอุณหภูมิสูง มีผลทำให้เซลล์ที่มีชีวิตมีจำนวนลดลงในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย การใช้สารปกป้องเซลล์เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ หรือการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยกลไกของสารปกป้องเซลล์ คือ การเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียไป และยึดเกาะกันเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงทำให้โครงสร้างของโมเลกุลมีความเสถียร จึงสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการทำแห้ง (Desmond *et al.*, 2002)

1) สารปกป้องเซลล์ประเภทคาร์โบไฮเดรต ซึ่งกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่นิยมนำมาใช้ เช่น น้ำตาล สามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสีย โดยพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลุ่มไฮดรอกซี (hydroxyl group, OH) ของน้ำตาล มีความสัมพันธ์กับฟอสโฟลิพิดไบเลเยอร์ (phospholipid bilayer) ของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (Crowe *et al.*, 1984) และจากรายงานของ Silva *et al.* (2004) พบว่า สารปกป้องเซลล์ในกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ สามารถแทรกเข้าชั้นในของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้โครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์มีความเสถียรและไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง จากรายงานการใช้ซูโครสเป็นสารปกป้องเซลล์ของเชื้อ *L. delbrueckii* ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าจุลินทรีย์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังการทำแห้งได้ดีขึ้น จากภาพที่ 5 ลักษณะโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ด้วยการแทนที่น้ำ เช่น กลูโคส (glucose) เดกซ์แทรน (dextran) และอินูลิน (inulin) คุณสมบัติของสารปกป้องเซลล์สามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสีย โดยโมเลกุลของน้ำตาลมีความจำเพาะและมีความสัมพันธ์กับฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้โครงสร้างโมเลกุลมีความเสถียร และลดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อใช้น้ำตาลเป็น

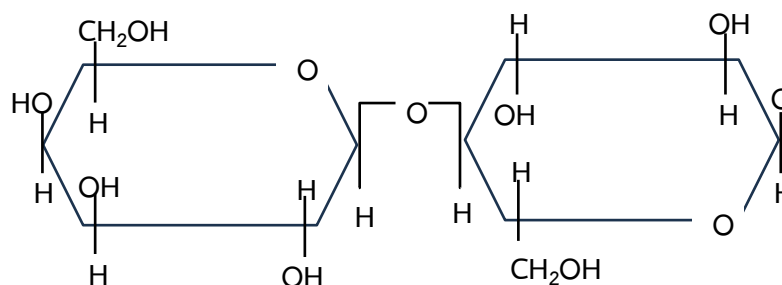
สารปกป้องเซลล์ เช่น การใช้กลูโคสเป็นสารปกป้องเซลล์ โมเลกุลของกลูโคสจะแทนที่โมเลกุลของน้ำที่บริเวณช่องว่างระหว่างฟอสโฟลิพิด คงสภาพโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับการใช้เดกซ์แทรนเป็นสารปกป้องเซลล์ พบว่า โมเลกุลของสารมีขนาดใหญ่ไม่สามารถเข้าแทนที่ช่องว่างระหว่างฟอสโฟลิพิดจะอยู่ที่บริเวณผิวภายนอก ทำให้ลดการเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ และการใช้อินูลินเป็นสารปกป้องเซลล์ พบว่า อินูลินสามารถลดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ได้ โดยโมเลกุลของสารมีความยืดหยุ่น และสามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียได้ในระหว่างการทำแห้ง (Santivarangkna *et al.*, 2008)



ภาพที่ 5 ลักษณะโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตที่ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Santivarangkna *et al.* (2008)

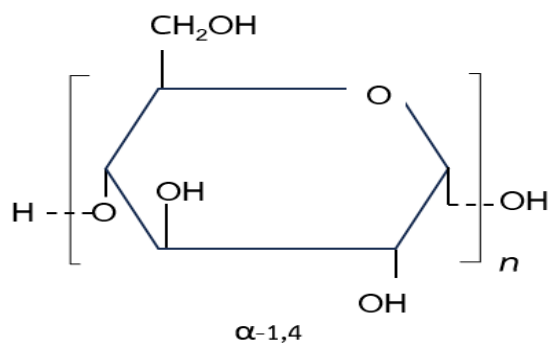
(1) แล็กโทส (lactose) หรือ 4 - O - β - D - galactopyranosyl - D - glucopyranose (ภาพที่ 6) เป็นน้ำตาลที่พบเฉพาะในน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเท่านั้น น้ำตาลแล็กโทสสามารถแตกตัวได้ด้วยเอนไซม์แล็กเทส (β - D - galactosidase) หรือด้วยกรดแก่ ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส และกาแล็กโทส น้ำตาลแล็กโทสโมโนไฮเดรต (lactose monohydrate) โดยมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 202 องศาเซลเซียส ส่วนน้ำตาลแล็กโทสที่อยู่ในรูปแอนไฮดรัส (lactose anhydrous) แอลฟาแล็กโทส (α - lactose) และเบต้าแล็กโทส (β - lactose) จะมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 223 และ 252 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และจากรายงานการใช้สารผสมระหว่างเวย์โปรตีนกับน้ำตาลแล็กโทสเป็นสารปกป้องเซลล์ของเชื้อ *L. delbrueckii* ในการทำแห้งผงแบบพ่นฝอย พบว่าจุลินทรีย์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น (Rosenberg and Sheu, 1996; Young *et al.*, 1993)



ภาพที่ 6 โครงสร้างแล็กโทส

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Admin (2010)

(2) มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin) เป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ได้จากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ช (starch) บางส่วนให้เป็นสายสั้น ๆ ของน้ำตาลกลูโคส โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วย หน่วย D - กลูโคส ต่อกันเป็นสายยาวที่เชื่อมต่อด้วยพันธะแอลฟา - 1, 4 ไกลโคซิดิก (α - 1, 4 glycosidic bond) ซึ่งโครงสร้างมอลโตเดกซ์ตริน (ภาพที่ 7) แบ่งได้ตามค่าสมมูลเด็กซ์โทรส (dextrose equivalent, DE) คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) คิดเป็นปริมาณน้ำตาลเด็กซ์โทรส (dextrose) ที่มีอยู่ในคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และมอลโตเดกซ์ตรินมีค่าสมมูลเด็กซ์โทรส อยู่ระหว่าง 5 - 20 เปอร์เซนต์ นอกจากนี้ยังพบว่า มอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่าสมมูลเด็กซ์โทรสสูงจะทนต่อความร้อนได้น้อยกว่ามอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่าสมมูลเด็กซ์โทรสต่ำ วัตถุดิบที่ใช้ผลิตมอลโตเดกซ์ตริน คือ แป้งที่ผลิตมาจากพืชต่าง ๆ เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด และแป้งมันฝรั่ง เป็นต้น การย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ชนิดแอลฟา - อะไมเลส (α - amylase) มักใช้เป็นวัตถุดิบอาหาร มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส หรือมีรสหวานเล็กน้อย สามารถละลายน้ำได้ดี และมีการใช้ประโยชน์จากสารมอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ผงหลากหลายรูปแบบ ซึ่งจากรายงานของ Boza *et al.* (2004) พบว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยของเชื้อ *Beijerinckia* sp. โดยใช้มอลโตเดกซ์ตริน DE20 เป็นสารปกป้องเซลล์ มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.40×10^9 CFU ต่อกรัม และพบว่า หลังการทำแห้งจำนวนการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงเหลือ 1.28×10^8 CFU ต่อกรัม และจากรายงานของ Kanakdande *et al.* (2007) พบว่า จากผลการศึกษาการใช้สารผสมระหว่างกัมอาร์บิก แป้งดัดแปร และมอลโตเดกซ์ตริน เป็นวัสดุห่อหุ้มเซลล์ช่วยคงความมีชีวิตของจุลินทรีย์ได้เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 7 โครงสร้างมอลโตเดกซ์ตริน

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Food network (2010)

(3) ทรีฮาโลส (trehalose) เป็นน้ำตาลประเภทไดแซ็กคาไรด์แบบนอน - รีดิวซ์ซิง (non - reducing sugar) มีคุณสมบัติและหน้าที่ช่วยในการป้องกันสารชีวโมเลกุลทั้งหลายจากภาวะเครียด (stress) มีพันธะไกลโคซิดิก (α - 1, 1 - glycosidic) เชื่อมตรงกลางระหว่างกลูโคส 2 โมเลกุล พันธะนี้เป็นพันธะโคเวเลนต์ (covalent bond) ที่มีการเชื่อมหมู่ฟังก์ชันเอมิอะซีทัล (hemiacetal) ให้ครบวง ทำให้ไม่มีหมู่ฟังก์ชันที่กลายสภาพเป็นตัวรีดิวซ์ จึงทำให้ทรีฮาโลสสามารถทนต่อความร้อนและกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) รวมถึงสามารถคงสภาพส่วนประกอบอื่นในผลิตภัณฑ์ได้ มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีสูตรเคมี คือ $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 2H_2O$ เป็นสารที่มีความคงตัว ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ จึงถูกนำไปใช้เป็นสารคงตัวสำหรับเอนไซม์ โปรตีน และมวลชีวภาพ สามารถใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารได้อย่างปลอดภัย (Insel *et al.*, 2010) การสะสมทรีฮาโลส ภายในเซลล์เชื้อราเกิดขึ้นภายใต้สภาวะเครียดหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิต่ำ ความเข้มข้นของเกลือสูง และสภาวะอื่นที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ (Hugenholtz and Smid, 2002)

2) สกิมมิลค์ (skim milk) หรือ หางนม หมายถึง นำนมที่แยกเอาส่วนของไขมันเนยออกเกือบทั้งหมด ของแข็งที่เหลือเรียกว่า ของแข็งในหางนมปราศจากไขมัน (milk solids not fat) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนนม และน้ำตาลแล็กโทส จากรายงานของ Lian *et al.* (2002) การใช้นมขาดมันเนยเป็นสารปกป้องเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอยเชื้อ *Bifidobacterium longum* B6 พบว่า การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ 82.59 เปอร์เซ็นต์ และรายงานของ Tan (1997) พบว่า การเก็บรักษาเชื้อราแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สามารถรักษาความคงตัวที่ดีของเซลล์ และมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน โดยการปกป้องเส้นใยเชื้อราด้วยสกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ ผสมน้ำกลั่น 5 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงานของ Desmons *et al.* (1998) ได้ทำการผลิตเชื้อ *L. brevis* มีความเข้มข้นของเซลล์ถึง

8.2×10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการเติมสารปกป้องเซลล์ ได้แก่ นมผงไขมันต่ำ 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่า คงการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ 59 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาเชื่อนาน 137 วัน

3) โพลีไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone, PVP) ได้มาจากปฏิกิริยาเอาน้ำออก (hydrolysis) ของโพลีไวนิลอะซิเตท (polyvinyl acetate) สามารถละลายได้ดีในน้ำ และสารละลายอินทรีย์ สารละลายที่ได้มีความหนืดค่อนข้างต่ำ นิยมใช้เพื่อเพิ่มความคงสภาพของอิมัลชัน (emulsion) เป็นสารละลายคอลลอยด์ (colloid) มีรายงานการใช้ประโยชน์เป็นสารปกป้องเซลล์และคงสภาพเซลล์ รวมถึงสารออกฤทธิ์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา จากรายงานของ หนึ่ง และ พรรณดา (2557) พบว่า การใช้สารเคมีในกลุ่มพอลิเมอร์ เช่น โพลีไวนิลไพโรลิโดน และแป้งมันสำปะหลัง สามารถเก็บรักษาเชื้อให้มีอายุเก็บรักษาสีขึ้น โดยได้ทดสอบสูตรต่าง ๆ ในขณะที่ยังเชื้อ *Bacillus* sp. BSN201 มีสูตรอาหารที่เติมสาร โพลีไวนิลไพโรลิโดน 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับแป้งมันสำปะหลัง 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถรักษาจำนวนเซลล์ให้อยู่ในระดับ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาได้นาน 90 - 120 วัน และตามรายงานของ Singleton *et al.* (2002) และ Tittabutr *et al.* (2007) พบว่า สารโพลีไวนิลไพโรลิโดนสามารถผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ และใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bradyrhizobium* ได้ตามปกติ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์แบคทีเรีย เนื่องจากเซลล์แบคทีเรียไม่สามารถใช้สารพอลิเมอร์เหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานได้ อย่างไรก็ตามสารพอลิเมอร์เหล่านี้มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญและการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากสารเหล่านี้มีคุณสมบัติความเหนียว ช่วยเพิ่มให้เซลล์แบคทีเรียยึดเกาะกับเมล็ดได้ดี และยังช่วยให้เชื้อที่เคลือบอยู่บนเมล็ดพืชไม่แห้งเร็วจนเกินไปเมื่อนำไปใช้ในสภาพไร (Deaker *et al.*, 2004) และสารโพลีไวนิลไพโรลิโดน ยังมีค่าความสามารถของสารที่ยึดจับน้ำ (water binding capacity) ได้สูง จึงสามารถคงความชื้นยึดเกาะน้ำบริเวณรอบเซลล์ได้มากขึ้น จึงทำให้เซลล์จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำในกระบวนการต่าง ๆ และยืดอายุการเก็บรักษาได้

3.3.5 สารเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

สำหรับจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยสลายเซลลูโลส โดยทั่วไปสารเหนี่ยวนำ (inducer) ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ เซลลูโลส เพราะเซลลูโลสไม่ละลายน้ำ และไม่สามารถซึมผ่านเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ ส่วนสารพวกโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ที่ละลายน้ำได้ เช่น เซลโลไบโอส (cellobiose) เจนทิโอไบโอส (gentiobiose) แล็กโทส (lactose) หรือโซโฟโรส (sophorose) ถูกพิจารณาให้เป็นสารชักนำโดยตรงของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเซลโลไบโอสเป็นสารที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) หรือเอกโซ - เซลโลไบโอไฮโดรเลส (exocellobiohydrolase) จึงถูกพิจารณาให้เป็นสารชักนำตามธรรมชาติของเอนไซม์เซลลูเลส แต่อย่างไรก็ตามการกระตุ้นให้ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยเซลโลไบโอสจะน้อยกว่า

เซลลูโลส จากรายงานผลการศึกษาในระยะแรก พบว่า การผลิตเซลลูเลสของเชื้อราเพิ่มขึ้นอย่างมาก ด้วยการใช้เซลโลไบโอสออกตาอะซิเตท (cellobiose octaacetate) เป็นแหล่งคาร์บอน ถึงแม้ว่าเซลโลไบโอสออกตาอะซิเตทจะไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถซึมผ่านเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้ก็ตาม ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *T. longibrachiatum* ที่มีการทำให้กลายพันธุ์ สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ปริมาณมาก และพบว่า เซลโลไบโอสออกตาอะซิเตทสามารถถูกย่อยได้ โดยเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase) ที่เชื้อราหลั่งออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว ทำให้เซลโลไบโอสเป็นสารเหนี่ยวนำที่ต้องใส่เข้าไปในเซลล์ จึงจะเหนี่ยวนำการผลิตเซลลูเลสได้ (Kurasawa *et al.*, 1992) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสม คือ ช่วงความเป็นกรดเป็นด่างที่เหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์ได้ดี เท่ากับ 6.0 และจากรายงานการใช้ประโยชน์จากสารแลกโทสเป็นหนึ่งในสารชักนำที่มีการนำมาใช้เหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส แต่มีข้อจำกัด คือ สารแลกโทสมีราคาค่อนข้างสูง เช่น การใช้สารเซลโลไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสารแลกโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่เป็นตัวเหนี่ยวนำในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา เช่น การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *T. reesei* และ *Penicillium purpurogenum* สามารถเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณสูง (Kurasawa *et al.*, 1992; Morikawa *et al.*, 1995)

3.3.6 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เชื้อรา

อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เชื้อราอาจมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เชื้อรา ภายหลังการเก็บรักษาในช่วงเวลาหนึ่ง เพื่อคงคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสม มีปัจจัยหลายด้านที่มีบทบาทต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เชื้อรา ประกอบไปด้วยปัจจัยต่าง ๆ (ธีรจันทร์, 2560) ดังนี้

1) สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ การเลือกใช้สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่รุนแรงได้ จะทำให้อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการผลิตมีค่าสูงขึ้น

2) องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยแรกที่ควรคำนึงถึง อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์นั้นสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว และเป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น ทำให้จำนวนเซลล์เริ่มต้นในผลิตภัณฑ์มีมากเพียงพอ ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกันก็ส่งผลให้เชื้อนั้นมีการรอดชีวิตที่ต่างกัน อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกันขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ บางชนิดสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง

3) ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวเชื้อ โดยระยะที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิต ระหว่างการทำแห้งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ และจำนวนเชื้อเริ่มต้นก่อนการทำแห้ง การเจริญของเชื้อรา ลักษณะการเติบโตของเชื้อราเป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น เชื้อราที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย (filamentous fungi หรือ mold) การเจริญเติบโตจะทำให้เส้นใยมีความยาวและมีการแตกแขนง

มากขึ้น อาจวัดการเจริญจากขนาดของโคโลนี (colony) หรือน้ำหนักแห้ง (biomass) ของเส้นใย การเจริญของเชื้อราขึ้นอยู่กับสารอาหาร และปัจจัยอื่น ๆ ของสภาพแวดล้อม การเพาะเลี้ยงเชื้อราจึงสามารถทำได้โดยตัดส่วนของเส้นใยไปเพาะเลี้ยงในสารอาหารใหม่ โดยเชื้อราสามารถแบ่งเซลล์เจริญยืดยาวออกจากส่วนปลายทุกด้านของเส้นใย ในการเจริญเติบโตของเชื้อราจะแบ่งวงจรการเจริญเติบโตออกเป็นระยะต่าง ๆ โดยดูจากการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) โดยปกติแล้วแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ ระยะ lag phase เป็นระยะที่เชื้อราจะปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ จำนวนเชื้อรายังไม่เพิ่มขึ้น เพราะยังไม่แบ่งเซลล์ ระยะ log phase หรือ exponential phase เป็นช่วงที่เชื้อราเริ่มแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว และระยะ stationary phase เป็นช่วงที่การเจริญเริ่มคงที่ และระยะ death phase เป็นระยะที่เชื้อราจะตายอย่างรวดเร็ว (El-Ghany and El-Sheikh, 2016)

4) สารปกป้องเซลล์ คือ วัสดุหรือตัวกลางที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์เชื้อราไว้ เพื่อป้องกันการบาดเจ็บ หรือการทำลายจากสภาวะแวดล้อมภายนอก ซึ่งการเลือกใช้สารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมจะทำให้เชื้อรามีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้น

5) เทคนิคการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แห้ง เทคนิคทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นการทำให้แห้ง เพื่อเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพ เช่น เชื้อรา ได้เป็นเวลานาน เช่น การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง หรือเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นละออง และการทำแห้งด้วยลมร้อน ซึ่งมีข้อจำกัดในการผลิต เช่น อุณหภูมิ จะต้องเหมาะสมไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตของเชื้อรา

6) อุณหภูมิและภาวะบรรจุภัณฑ์ในระหว่างการรักษา การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยเก็บรักษาสภาพผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น และภาชนะที่ใช้ในการบรรจุมีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของผลิตภัณฑ์โดยต้องไม่มีการแพร่ผ่านของออกซิเจนและความชื้น

3.4 ความรู้ด้านสถิติเพื่อการวิจัยทางการเกษตร

สถิติวิจัย หมายถึง ศาสตร์ที่ว่าด้วยหลักการและระเบียบ วิธีการทางสถิติที่ใช้ในการเก็บรวบรวม การนำเสนอ การวิเคราะห์ และการตีความหมายของตัวเลขเหล่านั้น (จรัญ, 2534; กรมวิชาการเกษตร, 2553)

การประมาณค่าและการทดสอบ ในการวิเคราะห์ข้อมูล ปกติจะไม่วิเคราะห์ข้อมูลประชากร (population) เนื่องจากจำนวนประชากรมักจะมีจำนวนมาก สิ้นเปลืองเงินและเวลา ดังนั้นจึงมักจะวิเคราะห์ข้อมูลตัวอย่าง (sample) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของประชากรแล้วนำผลวิเคราะห์นั้นมาอ้างอิงว่าเป็นคุณสมบัติของประชากรค่าวิเคราะห์ต่าง ๆ ทางสถิติจากตัวอย่างนี้เรียกว่า ค่าสถิติ (statistic) ซึ่งโดยขบวนการทางสถิติเหมือนกัน ถ้าวิเคราะห์โดยใช้ข้อมูลของประชากรค่าวิเคราะห์เหล่านี้ เรียกว่า พารามิเตอร์ (parameter)

3.4.1 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของการทดลอง

1) ทรีทเมนต์ (treatment) คือ สิ่งหรือวิธีการที่เราปฏิบัติต่อสิ่งทดลองเพื่อวัดผลเปรียบเทียบตามวัตถุประสงค์ของการทดลอง

2) หน่วยทดลอง (experiment unit) หมายถึง หน่วยที่เล็กที่สุดของวัตถุหรือวัสดุในการทดลองที่ได้รับทรีทเมนต์อย่างเดียวกัน หน่วยการทดลองแต่ละหน่วยอาจเป็นหน่วยเดียว หรืออาจเป็นกลุ่มของวัสดุการทดลอง เช่น

หน่วยเดียว หมายถึง สิ่งหนึ่ง หรือกลุ่มหนึ่งของสิ่งทดลอง ซึ่งได้รับทรีทเมนต์เดียวกันในการกระทำครั้งใดครั้งหนึ่ง เช่น ต้นถั่วแต่ละกระถาง คือ 1 หน่วยทดลอง

หน่วย หรือกลุ่ม หมายถึง ในการทดลองเกี่ยวกับพืช หมายถึง พื้นดินแปลงเล็ก ๆ ที่มีรูปร่างสี่เหลี่ยมผืนผ้าค่อนข้างยาว เรียกว่า แปลงย่อย (plot) หนึ่งแปลงย่อยอาจทำการปลูกข้าว 4 แถว ๆ ละ 20 ต้น เพราะฉะนั้น 1 หน่วยการทดลอง มีต้นข้าวเท่ากับ 80 ต้น เป็นต้น

3) ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (experimental error) ในการทดลองเกี่ยวกับพืช ถึงแม้จะให้แต่ละหน่วยการทดลองได้รับทรีทเมนต์อย่างเดียวกัน มีการดูแลรักษาเหมือนกันหมดทุกอย่าง ซึ่งคาดหวังว่าผลลัพธ์ที่ได้ เช่น ผลผลิตควรจะมีค่าเท่ากัน แต่มักจะไม่เป็นไปตามคาดการณ์ ตัวอย่างเช่น เมื่อปลูกพันธุ์พืชชนิดเดียวกันในสิ่งแวดล้อมเหมือนกัน เช่น ปลูกถั่วเหลือง 2 แปลงอยู่ติดกัน ระยะปลูกเท่ากัน ขนาดแปลงเท่ากัน ปลูกพร้อมกัน มีการดูแลปฏิบัติเหมือนกันทุกประการ แต่ความเป็นจริงมักจะเป็นไปไม่ได้ ทั้งนี้เพราะมีปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความแตกต่างทั้งของพันธุ์พืชนั้น ๆ อิทธิพลของดิน อุณหภูมิ ความชื้น แสงสว่าง รวมทั้งสาเหตุอื่น ๆ ทำให้ผลผลิตของทั้ง 2 แปลงแตกต่างกัน

3.4.2 หลักสำคัญในการวางแผนงานทดลอง

1) การทำซ้ำ (replication) ควรทำการทดสอบทรีทเมนต์ (treatment) ใดก็ตามมากกว่า 1 ครั้ง (1 ซ้ำ) เพื่อใช้ประมาณค่าของ experimental error เพราะค่านี้คำนวณได้จากความแตกต่างที่เกิดจากผลที่ได้อย่างน้อยสองหน่วยทดลองที่มีการดูแลปฏิบัติเหมือนกันทุกประการ

2) การสุ่มเลือก (randomization) กำหนดให้ทรีทเมนต์ที่ทำการศึกษามีการสุ่มเลือกในโอกาสที่เท่า ๆ กัน รวมทั้งได้รับการปฏิบัติที่เท่า ๆ กัน เช่น ถ้าทุกแปลงมีการใส่ปุ๋ย ก็ควรได้รับการใส่ในอัตราที่เท่ากัน และในเวลาเดียวกัน เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อ

(1) การขจัดความลำเอียง (bias) ที่เกิดขึ้นโดยไม่ตั้งใจ ทั้งก่อให้เกิดความแน่ใจว่าทุกทรีทเมนต์ที่ใช้ทดสอบไม่ได้เสียเปรียบกัน

(2) เพื่อให้ค่า experimental error ที่คำนวณได้เป็นค่าประมาณที่ถูกต้อง

(3) ทำให้ผู้ทดลองสามารถสรุปผลได้ด้วยความมั่นใจว่าทรีทเมนต์ที่ทำการทดสอบนั้น มีความแตกต่างกันจริงที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ หรือ 99 เปอร์เซ็นต์

ใช้สัญลักษณ์ * แทนระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ หรือระดับความเป็นไปได้ 0.05 หมายถึง ในการทดลอง 100 ครั้ง โอกาสที่จะสรุปสมมุติฐานผิดมีเพียง 5 ครั้ง

ใช้สัญลักษณ์ ** แทนระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ หรือระดับความเป็นไปได้ 0.01 หมายถึง ในการทดลอง 100 ครั้ง โอกาสที่จะสรุปสมมุติฐานผิดมีเพียง 1 ครั้ง

3.4.3 งานวิจัยนี้ใช้แผนการทดลองปัจจัยเดียวที่เป็นรูปแบบมาตรฐาน 2 แบบ ดังนี้

1) การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD)

เป็นแผนการทดลองที่มีลักษณะง่ายและสะดวกทั้งในแง่การปฏิบัติ และการคำนวณเหมาะสำหรับหน่วยทดลองที่มีความสม่ำเสมอกันมากไม่มีความแตกต่าง เนื่องจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น อายุ น้ำหนัก สภาพแวดล้อมต่าง ๆ หรือถ้ามีก็น้อยมาก หน่วยทดลองแต่ละหน่วยมีโอกาสได้รับทรีทเมนต์เท่ากัน จึงมักใช้กับการทดลองในห้องปฏิบัติการหรือเรือนทดลอง สามารถกำหนดให้หน่วยทดลองสม่ำเสมอ ควบคุมไม่ให้เกิดความแปรปรวนในปัจจัยอื่น ๆ ได้ด้วยการสุ่มและแผนผังการทดลอง การสุ่มอาจทำได้ง่ายด้วยการจับฉลาก หรือการใช้ตารางเลขสุ่มการวิเคราะห์ผลการทดลอง

(1) การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์วาเรียนซ์ (analysis of variance) เป็นการหาความแปรปรวน ซึ่งเกิดจากแหล่งต่าง ๆ ภายในการทดลอง สำหรับ CRD มีแหล่งความแปรปรวน 2 ชนิด คือ ความแปรปรวนที่เกิดจากทรีทเมนต์ และความคลาดเคลื่อนของการทดลอง ซึ่งเรียกว่า experimental error

คำนวณ degree of freedom (df)

$$\text{total df} = t \times r - 1$$

$$\text{treatment df} = t - 1$$

$$\text{error} = (tr - 1) - (t - 1)$$

ตัวอย่าง การจัดกลุ่มตัวเลขของแต่ละทรีทเมนต์ลงในรูปตารางการทดลอง 5 ทรีทเมนต์ 4 ซ้ำ

$$(t = 5, r = 4)$$

ทรีทเมนต์/ซ้ำ	1	2	3	4	รวม	ค่าเฉลี่ย
1	X11	X12	X13	X14	T1	$\bar{T}_1$
2	X21	X22	X23	X24	T2	$\bar{T}_2$
3	X31	X32	X33	X34	T3	$\bar{T}_3$
4	X41	X42	X43	X44	T4	$\bar{T}_4$
5	X51	X52	X53	X54	T5	$\bar{T}_5$
รวม					G	$\bar{X}$

(2) คำนวณผลรวม ค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีทเมนต์ ผลรวมทั้งหมด (G) และ ค่าเฉลี่ยทั้งหมด ($\bar{X}$)

(3) คำนวณค่าความแปรปรวนที่เกิดจากแหล่งต่าง ๆ

ค่า sum of square (SS)

correction factor (CF) = G^2/rxt

total SS = $(X_{11}^2 + X_{12}^2 + \dots + X_{54}^2) - CF$

treatment SS = $(T_1^2 + T_2^2 + \dots + T_5^2 - CF)/r$

error SS = total SS - treatment SS

ค่า mean square (MS)

treatment MS = treatment SS/treatment df

error MS = error SS/error df

ค่า F - value = treatment MS/error df

(4) คำนวณค่า coefficient of variation (CV) เพื่อชี้ให้เห็นถึงระดับความน่าเชื่อถือของการทดลองนั้น ๆ

$$CV = \sqrt{\frac{\text{error MS}}{\bar{X}}} \times 100$$

(5) ค่า F ถ้าใส่เครื่องหมายต่าง ๆ

(5.1) ใส่เครื่องหมาย ** บนค่า F ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์อย่างน้อย 1 คู่ มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

(5.2) ใส่เครื่องหมาย * บนค่า F แสดงว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์อย่างน้อย 1 คู่ มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

(5.3) ใส่เครื่องหมาย ns ไว้บนค่า F แสดงว่ายังไม่มีหลักฐานเพียงพอที่จะยอมรับว่าทรีทเมนต์เหล่านั้นแตกต่างกัน

2) การทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD)

แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ โดยธรรมชาติหน่วยทดลองทั่ว ๆ ไปโดยเฉพาะในไร่ มักไม่มีความสม่ำเสมอมากนัก ถ้าทำการทดลองโดยไม่จัดการกับหน่วยทดลองให้มีความใกล้เคียงกัน หรือแตกต่างกันน้อยที่สุดแล้ว ย่อมเกิดความแปรปรวนในการทดลองมาก จนกระทั่งไม่สามารถตรวจสอบว่าทรีทเมนต์ต่าง ๆ ในการทดลองนั้นให้ผลแตกต่างกันอย่างไรหรือไม่

จึงจำเป็นต้องทำการจัดกลุ่มของหน่วยทดลองให้ภายในกลุ่มมีความแตกต่างกันน้อยที่สุด แต่แตกต่างกันมากที่สุดระหว่างกลุ่ม เรียกว่า บล็อก (block)

(1) การจัดบล็อกมีวัตถุประสงค์เพื่อลดความแปรปรวนของการทดลองให้น้อยลง มีหลักการที่ต้องพิจารณา คือ

(1.1) ต้นเหตุของความแปรปรวนในหน่วยทดลอง เช่น ความลาดเอียงของพื้นที่ หรือความอุดมสมบูรณ์ของดิน เป็นต้น

(1.2) การจัดรูปร่างและทิศทางของบล็อก โดยยกตัวอย่างเฉพาะเรื่องความอุดมสมบูรณ์ของดินเท่านั้น ซึ่งสามารถนำไปใช้กับความแปรปรวนอันเกิดจากต้นเหตุอื่น ๆ ได้ การสุ่มและแผนผังการทดลอง ทำการสุ่มแยกกันที่ละบล็อก ในแต่ละบล็อกจะต้องมีครบทุกทรีทเมนต์ เช่น

เมื่อดินมีทิศทางของความอุดมสมบูรณ์ของดินทางเดียว ทำการจัดบล็อกเป็นรูปร่างแคบและยาว ให้ด้านยาวของบล็อกตั้งฉากกับทิศทางของความอุดมสมบูรณ์ของดิน

เมื่อดินมีความอุดมสมบูรณ์ 2 ทิศทาง ทางหนึ่งมากกว่าอีกทางหนึ่งจัดบล็อกเป็นรูปร่างแคบและยาว ให้ด้านยาวของบล็อกตั้งฉากกับทิศทางที่มีความอุดมสมบูรณ์มากกว่า

เมื่อดินมีความอุดมสมบูรณ์แตกต่างกันเป็น 2 ทิศทางตั้งฉากกัน ใช้วิธีจัดบล็อกให้เป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัส

เมื่อไม่รู้ทิศทางอุดมสมบูรณ์ของดิน ควรจัดบล็อกให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสมากที่สุด

(2) การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ผลในแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จะมีความแปรปรวนจาก 3 แหล่ง คือ ความแปรปรวนที่เกิดจากบล็อก ทรีทเมนต์ และความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากการปฏิบัติ

ตัวอย่างการทดลอง 5 ทรีทเมนต์ A B C D E ทำ 4 บล็อก (ซ้ำ) ($t = 5, r = 4$) การกรอกตัวเลขลงในตาราง

ทรีทเมนต์/ซ้ำ	1	2	3	4	รวม	ค่าเฉลี่ย
1 = A	X11	X12	X13	X14	T1	$\bar{X}_1$
2 = B	X21	X22	X23	X24	T2	$\bar{X}_2$
3 = C	X31	X32	X33	X34	T3	$\bar{X}_3$
4 = D	X41	X42	X43	X44	T4	$\bar{X}_4$
5 = E	X51	X52	X53	X54	T5	$\bar{X}_5$
รวม	R_1	R_2	R_3	R_4	G	$\bar{X}$

(3) คำนวณผลรวม ค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีทเมนต์ ผลรวมของซ้ำ ผลรวมทั้งหมด และค่าเฉลี่ย

(4) คำนวณ degree of freedom (df)

$$\text{total df} = t \times r - 1$$

$$\text{replication df} = r - 1$$

$$\text{treatment df} = t - 1$$

$$\text{error df} = (t - 1)(r - 1)$$

(5) คำนวณค่าความแปรปรวนที่เกิดจากแหล่งต่าง ๆ

ค่า sum of square (SS)

$$\text{correction factor (CF)} = G^2/txr$$

$$\text{total SS} = (X_{11}^2 + X_{21}^2 + \dots + X_{54}^2) - CF$$

$$\text{replication SS} = (R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_4^2) - CF$$

$$\text{treatment SS} = (T_1^2 + T_2^2 + \dots + T_5^2)/r - CF$$

$$\text{error SS} = \text{total SS} - \text{replication SS} - \text{treatment SS}$$

ค่า mean square (MS)

$$\text{replication MS} = \text{replication SS}/r - 1$$

$$\text{treatment MS} = \text{treatment SS}/t - 1$$

$$\text{error MS} = \text{error SS}/(t - 1)(r - 1)$$

ค่า F - Value

$$F = \text{treatment MS}/\text{error MS}$$

3.5 ความเชี่ยวชาญและประสบการณ์ที่ใช้ในการปฏิบัติงาน

การดำเนินการวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ใช้ความเชี่ยวชาญและประสบการณ์จากการจัดทำคู่มือด้านการบำรุงดินด้วยอินทรีย์วัตถุ และด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ และผลิตภัณฑ์อินทรีย์สารของหน่วยงานกรมพัฒนาที่ดิน สำหรับเป็นเอกสารเผยแพร่และอ้างอิงให้กับนักวิชาการและเกษตรกรนำไปใช้ประโยชน์ (แสดงเอกสารเผยแพร่ที่ภาคผนวก ค ข้อ 3. - 14.) ดังนี้

3.5.1 คู่มือ สารเร่งจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตทางการเกษตร ปี 2550 สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.2 คู่มือ มหัศจรรย์สารเร่ง พด. 7 สำหรับผลิตสารป้องกันแมลงศัตรูพืช ปี 2550 สัดส่วนร้อยละ 15

3.5.3 คู่มือ การจัดการอินทรีย์วัตถุ เพื่อปรับปรุงบำรุงดินและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินปี 2551 สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.4 คู่มือ จุลินทรีย์สำหรับพืชปรับปรุงบำรุงดิน พด. 11 ปุ๋ยชีวภาพ พด. 12 ปี 2551 สัดส่วนร้อยละ 15

3.5.5 คู่มือ ผลิตภัณฑ์เทคโนโลยีชีวภาพ กรมพัฒนาที่ดิน เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.6 คู่มือ การจัดการอินทรีย์วัตถุ เพื่อปรับปรุงบำรุงดิน และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ปี 2558 สัดส่วนร้อยละ 15

3.5.7 คู่มือ แนะนำการจัดการขยะ เพื่อส่งเสริมการใช้สารอินทรีย์ลดการใช้สารเคมี ปี 2561 สัดส่วนร้อยละ 15

3.5.8 คู่มือ การใช้ผลิตภัณฑ์เทคโนโลยีชีวภาพ กรมพัฒนาที่ดิน เพื่อส่งเสริมการใช้สารอินทรีย์ลดการใช้สารเคมี ปี 2562 สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.9 คู่มือ การผลิตและการใช้สารบำบัดน้ำเสียจัดกลิ่นเหม็น ชูปเปอร์ พด. 6 ปี 2566 สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.10 คู่มือ Soil Biotechnology for Increasing crop Production in Thailand สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.11 คู่มือ Soil Biotechnology in Thailand ปี 2559 สัดส่วนร้อยละ 10

3.5.12 คู่มือ Organic Matter and Soil Biotechnology Management in Thailand ปี 2559 สัดส่วนร้อยละ 10

4. สรุปสาระสำคัญ ขั้นตอนการดำเนินการ และเป้าหมายของงาน

4.1 บทคัดย่อ และคำสำคัญ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง แบบผงละลายน้ำ และผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต ผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน และแปลงทดลอง จังหวัดกาญจนบุรี ดำเนินการในชุดดินนครปฐม ปลุกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์แปซิฟิก 789 ระหว่างตุลาคม พ.ศ. 2564 - มีนาคม พ.ศ. 2566 โดยศึกษาชนิดของวัสดุซับสเตรตเลี้ยงเชื้อรา *Corynascus verrucosus* 23 ด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแห้ง การผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ ศึกษาอัตราและวิธีการใช้ในสภาพโรงเรือนกระจก และแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) 5 ดำรับการทดลอง 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ดำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม ดำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ดำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ดำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และดำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ พบว่า วิธีการที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *C. verrucosus* 23 เพิ่มปริมาณเชื้อในข้าวเสาไห้ เต็มสารชักนำการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยสารเซลโลไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแกล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร อัตราส่วน 1 : 1 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน และใช้สารมอลโตเดกซ์ทริน 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นสารป้องกันเซลล์ผลิตเป็นผงแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ มีปริมาณเชื้อรา $15.53 \log \text{CFU}$ ต่อกรัม และค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.264 หน่วยต่อมิลลิลิตร เก็บรักษาได้นาน 9 เดือน และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.259 หน่วยต่อมิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาได้นาน 7 เดือน การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน และการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน ในการทดลองโรงเรือนกระจก และการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้การย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงที่ 10 วัน มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช 66.76 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มการสะสมอินทรีย์วัตถุในดินเพิ่มขึ้นคิดเป็น 16.00 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มขึ้นคิดเป็น 39.36 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดิน เพิ่มขึ้นคิดเป็น 83.75

เปอร์เซ็นต์ มีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตสูงสุด 1,286 กิโลกรัมต่อไร่ เพิ่มขึ้นคิดเป็น 13.12 เปอร์เซ็นต์ และรายได้สุทธิเฉลี่ยสูงสุด 7,671.20 บาทต่อไร่ เพิ่มขึ้นคิดเป็น 21.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ เอนไซม์เซลลูเลส ย่อยสลาย ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

4.2 Abstract and Keywords

The purposes of this research were to study the technology for producing a wettable powder to accelerate maize stubble degradation and to examine the effects of applying this bio - product on maize stubble degradation, soil fertility, plant growth, yield, and economic return. The experiments were conducted in the laboratory of the Soil Biotechnology Division, LDD, and in a field in Kanchanaburi Province. The field experiment was carried out on the Nakhon Pathom soil series using the commercial maize variety (Pacific 789) between October 2021 to March 2023. First, the appropriate substrate for *Corynascus verrucosus* 23 was identified using solid - state fermentation. Next, the production and storage of the wettable powder were studied. The field experiment was conducted using a randomized complete block design (RCBD) with five treatments and four replications. Treatment 1 was the control. Treatment 2 involved a liquid bio - extract applied at a rate of 5 liters per 50 liters of water per rai. Treatment 3 consisted of a bio - product (*C. verrucosus* 23 mixed with crude cellulase enzyme) applied at a rate of 100 grams per 50 liters of water per rai. Treatment 4 used a bio - product (only crude cellulase enzyme) applied at a rate of 100 grams per 50 liters of water per rai. Treatment 5 involved the Super LDD1 (microbial product) at a rate of 100 grams per 50 liters of water per rai. The results showed that the best medium for *C. verrucosus* 23 was the medium using the rice variety 'Saohai', with the addition of 100 milligrams per liter of cellobiose (as an inducer) and 10 % (w/v) lactose in a 1 : 1 ratio. It was incubated at 45 degrees Celsius for seven days. A 10 % (w/v) maltodextrin solution was used as a carrier and cryoprotectant in the formulation of the wettable powder product via freeze - drying. This wettable powder product contains a fungal count of 15.53 log CFU per gram, with cellulase enzyme activity of 0.264 units per milliliter, and can be stored for nine months. In contrast, the other bio - product (which contains only crude cellulase enzyme) can be stored for seven months, with cellulase enzyme activity of 0.259 units per milliliter. The use of the bio - product (*C. verrucosus* 23 and crude cellulase enzyme) at a rate of 100 grams per 50 liters of water per rai resulted in the highest cellulase activity on day 10 of the degradation period. In contrast, the bio - product using only crude cellulase enzyme at the same rate exhibited the highest cellulase activity on day 20 of the degradation period in the

greenhouse experiment. Furthermore, in the field experiment, the bio - products (*C. verrucosus* 23 and crude cellulase enzyme) and the bio - products (only crude cellulase enzyme) applied at a rate of 100 grams per 50 liters of water per rai accelerated the degradation of maize stubble, which average remained at 66.76 % of its dry weight remaining after 10 days. This treatment also increased organic matter by 16.00 %. The available phosphorus and potassium increased by 39.36 % and 83.75 %, respectively, positively affecting maize growth and resulting in the highest yield of 1,286 kg per rai. The yield and economic return increased by 13.12 % and 21.12 %, respectively, compared to the control.

Key words: bio - product, cellulase, degradation, maize stubble

4.3 หลักการและเหตุผล

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในปี 2564 มีเนื้อที่เพาะปลูกมากถึง 7.03 ล้านไร่ ผลผลิต 4.81 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) ทั้งภาครัฐและเอกชนส่งเสริมให้เกษตรกรขยายพื้นที่เพาะปลูก เพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการของตลาด เมื่อเก็บเกี่ยวส่วนฝักไปใช้ประโยชน์ ส่วนที่เหลือต่อซังข้าวโพดเป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมีจำนวนมากที่เหลือทิ้งในไร่นา คิดเป็นมวลชีวภาพของเศษวัสดุต้น ตอ และใบ มากถึง 5.99 ล้านตัน เศษซากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีปริมาณเยื่อใยสูง 79 - 89 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน 0.53 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม 2.21 เปอร์เซ็นต์ และเซลลูโลส 45 เปอร์เซ็นต์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) เมื่อประเมินจากมวลชีวภาพของต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เฉลี่ย 852 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นไนโตรเจน 4.52 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.28 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 18.83 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งกระบวนการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตามธรรมชาติต้องมีความชื้นเพียงพอ และอาจใช้เวลามากกว่า 60 วัน ปัจจุบันมีการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากต่อซังข้าวโพดผลิตปุ๋ยหมัก เพื่อปรับปรุงบำรุงดิน แต่ยังมีเศษพืชเหลือทิ้งในแปลงอีกมาก หากเกษตรกรจัดการด้วยการเผาทิ้ง ทำให้ดินมีอุณหภูมิสูงถึง 90 องศาเซลเซียส ส่งผลกระทบต่อสมบัติดิน เกิดการสูญเสียธาตุอาหารพืช การกักเก็บอินทรีย์คาร์บอน และอินทรีย์วัตถุจากดิน รวมถึงเกิดการสูญเสียสิ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ในดิน และก่อให้เกิดปัญหาดินเสื่อมโทรม อีกทั้งเกิดก๊าซพิษส่งผลกระทบต่อคุณภาพสิ่งแวดล้อม เช่น การเผาส่วนของเปลือกข้าวโพด และซังข้าวโพดจะปล่อยก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) 68.63 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO₂) 3.57 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO₂) 0.46 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) 1,917.69 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ทำให้เกิดฝุ่น 23.38 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ขณะที่การเผาส่วนของต้น ใบ และต่อซังข้าวโพด จะปล่อยก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ 63.74 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ไนโตรเจนไดออกไซด์ 2.31 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 0.54 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง และคาร์บอนไดออกไซด์ 1,147.43 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง ทำให้เกิดฝุ่น 3.39 กรัมต่อกิโลกรัมชีวมวลแห้ง (วีรชัย และคณะ, 2555) ทั้งการเกิดฝุ่นละอองขนาดเล็ก PM2.5 และ PM10 เป็นสาเหตุหลักของปัญหาวิกฤติทางอากาศของประเทศ

จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ต่าง ๆ ในขั้นตอนการแปรสภาพสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของวัสดุอินทรีย์ที่มาจากพืช โครงสร้างของเซลลูโลสเป็นสารคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายโมเลกุล และไม่ละลายน้ำ จุลินทรีย์ในกลุ่มของรามิบบาทาสำคัญในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ มีปริมาณสูงอยู่ในระดับที่เพียงพอ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมีต่อการแปรสภาพสารอินทรีย์ให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ เช่น การใช้เชื้อรา

Corynascus sp. เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จากรายงานของ Soni *et al.* (2008) พบว่า เชื้อรา *Corynascus* sp. สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงถึง 51.20 ยูนิตต่อมิลลิเมตร มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้ง และเป็นเชื้อราทนต่ออุณหภูมิสูงในกระบวนการหมักได้เป็นอย่างดี ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงในช่วงค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 4 - 6 (Busk and Lange, 2013) มีการนำมาใช้ประโยชน์พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส เชิงการค้าในต่างประเทศ (Brink *et al.*, 2012) ซึ่งในประเทศไทยหน่วยงานกรมพัฒนาที่ดินมีการใช้ประโยชน์เชื้อรา *C. verrucosus* 23 มีประสิทธิภาพผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ สายพันธุ์หนึ่งในสารเร่งซูเปอร์ พด. 1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเศษพืชผลิตเป็นปุ๋ยหมัก ช่วยลดระยะเวลาการหมักเศษพืชได้เร็วขึ้น ดังนั้นการนำเชื้อรา *C. verrucosus* 23 มาต่อยอดในการผลิต เอนไซม์เซลลูเลส พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในการย่อยสลายเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในพื้นที่ เพาะปลูกได้เร็วขึ้น เพื่อการหมุนเวียนเศษพืชกลับมาเป็นธาตุอาหาร และอินทรีย์วัตถุลงสู่ดิน

ดังนั้นการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์ เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ เพื่อเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ การศึกษาการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็งที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเพิ่มปริมาณ เชื้อรา *C. verrucosus* 23 ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส วิธีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ และศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สมบัติดิน การเจริญเติบโต ผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ จะเป็นต้นแบบเทคโนโลยี การจัดการวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ง่าย ต้นทุนต่ำ เกษตรกรปฏิบัติตามได้ และสร้างแรงจูงใจให้ เกษตรกรใช้ประโยชน์เทคโนโลยีชีวภาพย่อยสลายเศษวัสดุการเกษตรในพื้นที่เพาะปลูก เพื่อปรับปรุง บำรุงดิน เพิ่มอินทรีย์วัตถุ ธาตุอาหารพืช และความอุดมสมบูรณ์ของดินสำหรับการผลิตพืช ลดต้นทุน และเพิ่มรายได้ จะเป็นการพัฒนาที่ดินในพื้นที่เกษตรกรรมอย่างยั่งยืน

4.4 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

4.4.1 เพื่อศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง แบบผงละลายน้ำ

4.4.2 เพื่อศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก

4.4.3 เพื่อศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต ผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูก ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สภาพแปลงทดลอง

4.5 การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

4.5.1 เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)

เอนไซม์เป็นชีวโมเลกุลที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในระบบชีวภาพ สามารถเปลี่ยนแปลงซับสเตรตให้เป็นผลิตภัณฑ์ โดยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติ คือ เอนไซม์เซลลูเลส จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ ถือเป็นผู้อย่อยสลายอินทรียสาร (Georgieva *et al.*, 2005) ดังนี้

1) องค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลส

ลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ผสม (multicomponent enzyme) ประกอบด้วย เอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด ทำงานร่วมกัน ดังนี้ (เปี่ยมสุข, 2551)

(1) เอนไซม์ C_1 หรือ ไฮโดรเจนบอนเดส (hydrogen bondase) ทำหน้าที่กระตุ้น หรือย่อยเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติให้เป็นสายโพลีแซคคาไรด์สั้น ๆ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง และมีสภาพที่เหมาะสม สำหรับเป็นซับสเตรตของเอนไซม์เซลลูเลสอันดับต่อไป คือ เบต้า - 1, 4 - กลูคาเนส (β - 1, 4 - glucanase)

(2) เอนไซม์ C_x หรือ เบต้า - 1, 4 - กลูคาเนส (β - 1, 4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโพลีแซคคาไรด์สายสั้น ๆ จนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ๆ จะสามารถย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose) แต่ไม่สามารถย่อยสลายซับสเตรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ โดยเอนไซม์กลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ เอนโดเบต้า - 1, 4 - กลูคาเนส (endo - β - 1, 4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลสทั้งที่มีโครงสร้างการจัดเรียงตัวแบบไม่เป็นระเบียบ (amorphous) และแบบเป็นระเบียบ (crystalline) ซึ่งจะทำลายพันธะที่ตำแหน่ง β - 1, 4 - glucanase linkage บริเวณที่เป็นการจัดเรียงตัวแบบไม่เป็นระเบียบ หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และเซลโลไบโอสสายสั้น ๆ แบบสุ่ม ทำให้ได้กลูโคส และโอลิโกเมอร์ชนิดเซลโลไบโอสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก และกลุ่มที่ 2 เอกโซเบต้ากลูคาเนส (exo - β - 1, 4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารโพลิเมอร์จากปลายด้านที่เป็นนอนรีดิวซ์ (non - reducing) และรีดิวซ์ (reducing end) ที่ละโมเลกุลอย่างจำเพาะกับโครงสร้างในลักษณะคริสตัลลีนเซลลูโลส (crystalline cellulose) และมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายนอก ทำให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอส และกลูโคส

(3) เอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β - glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก C_x ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอส และเซลโลเฮกโซส (cellohexose) คือ กลูโคสจาก 2 - 6 ยูนิต ได้เป็นกลูโคส สามารถย่อยสลายกรดเซลลูโบโอนิก (cellubionic acid) ให้เป็นกลูโคนแลกโตน (gluconolactone) และกลูโคส

เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการทำงานร่วมกับเอนไซม์เอนโด และเอกโซเบต้า - 1, 4 - กลูคาเนส ที่จะย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส

2) คุณสมบัติทั่วไปของเอนไซม์เซลลูเลส (สุภาวดี, 2543)

(1) เอนไซม์ Cx มีมวลโมเลกุล 42,000 เอนไซม์เอนโดเบต้ากลูคาเนส มีมวลโมเลกุล 23,000 - 58,000 เอนไซม์เอกโซเบต้ากลูคาเนส มีมวลโมเลกุล 60,000 - 62,000 และเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส มีมวลโมเลกุล 76,000

(2) เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50 องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนความร้อนบางชนิด มีความคงทนต่อความเป็นกรดเป็นด่างในช่วงระหว่าง 4.0 - 9.0 แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ และความคงทนต่อสารเคมีละลายน้ำได้ แต่ถูกยับยั้งด้วยไอออนของโลหะหนัก ตัวออกซิไดซ์และตัวรีดิวซ์ (oxidizing reducing agents) และได้ผลผลิตตัวเอง คือ กลูโคส

(3) สามารถวัดกิจกรรมการทำงานจากการวัดหมู่รีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้ซับสเตรตที่ละลายน้ำได้ดี คือ ซับสเตรตสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

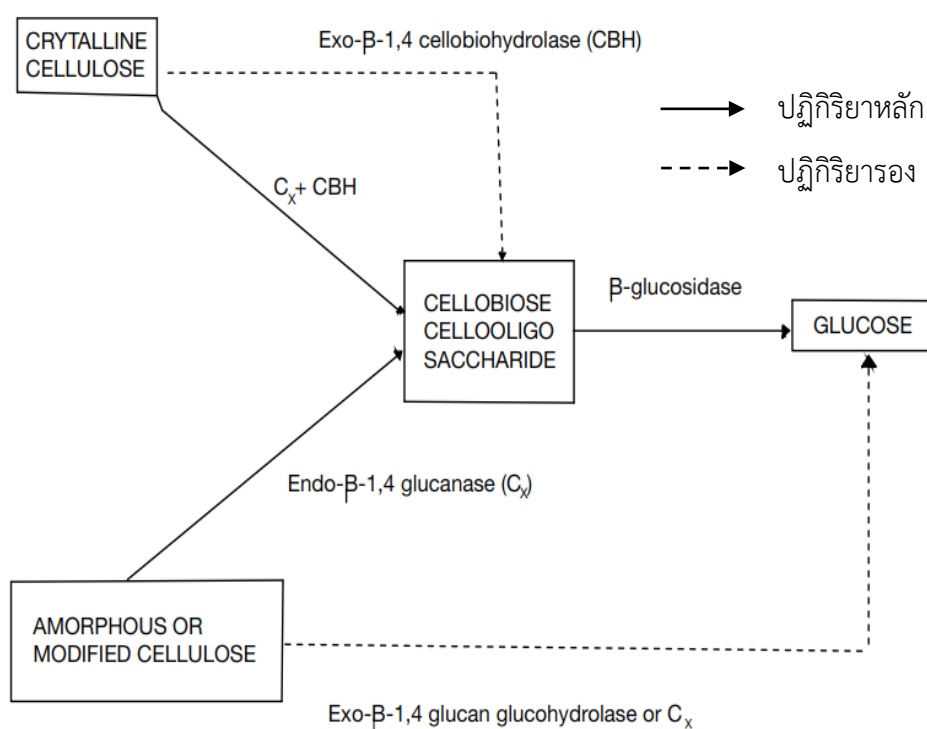
(4) เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเจริญได้ดีที่ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 3.5 - 8.0 และที่อุณหภูมิ อยู่ในช่วง 30 - 80 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ยังขึ้นกับปัจจัยอื่น ๆ ที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด

(5) สามารถเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นานหลายปี หรือเก็บโดยวิธี freeze dry หรือตากตะกอนด้วยอะซิโตน หรือเอทานอล โดยไม่สูญเสียคุณสมบัติ

3) การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

เซลลูโลสมีโมเลกุลที่เรียงต่อกันเป็นมัด ๆ เรียกว่า ไฟบริล (fibril) เกิดจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคสที่อยู่ใกล้กันในแต่ละสาย ซึ่งแต่ละไฟบริลยึดต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน การยึดกันของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสจะแข็งแรง และทนทานต่อสารเคมี ทำให้การสลายตัวของเซลลูโลสที่มีอยู่ในผนังเนื้อเยื่อเกิดขึ้นได้ยาก ซึ่งจะพบมากที่สุดที่ผนังเซลล์ชั้นที่สอง นอกจากนี้เป็นตัวสร้างพันธะระหว่างเส้นใย ซึ่งเซลลูโลสมีหมู่ไฮดรอกซิลถึง 3 หมู่ ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนซึ่งมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมาก จึงทำให้เซลลูโลสมีลักษณะเป็นผลึกสูง มีอุณหภูมิในการหลอมละลายสูง และมีความสามารถในการละลายที่ต่ำ เซลลูโลสมีการจัดเรียงตัวอยู่ 2 แบบ คือ อยู่รวมตัวกันเป็นกระจุก (crystalloids) ทำให้โครงสร้างอัดกันแน่นเรียงตัวเป็นชั้น (parallel) การย่อยสลายจึงเกิดได้ค่อนข้างยาก และเป็นโครงสร้างอยู่รวมกันหลวม ๆ ทำให้เกิดการย่อยสลายได้ง่าย การย่อยสลายเส้นใยเซลลูโลสสามารถใช้วิธีทางเคมีโดยการใส่กรดในการตัดพันธะ หรือการใช้ตัวเร่งทางชีวภาพอย่างเซลลูเลสในการตัดพันธะได้ (Food network solution, 2015) โดยการทำงาน

ของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส ประกอบด้วยเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยสลายภายนอกเซลล์ คือ เอกโซกลูคาเนส (exoglucanases หรือ cellobiohydrolases, $\text{exo-1,4-}\beta\text{-glucanases}$) จะทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสจากทางด้านปลายทั้งสองข้างให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเซลโลไบโอส (cellobiose) และเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยสลายภายในเซลล์ คือ เอนโดกลูคาเนส (endoglucanases หรือ $\text{endo-1,4-}\beta\text{-glucanases}$) เอนไซม์จะทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิก ซึ่งอยู่ภายในเซลลูโลส ส่วนเอนไซม์เซลโลไบเอส (cellobiases) หรือ $\beta\text{-glucosidases}$ จะทำหน้าที่ย่อยสลายสายสั้น ๆ ของเซลโลไบโอส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายของเซลลูโลส (พิจิตร และคณะ, 2548) จากภาพที่ 8 แสดงกลไกของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายโมเลกุลเซลลูโลสทั้งในรูปที่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบและเป็นระเบียบให้เป็นน้ำตาลกลูโคส



ภาพที่ 8 การทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Fan and Lee (1983)

4) สภาพที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

กระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส มีปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ อุณหภูมิต่อการทำงาน ความเสถียรของเอนไซม์เซลลูเลส ความเป็นกรดเป็นด่างต่อการทำงานของเอนไซม์ และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลส ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาและการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลส ดังนี้

(1) ความชื้น เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดการเจริญบนพื้นผิววัสดุหมัก เป็นตัวกลางในการส่งผ่านอาหารและออกซิเจน แต่ละชนิดมีความต้องการความชื้นแตกต่างกัน เช่น เชื้อราไม่ชอบเจริญในที่ที่มีความชื้นมากเกินไปหรือเปียกแฉะ ซึ่งการเจริญของเชื้อราต้องการความชื้นบ้าง เนื่องจากมีความสำคัญต่อการถ่ายโอนก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และการถ่ายเทความร้อน จะมีผลต่อกระบวนการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา ซึ่งเชื้อราส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีที่ความชื้นของวัสดุหมักอยู่ในช่วง 40 ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ (ธัญรัตน์ และคณะ, 2551) ในขณะที่แบคทีเรียหรือยีสต์มักเจริญในอาหารที่มีลักษณะเปียกแฉะและมีน้ำอยู่มาก เป็นต้น (สุภัตรา, 2556)

(2) อุณหภูมิ เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา และมีผลต่อกระบวนการสร้างเอนไซม์ที่เกิดขึ้น ซึ่งอุณหภูมิจะมีผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีของเซลล์ และผลต่อการทำงานของเอนไซม์ พบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพการทำงานดีขึ้น โดยเชื้อราจะมีช่วงอุณหภูมิในการเจริญที่กว้าง อุณหภูมิการทำงานของเอนไซม์สูงสุด จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด (optimum temperature) เช่น เอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อรา *Aspergillus niger* อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด อยู่ในช่วง 50 - 60 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าจุดนี้ จะมีผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะช้าลง เพราะเอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (denaturation) หรืออยู่ในสถานะที่ไม่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา โดยเอนไซม์เซลลูเลสจะเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส (มยุรา และคณะ, 2555) สาเหตุที่ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากความร้อนมีผลให้โครงสร้างของกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงและเสียสภาพไป เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ มีประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง เช่น เอนไซม์จากเชื้อรา *Humicola grisea* อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์มีค่าที่ 50 องศาเซลเซียส และเอนไซม์จากเชื้อรา *Talaromyces* sp. เป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูงจะมีค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ 80 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์จากเชื้อรา *T. viride* ค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ 45 องศาเซลเซียส (Nishio *et al.*, 1981)

(3) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น ความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการผลิต

เอนไซม์เซลลูเลส ของเชื้อรา *A. fumigatus* IMI 249651 จะสูงสุด เมื่อความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 6.0 นอกจากนี้พบว่า เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Aspergillus* มีความเสถียรต่อความเป็นกรดเป็นด่าง ในช่วง 4.0 - 5.5 ขณะที่ในช่วง 3.0 - 3.5 และ 6.0 - 6.5 มีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง (Stewart and Parry, 1981)

(4) แหล่งคาร์บอน คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์และพลังงาน จุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศ จะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณ 50 - 55 เปอร์เซ็นต์ในการสังเคราะห์เซลล์จุลินทรีย์ และแหล่งคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอน โดยแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่มีปริมาณมาก สามารถนำมาผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสามารถใช้เซลลูโลสจากแหล่งคาร์บอนจากธรรมชาติ เช่น ขุยมะพร้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด ชี้อ้อย และข้าวสาลี เป็นต้น (สมใจ, 2537)

(5) แหล่งไนโตรเจน เซลล์จุลินทรีย์มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบประมาณ 8 - 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ความต้องการไนโตรเจนของจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกันไป จุลินทรีย์บางชนิด สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจน แต่จุลินทรีย์บางชนิดต้องการไนโตรเจนจากสารอินทรีย์ ซึ่งแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่นิยมใช้ในการหมัก ได้แก่ แอมโมเนีย แอมโมเนียม และไนเตรท เป็นต้น แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนอาจใช้ในรูปกรดอะมิโน โปรตีน หรือยูเรีย โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์จะเจริญในอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจนได้เร็วกว่าอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจน (สมใจ, 2537)

(6) ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายเซลลูโลส ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และประสิทธิภาพเอนไซม์ที่มีความสามารถย่อยสลายเซลลูโลสจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาจากเชื้อแต่ละชนิด เช่น เชื้อรา *Aspergillus* จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดภายในระยะเวลา 8 - 10 วัน และเชื้อรา *P. oxalicum* จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดภายในระยะเวลา 7 - 10 วัน เป็นต้น (พัชรภรณ์ และ วลัยพร, 2562)

5) การวัดกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส มีข้อบ่งชี้หลายชนิดที่สามารถนำมาใช้วัดกิจกรรมของเอนไซม์ได้ โดยมีวิธีการแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับลักษณะความเหมาะสมของเอนไซม์ แสดงตัวอย่างข้อบ่งชี้ และเกณฑ์ในการตัดสินใจวิธีการวัดกิจกรรม แบ่งเป็น 2 วิธีตามลักษณะเอนไซม์ (Norkrans, 1967) ได้แก่

(1) วิธีการตรวจวัดความสามารถของเอนไซม์ในขั้นเริ่มแรก

เป็นการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ด้วยวิธีการทดสอบในอาหารเพาะเลี้ยง (culture filtrate) (Garg and Neelakantan, 1982) ทั้งนี้เพื่อทราบปริมาณของเอนไซม์ทั้งหมดก่อนที่จะนำไปศึกษาค้นคว้าต่อไป ประกอบด้วย 2 หลักการ คือ

(1.1) การสลายให้ได้น้ำตาล (saccharolytic method)

วัดปริมาณกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสในอาหารเพาะเลี้ยง ด้วยวิธีการวัดน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสที่เกิดขึ้นโดยใช้ dinitrosalicylic acid reagent (DNS reagent) เป็นสารทดสอบ (Miller, 1959) ซับสเตอร์ที่ใช้ได้สะดวกและให้ผลดี ได้แก่

วิธี filter paper assay เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก สามารถเตรียมได้ง่าย วิธีการ คือ ใช้กระดาษกรองขนาด 1 x 6 เซนติเมตร ในปริมาณ 50 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีส่วนผสมของเอนไซม์และบัฟเฟอร์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เติม DNS reagent 3 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร เพื่อหาปริมาณของ reducing sugar

วิธี cotton assay คล้ายกับ filter paper assay แต่ใช้เส้นใยของฝ้าย 50 มิลลิกรัม เป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์และบัฟเฟอร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติม DNS reagent และหาปริมาณของ reducing sugar

วิธี CMC assay เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการวัดการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส เนื่องจากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC) เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ดี จึงสะดวกต่อการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ในการวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์จะบ่ม 1 เปอร์เซ็นต์ CMC ใน 0.05 โมล citrate buffer pH 4.8 กับเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม DNS reagent เพื่อหาปริมาณของ reducing sugar

วิธี amorphous cellulose assay วิธีนี้จะวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์โดยบ่ม 1 เปอร์เซ็นต์ w/v cellulose ใน 0.05 โมล citrate buffer มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 4.8 กับเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง เพื่อนำส่วนใส (supernatant) ไปหาปริมาณ reducing sugar โดยการทำปฏิกิริยากับ DNS reagent

(1.2) การตรวจสอบโครงสร้างของเซลลูโลสที่เปลี่ยนแปลงภายหลังเกิดการย่อยสลาย เป็นการวัดกิจกรรมเอนไซม์ที่ให้ผลเชื่อถือมากที่สุด ได้แก่ การวัดเปรียบเทียบความเหนียวของเส้นใยฝ้ายก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในเวลาที่กำหนด แต่เป็นวิธีการที่ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีความละเอียดสูง วิธีการอื่นที่สามารถนำมาใช้ในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ได้ เช่น การหาน้ำหนักของซับสเตอร์ที่หายไป และการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้าง

(2) การวัดกิจกรรมของเอนไซม์บริสุทธิ์แต่ละองค์ประกอบ การวัดกิจกรรมของแต่ละองค์ประกอบ จึงต้องเลือกซับสเตอร์และเกณฑ์ในการตัดสินให้เหมาะสม ดังนี้

(2.1) เอนโดกลูคาเนส ซับสเตอร์ที่นิยมใช้มากที่สุด คือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC)

(2.2) เอกโซกลูคาเนส ยังไม่มีข้อบ่งชี้ที่เหมาะสมที่สุดในการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ส่วนนี้ แต่ที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ อะวิเซล (avicel) เป็นผงเซลลูโลสที่ผ่านการแช่กรดฟอสฟอริก

(2.3) เบต้ากลูโคซิเดส ข้อบ่งชี้ที่ใช้ คือ สาร o - nitrophenyl - B - D - gluco - pyranoside

(3) หน่วยวัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส คือ หน่วยของกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส 1 หน่วย (Unit) หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่ย่อยข้อบ่งชี้แล้วให้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ภายใน 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทำการทดสอบ (Miller, 1959)

กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสประกอบไปด้วยเอนไซม์หลายชนิดที่ทำหน้าที่ร่วมกันในการสลายเซลลูโลส สามารถจำแนกคุณสมบัติตามกิจกรรมของเอนไซม์ได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส (endoglucanases หรือ CMCase) เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส (exoglucanases หรือ cellobiohydrolases หรือ FPase) และเบต้ากลูโคซิเดส ของจุลินทรีย์หลายชนิดทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยซิส สามารถผลิตเอนไซม์แต่ละชนิด ซึ่งความแตกต่างของการวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสระหว่าง CMCase และ FPase คือ การวัดกิจกรรมเอนไซม์ CMCase ซึ่งเป็นการวัดกิจกรรมเอนโดกลูคาเนสจะให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงในช่วงแรก โดยจะย่อยโมเลกุลเซลลูโลสที่ไม่เป็นระเบียบ หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ขณะที่เอนไซม์ FPase ซึ่งเป็นเอกโซกลูคาเนส ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลลูโลสจากปลายด้านที่ไม่มีน้ำตาลรีดิวซ์ จะผลิตออกมามากที่สุดในช่วงที่กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ลดลง เช่น จากการเปรียบเทียบกิจกรรมเอนไซม์ CMCase และ FPase จากเชื้อรา *Penicillium* sp. พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase สูงที่สุด เท่ากับ 0.67 หน่วยต่อมิลลิกรัม เมื่อเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 4 วัน การผลิตเอนไซม์ CMCase ซึ่งเป็นเอนโดกลูคาเนสจะให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงในช่วงแรก โดยจะย่อยโมเลกุลเซลลูโลสที่ไม่เป็นระเบียบ หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น CMC หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและสูงที่สุด เท่ากับ 0.58 หน่วยต่อมิลลิกรัม เมื่อเลี้ยงเชื้อราเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลง (พัชรภรณ์ และ วลัยพร, 2562) เช่น เชื้อรา *Chaetomium globosum* ให้กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase และ FPase เท่ากับ 30.80 หน่วยต่อมิลลิกรัม และ 1.40 หน่วยต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ (Umikalsom *et al.*, 1997) และ *T. viride* ให้กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase และ FPase สูงที่สุดในวันที่ 7 เท่ากับ 16.46 หน่วยต่อมิลลิกรัม และ 2.19 หน่วยต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ (Jiang *et al.*, 2011) โดยเอนไซม์จะเสื่อมประสิทธิภาพเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพโครงสร้าง มักเกิดจากอิทธิพลภายนอก เช่น ความร้อน การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และปฏิกิริยาเคมี ซึ่งความเครียดเหล่านี้สามารถหลีกเลี่ยงได้หากโปรตีนเปลี่ยนรูปเป็นของแข็ง เมื่อมีสารทำให้เสถียรจะป้องกันไม่ให้

โปรตีนเปลี่ยนสภาพ และช่วยรักษาโปรตีนไว้คงสภาพไม่ให้เอนไซม์เสื่อมสภาพ (พัชรภรณ์ และ วลัยพร, 2562)

4.5.2 จุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูเลส

1) ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีกหลากหลายชนิด สามารถใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนจากธรรมชาติ เช่น ขุยมะพร้าว ชานอ้อย ชังข้าวโพด ชี้เลื้อย ข้าวสาลี และข้าวโอ๊ต เป็นต้น ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่มีหลายชนิด มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่แตกต่างกัน ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในกลุ่มเชื้อรา ยกตัวอย่างเช่น *Alternaria* sp. *Aspergillus* sp. *Chaetomium* sp. *Coprinus* sp. และ *Corynascus* sp. เป็นต้น กลุ่มเชื้อแบคทีเรีย ยกตัวอย่างเช่น *Bacillus* sp. *Cellulomonas* sp. *Clostridium* sp. *Corynebacterium* sp. และ *Cytophaga* sp. เป็นต้น และกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยซิส ยกตัวอย่างเช่น *Micromonospora* sp. *Nocardia* sp. *Streptomyces* sp. และ *Streptosporangium* sp. เป็นต้น (ตารางที่ 4) ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์นอกจากจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์แล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีก เช่น ชนิดความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง รวมไปถึงสภาพแวดล้อมการผลิต ได้แก่ อายุเชื้อ ปริมาณของเชื้อ ความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ และอากาศ เป็นต้น

ตารางที่ 4 ชนิดของจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแอคติโนมัยซิส
<i>Alternaria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Micromonospora</i> sp.
<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Cellulomonas</i> sp.	<i>Nocardia</i> sp.
<i>Chaetomium</i> sp.	<i>Clostridium</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp.
<i>Coprinus</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Streptosporangium</i> sp.
<i>Corynascus</i> sp.	<i>Cytophaga</i> sp.	
<i>Fomes</i> sp.	<i>Polyangium</i> sp.	
<i>Fusarium</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	
<i>Myrothecium</i> sp.	<i>Sporocytophaga</i> sp.	
<i>Penicillium</i> sp.	<i>Vibrio</i> sp.	
<i>Polyporus</i> sp.		

ตารางที่ 4 (ต่อ)

เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อแอกติโนมัยซิส
<i>Rhizoctonia</i> sp.		
<i>Sporotrichum</i> sp.		
<i>Thielavia</i> sp.		
<i>Trametes</i> sp.		
<i>Trichothecium</i> sp.		
<i>Trichoderma</i> sp.		
<i>Verticillium</i> sp.		
<i>Zygorhynchus</i> sp.		

ที่มา: ผกามาศ (2560); Brink *et al.* (2012)

2) กลไกการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์

การสร้างเซลลูเลสถูกควบคุมด้วยแหล่งอาหาร ซึ่งจะมีผลต่อปัจจัยพื้นฐานของการเริ่มต้นถอดรหัส การผลิตเซลลูเลสสามารถควบคุมเชิงบวกกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ ได้โดยใช้เซลลูโลสเป็นอาหาร ขณะที่ควบคุมในเชิงลบได้ เป็นการยับยั้งการผลิตเอนไซม์ โดยใช้กลูโคสและเซลโลไบโอสเป็นอาหาร ซึ่งกลไกการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์ จากการถอดรหัสยีน (gene) ขั้นตอนการสร้างเซลลูเลส (transcription) ยีนควบคุมที่กระตุ้นให้เกิดการผลิตเซลลูเลส คือ Xyr และ Ace2 ส่วนยีนที่ยับยั้งการผลิตเซลลูเลส คือ Ace1 จากการศึกษาในช่วงระหว่างการเหนี่ยวนำการผลิตเซลลูเลส ด้วยสารเหนี่ยวนำแล็กโทสในเชื้อ *T. reesei* QM 9414 ซึ่งเป็นเชื้อราสายพันธุ์ที่ผลิตเซลลูเลสในระดับต่ำ พบว่า ยีนทั้งสามชนิดถูกเหนี่ยวนำโดยแล็กโทส (Portnoy *et al.*, 2011) และการเหนี่ยวนำการกระตุ้นยีน Xyr และ Ace2 อย่างสมบูรณ์จำเป็นต้องมีการทำงานของยีน Cre1 เช่น เซลลูเลสจากเชื้อรา *Aspergillus* sp. มักจะมีระดับเบต้ากลูโคซิเดสสูง และมีระดับกิจกรรมเอนโดกลูคาเนสต่ำ ในขณะที่ *Trichoderma* มีกิจกรรมเอนโดกลูคาเนส และเซลโลไบโอไฮโดรเลสสูง แต่มีระดับเบต้ากลูโคซิเดสต่ำ โดยยีนควบคุมการถอดรหัสที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของเซลลูเลสที่สำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 5 (Mondal *et al.*, 2022)

ตารางที่ 5 ยีนควบคุมการถอดรหัสที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของเซลล์

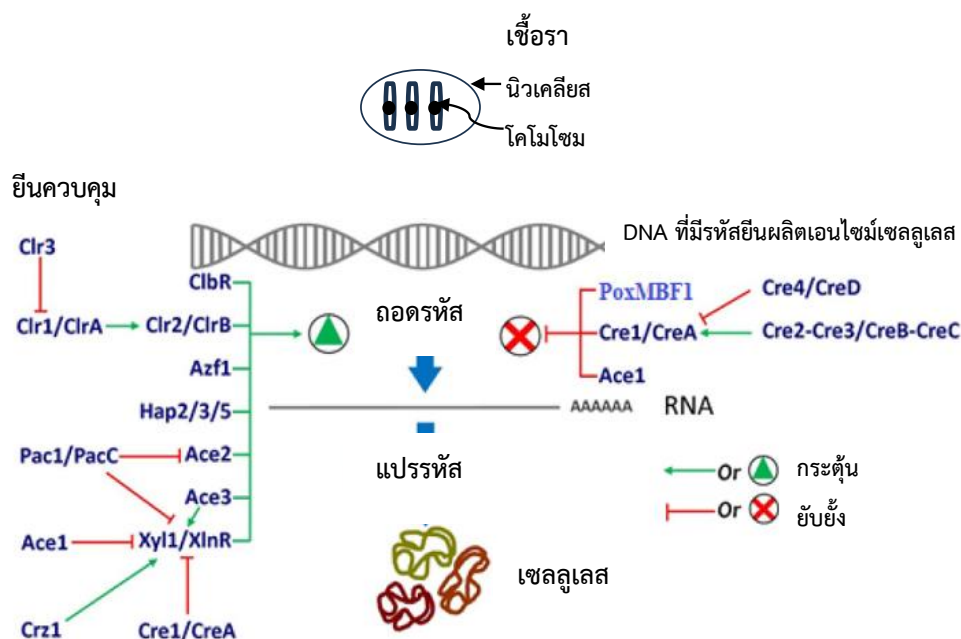
ยีนควบคุมการถอดรหัส	หน้าที่
XlnR/Xyr1	XlnR คือ ยีนควบคุมการผลิตไซลาเนสเฉพาะในเชื้อ <i>Aspergillus</i> sp. และ Xyr1 คือ ยีนควบคุมการผลิตไซลาเนสเฉพาะในเชื้อ <i>T. reesei</i> เป็นตัวกระตุ้นการถอดรหัสหลักของยีนที่เข้ารหัสเอนไซม์เซลล์ ประกอบด้วย Cbh1, Cbh2, Egl1 และ Bgl
RXE1	ควบคุมการแสดงออกของยีน ควบคุมการผลิตเอนไซม์เซลล์ ส่งเสริมให้เกิดเอนไซม์ โดยยีนส่งเสริม Xyr1 เพื่อเคลื่อนที่ไปยังยีนโครงสร้าง
Rce1	ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการถอดรหัสสำหรับการแสดงออกของยีนเซลล์ โดยจับที่บริเวณโปรโมเตอร์ (promoter) Cbh1 ยับยั้ง Xyr1 ไม่ให้จับกับโปรโมเตอร์ Cbh1
Ace3	ในเชื้อ <i>T. reesei</i> ทำให้การแสดงออกของยีนเซลล์เพิ่มขึ้น ในขณะที่การกำจัดยีนดังกล่าว ทำให้กิจกรรมของเซลล์ลดลง
CreA/Cre1	ควบคุม CCR คือ การยับยั้งคาร์บอน โดยในกรณีที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส หรือไซโลส พวกมันจะยับยั้งการถอดรหัสของยีนที่เข้ารหัสเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเผาผลาญสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ซับซ้อนมากขึ้น
Clr-1/Clr-2	Clr-1 ควบคุมยีนที่จำเป็นต่อการไฮโดรไลซิสของเซลล์โดยตรง CLR2 ควบคุมยีนที่จำเป็นต่อการย่อยสลายเซลล์ในเชื้อ <i>Neurospora crassa</i> <i>A. niger</i> <i>A. oryzae</i> <i>A. nidulans</i> และ <i>P. oxalicum</i> การกระตุ้น Clr-1 ต้องมีตัวกระตุ้น เช่น เซลโลไบโอส ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ Bgl แต่ Clr-2 ไม่ต้องการตัวกระตุ้นใด ๆ การกำจัดตัวกระตุ้นเหล่านี้ ในเชื้อ <i>N. crassa</i> อาจขัดขวางการใช้เซลล์เป็นแหล่งคาร์บอน
Clr-3	Clr-3 ขัดขวางการทำงานของ Clr-1 การกำจัด Clr-3 ออกไปจะทำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่ Clr-1 ในกรณีที่ไม่มีสารเหนี่ยวนำ
HAP complexes	พบกลุ่ม HAP ในเชื้อ <i>Aspergillus</i> spp. (HapB/C/E) เชื้อ <i>T. reesei</i> (Hap2/3/5) และเชื้อ <i>N. crassa</i> (Hap2/3/5) กลุ่ม HAP เหล่านี้ ทำให้เกิดการแสดงออกของยีนเซลล์ และไซลาเนส (Cbh2 และ Xyn2) ได้ในระดับปานกลางในเชื้อ <i>T. reesei</i>

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ยีนควบคุมการถอดรหัส	หน้าที่
Lae1	ในเชื้อ <i>T. reesei</i> ทำหน้าที่กระตุ้นการแสดงออกของเซลล์ลูเลส และ
VELVET complex	สร้างคอมเพล็กซ์ VELVET ซึ่งควบคุมการถอดรหัสของยีนเซลล์ลูเลส
PacC/Pac1	ในเชื้อ <i>A. nidulans</i> และ <i>T. reesei</i> ยีนนี้ตอบสนองต่อความแปรปรวน ของความเข้มข้นเป็นกรดเป็นด่างในสภาพแวดล้อมภายนอก จะกระตุ้น หรือ ยับยั้งการผลิตเซลล์ลูเลสที่ความเข้มข้นเป็นด่างเป็นกลาง การกำจัดยีน Pac1 จะเพิ่มกิจกรรมของ Xyr1
PoxMBF1	ในเชื้อ <i>P. oxalicum</i> จะจับกับบริเวณโปรโมเตอร์ของยีนเซลล์ลูเลสหลัก และไซลาเนสโดยตรง เพื่อกระตุ้นการผลิตเซลล์ลูเลส
PoxFlbC	ในเชื้อ <i>P. oxalicum</i> จะควบคุมการแสดงออกของยีนเซลล์ลูเลสส่วนใหญ่ ให้เพิ่มขึ้น
PoxAtf1	ในเชื้อราเส้นใย จะควบคุมการแสดงออกของยีนเซลล์ลูเลส และไซลาเนส ในระหว่างการเลี้ยงแบบหมักในสถานะของแข็ง (solid state fermentation)
TrAZF1	ในเชื้อ <i>T. reesei</i> และ <i>A. nidulans</i> ควบคุมกิจกรรมเบต้ากลูโคซิเดส และเซลโลไบโอไฮโดรเลส ในเชิงบวกโดยตอบสนองกับ Cel7a และ Cel45a
Crz-1	ช่วยกระตุ้นการถอดรหัส DNA

ที่มา: Mondal *et al.* (2022)

กลไกการผลิตเอนไซม์เซลล์ลูเลสโดยการทำงานของยีนเชื้อรา ลูกศรีษีเขียว หมายถึง การกระตุ้นในเชิงบวก ลูกศรีษีแดง หมายถึง การกระตุ้นในเชิงลบ ยับยั้งการผลิตเอนไซม์ ในเส้นทางของการผลิตเซลล์ลูเลส ยีน Crz-1 จะกระตุ้น XlnR/Xyr1 รวมถึงการแสดงออกของยีน ควบคุม Clr-1 Clr-2 Hap2/3/5 Ace2 Ace3 และ Azf1 จะกระตุ้นในเชิงบวกให้เกิดการถอดรหัส เพื่อการสร้างอาร์เอ็นเอ (RNA) และแปลรหัสอาร์เอ็นเอเพื่อผลิตเอนไซม์เซลล์ลูเลส แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 กลไกการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยการทำงานของยีนเชื้อรา

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Mondal *et al.* (2022)

3) การใช้ประโยชน์จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

การใช้ประโยชน์จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส ได้แก่ แบคทีเรีย และรา ซึ่งทั้ง 2 กลุ่ม สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสได้เช่นกัน

(1) การใช้ประโยชน์แบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จากรายงานการศึกษาการใช้ประโยชน์แบคทีเรียในดินที่มีความสามารถในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์พืช เช่น ผนังเซลล์ของฟางข้าว (Gupta *et al.*, 2012) ทั้งนี้ ส่วนประกอบของโครงสร้างลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วย เซลลูโลส 32.1 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 24.0 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยแบคทีเรียในดินที่มีความสามารถในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลส กลไกในการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสของแบคทีเรีย เกิดขึ้นผ่านการผลิตเอนไซม์เพื่อปล่อยออกสู่ภายนอก เช่น เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เอนไซม์ไซลานเนส (xylanase) เป็นต้น ผลิตออกมาเป็นส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลสให้เป็นสารโมเลกุลเล็ก ที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งของสารอาหารในการผลิตพลังงานภายในเซลล์ (Balat, 2011) มีรายงานการศึกษาแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย มีทั้งแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน เช่น *Clostridium* sp. และ

แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน เช่น *Bacillus* sp. ในการย่อยสลายฟางข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Zhang *et al.*, 2016) รวมทั้งแบคทีเรียชนิดชอบความร้อน และไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายฟางข้าว (ปรารธนา และคณะ, 2556) ซึ่งแบคทีเรียเจริญได้น้อยในสภาพแห้งแล้ง โดยความชื้นที่เหมาะสมเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรีย พบว่า มีความชื้นมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย (Asha and Prema, 2007) และสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และความชื้น โดยมีการประยุกต์ใช้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในด้านต่าง ๆ เช่น การย่อยสลายเศษพืชเบื้องต้นเพื่อผลิตอาหารเลี้ยงสัตว์ การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสบริสุทธิ์ในระบบถังหมัก เชิงอุตสาหกรรม การใช้ประโยชน์ย่อยสลายเศษอินทรีย์ในกระบวนการบำบัดของเสียแบบไม่ใช้ออกซิเจน และแบบใช้ออกซิเจน และการใช้ประโยชน์ย่อยสลายเศษพืชผลิตปุ๋ยหมัก เป็นต้น

(2) การใช้ประโยชน์เชื้อราผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เชื้อราแต่ละชนิด มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสแตกต่างกัน นอกจากชนิดของเชื้อราแล้วยังขึ้นกับสภาวะแวดล้อมที่เชื้อราเหล่านั้นเจริญอยู่ แต่พบว่า รา (cellulolytic fungi) เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณที่มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ตัวอย่างชนิดของเชื้อราผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ *Aspergillus* *Chaetomium* *Fusarium* *Geotrichum* *Myceliophthora* *Phanerochaete* *Penicillium* *Schizophyllum* และ *Trichoderma* เป็นต้น (Viikari *et al.*, 2009; Monclaro and Filho, 2017) โดยเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อราส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์รื้อเซลล์เอนไซม์ (extracellular enzyme) คือ เซลล์ปล่อยเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ ทำให้สะดวกต่อการแยกและคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายเซลลูโลส และสะดวกต่อการนำมาผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อใช้ในการศึกษา หรือใช้ในอุตสาหกรรม อีกทั้งเชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีการพัฒนาโครงสร้างซับซ้อนและมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจะต้องมีการพัฒนาเป็นส่วนของเส้นใย สปอร์ และส่วนที่เป็นถุงเก็บสปอร์ (fruiting body) ในราหลายชนิดจึงจำเป็นต้องมีการผลิตเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งมีปริมาณสูงอยู่ในระดับที่เพียงพอต่อการแปรสภาพสารอินทรีย์เพื่อให้ได้มาซึ่งพลังงานและอาหาร สำหรับการเจริญและเพิ่มจำนวนประชากรของรา ด้วยคุณสมบัติของเชื้อราที่ทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมจากสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ เช่น อุณหภูมิสูง ความชื้นที่ไม่เหมาะสม สภาพแห้งแล้ง และความเป็นกรดเป็นด่าง (Monclaro and Filho, 2017) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในพื้นที่เกษตรต่อไป

4) เชื้อราผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในการย่อยเซลลูโลส เนื่องจากเซลลูโลส มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีสายยาว จุลินทรีย์ไม่สามารถนำเข้าไปในเซลล์ได้โดยตรง ดังนั้นจุลินทรีย์ต้องสร้างเอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่สลายเซลลูโลสได้ เรียกว่า เอนไซม์เซลลูเลส โดยเอนไซม์เซลลูเลสสามารถย่อยสลายเซลลูโลสประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ เป็นโครงสร้างหลักที่เพิ่มความแข็งแรงให้กับเนื้อเยื่อของผนังเซลล์พืช โดยกลไกการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส นั้น จะมีการย่อยสารตั้งต้นที่เป็นเซลลูโลสให้กลายเป็นเซลลูโลสในรูปที่โครงสร้างการจัดเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยเอนไซม์ที่ย่อยภายในเซลล์ คือ เอนโดกลูคาเนสจะทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเบต้า - 1, 4 - กลูโคซิดิก ซึ่งอยู่ภายในพันธะในเซลลูโลส หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ ทำให้มีโมเลกุลขนาดเล็กลง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นโอลิโกเมอร์ (oligomer) และน้ำตาลกลูโคสบางส่วน จากนั้นเซลโลไบโอไฮโดรเลส (cellobiohydrolase) จะเข้าไปย่อยสลายทางด้านปลายนอนรีดิวซิง (non - reducing end) เป็นไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (xylooligosaccharides) และย่อยสลายต่อจนได้เป็นเซลโลไบโอส จากนั้นจะถูกเบต้ากลูโคซิเดสย่อยสลายต่อได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกลูโคส (Anupama, 2022) ทำให้สารประกอบอินทรีย์ เช่น กลูโคส สามารถผ่านเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ได้ เป็นพลังงานและอาหารสำหรับจุลินทรีย์ และเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศถือเป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สาร (Georgieva *et al.*, 2005) ช่วยคืนธาตุอาหารลงสู่ดินพืชสามารถนำไปใช้ได้ มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางระบบนิเวศดิน (Alexopoulos *et al.*, 1996) ราเป็นผู้ย่อยสลายที่สำคัญที่สุดของซากพืช มีปริมาณมากถึง 75 เปอร์เซ็นต์ของการย่อยสลายของพื้นผิววัสดุอินทรีย์ ตอบสนองต่อภาวะการผันผวนน้ำบริเวณรอบ ๆ หรือตอบสนองต่อการลดลงของความชื้นในบรรยากาศ (Ananda and Sridhar, 2004; Kannangara and Deshapriya, 2005) มีความสามารถในการย่อยสลายส่วนประกอบของซากพืชที่สำคัญ เช่น ลิกนิน และเซลลูโลส (Puranong *et al.*, 2007) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย และตอซังข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งมีองค์ประกอบของเซลลูโลส 40 - 60 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 15 - 30 เปอร์เซ็นต์ (Cowling and Kirk, 1976; Kirk, 1983)

(1) ชนิดของราที่ขึ้นบนซากพืชในแต่ละระยะของการย่อยสลายมี 5 กลุ่ม ดังนี้ (Deacon, 1980)

กลุ่มที่ 1 กลุ่มเป็นปรสิต (parasite) ที่ไม่รุนแรง เช่น *Botrytis cinerea* *Alternaria tenuis* และ *Cladosporium oxysporum* เป็นต้น ราเหล่านี้มีความสามารถในการใช้น้ำตาลและแป้งจากเนื้อเยื่อพืชที่ยังคงมีชีวิต พบเจริญขึ้นบนส่วนของพืชที่ใกล้หลุดร่วงจากลำต้น

ซึ่งอาจเพิ่มจำนวนและเจริญขยายขอบเขตได้อย่างกว้างขวางถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม รากลุ่มนี้ มักหยุดการเจริญเติบโตเมื่อส่วนของพืชนั้นหลุดร่วงลงสู่พื้นดิน หรือเมื่อพบกับการแข่งขันจากราที่เป็น ซาโปรไฟต์ (saprophyte) ที่แท้จริง

กลุ่มที่ 2 เป็นราที่ดำรงชีพแบบซาโปรไฟต์ มีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของซากพืชที่มีโครงสร้างโมเลกุลไม่ซับซ้อนได้ดี แต่ยังมีขีดจำกัดในการย่อยสลาย โพลีเมอร์ อาจพบเป็นกลุ่มแรกที่เจริญบนซากพืช หรือพบหลังจากรากลุ่มที่เป็นปรสิตที่ไม่รุนแรงหมดไปแล้ว ตัวอย่างรากลุ่มนี้ได้แก่ *Mucor* sp. *Absidia* sp. และ *Rhizopus* sp. เป็นต้น

กลุ่มที่ 3 เป็นราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของซากพืชได้ดี สามารถเจริญดำรงชีวิตแบบภาวะย่อยสลายซากพืช ตัวอย่างรากลุ่มนี้ได้แก่ *Chaetomium* sp. *Fusarium* sp. และ *Stachybotrys* sp. เป็นต้น

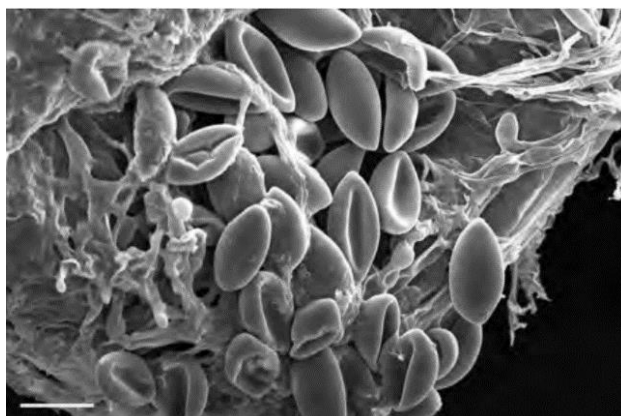
กลุ่มที่ 4 เป็นราที่มีความสามารถในการย่อยสลาย และใช้ประโยชน์ ลิกนิน และบางครั้งก็มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสด้วย ซึ่งมักปรากฏเป็นกลุ่มสุดท้ายบนซากพืช รากลุ่มนี้ส่วนใหญ่อยู่ใน Subdivision Basidiomycotina

กลุ่มที่ 5 เป็นราที่เจริญร่วมกับราในกลุ่มที่ 3 หรือกลุ่มที่ 4 รากลุ่มนี้ มักอยู่ใน Class Oomycetes และใน Subdivision Zygomycotina รวมทั้งราหลายชนิดใน Subdivision โดยอาจเป็นปรสิตเส้นใยของราชนิดอื่น หรือมีส่วนร่วมในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายซากพืชร่วมกับรากลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามกิจกรรมของรากลุ่มนี้ยากที่จะแบ่งแยกออกมาได้อย่างเด่นชัด เพราะบางครั้งก็สามารถเจริญได้โดยการใช้อาหารจากซากพืชโดยตรง

(2) เชื้อราสายพันธุ์ *Corynascus* sp.

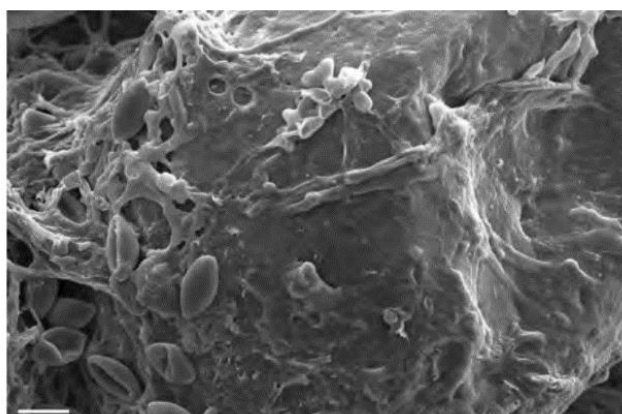
เชื้อราสายพันธุ์ *Corynascus* จัดอยู่ใน Division : Ascomycota Class : Sordariomycetes Order : Sordariales Family : Chaetomiaceae และมีรายงานพบ *Corynascus* 3 ชนิด ได้แก่ *C. sepedonium* *C. sexualis* และ *C. similis* ในประเทศอินเดีย ตรวจพบ *C. sepedonium* แยกเชื้อได้จากตัวอย่างดิน เช่น ในพื้นที่เกษตร ดินชายทะเล ป่าชายเลน และผิวน้ำ (rhizoplane) และเชื้อ *C. similis* สามารถแยกได้จากดินในพื้นที่ทางตอนเหนือของอินเดีย มีรายงานการพบเชื้อ *C. verrucosus* จากดินท้องถื่นในพื้นที่อาร์เจนตินา (Stchigel *et al.*, 2000) โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *C. verrucosus* สามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิระดับปานกลาง (mesophilic) น้อยกว่า 20 - 45 องศาเซลเซียส จนถึงทนอุณหภูมิสูง (thermotolerant) ในช่วง 20 - 70 องศาเซลเซียส การสืบพันธุ์ของเชื้อราแบบโฮโมทัลลัส (homothallus) คือ มีการสร้าง 2 เมตติงไทป์ (mating type) ใน 1 ทัลลัส (thallus) จึงทำให้สามารถสืบพันธุ์ตัวเองได้ (self fertile) มีโครงสร้างถุงหุ้มสปอร์ คือ แอสโคมาตา (ascomata) เรียกว่า เพอริเดียม (peridium) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 40 - 70 ไมโครเมตร มีเซลล์สร้างสปอร์แบบแอสโคสปอร์ (ascospores) เรียกว่า

แอสคัส (ascus) ขนาด 25 - 38 x 21 - 32 ไมโครเมตร แอสโคสปอร์ มีลักษณะทรงรี ขนาด 11 - 18 x 6.5 - 9 ไมโครเมตร และมีสปอร์จากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 - 10 ไมโครเมตร สามารถพบเชื้อราชนิดนี้ได้จากดิน (Stchigel *et al.*, 2000; Brink *et al.*, 2012) และลักษณะเชื้อรา *C. verrucosus* แสดงดังภาพที่ 10 11 และ 12



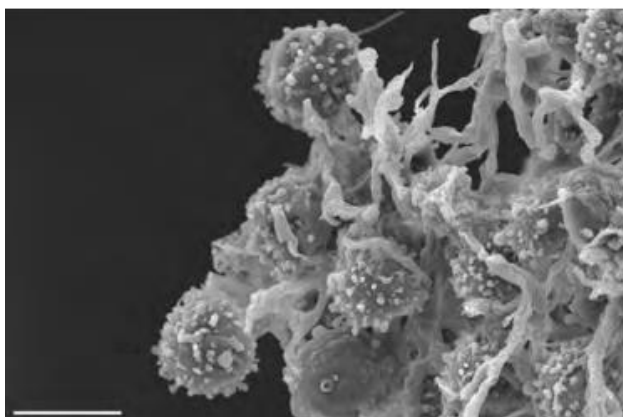
ภาพที่ 10 ลักษณะแอสโคสปอร์ (ascospores) ของเชื้อรา *C. verrucosus* เป็นรูปทรงรี (ellipsoidal ascospores) ภาพ SEM 1,500 เท่า

ที่มา: Stchigel *et al.* (2000)



ภาพที่ 11 ลักษณะเพอริเดียม (peridium) ของเชื้อรา *C. verrucosus* ที่ยื่นออกมาจากผนัง ascoma wall ภาพ SEM 1,000 เท่า

ที่มา: Stchigel *et al.* (2000)



ภาพที่ 12 ลักษณะสปอร์แบบโคนิเดีย (conidia) ของเชื้อรา *C. verrucosus* ภาพ SEM 2,200 เท่า

ที่มา: Stchigel *et al.* (2000)

เชื้อราในสกุล *Corynascus* เป็นเชื้อราที่อยู่ในระยะอาศัยเพศที่เรียกว่า เทเลโมอร์ฟ (teleomorph) ของเชื้อราสกุล *Myceliophthora* ปัจจุบันได้รับการศึกษาเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเชื้อราชนิดนี้มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ที่ทนความร้อนได้ดี มีศักยภาพในการย่อยสลายวัสดุจากพืชที่มีลิกโนเซลลูโลส จึงได้มีการระบุลักษณะและจดสิทธิบัตรเอนไซม์เฮมิเซลลูโลสหลายชนิด ซึ่งเป็นเชื้อราที่เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 45 - 50 องศาเซลเซียส เชื้อราชนิดนี้ย่อยสลายเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ การเจริญบนอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA) ลักษณะด้านบนของโคโลนีเป็นสีครีม ด้านล่างสีครีมน้ำตาล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 - 30 มิลลิเมตร (อุณหภูมิ 45 ± 2 องศาเซลเซียส) เชื้อ *M. thermophila* ได้รับการอธิบายครั้งแรกในชื่อ *Thielavia heterothallica* ก่อนที่จะเป็นสกุล *Corynascus* (von Arx, 1973) ตั้งแต่นั้นมาจึงรู้จักกันในชื่อ *C. heterothallicus* (Brink *et al.*, 2012) เป็นเชื้อราที่ชอบความร้อน โดยเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 38 - 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส ดินที่ชื้นและได้รับความร้อนจากแสงแดด และพืชแห้งจะเป็นแหล่งอาหารที่ดีต่อการเติบโตของเชื้อ เนื่องจากแหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำได้น้อยในอุณหภูมิสูง สายพันธุ์นี้จึงปรับตัวได้ดีในการใช้แหล่งคาร์บอนที่ไม่ละลายน้ำ เพื่อผลิตพลังงาน เช่น เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์หลายชนิดของ *Corynascus* มาใช้ในอุตสาหกรรม เนื่องจากทนความร้อนได้ ทนอุณหภูมิสูง และให้ผลผลิตเอนไซม์มากกว่า โดยมีสารปนเปื้อนน้อยกว่าเชื้อราในอุณหภูมิปานกลางหลายชนิด เช่น *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* และมีประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูเลสได้อย่างรวดเร็ว และจากรายงานของ Soni *et al.* (2008) พบว่าเชื้อรา *C. verrucosus* มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้ง

เช่น เชื้อรา *C. thermophilus* มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงถึง 51.20 หน่วยต่อกรัม ผลิตเอนไซม์ไฮดรอลาส 358 หน่วยต่อกรัม มีค่า Fpase 4.65 หน่วยต่อกรัม และผลิตเอนไซม์เบต้า - กลูโคซิเดส 11.40 หน่วยต่อกรัม มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 24.80 หน่วยต่อกรัม และจากรายงานของ Busk and Lange (2013) พบว่า เชื้อรา *C. thermophilus* หนักร้อน เจริญได้ดีในสภาวะแห้งแล้ง มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และเอนไซม์สามารถทำงานได้ดีอยู่ในช่วงความเป็นกรดเป็นด่าง 4 - 6

ประเทศไทยมีรายงานการสำรวจพบเชื้อรา *Corynascus* ในประเทศจากรายงานการศึกษาของมานะ (2531) จากการแยกและคัดเลือกเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูง และทนความร้อนจากดิน มูลสัตว์ และเศษเหลือจากการเกษตร พบเชื้อรา *C. thermophilus* เป็นเชื้อราสายพันธุ์หนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อย่อยสลายกระดากกรอง และจากการเก็บตัวอย่างจากดินและเศษซากพืชที่เหลือจากการเกษตร ที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ ทั่วประเทศ เพื่อแยกและคัดเลือกเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและทนความร้อน พบสายพันธุ์ *C. thermophilus* เป็นเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและทนความร้อน (จิตา และ เลขา, 2553) และมีการใช้ประโยชน์เชื้อรา *Corynascus* ในประเทศไทยโดยกรมพัฒนาที่ดิน (2556ก) ได้แยกและคัดเลือกเชื้อรา *C. verrucosus* ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส มาใช้ประโยชน์เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 ที่ประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายเศษซากพืช เมื่อผ่านกระบวนการย่อยสลายโดยกิจกรรมจุลินทรีย์จนเปลี่ยนสภาพไปจากเดิมเป็นวัสดุที่มีลักษณะอ่อนนุ่มและเปื่อยยุ่ย เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร ที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลสและไขมันที่ย่อยสลายยาก เพื่อผลิตปุ๋ยหมักในเวลารวดเร็ว ซึ่งผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 เป็นผลิตภัณฑ์ของกรมพัฒนาที่ดิน ประกอบด้วยเชื้อราย่อยเซลลูโลสจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. verrucosus* *C. thermophilum* *Scytalidium thermophilum* และ *Scopulariopsis brevicaulis* แอคติโนมัยซิสย่อยเซลลูโลส ได้แก่ *Streptomyces* sp. X9 และ *S. champavatii* และจุลินทรีย์ย่อยไขมัน ได้แก่ *B. subtilis* 2 สายพันธุ์ โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์จะช่วยทำให้อัตราการย่อยสลายเศษพืชเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว ช่วยลดเวลาในการทำปุ๋ยหมักให้สั้นลง

4.5.3 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์

1) กระบวนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์ สามารถแบ่งตามลักษณะอาหารในการเลี้ยงเชื้อ 2 ลักษณะ ดังนี้

(1) การหมักในสภาพอาหารเหลว (submerged fermentation, SMF)

กระบวนการหมักในอาหารเหลวโดยใช้ถังหมักที่ประกอบด้วยส่วนของการให้อากาศ อาจมีลักษณะเป็นท่อเปิด หรือมีใบพัด เพื่อช่วยในการเพิ่มอากาศ และกวนให้องค์ประกอบในถังหมักเข้ากันดี และอุปกรณ์ตรวจวัดปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และการเกิดฟอง แต่การหมักแบบเหลวนี้มีประสิทธิภาพต่ำในการหมักที่ใช้ลิกโนเซลลูโลส ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง และได้ปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้นน้อยกว่าการหมักในสภาพอาหารแห้ง

(2) การหมักแบบอาหารแข็ง (solid - state fermentation, SSF)

กระบวนการหมักแบบแห้งที่เกี่ยวข้องกับของแข็งในที่ไม่มีน้ำ หรือมีน้ำปริมาณเพียงเล็กน้อยแต่พื้นผิวจะต้องมีความชื้นพอที่จะช่วยการเจริญ และการเผาผลาญอาหารของจุลินทรีย์ ยังช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ในธรรมชาติในของแข็งที่ขึ้น การหมักแบบอาหารแข็งนิยมนำวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร หรืออุตสาหกรรมเกษตร เพราะใช้พลังงานที่ต่ำกว่า มีน้ำเสียน้อย เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และยังเป็นทางเลือกในการกำจัดของเสียที่เป็นของแข็งอีกด้วย การหมักแบบอาหารแข็งมีข้อดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการหมักแบบอาหารเหลว เป็นการหมักที่ง่าย และลดค่าใช้จ่ายได้ อีกทั้งยังมีหลักการในการควบคุมของพารามิเตอร์ที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิ อากาศ ความเป็นกรดเป็นด่าง การถ่ายโอนออกซิเจน และความชื้น วิธีหมักแบบอาหารแข็งไม่มีความซับซ้อน และเมื่อเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการหมักแบบอาหารแข็ง (Couto and Sanroman, 2006) ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการหมักแบบอาหารแข็ง

ข้อดี	ข้อเสีย
1. ผลผลิตสูง	1. การเคลื่อนย้ายค่อนข้างยาก
2. มีการไหลเวียนของออกซิเจนที่ดี	2. ประสิทธิภาพในการผสมเข้ากันของวัสดุต่ำ
3. วัตถุดิบที่ใช้มีต้นทุนต่ำ	3. กระบวนการหมักมีการควบคุมพารามิเตอร์ค่อนข้างยาก เช่น ความเป็นกรดเป็นด่าง
4. ไม่ต้องกำจัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิต	ความร้อน ความชื้น และสารอาหาร เป็นต้น
5. ใช้พลังงานน้อย และลดค่าใช้จ่าย	4. เกิดปัญหาความร้อนสะสม
6. เป็นกระบวนการหมักที่ง่าย	5. หากผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อน จะมีค่าใช้จ่ายสูงในการกำจัด
7. เป็นการหมักที่คล้ายกับการเจริญของจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ	

ที่มา: Couto and Sanroman (2006)

ดังนั้นการหมักแบบอาหารแข็งเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์ จากรายงานการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของ

เชื้อ *T. reesei* และ *A. niger* และเชื้อราผสม โดยใช้วิธีการหมักแห้งจากการใช้ขี้เลื่อยและผักตบชวา เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า การเลี้ยงเชื้อ *T. reesei* แบบเดี่ยวมีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงกว่า โดยใช้เวลา หมัก 10 วัน จะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในถังหมักจะมีการผลิตเอนไซม์ได้เพิ่มขึ้น 2 - 3 เท่า ขณะที่การเพาะเลี้ยงเชื้อราผสมทั้งสองสายพันธุ์จะให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้เพิ่มมากขึ้น (Deshpande *et al.*, 2008) และจากผลการศึกษาเชื้อรา *A. fumigatus* Fresenius เพื่อผลิตเอนไซม์ ย่อยสลายเซลลูโลส และไซแลน ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบอาหารแข็ง สามารถผลิตเอนไซม์ FPase (filter paper activity) CMCase (carboxymethyl cellulase) เบต้า - ไซลานเนส (β - xylanase) และเบต้า - ไซโลซิเดส (β - xylosidase) เท่ากับ 19.40 24.60 15.70 และ 2.30 หน่วยต่อกรัม วัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ เมื่อเจริญในอาหารที่มีฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน (วิเชียร และคณะ, 2535)

2) ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยจุลินทรีย์

(1) ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด มีความสามารถในการผลิต เอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณที่สูง และมีองค์ประกอบครบทั้ง 3 ชนิด คือ เอนไซม์เอนโดกลูคาเนส เอนไซม์เอกโซกลูคาเนส และเอนไซม์เบต้า - กลูโคซิเดส แตกต่างกัน (ดวงฤทัย และ มาโนช, 2560)

(2) ส่วนประกอบทางอาหารในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จะไม่มีอาหาร ที่จำเพาะต่อการเพาะเลี้ยง และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส แต่จะประยุกต์ใช้ตามชนิดของจุลินทรีย์ ได้แก่

(2.1) แหล่งและความเข้มข้นของคาร์บอน ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อ การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เช่น เซลลูโลส หรือวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ขี้เลื่อย กากมะพร้าว และซังข้าวโพด เป็นต้น (Asha and Prema, 2007)

(2.2) แหล่งและความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เซลล์จุลินทรีย์มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบประมาณ 8 - 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง จุลินทรีย์ สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แก๊สแอมโมเนีย เกลือแอมโมเนียม และไนเตรท เป็นต้น และแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนอาจใช้ในรูปกรดอะมิโน โปรตีน หรือยูเรีย โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์ จะเจริญในอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจนได้เร็วกว่าในอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจน

(2.3) สารเหนียวสำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สำหรับจุลินทรีย์ผลิต เอนไซม์เซลลูเลสเพื่อย่อยสลายเซลลูโลส โดยทั่วไปสารเหนียวสำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ เซลลูโลส เพราะเซลลูโลสไม่ละลายน้ำ และไม่สามารถซึมผ่านเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ และการใช้ สารพวกโพลิไกลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ เช่น เซลโลโบโอส เจนทิโอโบโอส แล็กโทส หรือโซไฟรอส ถูกนำมาเป็นสารชักนำโดยตรงของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (Kurasawa *et al.*, 1992)

(3) สภาพะของการเพาะเลี้ยงในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นอยู่กับปัจจัย ดังนี้

(3.1) ความเป็นกรดเป็นด่าง มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในการควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึม ความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังนั้นการหมักแต่ละครั้งจำเป็นต้องควบคุมความเป็นกรดเป็นด่างเพื่อให้ผลิตเอนไซม์สูงสุด จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เจริญได้ดี และมีกิจกรรมต่าง ๆ ในสภาพเป็นกลาง เช่น การเพาะเลี้ยง *Humicola nigrescens* CM 33 ในอาหารเหลวที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง 5.5 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด และความเป็นกรดเป็นด่าง 4.5 จะไม่มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และเช่นเดียวกับเชื้อ *Acetobacter xylinum* KU - 1 และการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Ruminococcus albus* 21 Aa ที่ความเป็นกรดเป็นด่าง 6.8 มีความเหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด (ระพีพรรณ, 2536) โดยจุลินทรีย์จำพวกรามักเจริญได้ดีในอาหารที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นต่ำ เช่น เชื้อ *A. awamori* และ *Thermoascus aurantiacus* เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.0 สำหรับเชื้อ *T. reesei* เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.0 (เนริสา, 2543) สำหรับการควบคุมความเป็นกรดเป็นด่าง สามารถทำได้ทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็ง แต่ไม่นิยมทำในอาหารแข็งมากนัก (สัญญาพันธ์, 2553)

(3.2) อุณหภูมิ ในการเพาะเลี้ยงจะแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มปริมาณเชื้อแตกต่างกัน มีค่าอยู่ในช่วง 37 - 45 องศาเซลเซียส (ระพีพรรณ, 2536) เช่น เชื้อ *Bacillus* spp. สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (ดวงฤทัย และ มาโนช, 2560) ขณะที่เชื้อราแต่ละชนิดมีความต้องการอุณหภูมิในการเจริญที่แตกต่างกัน โดยเชื้อราจะมีช่วงอุณหภูมิในการเจริญที่กว้าง คือ ที่ 0 - 62 องศาเซลเซียส (มยุรา และคณะ, 2555)

(3.3) อากาศ ออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของแบคทีเรียและเชื้อรา โดยทั่วไปการหมักเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเป็นกระบวนการหมักที่ต้องการอากาศ ซึ่งต้องควบคุมให้พอเหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ (สัญญาพันธ์, 2553)

(3.4) ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น เชื้อรา *P. oxalicum* ในอาหารแข็ง สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดภายในระยะเวลา 7 - 10 วัน เป็นต้น (พัชรภรณ์ และ วลัยพร, 2562)

4.6 วิธีดำเนินการ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยมีวัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการมีรายละเอียด ดังนี้

4.6.1 วัสดุอุปกรณ์

- 1) อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงตาข่ายไนลอน (nylon mesh bag)
- 2) เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ได้แก่

- (1) เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dryer)
- (2) ตู้แช่เยือกแข็ง - 80 องศาเซลเซียส (deep freezer)
- (3) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

3) สารปกป้องเซลล์ ได้แก่

- (1) มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin, MD)
- (2) แล็กโทส (lactose, LT)
- (3) สกิมมิลค์ (skim milk, SM)
- (4) ทรีฮาโลส (trehalose, TH)
- (5) โพลีไวนิลไพร์โรลิโดน (polyvinylpyrrolidone, PVP)

4) วัสดุซับสเตรตที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่

- (1) ข้าวเสาไห้ (white rice)
- (2) ข้าวโอ๊ต (oat)
- (3) ข้าวสาลี (wheat)

5) ปุ๋ยเคมี (chemical fertilizer) ได้แก่ สูตร 46 - 0 - 0 สูตร 18 - 46 - 0

และสูตร 0 - 0 - 60

6) เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์แปซิฟิก 789 (Pacific 789)

4.6.2 วิธีดำเนินการ

1) การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซึ่งแบบผงละลายน้ำ ประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยแต่ละการทดลองมีรายละเอียดแสดง ดังนี้

(1) การทดลองที่ 1 การศึกษาชนิดของวัสดุซับสเตรตที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง

(1.1) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ประกอบด้วย 3 ดำรับการทดลอง จำนวน 6 ซ้ำ ดังนี้

ดำรับการทดลองที่ 1 ข้าวสาลี

ดำรับการทดลองที่ 2 ข้าวโอ๊ต

ดำรับการทดลองที่ 3 ข้าวเสาไห้

(1.2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

(1.2.1) เตรียมต้นตอเชื้อราสายพันธุ์ *C. verrucosus* 23 โดยนำเชื้อต้นตอมาจากสารเร่งซูเปอร์ พด. 1 ของกรมพัฒนาที่ดิน เป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง และทนต่ออุณหภูมิสูงที่ 45 องศาเซลเซียส ในกระบวนการย่อยสลายได้ดี นำมาเพาะเลี้ยงเป็นต้นตอเชื้อบนอาหารแข็งสูตร PDA (potato dextrose agar) (Atlas, 1997) และ

วิธีการเตรียมอาหารแข็ง ดังนี้ ละลาย PDA 39 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 50 - 60 องศาเซลเซียส ก่อนเทใส่จานเลี้ยงเชื้อประมาณ 8 มิลลิตร เลี้ยงเชื้อบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน แล้วเก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดิม เพื่อใช้เป็นต้นตอเชื้อ (stock culture) ในการทดสอบต่อไป

(1.2.2) เตรียมวัสดุซัพสเตรตที่ใช้ในการทดลอง 3 ชนิด

ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้ ในวัสดุแต่ละชนิดมีองค์ประกอบสารอาหารแตกต่างกัน โดยแหล่งที่มาของข้อมูลจาก USDA (2018) ดังนี้ ค่าวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในน้ำหนัก 100 กรัม ของข้าวเสาไห้ มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด 79.30 กรัม มีโปรตีนต่ำ 6.60 กรัม และไขมันต่ำ 0.58 กรัม ขณะที่ข้าวสาลี มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต 71.00 กรัม มีโปรตีนสูง 13.70 กรัม และไขมันสูง 2.47 กรัม และข้าวโอ๊ต มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต 66.30 กรัม มีโปรตีนสูง 16.80 กรัม และไขมันสูง 6.90 กรัม และยังมีองค์ประกอบของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง จุลธาตุ และวิตามินบีชนิดต่าง ๆ รายละเอียดดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 องค์ประกอบสารอาหารต่อน้ำหนัก 100 กรัม ของข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้

องค์ประกอบของสารอาหาร	ข้าวสาลี	ข้าวโอ๊ต	ข้าวเสาไห้
น้ำ (กรัม/100 กรัม)	10.00	8.00	12.7
เถ้า (กรัม/100 กรัม)	1.70	1.60	0.58
ไขมัน (กรัม/100 กรัม)	2.47	6.90	0.58
โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	13.70	16.80	6.60
คาร์โบไฮเดรต (กรัม/100 กรัม)	71.00	66.30	79.30
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/100 กรัม)	508	523	108
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	431	429	86
โซเดียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	2	2	1
แคลเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	34	54	9
เหล็ก (มิลลิกรัม/100 กรัม)	3.50	4.70	0.8
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	144	177	35
สังกะสี (มิลลิกรัม/100 กรัม)	4.16	3.97	1.16
ทองแดง (มิลลิกรัม/100 กรัม)	-	0.62	0.11
แมงกานีส (มิลลิกรัม/100 กรัม)	-	4.92	1.10
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.42	0.76	0.07

ตารางที่ 7 (ต่อ)

องค์ประกอบของสารอาหาร	ข้าวสาลี	ข้าวโอ๊ต	ข้าวสาลี
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.12	0.13	0.04
วิตามินบี 3 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	6.74	0.96	1.60
วิตามินบี 5 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.94	1.30	1.34
วิตามินบี 6 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.40	0.12	0.14
วิตามินบี 9 (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.04	0.05	0.01

ที่มา: USDA (2018)

(1.2.3) การเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็ง (Gao *et al.*, 2013)

ในสภาวะการเลี้ยงแบบถาด (Ali and Zulkali, 2011) ดังนี้

(1.2.3.1) เตรียมสารละลายสารชักนำ ที่มีคุณสมบัติเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา ประกอบด้วยสารเซลโลไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร ในน้ำ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น ตัดแปลงมาจาก Kurasawa *et al.* (1992); Morikawa *et al.* (1995) รายงานว่า สารเซลโลไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่เป็นตัวเหนี่ยวนำในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อราได้สูง เช่น เชื้อ *T. reesei* และ *P. purpurogenum*

(1.2.3.2) เตรียมซบสเตอร์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวสาลี นำวัสดุหมักแต่ละชนิดอย่างละ 40 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่สารชักนำปริมาณ 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเทลงในถาดสแตนเลสขนาด 8 x 12 นิ้ว ทำการเกลี่ยวัสดุให้แยกออกจากกัน

(1.2.3.3) นำกล้าเชื้อราสายพันธุ์ *C. verrucosus* 23 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ตัดเชื้อเฉพาะสายเส้นใย โดยใช้หัวเจาะ cork - borers เบอร์ 3 ขนาด 5 มิลลิเมตร จำนวน 2 ชิ้น มาใส่ในถาด ปิดถาดด้วยผ้าขาวบาง และบ่มที่อุณหภูมิ 30 - 35 องศาเซลเซียส จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างทุกเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากเลี้ยงเชื้อ 3 วัน 7 วัน และ 14 วัน

(1.3) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

(1.3.1) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยวิธี dilution plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin's streptomycin medium (MA) (Johnson and Curl, 1972) ประกอบด้วย KH_2PO_4 1.0 กรัม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัม peptone 5.0 กรัม dextrose 10.0 กรัม rose bengal 0.033 กรัม streptomycin 1.0 กรัม agar 15.0 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณเชื้อราที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากเลี้ยงเชื้อ 3 วัน 7 วัน และ 14 วัน

(1.3.2) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ข้อมูลหลังจากเลี้ยงเชื้อ 3 วัน 7 วัน และ 14 วัน มีขั้นตอนดังนี้

(1.3.2.1) การสกัดเอนไซม์เซลลูเลส โดยนำตัวอย่างจากการเลี้ยงเชื้อข้อ (1.2.3.3) มา 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใส

(1.3.2.2) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี reducing sugar determination by 3, 5 - dinitrosalicylic acid (DNS method) (Miller, 1959) โดยการวิเคราะห์หา CMCase ตามวิธีการของ Acebal *et al.* (1986) นำสารละลายส่วนใสจากข้อ (1.3.2.1) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 25 x 150 มิลลิเมตร ใส่ CMC ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยการแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของกลูโคส และคำนวณกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{CMCase} &= \frac{\text{มิลลิกรัมกลูโคส}}{\text{หน่วยต่อมิลลิลิตร (U/ml)}} \\ 1 \text{ หน่วยเอนไซม์} &= 1 \text{ ไมโครโมลของซัคเคอเรตที่ถูกย่อยใน 1 นาที} \\ &= 1 \text{ ไมโครโมลของกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที} \\ &= 0.18 \text{ มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที} \end{aligned}$$

1 หน่วยเอนไซม์ คือ ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายซึบสเตรตให้เป็นน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดสอบ (แสดงรายละเอียดการคำนวณและกราฟมาตรฐานของกลูโคส ในภาคผนวก ข ข้อ 1)

(1.4) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

(2) การทดลองที่ 2 การศึกษาชนิดของสารปกป้องเซลล์และเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ

การศึกษาเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ในการรักษาภาพเซลล์เชื้อรา และเอนไซม์เซลลูเลส เป็นวัสดุรองรับผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ

(2.1) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ประกอบด้วย 5 ดำรับการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

ดำรับการทดลองที่ 1 มอลโตเดกซ์ตริน (MD) 10 เปอร์เซ็นต์

โดยปริมาตร

ดำรับการทดลองที่ 2 แล็กโทส (LT) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ดำรับการทดลองที่ 3 สกิมมิลค์ (SM) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ดำรับการทดลองที่ 4 ทรีฮาโลส (TH) 10 เปอร์เซ็นต์

โดยปริมาตร

ดำรับการทดลองที่ 5 โพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) 10 เปอร์เซ็นต์

โดยปริมาตร

(2.2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

(2.2.1) การเตรียมสารแขวนลอยของเชื้อรา *C. verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลส โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็ง ด้วยวิธีการหมักแบบแห้ง (ตามผลจากการทดลองที่ 1) โดยเตรียมข้าวเสาไห้ 40 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่สารละลายสารชักนำที่มีคุณสมบัติเหนียวสำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา ประกอบด้วย สารเซลโลไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร จากข้อ (1.2.3.1) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำใส่ลงในภาตสแตนเลสขนาด 8 x 12 นิ้ว ทำการเกลี่ยวัสดุให้แยกออกจากกัน นำกล้าเชื้อสายพันธุ์ *C. verrucosus* 23 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง PDA ตัดเชื้อเฉพาะสายเส้นใย โดยใช้หัวเจาะ cork - borers เบอร์ 3 ขนาด 5 มิลลิเมตร จำนวน 2 ชิ้น มาใส่ในภาต ปิดภาตด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างทุกเวลา 24 ชั่วโมง ปิดด้วยผ้าขาวบาง

เลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน นำเชื้อมาละลายแยกเชื้อออกจากวัสดุด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร กรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกเศษข้าวเสาให้ออก จะได้สารแขวนลอยประกอบด้วยเชื้อรา *C. verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลส นำไปใช้ในขั้นตอนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

(2.2.2) การเตรียมผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ นำสารละลายแขวนลอยจากข้อ (2.2.1) มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นำสารละลายแขวนลอยของเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร มาผสมกับสารปกป้องเซลล์ตามตำรับการทดลอง ปริมาตร 10 กรัม ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นำเข้าตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 50 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลา 27 ชั่วโมง นำมาบดเป็นผงแล้วบรรจุของเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง ได้แก่

(2.2.2.1) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนเชื้อรา โดยวิธี dilution plate count บนอาหาร Martin's streptomycin medium (MA) (Johnson and Curl, 1972) ประกอบด้วย KH_2PO_4 1.0 กรัม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัม peptone 5.0 กรัม dextrose 10.0 กรัม rose bengal 0.033 กรัม streptomycin 1.0 กรัม agar 15.0 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณเชื้อราที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำการเก็บข้อมูลภายหลังบรรจุของเก็บรักษาที่ 0 วัน และทุก 1 เดือน จนครบ 12 เดือน

(2.2.2.2) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส โดยวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี reducing sugar determination by 3, 5 - dinitrosalicylic acid (DNS) method (Miller, 1959) วิธีการเช่นเดียวกับ (1.3.2.2) และทำการเก็บข้อมูลภายหลังบรรจุของเก็บรักษาที่ 0 วัน และทุก 1 เดือน จนครบ 12 เดือน

(2.2.3) การเตรียมผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ นำสารละลายแขวนลอยจากข้อ (2.2.1) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 เพื่อแยกเซลล์ของเชื้อราออก จะได้ส่วนที่เป็นสารแขวนลอยของเอนไซม์เซลลูเลสอย่างหยาบ นำไปใช้การผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ โดยนำสารละลายแขวนลอยเอนไซม์เซลลูเลส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร มาผสมกับสารปกป้องเซลล์ตามตำรับการทดลอง ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) จากนั้นนำเข้าตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 27 ชั่วโมง นำมาบดเป็นผงแล้ว

บรรจุของเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ทำการเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง ได้แก่ การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส โดยการวัดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี reducing sugar determination by 3, 5 - dinitrosalicylic acid (DNS method) (Miller, 1959) วิธีการเช่นเดียวกับ (1.3.2.2) และทำการเก็บข้อมูลภายหลังบรรจุของเก็บรักษาที่ 0 วัน และทุก 1 เดือน จนครบ 12 เดือน

(2.3) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

2) การศึกษาวิธีและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์เร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพด - เลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก

(1) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ประกอบด้วย 8 ดำรับการทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

ดำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม

ดำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม
เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ
50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม
เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ
50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม
เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ
50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 6 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ
50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 7 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ
50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 8 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ
50 ลิตรต่อไร่

(2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

(2.1) การเตรียมผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ (จากผลการทดลองการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์) ได้แก่ ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ และเตรียมผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ

(2.2) การเก็บตัวอย่างดินและการเตรียมดิน

เก็บตัวอย่างดินจากในพื้นที่แปลงทดสอบ ชุดดินนครปฐม ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และบดร่อนผ่านตะแกรงที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ชั่งตัวอย่างดินใส่ถุงพลาสติก ถุงละ 4 กิโลกรัม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำบรรจุใส่กระถางทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

(2.3) การเตรียมตัวอย่างต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

นำต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ได้แก่ ส่วนของใบ และลำต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร ชั่งตัวอย่างพืชใส่ถุงพลาสติกถุงละ 10 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผสมคลุกเคล้ากับตัวอย่างดินให้เข้ากัน แล้วบรรจุใส่กระถางทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

(2.4) การเตรียมน้ำหมักชีวภาพจากปลา (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

(2.4.1) ส่วนผสม ผลิตภัณฑ์จำนวน 50 ลิตร ประกอบด้วย

ปลาน้ำจืด	30	กิโลกรัม
ผลไม้	10	กิโลกรัม
กากน้ำตาล	10	กิโลกรัม
น้ำ	10	ลิตร
สารเร่งซูเปอร์ พด. 2	1	ซอง (25 กรัม)

(2.4.2) วิธีการหมัก

เทกากน้ำตาลตามอัตราส่วนลงในถังหมัก ใส่จำนวน 10 ลิตร และคนเพื่อละลายกากน้ำตาลกับน้ำให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทสารเร่งซูเปอร์ พด. 2 ลงในถังหมัก คนประมาณ 5 นาที เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และทำการสับวัสดุพืช หรือสัตว์ ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในถังหมัก พร้อมใส่สารเร่งซูเปอร์ พด. 2 ที่เตรียมไว้ ปรับปริมาณน้ำให้พอท่วมวัสดุหมัก คนส่วนประกอบต่าง ๆ ให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วปิดฝาไม่ต้องสนิท ในระหว่างการหมักให้คนวัสดุหมัก 1 - 2 ครั้งต่อวัน หมักเป็นระยะเวลา 20 วัน กรองเศษปลาออก นำส่วนใสมาใช้ประโยชน์

(2.4.3) ค่าวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีส่วนของใบและลำต้นของต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และน้ำหมักชีวภาพปลา ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมีของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และน้ำหมักชีวภาพปลา

ชนิด	pH	N (%)	P (%)	K (%)	OC (%)
ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (ใบและลำต้น)	-	0.53	0.15	2.21	41.23
น้ำหมักชีวภาพปลา	4.70	0.59	0.11	0.63	-

(2.5) การใส่ปัจจัยทดลองในแต่ละดำรับการทดลอง

ดำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ
- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ดำรับการทดลองที่ 2

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ น้ำหมักชีวภาพจากปลา (อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่)

ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ดำรับการทดลองที่ 3

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ดำรับการทดลองที่ 4

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ตำรับการทดลองที่ 5

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ตำรับการทดลองที่ 6

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร

ต่อไร่ ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ตำรับการทดลองที่ 7

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร

ต่อไร่ ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

ตำรับการทดลองที่ 8

- นำดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ผสมต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 กรัม
- ใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตร

ต่อไร่ ใส่อัตรา 2.22 มิลลิลิตรต่อกระถาง

- ปรับความชื้นในดินที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ วัดด้วย

เครื่องวัดความชื้นดิน

(2.6) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

(2.6.1) การเก็บตัวอย่างดินจากในพื้นที่แปลงทดสอบ ที่ระดับ

ความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ไปฝังให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดละเอียดและผสมคลุกเคล้าดินให้มีความสม่ำเสมอ นำดินส่วนหนึ่งมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร นำไปวิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน ได้แก่ ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดิน

(2.6.2) การเก็บตัวอย่างดินจากกระถางภายหลังการหมักดิน ที่ 10 20 30 40 และ 50 วัน นำดินในกระถาง 200 กรัม แบ่งดินเป็น 2 ส่วน นำไปวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

(2.6.2.1) วิเคราะห์ค่าความชื้นในดิน จากดิน 100 กรัม วิธีการคำนวณหาความชื้นดิน โดยวิธีตู้อบ (oven dry) (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(2.6.2.2) วิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน นำดิน 100 กรัม ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดละเอียดและผสมคลุกเคล้าดินให้มีความสม่ำเสมอ นำดินมาผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร วิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน ได้แก่ ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดิน โดยวิธี Walkley and Black Titration (Walkley and Black, 1947)

(2.6.3) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลส

การเก็บตัวอย่างดินจากกระถางภายหลังการหมักดิน ที่ 10 20 30 40 และ 50 วัน นำดินในกระถาง 100 กรัม เก็บใส่ถุงแช่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส และนำมาตรวจนับปริมาณเชื้อรา ด้วยวิธี Microbiological method โดยวิธีการ dilution plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน ตามวิธีการของ Murao *et al.* (1979) ในอาหาร MC medium ที่เติมสเตรปโตมัยซิน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณราย่อยเซลลูโลสที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

(2.6.4) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากตัวอย่างดิน โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ Hope and Burn (1987) และวัดกลูโคสด้วยวิธี Nelson and Somogyi (Nelson, 1944) มีขั้นตอน ดังนี้

(2.6.4.1) นำตัวอย่างดินที่มีความชื้น และผ่านการร่อน ด้วยตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ปริมาณ 1 กรัม ใส่หลอดทดลอง เติม acetate buffer ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ avicel 0.5 กรัม เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ปิดจุกแล้วนำไปบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

(2.6.4.2) ดูดส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองใหม่ เติม Somogyi reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที และทำให้เย็นทันที

(2.6.4.3) จากนั้นเติมสาร Nelson reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร เปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส วิเคราะห์ด้วยวิธี Nelson - Somogyi

(2.6.4.4) นำค่าที่ได้คำนวณหากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

ด้วยสมการดังนี้

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส } (\mu\text{g glucose g}^{-1} \text{ soil h}^{-1}) = (C \times V)/16S$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นที่วัดได้

V = ปริมาตรของสารละลาย (5.5 มิลลิลิตร)

S = น้ำหนักแห้งของดินที่มีความชื้น 1 กรัม

16 = ระยะเวลาบ่มที่ 16 ชั่วโมง

(2.7) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3) การศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลอง

(1) วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) ประกอบด้วย 5 ดำรับการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

ดำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม

ดำรับการทดลองที่ 2 น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ

50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 3 ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม

เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ

50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 4 ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา

100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

ดำรับการทดลองที่ 5 ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา

100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

หมายเหตุ ทุกดำรับการทดลอง ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตราปุ๋ยเคมีที่ใส่ คำนวณจากปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามความต้องการของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

(2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

(2.1) ดำเนินการทดลองในพื้นที่แปลงของเกษตรกรปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ชุมดินนครปฐม ตำบลท่ามะขาม อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี และวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง

สมบัติดิน	pH	OM	Avail. P	Avail. K
	(1 : 1)	(%)	(mg/kg)	(mg/kg)
ดินก่อนการทดลอง	8.60	2.50	13	120

(2.2) การเตรียมแปลง

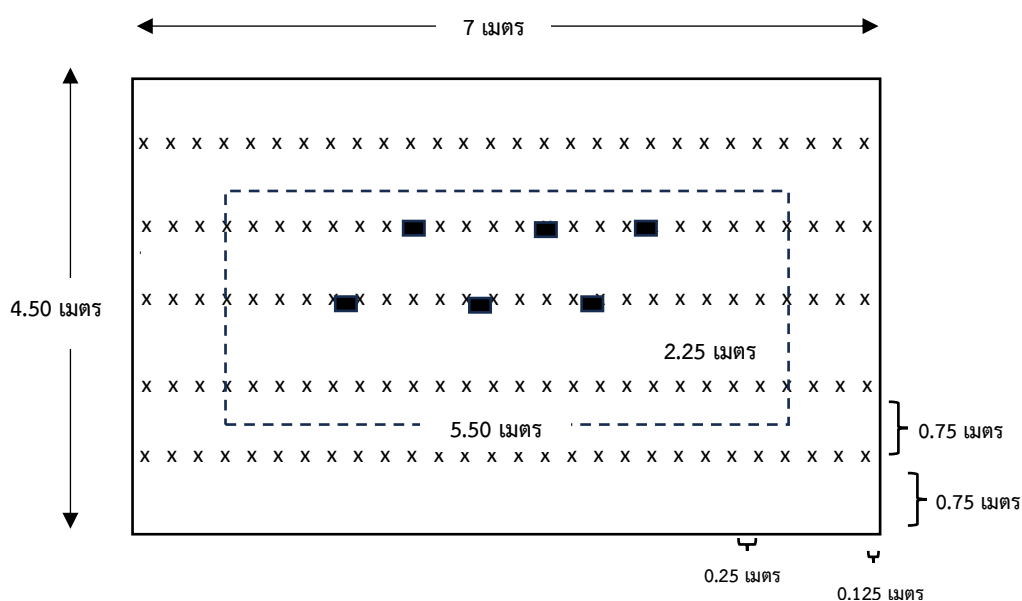
เตรียมแปลงทดลองขนาด 4.50 x 7 เมตร จำนวนทั้งหมด 20 แปลง พื้นที่เก็บข้อมูลขนาด 2.25 x 5.50 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 1.50 เมตร โดยในแต่ละแปลงย่อยมีจำนวนร่อง 5 แถว แต่ละแถวห่างกัน 0.75 เมตร เว้นพื้นที่ขอบแปลงเป็นแนวแถวป้องกันไม่เก็บข้อมูล

(2.3) การวางแปลงทดลองตามแผนผังแปลง (ภาพที่ 13) ดังนี้

T1	T4	T3	T5
T3	T2	T1	T4
T5	T1	T5	T2
T2	T3	T4	T1
T4	T5	T2	T3
block 1	block 2	block 3	block 4

ภาพที่ 13 แผนผังแปลงทดลองภาคสนาม

(2.4) การฝังถุงตาข่ายในลอนเก็บข้อมูลการย่อยสลายของสารอินทรีย์ โดยใช้เทคนิคถุงตาข่าย (litter bag technique) (Berg and Laskowski, 2006) ด้วยวิธีการบรรจุซากพืชในถุงตาข่าย โดยการเตรียมตัวอย่างต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ นำส่วนของใบและลำต้นทำการตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร ซึ่งตัวอย่างพืช 20 กรัม บรรจุใส่ถุงตาข่ายในลอนที่ช่องตาข่ายขนาด 1×1 มิลลิเมตร ขนาด 15×20 เซนติเมตร การฝังกลบถุงตาข่ายในลอน ขุดหลุมลึก 15 เซนติเมตร ในแถวที่ 2 และแถวที่ 3 จำนวน 3 หลุมต่อแถว ระยะห่างระหว่างหลุม 1 เมตร นำถุงตาข่ายในลอนวาง 1 หลุมต่อหลุม รวมตัวอย่างจำนวน 6 หลุมต่อแปลงย่อย ฉีดพ่นปัจจัยการทดลองตามตำรับการทดลอง แล้วฝังกลบถุงตัวอย่างให้มิด ดังภาพที่ 14 และทำการเก็บถุงตาข่ายในลอนหลังฝังกลบครั้งละ 1 หลุมต่อแปลงย่อย ที่ระยะเวลาการฝังกลบ 10 20 30 40 50 และ 60 วัน



ภาพที่ 14 แผนผังจุดการฝังกลบถุงตาข่ายในลอน

หมายเหตุ พื้นที่แปลงย่อยขนาด 4.50×7 เมตร

X หมายถึง ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ระหว่างต้น 0.25 เมตร

■ หมายถึง ตำแหน่งฝังกลบถุงตาข่ายในลอน

-- หมายถึง พื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 2.25×5.50 เมตร

(2.5) การใส่ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยนำส่วนของใบและลำต้น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร จำนวน 18.64 กิโลกรัมต่อแปลงย่อย คำนวณ ปริมาณมวลชีวภาพของส่วนต้นและใบ 852 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) ใส่ให้ทั่วแปลง แล้วฉีดย่นปัจจัยการทดลองตามแต่ละตำรับการทดลอง แล้วสับกลบเศษพืชลงดิน

(2.6) การใส่ปัจจัยการผลิต และการดูแลรักษาหลังจากปลูก

ตำรับการทดลองที่ 1 ควบคุม

- ฉีดย่นน้ำเปล่า อัตรา 50 ลิตรต่อไร่ ใส่อัตรา 1.09 ลิตรต่อแปลง บนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

- ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินตามความต้องการธาตุอาหาร ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ประกอบด้วย ปริมาณไนโตรเจน 5 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัส 5 กิโลกรัม ต่อไร่ และปริมาณโพแทสเซียม 5 กิโลกรัมต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง ดังนี้ ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 46 - 0 - 0 อัตรา 4.5 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 อัตรา 10.90 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 0 - 0 - 60 อัตรา 8.30 กิโลกรัมต่อไร่ รองกันหลุมก่อนปลูก ครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 46 - 0 - 0 อัตรา 4.5 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 30 วันหลังปลูก

ตำรับการทดลองที่ 2 การใส่น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

- ฉีดย่นน้ำหมักชีวภาพ ใส่อัตรา 1.09 ลิตรต่อแปลง ฉีดย่น บนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

- ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน วิธีการเดียวกันกับการใส่ใน ตำรับการทดลองที่ 1

ตำรับการทดลองที่ 3 การใส่ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

- ฉีดย่นผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ใส่อัตรา 1.09 ลิตรต่อแปลง บนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

- ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน วิธีการเดียวกันกับการใส่ใน ตำรับการทดลองที่ 1

ตำรับการทดลองที่ 4 การใส่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

- ฉีดย่นผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ใส่อัตรา 1.09 ลิตรต่อแปลง บนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

- ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน วิธีการเดียวกันกับการใส่ใน

ตำรับการทดลองที่ 1

ตำรับการทดลองที่ 5 การใส่ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1

อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

- ฉีดพ่นผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 ใส่อัตรา 1.09 ลิตร

ต่อแปลง บนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก่อนการสับกลบตอซัง

- ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน วิธีการเดียวกันกับการใส่ใน

ตำรับการทดลองที่ 1

(2.7) การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ดำเนินการปลูกข้าวโพดเลี้ยงภายหลังการฉีดพ่นปัจจัยทดลองบนตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้วสับกลบตอซัง ทั้งระยะเวลาย่อยสลายซากพืช 10 วัน ทำการหยอดเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ด้วยเครื่องกระทุ้ง (Jab seeder) ซึ่งแต่ละหลุมห่างกัน 25 เซนติเมตร หยอดเมล็ดหลุมละ 2 เมล็ด เมื่อข้าวโพดอายุได้ 1 สัปดาห์ จึงถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม จำนวนต้น 28 ต้นต่อแถว จำนวนทั้งหมด 5 แถว รวมจำนวนต้นทั้งหมด 140 ต้นต่อแปลง และพื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 2.25×5.50 เมตร

(3) การเก็บข้อมูลการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายไนล่อน ทำการเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

(3.1) เก็บตัวอย่างถุงตาข่ายไนล่อนหลังฝังกลบที่ 10 20 30 40 50 และ 60 วัน นำซากพืชในถุงตาข่ายที่เหลือในแต่ละช่วงเวลา อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้นจนน้ำหนักคงที่ ร่อนแยกเศษดินออกจากเศษพืช แล้วชั่งน้ำหนักแห้งที่เหลือในแต่ละถุง เพื่อนำไปคำนวณอัตราการย่อยสลายของซากพืช

(3.2) คำนวณน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยคำนวณจากน้ำหนักแห้งของซากพืชแต่ละถุงที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา ทหารด้วยน้ำหนักแห้งของซากพืชแต่ละถุง เมื่อเริ่มวางทิ้งไว้ คูณด้วย 100

(3.3) ประเมินอัตราการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อทำนายอัตราการย่อยสลายจากข้อมูลวัสดุอินทรีย์ที่เหลือ (Olson, 1963) ดังสมการ (1) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{สมการ (1)} \quad W_t &= W_0 e^{-kt} \\ \text{โดย} \quad W_t &\text{ คือ น้ำหนักแห้งซากพืชที่เหลือในแต่ละเวลา (t)} \\ &\text{(กรัม)} \\ W_0 &\text{ คือ น้ำหนักแห้งซากพืชเมื่อเริ่มต้น (กรัม)} \end{aligned}$$

k คือ ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายรวมในช่วงเวลาการย่อยสลาย แบบจำลองนี้ใช้เพื่ออธิบายอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตลอด 60 วัน แสดงการคำนวณในภาคผนวก ข ในข้อ 2

นอกจากนี้ได้นำแบบจำลองของการย่อยสลายแบบคงที่ (k) จากการใช้แบบจำลอง double pool แบ่งการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกเร็ว และช่วงหลังช้าลง (ปัทมา และ อรรถนพ, 2552) ดังนี้

$$\text{สมการ (2)} \quad W = C_1 (1 - e^{-k_1 t}) + C_2 (1 - e^{-k_2 t})$$

โดย W คือ น้ำหนักรวมที่เหลืออยู่ t ช่วงเวลา

C_1 และ C_2 คือ ค่าประมาณการของวัสดุอินทรีย์ที่เหลืออยู่

k_1 และ k_2 คือ สัมประสิทธิ์ค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลายของวัสดุที่เหลืออยู่

ซึ่งจะพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ค่าคงที่จากกราฟ แสดงคำอธิบายกราฟในภาคผนวก ข ในข้อ 3

(3.4) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลส การเก็บตัวอย่างดินภายหลังการหมักดิน ที่ 10 20 30 40 50 และ 60 วัน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 3 จุดต่อแปลง และรวมเป็น 1 ตัวอย่าง แบ่งดิน 500 กรัม ใส่ถุงเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำมาตรวจนับปริมาณเชื้อรา ด้วยวิธี Microbiological method ตรวจนับจำนวนเชื้อราย่อยเซลลูโลส โดยวิธี dilution plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน ตามวิธีการของ Murao *et al.* (1979) นับปริมาณเชื้อบนอาหาร MC medium ที่เติมสเตรปโตมัยซิน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับปริมาณเชื้อราที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

(3.5) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากตัวอย่างดิน โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ Hope and Burn (1987) และวัดกลูโคสด้วยวิธี Nelson and Somogyi (Nelson, 1944) วิธีการเช่นเดียวกับ ข้อ (2.6.4)

(4) การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

การเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่ม 15 จุด และนำมาผสมกันเพื่อส่งวิเคราะห์ และทำการเก็บตัวอย่างดินหลังการเก็บผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร จำนวน 3 จุดต่อแปลง และรวมตัวอย่างเป็น 1 ตัวอย่าง นำดินที่เก็บมาจากแปลงทดลอง ไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดให้ละเอียดและผสมคลุกเคล้าดินให้สม่ำเสมอ นำดินส่วนที่หนึ่งมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 และ 0.5 มิลลิเมตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีในห้องปฏิบัติการ ได้แก่

(4.1) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) วัดค่าโดยใช้เครื่อง pH meter อัตราส่วนระหว่างดินต่อน้ำเท่ากับ 1 : 1 (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(4.2) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (organic matter, OM) โดยวิธี Walkley and Black Titration (Walkley and Black, 1947)

(4.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) โดยวิธี Bray II (0.10 N HCL + 0.03 N NH₄F) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร (Bray and Kurtz, 1945)

(4.4) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (available K) โดยวิธีสกัดดินด้วยสารละลาย 1 N NH₄ CH₃COO pH 7 แล้วนำไปวัดปริมาณด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(5) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทำการเก็บตัวอย่างดินที่หลังฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ที่ 0 10 20 30 40 50 60 และ 120 วัน ได้แก่ ค่าความชื้นในดิน โดยวิธีการคำนวณหาความชื้นดิน โดยวิธีตู้อบ (oven dry) (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(6) การเก็บข้อมูลด้านการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช

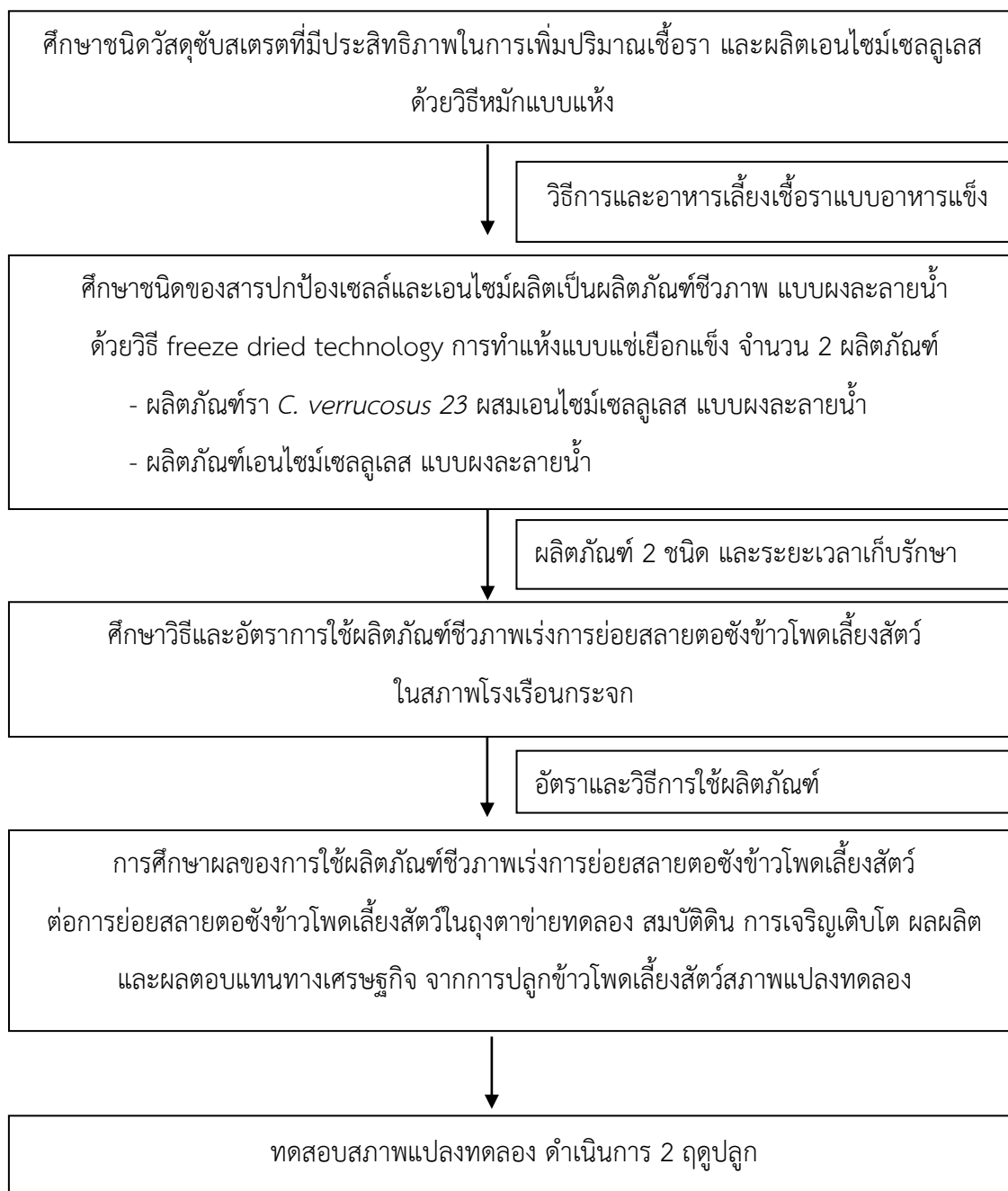
(6.1) ความสูงของต้นข้าวโพด เมื่อข้าวโพดอายุ 30 และ 60 วัน โดยวัดจากข้อแรกที่อยู่ติดกับส่วนบนสุดของรากจนถึงส่วนที่เป็นฐานของใบที่อ่อนที่สุด เก็บข้อมูลจำนวน 30 ต้นต่อแปลงย่อย แล้วคำนวณค่าความสูงเฉลี่ย

(6.2) ค่าความเขียวของใบข้าวโพด เมื่อข้าวโพดอายุ 30 และ 60 วัน โดยวัดจากใบที่ 3 โดยนับจากใบธง ในตำแหน่งปลายใบ กลางใบ และโคนใบ เก็บข้อมูลจำนวน 30 ต้นต่อแปลงย่อย แล้วคำนวณค่าความเขียวใบเฉลี่ย

(6.3) น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์

(7) เก็บข้อมูลวิเคราะห์ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแต่ละตำรับการทดลอง โดยบันทึกค่าใช้จ่ายต่าง ๆ เช่น ค่าวัสดุดิบ ค่าเตรียมแปลง ค่าใส่ผลิตภัณฑ์ และค่าแรงงานต่าง ๆ

(8) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test



ภาพที่ 15 แผนผังวิธีการดำเนินการวิจัย

4.7 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.7.1 ผลการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซึ่งแบบผงละลายน้ำ

1) ผลการศึกษาวิธีการและชนิดของวัสดุซับสเตรตที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง มีรายละเอียดดังนี้

จากผลการศึกษาชนิดของวัสดุซับสเตรตที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส จากแหล่งอาหารแข็ง 3 ชนิด (ตารางที่ 10) ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวเสาไห้ ผลการทดลอง พบว่า การใช้ข้าวเสาไห้เป็นแหล่งอาหารแข็งที่เหมาะสม สำหรับการเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์ *C. verrucosus* 23 ในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ และผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ได้สูงสุดที่ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 7 วัน มีปริมาณเชื้อ 12.566 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส สูงสุด 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หากมีการเลี้ยงเชื้อราไว้นานที่ 14 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 9.576 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ลดลงเหลือ 0.106 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสาลีเลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน มีปริมาณเชื้อ 12.596 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.234 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 14 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 9.596 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเหลือ 0.027 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และข้าวโอ๊ต เลี้ยงเชื้อที่ 7 วัน มีปริมาณเชื้อ 12.583 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.232 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 14 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง 9.560 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ลดลงเหลือ 0.033 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังนั้นการใช้ข้าวเสาไห้เป็นวัสดุซับสเตรต โดยใช้วิธีการหมักแบบอาหารแข็ง และเลี้ยงเชื้อที่ระยะเวลา 7 วัน เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสม สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 ได้สูง คือ 12.566 log CFU ต่อกรัม มีปริมาณเชื้อสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยของเกษสิณี และ จุริมาศ (2564) พบว่า การใช้ข้าวเสาไห้เป็นแหล่งซับสเตรตด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง ในการเลี้ยงเชื้อรา *Metarhizium* sp. และ *Beauveria bassiana* มีปริมาณเชื้อ 8.000 log CFU ต่อกรัม เนื่องจากลักษณะความเฉพาะเจาะจงของชนิดเชื้อรา และสารอาหารภายในวัสดุเพาะที่อาจมีอิทธิพลต่อการเจริญของเชื้อ ส่งผลต่อความมีชีวิตของเชื้อราที่เพาะเลี้ยง (Santoro *et al.*, 2015) ดังนั้นการใช้ข้าวเสาไห้เป็นแหล่งสารอาหารประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและวิตามิน และพื้นที่ผิวมากทำให้มีผลต่อการเจริญและปริมาณของเชื้อราที่เพิ่มขึ้นสูง แต่หากเลี้ยงเชื้อนานเกิน 7 วัน จะสังเกตเห็นว่าวัสดุหมักมีลักษณะเปียกชุ่มน้ำ และมีความชื้นในวัสดุหมักสูง ส่งผลให้การเจริญของเชื้อราลดลง หรือสารอาหารหมดลง เนื่องจากถูกเชื้อราย่อยเป็นอาหารจนเกือบหมด ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเช่นกัน (วิวัฒน์ และคณะ, 2551) และจากรายงานของจารุวรรณ (2541) พบว่า การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *A. fumigatus*

ด้วยการหมักแบบแห้ง ที่ความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงเชื้อนาน 4 วัน แล้วทำการระเหยนํ้าออกให้เป็นผงแห้ง มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (CMCase) เท่ากับ 0.870 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และจากงานวิจัยนี้พบว่า เชื้อรา *C. verrucosus* 23 สามารถเจริญได้ดีในข้าวสาลี และมีความกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หากนำสารละลายไประเหยแห้งความเข้มข้นของเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากจุลินทรีย์ยังขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อจุลินทรีย์ ชนิดของซับสเตรต และความชื้นที่เหมาะสมในกระบวนการหมักอีกด้วย

ข้อสังเกตจากการศึกษาครั้งนี้ เชื้อราเจริญได้เร็วในระยะเวลา 7 วัน และเกิดน้ำจากกระบวนการหายใจ จึงทำให้เกิดความชื้นในกระบวนการหมักเร็ว ส่งผลต่อปริมาณเชื้อรา และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สอดคล้องกับรายงานของ Deschamps *et al.* (1985) พบว่า ในระหว่างการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* จะมีความชื้นของวัสดุหมักเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการเจริญ และเกิดน้ำจากกระบวนการหายใจของเชื้อรา โดยความชื้นในวัสดุหมักเป็นปัจจัยสำคัญควบคุมกระบวนการหมักแบบอาหารแข็งดำเนินไปได้ ถ้าความชื้นในกระบวนการหมักที่เหมาะสมจะส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูง หากความชื้นมากเกินไปทำให้วัสดุหมักอัดกันแน่นป้องกันการแทรกซึมของออกซิเจน ทำให้เกิดการปนเปื้อนโดยแบคทีเรียที่เจริญได้เร็ว และถ้าความชื้นที่น้อยจะยับยั้งกิจกรรมการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สอดคล้องกับงานวิจัยนี้เมื่อเลี้ยงเชื้อรานานเกิน 7 วัน จะเกิดความชื้นมากเกินไปกว่าวัสดุหมักจะดูดซับไว้ได้ เกิดของเหลวเปียกชุ่ม เมื่อกระบวนการหมักมีการระบายอากาศไม่ดี จะส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (Nishio *et al.*, 1981; Moo-Young *et al.*, 1983) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Kim *et al.* (1985) พบว่า เชื้อรา *Talaromyces* sp. และ *T. viride* มีการเจริญได้ดีที่ระดับความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ แต่ผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดที่ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความต้องการน้ำในวัสดุหมักขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา เช่น การใช้ข้าวสาลีเป็นวัสดุหมักความชื้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อ *T. lanuginosus* และ *T. aurantiacus* คือ ความชื้นที่ 80 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Alam *et al.*, 1994)

ทั้งนี้ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อราและการผลิตเอนไซม์ พบว่า กระบวนการผลิตเอนไซม์จะเกิดขึ้นพร้อมกับการเจริญของเชื้อราในช่วงแรก เมื่อเชื้อราเริ่มเข้าสู่ระยะอัตราการตายเท่ากับอัตราการเจริญเกิดขึ้นสูงสุด และจะลดลงอย่างรวดเร็ว (วิเชียร และคณะ, 2535) การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการหมักแบบแห้งเป็นกระบวนการที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยวัตถุดิบแห้ง หรือมีความชื้นต่ำ ซึ่งสามารถใช้เพาะเลี้ยงเชื้อได้หลากหลายชนิด เช่น จากรายงานการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bifidobacterium animalis* *L. casei* *L. brevis* และ *A. oryzae* ในถั่วเหลือง (Gao *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015) การเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* ในข้าวโอ๊ต และการเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. bulgaricus* ในรำข้าวสาลี (Zhao *et al.*, 2017) เป็นต้น ซึ่งเป็นวิธีผลิตที่ง่าย ไม่ซับซ้อน มีต้นทุนต่ำ เกิดน้ำเสียจากกระบวนการหมักน้อย และเป็นกระบวนการหมัก

ที่คล้ายกับการเจริญของจุลินทรีย์ทางธรรมชาติ (Shim *et al.*, 2010) และสอดคล้องกับรายงานของ Chahal (1985) ซึ่งได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มผลผลิตเอนไซม์เซลลูเลสต่อปริมาณซับสเตรต และลดต้นทุนการผลิตเอนไซม์

ดังนั้นวิธีการหมักแบบแห้งด้วยอาหารแข็งเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และส่งเสริมการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส สำหรับการเลี้ยงเชื้อรา *C. verrucosus* 23 คือ ข้าวเสาไห้ โดยการใส่สารชักนำประกอบด้วยสารเซลโลไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแลกโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร ในน้ำ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาผสมกับข้าวเสาไห้ อัตราส่วน 1 : 1 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เลี้ยงเชื้อที่ระยะเวลา 7 วัน มีการควบคุมความชื้นในกระบวนการหมักข้าวเสาไห้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยการสังเกตจากลักษณะข้าวเสาไห้จะร่วน ไม่แฉะเกาะกันเป็นก้อน ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อและผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนต่อไป อีกทั้งข้าวเสาไห้ยังมีราคาถูกกว่าข้าวสาลี และข้าวโอ๊ต เป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่าย และมีต้นทุนการผลิตต่ำ

ตารางที่ 10 ปริมาณเชื้อราและค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากวัสดุซับสเตรต 3 ชนิด ตามช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ

ชนิด วัสดุซับสเตรต	ปริมาณเชื้อรา (log CFU ต่อกรัม)			กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิกรัม)		
	3 วัน	7 วัน	14 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน
ข้าวสาลี	8.542	12.596	9.596	0.049 b	0.234 b	0.027 b
ข้าวโอ๊ต	8.543	12.583	9.560	0.025 c	0.232 b	0.033 b
ข้าวเสาไห้	8.522	12.566	9.576	0.071 a	0.264 a	0.106 a
F-test	ns	ns	ns	**	**	**
CV (%)	0.41	0.21	0.29	13.58	1.43	13.29

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

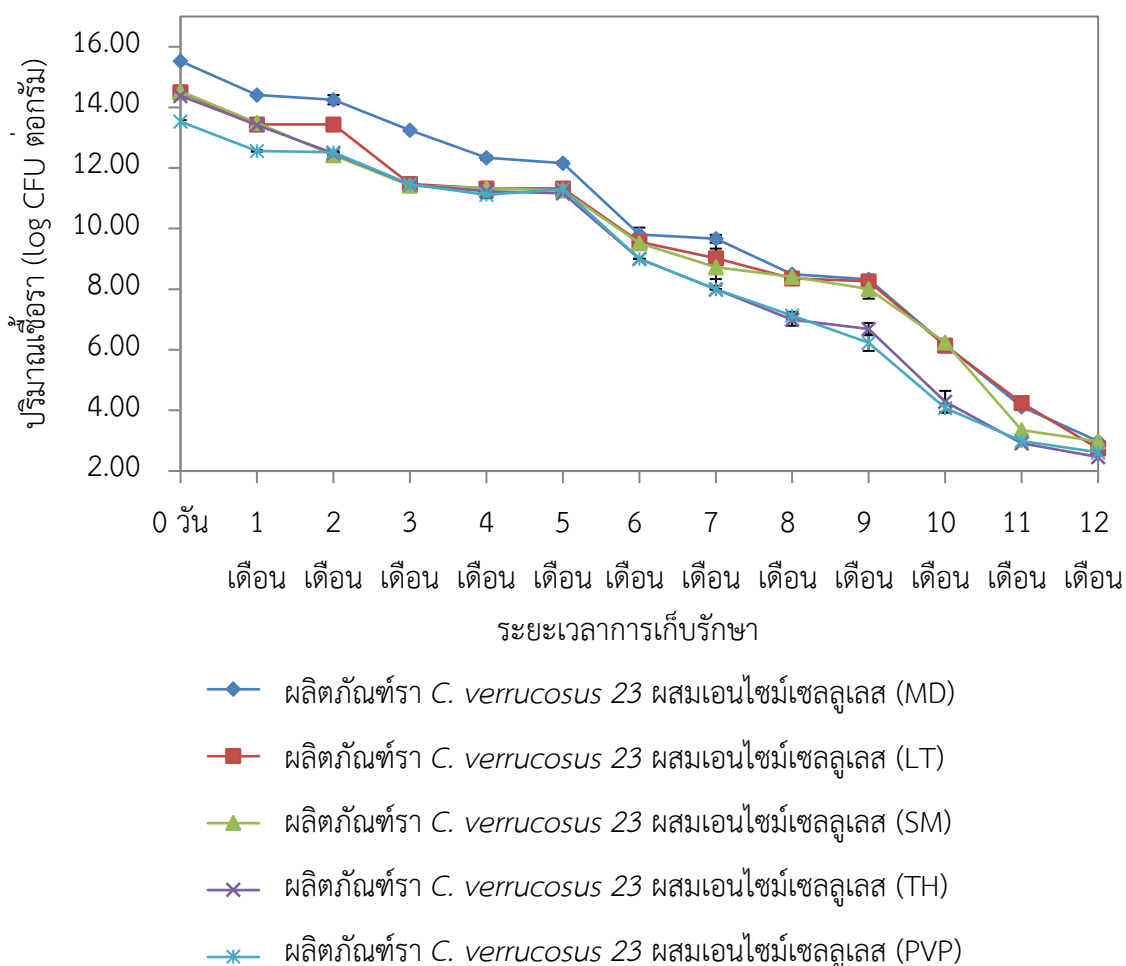
2) ผลการศึกษาการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบผงละลายน้ำ

จากผลการศึกษาผลิตภัณฑ์ชีวภาพแบบผงละลายน้ำจากการใช้สารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ในการเก็บรักษาสภาพจุลินทรีย์และเอนไซม์เซลลูเลส ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบผงละลายน้ำ ในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 12 เดือน จากการวิเคราะห์ผลการทดลองดังนี้

(1) ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อและกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ ได้ผลการทดลอง ดังนี้

(1.1) ปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑ์ จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) พบว่า ดำรับการทดลองที่ 1 การใช้มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อรา มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นสูงสุด 15.528 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 14.410 14.255 13.253 12.338 และ 12.160 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกดำรับการทดลอง โดยดำรับการทดลองที่ 2 การใช้แล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 14.503 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 13.440 13.440 12.423 11.325 และ 11.325 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้สกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 14.528 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 13.493 12.425 12.368 11.333 และ 11.258 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ทรีฮาโลส 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 14.383 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 13.420 12.493 11.448 11.230 และ 11.168 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และดำรับการทดลองที่ 5 การใช้โพลีไวนิลไพโรลิโดน 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นต่ำสุด 13.530 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีปริมาณเชื้อ 12.563 12.520 11.465 11.112 และ 11.305 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่า ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้อลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น แต่ยังมีปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์ที่อายุการเก็บรักษาที่ 5 เดือน อยู่ในระดับสูง และที่อายุการเก็บรักษาที่ 6 ถึง 9 เดือน พบว่า ดำรับการทดลองที่ 1 การใช้มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณเชื้อสูงสุด 9.808 9.665 8.500 และ 8.325 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนด

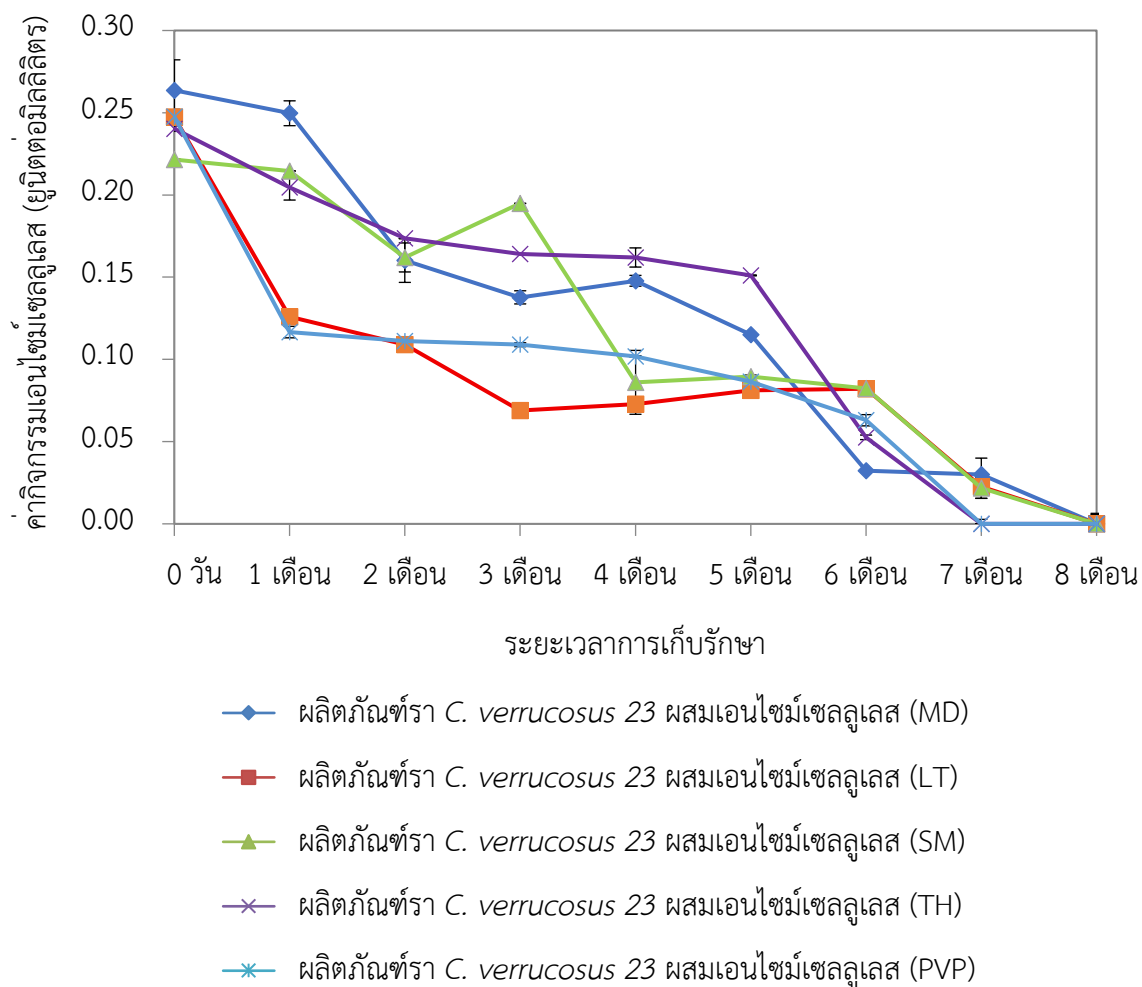
ปริมาณจุลินทรีย์แต่ละชนิดในสารเร่งประเภทจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยหมัก ปริมาณเชื้อราย่อยสลาย เซลลูโลสต้องไม่น้อยกว่า 1.0×10^7 CFU ต่อกรัม หรือ 7.000 log CFU ต่อกรัม (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556ข) ซึ่งมีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ แต่ที่อายุการเก็บรักษาที่ 8 ถึง 10 เดือน ปริมาณเชื้อมีค่าลดลงไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้แกล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ และตำรับการทดลองที่ 3 การใช้สกีมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุการเก็บรักษาที่ 10 เดือน ทุกผลิตภัณฑ์มีปริมาณเชื้อระหว่าง 6.140 - 6.248 log CFU ต่อกรัม และเมื่อครบ 12 เดือน มีปริมาณเชื้อระหว่าง 2.464 - 2.984 log CFU ต่อกรัม (ภาพที่ 16 และ ตารางผนวกที่ 1)



ภาพที่ 16 ปริมาณเชื้อราในผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา

(1.2) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์

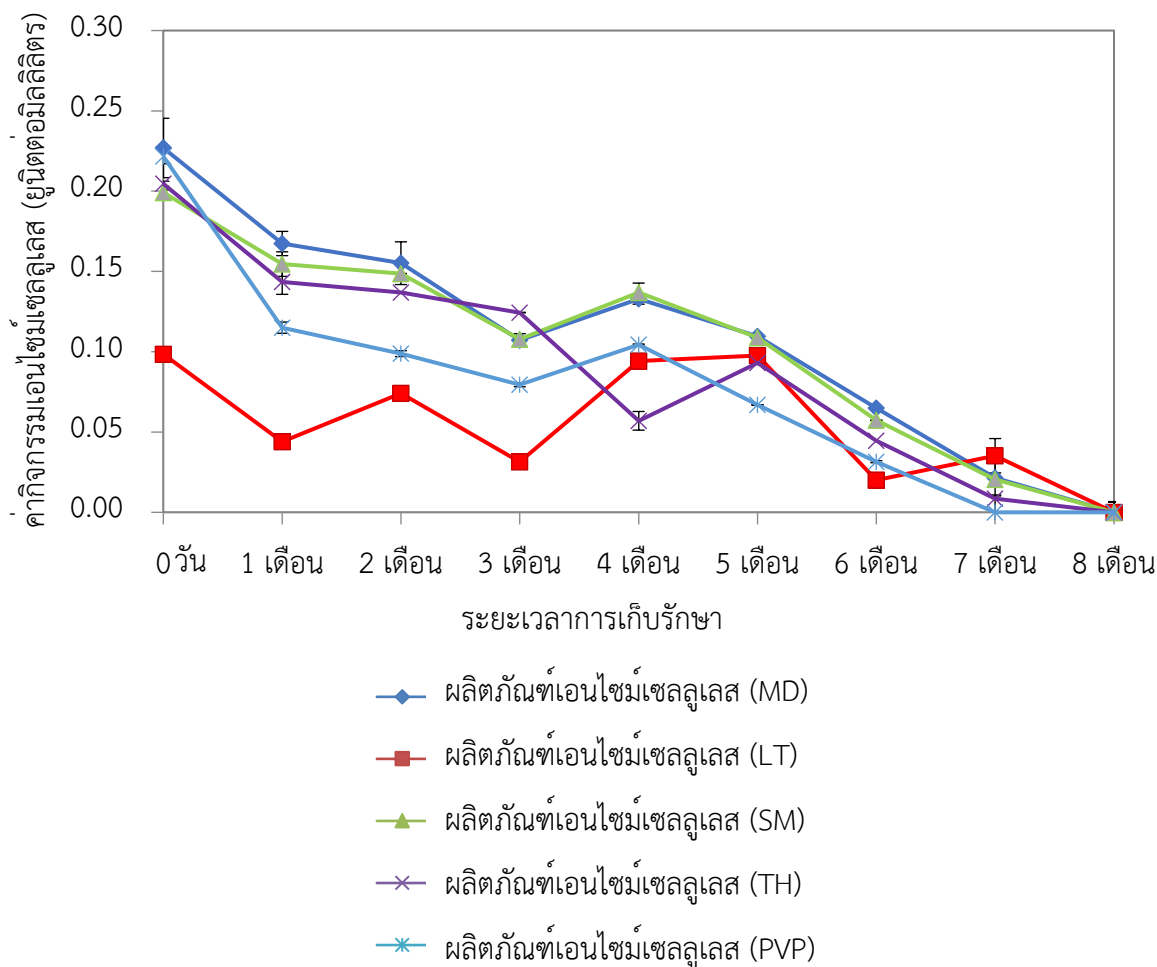
จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด พบว่า ค่าวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 0.221 - 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลา 1 - 7 เดือน พบว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยได้รับการทดลองที่ 1 การใช้มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุ 1 เดือน มีค่าสูงสุด 0.250 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับได้รับการทดลองอื่น ๆ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 2 - 5 เดือน มีค่าลดลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์มีค่า 0.160 0.138 0.148 และ 0.115 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับได้รับการทดลองที่ 3 การใช้สกินมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.215 0.162 0.120 0.086 และ 0.090 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ได้รับการทดลองที่ 4 การใช้ทรีฮาโลส 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.205 0.174 0.164 0.162 และ 0.151 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และได้รับการทดลองที่ 5 การใช้โพลีไวนิลไพโรลิโดน 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.117 0.111 0.109 0.102 และ 0.087 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ได้รับการทดลองที่ 2 การใช้แกล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ที่อายุเก็บรักษา 1 - 5 เดือน มีค่า 0.126 0.109 0.069 0.073 และ 0.081 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส จะมีค่าลดลงในช่วง 1 - 2 เดือน และมีแนวโน้มคงที่ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นจนถึง 5 เดือน และลดลงรวดเร็วแต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นาน 6 เดือน จนถึง 7 เดือน จะเห็นได้ว่า รูปแบบผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ผสมระหว่างเชื้อรา *C. verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลส มีเพียงการใช้มอลโตเดกซ์ตรินและทรีฮาโลสเป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อราได้ดี สามารถคงประสิทธิภาพกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ได้นาน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส มากกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ได้นาน 5 เดือน และภายหลังการเก็บรักษา 6 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ลดลงต่ำกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และไม่พบค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 8 เดือน (ภาพที่ 17 และตารางผนวกที่ 2)



ภาพที่ 17 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา

(2) ผลิตกัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ จากการใช้สาร 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน เพื่อเป็นสารปกป้องเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เริ่มต้นจากการทำการทดลองที่ 1 การใช้มอลโตเดกซ์ตริน มีค่าสูงสุด 0.227 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการทำการทดลองที่ 5 การใช้โพลีไวนิลไพโรลิโดน มีค่า 0.222 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แล็กโทส สกิมมิลค์ และทรีฮาโลส ที่มีค่า 0.099 0.199 และ 0.119 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยทำการทดลองที่ 1 การใช้มอลโตเดกซ์ตริน 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารป้องกันเอนไซม์เซลลูเลส มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับทำการทดลองอื่น ๆ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.167 0.155 0.107 0.133 และ 0.110 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีค่าสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการทำการทดลองที่ 3 การใช้สกิมมิลค์ 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.155 0.149 0.108 0.137 และ 0.109 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่มีค่าสูงกว่าทำการทดลองที่ 4 การใช้ทรีฮาโลส 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.143 0.137 0.124 0.093 และ 0.057 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทำการทดลองที่ 5 การใช้โพลีไวนิลไพโรลิโดน 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.115 0.099 0.044 0.104 และ 0.067 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ทำการทดลองที่ 2 การใช้แล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 1 - 5 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับทำการทดลองอื่น ๆ มีค่าลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา 0.044 0.074 0.031 0.094 และ 0.098 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และทุกทำการทดลองมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 7 เดือน แสดงให้เห็นว่า รูปแบบผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส มีเพียงการใช้มอลโตเดกซ์ตรินและสกิมมิลค์เป็นสารป้องกันเอนไซม์เซลลูเลสที่สามารถรักษาสภาพเอนไซม์เซลลูเลสให้มีความมากกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ได้นาน 5 เดือน และภายหลังการเก็บรักษา 6 เดือน ค่ากิจกรรมเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์มีค่าลดลงต่ำกว่า 0.100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และไม่พบค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 8 เดือน (ภาพที่ 18 และตารางผนวกที่ 3)



ภาพที่ 18 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา

จากผลการศึกษาชนิดของสารปกป้องเซลล์เป็นวัสดุรองรับผลิตเป็นผลิตภัณฑชีวภาพแบบผงละลายน้ำ ด้วยวิธีทำผงแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ 5 ชนิด ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน แล็กโทส สกิมมิลค์ ทรีฮาโลส และโพลีไวนิลไพโรลิโดน เมื่อเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ เพื่อรักษาสภาพเซลล์เชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส เป็นผลิตภัณฑผงละลายน้ำ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร สามารถรักษาเสถียรภาพเส้นใยและเซลล์ของเชื้อ *C. verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูงสุด 15.528 log CFU ต่อกรัม คงความมีชีวิตรอดของเชื้อเก็บรักษาผลิตภัณฑได้นาน 9 เดือน มีปริมาณเชื้ออยู่ในระดับสูง 8.325 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเริ่มต้น 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เก็บรักษาได้นาน 7 เดือน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 0.022 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากการพิจารณาปริมาณเชื้อใน

ผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดินในระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์แต่ละชนิดในสารเร่งประเภทจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยหมัก ปริมาณเชื้อราย่อยสลายเซลลูโลสต้องไม่น้อยกว่า 1.0×10^7 CFU ต่อกรัม หรือ 7.000 log CFU ต่อกรัม (กรมพัฒนาที่ดิน, 2556ข) และเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานเกิน 9 เดือน ปริมาณเชื้อมีค่าน้อยกว่า 7.000 log CFU ต่อกรัม ไม่ผ่านเกณฑ์ตามเกณฑ์มาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดิน ในระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ดังนั้นผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ คุณสมบัติด้านปริมาณเชื้อรา สามารถเก็บรักษาได้นาน 9 เดือน โดยการใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์เชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้ออยู่ในระดับสูงเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Boza *et al.* (2004) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Beijerinckia* sp. โดยใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์ จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.40×10^9 CFU ต่อกรัม หลังการทำแห้งจำนวนการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงเล็กน้อยเหลือ 1.28×10^8 CFU ต่อกรัม ทั้งนี้เนื่องจากการใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารปกป้องเซลล์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์สามารถสร้างพันธะกับโปรตีน ทำให้โครงสร้างเป็นร่างแห มีผลให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์มีความเสถียร และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการทำแห้ง (Morgan *et al.*, 2006) และจากรายงานของ Leslie *et al.* (1995) พบว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *L. plantarum* เซลล์จุลินทรีย์ภายหลังการทำแห้งคงความมีชีวิตรอดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงแห้งนานมากขึ้น พบว่า ปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 มีปริมาณเชื้อและกิจกรรมเอนไซม์ลดลงตามระยะการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น สาเหตุอาจเกิดจากขั้นตอนการบรรจุ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงแห้ง เกิดการดูดความชื้นในอากาศก่อนบรรจุของอุณหภูมิเยยมพอยล์ ซึ่งความชื้นในผลิตภัณฑ์เป็นสาเหตุสำคัญของการเปลี่ยนแปลงในระหว่างเก็บรักษา เช่น การเกิดออกซิไดส์เอง (auto - oxidation) เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาจสัมผัสกับอากาศตั้งแต่แรก หรือในภาวะที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ เช่น แสงและอุณหภูมิสูง (Desrosier, 1959) และจากผลรายงานการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงแห้งของเชื้อ *L. rhamnosus* พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงแห้งนาน 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์ผงสูงถึง 11 เปอร์เซ็นต์ (Sunny-Robert *et al.*, 2007) และจากรายงานของ Teixeira *et al.* (1995) พบการลดลงของจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียส มีสาเหตุจากการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อใช้ทรีฮาโลสเป็นสารปกป้องเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย และรายงานของมธุรส (2554) จากการใช้สารปกป้องเซลล์ กลูโคส ซูโครส แล็กโทส และมอลโตเดกซ์ตริน มีผลต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* แตกต่างกัน จากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์รอดชีวิตสูงกว่าอุณหภูมิห้อง 30 - 35 องศาเซลเซียส อีกทั้งการใช้มอลโตเดกซ์ตรินเป็น

สารปกป้องเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส สามารถละลายในน้ำได้ดี และค่าต้นทุนการผลิตต่ำ จึงเหมาะสมที่เป็นสารปกป้องเซลล์ และเป็นวัสดุรองรับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ เพื่อใช้ในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม (Kanakdande *et al.*, 2007)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้สารปกป้องเซลล์ ได้แก่ แล็กโทส มอลโตเดกซ์ตริน และทรีฮาโลส ในการรักษาประสิทธิภาพกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสของผลิตภัณฑ์ผงแห้งทั้ง 2 ชนิด ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากการใช้ประโยชน์สารเติมแต่งในกลุ่มน้ำตาล จะช่วยลดการสูญเสียประสิทธิภาพของเอนไซม์ ลดการทำลายโครงสร้างโปรตีน เมื่อผลิตเอนไซม์ให้อยู่ในรูปของแข็ง ทำให้ได้เอนไซม์ที่มีการคืนตัวดี และรักษาคุณภาพได้ดีในผลิตภัณฑ์แห้ง (de Jesus and Filho, 2014) และจากรายงานของ Ford and Dawson (1992) พบว่า การใช้สารกลุ่มน้ำตาล เช่น แล็กโทส และทรีฮาโลส เป็นสารรักษาสภาพเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี หากเก็บรักษาในอุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส จะเก็บรักษาเอนไซม์ได้นานเป็นปี เนื่องจากสารเติมแต่งช่วยรักษาเอนไซม์ในการทำแห้ง ช่วยให้เอนไซม์คงรูปและรักษาคุณภาพเอนไซม์ในสภาพแห้งได้ดี เช่น กลุ่มของน้ำตาล กลีเซอรอล โพลีเอทิลีนไกลคอล และกรดอะมิโน จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์คงตัวได้ดี และลดการสูญเสียกิจกรรมเอนไซม์จากการทำแห้ง (De Rosier *et al.*, 2001) และจากรายงานของ Belghith *et al.* (2001) พบว่า การใช้สารมอลโตเดกซ์ตรินความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารรักษาสภาพเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อ *P. occitanis* ช่วยคงสภาพเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์แห้งแบบพ่นฝอยได้ดี สามารถคงประสิทธิภาพเอนไซม์เซลลูเลสได้นาน 8 เดือน หลังจากการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แห้งทั้งที่อุณหภูมิ 4 หรือที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งการใช้สารมอลโตเดกซ์ตรินในการรักษาสภาพเอนไซม์ เพื่อผลิตเอนไซม์บริสุทธิ์จะช่วยคงคุณภาพเอนไซม์ได้ดี (Philippe *et al.*, 2017) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้จากการใช้สารมอลโตเดกซ์ตรินรักษาสภาพกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ผงแห้ง สามารถคงประสิทธิภาพกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสได้นาน 7 เดือน

ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ จึงเลือกการใช้สารมอลโตเดกซ์ตรินที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นสารป้องกันห่อหุ้มเซลล์เชื้อรา *C. verrucosus* 23 และรักษาสภาพเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

4.7.2 ผลการศึกษาอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในสภาพโรงเรือนกระจก จากการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และ ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ในอัตราต่าง ๆ มีรายละเอียดดังนี้

1) ผลวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์แบบ ผงละลายน้ำ

(1) ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ประกอบด้วยปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 เท่ากับ 15.528 log CFU ต่อกรัม และเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

(2) ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ประกอบด้วยเอนไซม์ เซลลูเลส เท่ากับ 0.227 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

2) การเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินในกระถาง

(1) ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินก่อนการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองจากแปลงทดลอง ชุดดิน นครปฐม จังหวัดกาญจนบุรี ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่มจำนวน 15 จุด และนำมา คลุกเคล้าให้เข้ากันเป็น 1 ตัวอย่าง วิเคราะห์สมบัติของดิน พบว่า ดินมีความเป็นกรดเป็นด่าง 8.60 ดินเป็นด่างจัด ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 2.29 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัส - ที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง และปริมาณโพแทสเซียม - ที่เป็นประโยชน์ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548) เมื่อพิจารณาดินก่อนการทดลอง พบว่า เป็นดินด่างจัด โดยความเป็นกรดเป็นด่างของดินส่งผลต่อ การเจริญของจุลินทรีย์ดินแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น แบคทีเรียในดินโดยทั่วไปจะเจริญได้ดีที่ ความเป็นกรดเป็นด่าง 6.0 ถึง 7.5 ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างของดินสูงกว่านี้ จะพบแอคติโนมัยซิส มากกว่า แต่ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างของดินต่ำกว่า 5 แอคติโนมัยซิสจะไม่เจริญเลย ส่วนเชื้อราจะ เจริญได้ดีในดินที่มีสภาพเป็นกรดมากกว่าดินที่มีสภาพเป็นด่าง (กรรณิการ์, 2543) แต่ยังมีเชื้อรา หลายชนิดที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพดินเป็นด่าง เช่น *A. niger* *A. ochraceus* *A. tamaraii* และ *A. terreus* เจริญได้ดีในดินที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง 6 - 7 ขณะที่เชื้อ *Cladosporium* spp. และ *Rhizopus stolonifer* สามารถเจริญได้ดีที่ความเป็นกรดเป็นด่าง 9 และยังพบเชื้อราหลายชนิดที่ สามารถเจริญได้ดีในสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง อยู่ในช่วง 3.0 - 8.5 (Elzwai *et al.*, 2018)

(2) ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินภายหลังการทดลอง

จากการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ภายหลังการทดลองจากการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดและอัตราต่าง ๆ ต่อการย่อยสลายต่อซัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินภายหลังการใส่ปัจจัยทดลองที่ 10 20

30 40 และ 50 วัน (ตารางที่ 11) พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินในแต่ละช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 - 50 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างตำรับการทดลอง โดยที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีค่าระหว่าง 2.29 - 2.42 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น มีค่าระหว่าง 2.46 - 2.55 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างสูง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าระหว่าง 2.60 - 2.79 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีค่าระหว่าง 2.92 - 3.22 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีค่าระหว่าง 2.77 - 3.13 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง จากผลการวิเคราะห์ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินในแต่ละช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย และแต่ละตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจาก การใส่ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในปริมาณ 10 กรัมต่อดิน 4 กิโลกรัม ทุกตำรับการทดลองเท่ากัน จึงมีผลให้จากการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดและอัตราต่าง ๆ เมื่อตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แปรสภาพเป็น อินทรีย์วัตถุ อาจมีปริมาณไม่มากเพียงพอที่จะทำให้ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินแตกต่างกัน

งานวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์ค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน เนื่องจากการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนด้วย กระบวนการย่อยสลายด้วยเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส แปรสภาพเป็นอินทรีย์วัตถุในดิน ซึ่งปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินมีค่าแปรผันตรงกับปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Fungladda, 2009) โดยสามารถคำนวณปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในดิน จากปริมาณอินทรีย์วัตถุหารด้วยค่าคงที่ 1.724 (Walkley and Black, 1947) อีกทั้งปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินเป็นองค์ประกอบสำคัญของดินที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อสมบัติต่าง ๆ ของดิน ได้แก่ สมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ ส่งเสริมความเป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ดินโดยตรง อันส่งผลต่อเนื่องไปถึงระดับความอุดมสมบูรณ์ของดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตพืช ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้น เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย ปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินในกระถางในแต่ละตำรับการทดลอง จากการใส่ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ พบว่า จากตัวอย่างดินก่อนการทดลองมีปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินเริ่มต้น 2.29 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินยกระดับเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินเพิ่มขึ้นเป็น 3.10 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 35.37 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 8.01 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินยกระดับ

เพิ่มขึ้นเป็น 3.13 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับค่อนข้างสูง สามารถยกระดับปริมาณอินทรีย์วัตถุของดินในกระถางเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 36.68 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 9.06 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มปริมาณอินทรีย์วัตถุสะสมในดินสูงกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ในอัตรา 25 กรัม และ 50 กรัม ทั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Tchobanoglous *et al.* (1993) การเติมเชื้อให้กับวัสดุหมักจะช่วยลดระยะเวลาในการปรับตัวของจุลินทรีย์ ทำให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดขึ้นเร็ว ช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลาย และลดระยะเวลาการหมักวัสดุได้ 35 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ Battaylino *et al.* (1991) พบว่า ปริมาณเชื้อที่เหมาะสมต่อซับสเตรตในการย่อยสลายได้ดีอยู่ที่ 10^6 สปอร์ต่อกรัมซับสเตรต ทำให้ผลผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลต่อการย่อยสลายซับสเตรตโดยตรง อีกทั้งยังขึ้นอยู่กับขนาดของพื้นที่ผิววัสดุ อุณหภูมิ และความชื้นในระหว่างกระบวนการย่อยสลายอีกด้วย

ตารางที่ 11 ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (เปอร์เซ็นต์)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	2.37	2.39	2.57	2.84	2.87
2 = น้ำหมักชีวภาพ	2.38	2.46	2.67	3.14	3.04
3 = ผลิตกัณฐ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.42	2.55	2.64	2.98	3.03
4 = ผลิตกัณฐ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.32	2.48	2.62	2.92	2.77
5 = ผลิตกัณฐ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.34	2.53	2.60	2.93	3.10
6 = ผลิตกัณฐ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.29	2.42	2.79	3.01	2.92
7 = ผลิตกัณฐ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.35	2.49	2.69	3.22	3.02
8 = ผลิตกัณฐ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.42	2.51	2.73	3.14	3.13
F-test	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	2.26	3.52	7.49	6.25	10.33

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

3) การเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นของดิน

ค่าความชื้นของดินภายหลังการใส่ปุ๋ยทดลองตามดำรับการทดลองตลอดระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน (ตารางที่ 12) พบว่า แต่ละดำรับการทดลองมีค่าความชื้นของดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในทุกช่วงเวลาของการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน ความชื้นของดินมีค่าระหว่าง 33.49 - 35.01 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่าระหว่าง 32.30 - 38.15 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าระหว่าง 35.63 - 37.71 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีค่าระหว่าง 29.30 - 32.76 เปอร์เซ็นต์ และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีค่าระหว่าง 29.48 - 31.30 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาจากค่าความชื้นของดินในกระถางก่อนการทดลอง มีการปรับความชื้นดิน 30 เปอร์เซ็นต์ เพื่อจำลองสภาพของดินภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชไร่ โดยทั่วไปมีค่าความชื้นของดินอยู่ในระดับต่ำ จากผลการวิเคราะห์ค่าความชื้นของดินตลอดช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบว่า ความชื้นของดินมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 และ 30 วัน มีค่าความชื้น 34.25 36.63 และ 36.94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าความชื้นของดินมีค่าลดลงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 และ 50 วัน มีค่าความชื้น 31.07 และ 30.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 12) จะเห็นได้ว่า มีการเพิ่มขึ้นของค่าความชื้นของดินในช่วงแรก และมีค่าลดลงในช่วงหลัง ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในดิน มีผลให้เกิดน้ำจากกระบวนการหายใจของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ กระบวนการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ และกระบวนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยสลายเศษซากพืช (Moo-Young *et al.*, 1983) เช่น เชื้อรา *T. viride* มีการเจริญได้ดีที่ระดับความชื้น 70 เปอร์เซ็นต์ แต่ผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดที่ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตเอนไซม์จะเกิดขึ้นพร้อมกัน ตั้งแต่การเจริญของเชื้อในช่วงแรกจนเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary เอนไซม์เกิดขึ้นสูงสุด และจะลดลงอย่างรวดเร็ว (วิเชียร และคณะ, 2535) โดยความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายของพืช ความชื้นที่เหมาะสมกับการย่อยสลายเศษพืชจะอยู่ในช่วง 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยเชื้อราและแบคทีเรีย ทั้งคู่มีกลไกพื้นฐานในการย่อยซากพืช คือ การปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาอยู่ในโมเลกุลของซากพืชที่ขนาดใหญ่ให้เล็กลง แล้วดูดซึมผ่านเข้าทางผนังเซลล์ (Richards, 1976)

จากผลงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่า เมื่อเริ่มต้นการทดลองดินมีความชื้น 30 เปอร์เซ็นต์ โดยตลอดระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ดินมีความชื้นอยู่ในช่วง 30.41 - 36.94 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถตรวจพบเชื้อราย่อยเซลลูโลสและกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการย่อยสลายที่เพิ่มขึ้นจนถึง 40 วัน แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *C. verrucosus* 23 สามารถเจริญและเกิดกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากกระบวนการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ใน

ดินที่มีความชื้นค่อนข้างต่ำ และจากรายงานของกานต์มณี และคณะ (2566) พบว่า ดินในพื้นที่สภาพแห้งแล้งที่มีความชื้นในดินต่ำ อยู่ในช่วง 10.20 - 12.56 เปอร์เซ็นต์ สามารถตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในสภาพดินที่มีความชื้นดินต่ำในสภาพแห้งแล้ง โดยกิจกรรมย่อยสลายเซลลูโลสยังคงเกิดขึ้นได้ ถ้ามีแหล่งสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน แต่หากสภาพแวดล้อมมีความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา จะส่งผลต่อการเกิดกระบวนการย่อยสลายของเศษพืชได้สูงขึ้น ซึ่งเชื้อราส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีที่ความชื้นของวัสดุหมัก อยู่ในช่วง 40 - 65 เปอร์เซ็นต์ (ธัญรัตน์ และคณะ, 2551) โดยจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน ได้แก่ เชื้อราและแอคติโนมัยซิส สามารถทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดีกว่าแบคทีเรีย (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541) ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่ต้องการความชื้นในดินที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 50 - 75 เปอร์เซ็นต์ของความจุความชื้นในดิน สำหรับแอคติโนมัยซิสต้องการดินที่มีความชื้นน้อยกว่า และเชื้อราต้องการความชื้นน้อยที่สุด ซึ่งความชื้นในสภาพการหมักวัสดุอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อและการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ ควรมีความชื้นอยู่ในช่วง 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) และจากรายงานของพัชรภรณ์ และ วลัยพร (2562) พบว่า การใช้เชื้อราเริ่มต้นที่มีความเข้มข้น 1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในการหมักวัสดุอินทรีย์ที่มีความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อรา และผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง

ตารางที่ 12 ค่าความชื้นของดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในสภาพโรงเรือนกระจก

ดำรับการทดลอง	ค่าความชื้นดิน (เปอร์เซ็นต์)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	34.32	38.09	37.71	32.76	31.21
2 = น้ำหมักชีวภาพ	35.01	32.30	35.63	31.19	30.19
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	33.94	35.63	36.50	29.48	29.48
4 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	34.51	37.04	37.17	32.74	30.27
5 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	33.49	37.18	36.74	30.50	30.35
6 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	34.55	37.33	37.24	32.11	30.84
7 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	34.36	37.33	36.93	29.30	31.30
8 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	33.80	38.15	37.62	30.51	29.66
ค่าเฉลี่ย	34.25	36.63	36.94	31.07	30.41
F-test	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	1.96	5.88	4.54	5.46	2.86

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT
ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อราอ้อยเซลลูโลสในดิน

จากการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อราอ้อยเซลลูโลสในดินที่มีการใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพแต่ละชนิด และอัตราต่าง ๆ ในการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สภาพโรงเรือนกระจก ตลอดระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ 13) พบว่า ปริมาณเชื้อราอ้อยเซลลูโลสในดินภายหลังการหมักให้เกิดการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 40 และ 50 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ขณะที่ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยดำรับการทดลองที่ 3 ดำรับการทดลองที่ 4 และดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 50 และ 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ปริมาณเชื้อในดินที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีค่าระหว่าง 3.081 - 3.165 log CFU ต่อกรัม มีค่าเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่าระหว่าง 3.532 - 3.556 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าระหว่าง 3.689 - 3.725 log CFU ต่อกรัม และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีค่าระหว่าง 4.654 - 4.816 log CFU ต่อกรัม เมื่อระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีปริมาณเชื้อลดลง มีค่าระหว่าง 3.561 - 4.524 log CFU ต่อกรัม ซึ่งมีปริมาณเชื้อในดินมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับดำรับการทดลองที่ 6 ดำรับการทดลองที่ 7 และดำรับการทดลองที่ 8 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 50 และ 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ พบว่า ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 และ 30 วัน มีค่าปริมาณเชื้อระหว่าง 3.089 - 3.139 3.561 - 3.608 และ 3.113 - 3.785 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีค่าปริมาณเชื้อสูงสุด มีค่าระหว่าง 4.629 - 4.899 log CFU ต่อกรัม และมีค่าลดลงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีค่าระหว่าง 3.962 - 4.431 log CFU ต่อกรัม ยังคงพบว่าทุกดำรับการทดลองข้างต้นมีปริมาณเชื้อในดินสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 และ 30 วัน มีปริมาณเชื้อ 2.909 3.504 และ 3.674 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน มีปริมาณเชื้อสูงสุด 4.475 log CFU ต่อกรัม และมีค่าลดลงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน มีค่า 4.381 log CFU ต่อกรัม โดยทุกดำรับการทดลองมีปริมาณเชื้อราอ้อยเซลลูโลสในดินตลอดระยะเวลา 50 วัน มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดำรับควบคุมไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ มีปริมาณเชื้อในดินต่ำสุดทุกช่วงระยะเวลาการย่อยสลายตลอด 50 วัน มีค่าระหว่าง 2.057 - 3.855 log CFU ต่อกรัม

เมื่อพิจารณาจากผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราอ้อยเซลลูโลสในดินดำรับการทดลองที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส พบว่า ปริมาณเชื้อราในดินมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.081 - 4.899 log CFU ต่อกรัม แต่มีปริมาณเชื้อราสูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ มีค่าระหว่าง 2.057 - 3.855 log CFU ต่อกรัม

และมีปริมาณเชื้อราในดินสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของเมธานี และคณะ (2561) พบว่า ดินสภาพธรรมชาติในพื้นที่เกษตรอินทรีย์มีปริมาณเชื้อราในดินระหว่าง 2.100 - 3.030 log CFU ต่อกรัม ดินในพื้นที่เกษตรใช้สารเคมีมีปริมาณเชื้อราในดินระหว่าง 2.100 - 2.910 log CFU ต่อกรัม แต่จาก ผลงานวิจัยนี้จะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์ เอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินสูง อยู่ในช่วง 3.081 - 4.899 log CFU ต่อกรัม มีปริมาณเชื้อราสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดินตามธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มจำนวนประชากร ของเชื้อราย่อยเซลลูโลสเริ่มต้นในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในกระบวนการหมักวัสดุอินทรีย์ จะเกิดการปลดปล่อยสารอินทรีย์ที่เป็นประโยชน์สำหรับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ส่งผลต่อ การเพิ่มขึ้นของเชื้อจากธรรมชาติในกระบวนการหมัก และจะมีปริมาณเชื้อลดลงเมื่อแหล่งสารอินทรีย์ ถูกย่อยสลายหมด (Alexopoulos *et al.*, 1996) และจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส มีผลให้ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดินมีค่าไม่แตกต่างกัน เนื่องมาจากการใช้สารสกัดหยาบของเอนไซม์เซลลูเลส สามารถย่อยสลายเซลลูโลสองค์ประกอบของเซลล์พืชได้โดยตรง ซึ่งภายหลังการย่อยสลายจะทำให้ได้ สารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกลูโคสจะเป็น แหล่งพลังงานและสารอาหารให้กับเชื้อรานำไปใช้ได้โดยตรง เพื่อนำไปสังเคราะห์เซลล์โดยเฉพาะ การสร้างโปรโตพลาสซึม (protoplasm) ภายในเซลล์ใหม่ ทำให้จำนวนเซลล์ของเชื้อรากลุ่มย่อยสลาย สารอินทรีย์ในสภาพธรรมชาติเพิ่มขึ้น (วรรณลดา, 2538) ซึ่งการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ถูกย่อยสลาย และนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานจุลินทรีย์ดิน มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ดิน และการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพจุลินทรีย์ดิน (ปัทมา และ อรรณพ, 2552)

ตารางที่ 13 ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลส (log CFU ต่อกรัม)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	2.057 c	2.629 b	2.675 b	3.855 c	3.587 de
2 = น้ำหมักชีวภาพ	2.909 b	3.504 a	3.674 a	4.475 b	4.381 a
3 = ผลิทดักแด้รา <i>C. verrucosus</i> 23					
ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.165 a	3.546 a	3.689 a	4.654 ab	3.901 cd
4 = ผลิทดักแด้รา <i>C. verrucosus</i> 23					
ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.081 a	3.532 a	3.725 a	4.781 ab	3.561 e
5 = ผลิทดักแด้รา <i>C. verrucosus</i> 23					
ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.103 a	3.556 a	3.718 a	4.816 ab	4.524 a
6 = ผลิทดักแด้เอนไซม์เซลลูเลส					
อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.139 a	3.608 a	3.759 a	4.796 ab	3.962 bc
7 = ผลิทดักแด้เอนไซม์เซลลูเลส					
อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.100 a	3.561 a	3.113 ab	4.629 ab	4.431 a
8 = ผลิทดักแด้เอนไซม์เซลลูเลส					
อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.089 a	3.598 a	3.785 a	4.899 a	4.256 ab
F-test	**	**	*	**	**
CV (%)	3.17	3.60	11.16	4.55	4.53

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยการใช้ DMRT

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

5) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินตามช่วงเวลาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสในอัตราต่าง ๆ ต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก ตลอดระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 20 30 และ 40 วัน พบว่า มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) (ตารางที่ 14) ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลายที่ 10 วัน ดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด 3.05 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับดำรับการทดลองที่ 7 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน 2.60 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง แต่มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองอื่น ๆ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายที่ 20 วัน พบว่า ดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุด 3.59 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสในอัตราต่าง ๆ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 - 20 วัน มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และในดำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายที่ 30 วัน พบว่า ดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุด 3.89 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองอื่น เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 วัน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 50 วัน พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส หรือน้ำหมักชีวภาพ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 และ 50 วัน มีค่าระหว่าง 1.74 - 2.27 และ 1.20 - 1.34 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ทุกอัตรา ยังคงมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับควบคุมการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าต่ำสุด มีค่าระหว่าง 0.16 - 1.97 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม

เอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานผลการทดลองของจันจิรา และ วรยา (2558) พบว่า การเปลี่ยนแปลง กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินหลังจากการสับกลบถั่วพรีร่วมกับการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ คุณภาพสูง อัตรา 200 - 400 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับการปลูกข้าวโพดหวานอินทรีย์ มีผลให้กิจกรรม เอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 45 วัน มีค่าระหว่าง 1.21 - 1.28 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ซึ่งต่างจากรายงานของพนิดา และ อโนชา (2558) พบว่า การเปลี่ยนแปลงกิจกรรม เอนไซม์เซลลูเลสภายใต้การจัดการดินในระบบปลูกไม้ผลอินทรีย์ หลังจากการใส่ปุ๋ยคอก อัตรา 30 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี ร่วมกับการปลูกถั่วเวอร์นาโนสไตโล มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ในดินสูงสุด 6.80 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ขณะที่การใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 50 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี ร่วมกับการปลูกถั่วลิสง การใส่ปุ๋ยอินทรีย์คุณภาพสูงอัตรา 6 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี ร่วมกับการปลูกถั่วเวอร์นาโนสไตโล และการใส่ปุ๋ยหมัก 50 กิโลกรัมต่อต้นต่อปี ร่วมกับการปลูก ถั่วเวอร์นาโนสไตโล มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน 6.08 5.58 และ 6.38 ไมโครกรัมของกลูโคส ต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่า ชนิดและปริมาณของวัสดุอินทรีย์ ที่ใส่ลงดินที่แตกต่างกัน และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ เซลลูเลสในดินที่แตกต่างกันด้วย

ตารางที่ 14 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับการทดลอง	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ($\mu\text{g glucose g}^{-1} \text{ soil h}^{-1}$)				
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน
1 = ควบคุม	0.16 d	1.47 d	1.97 bc	1.15 c	0.79 c
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1.49 c	1.87 cd	3.89 a	2.12 ab	0.99 bc
3 = ผลิตกัณัฑรา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.06 bc	2.53 b	2.61 b	2.09 ab	1.34 a
4 = ผลิตกัณัฑรา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	1.49 c	3.59 a	2.63 b	2.21 ab	1.31 ab
5 = ผลิตกัณัฑรา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	3.05 a	2.48 bc	1.96 bc	2.27 a	1.29 ab
6 = ผลิตกัณัฑเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	1.46 c	2.75 b	1.88 c	1.74 b	1.21 ab
7 = ผลิตกัณัฑเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	2.60 ab	2.84 b	2.22 bc	1.85 ab	1.29 ab
8 = ผลิตกัณัฑเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่	1.69 c	2.64 b	2.37 bc	2.16 ab	1.20 ab
F-test	**	**	**	**	*
CV (%)	23.41	14.21	16.74	14.07	15.53

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด 3.05 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และการใช้น้ำหมักชีวภาพ มีค่า 1.69 และ 1.49 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ มีค่าสูงกว่าคิดเป็น 80.47 และ 104.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ประกอบด้วยปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 เท่ากับ 15.53 log CFU ต่อกรัม และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ขณะที่ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสมีเพียงเอนไซม์ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.227 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และจากการทดสอบประสิทธิภาพของทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ ต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินสภาพโรงเรือนกระจก แสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมกับเอนไซม์เซลลูเลส สามารถส่งเสริมการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้สูง เมื่อพิจารณาจากค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างดิน มีค่าสูงกว่าคิดเป็น 80.47 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างดินที่มาจากการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *C. verrucosus* 23 และประสิทธิภาพของเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ ภายหลังการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยใช้เวลาหมัก 10 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Deshpande *et al.* (2008) พบว่า การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา เช่น *T. reesei* *A. niger* และเชื้อผสม โดยใช้วิธีการหมักแบบแห้ง จากการใช้ขี้เลื่อยและผักตบชวาเป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า การเลี้ยงเชื้อ *T. reesei* แบบเดี่ยว ใช้เวลาหมักวัสดุ 10 วัน สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด เมื่อเกิดกระบวนการหมักมีการผลิตเอนไซม์ได้เพิ่มขึ้น 2 - 3 เท่า ขณะที่ดำรับการทดลองการใช้น้ำหมักชีวภาพปลา อัตรา 5 ลิตรต่อไร่ ตรวจพบค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ แต่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสน้อยกว่าการใส่ผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ ทั้งนี้จากรายงานของชนากานต์ และคณะ (2565) พบว่า การหมักฟางข้าวด้วยน้ำหมักชีวภาพอัตราเจือจาง 1 : 10 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 20.95 เปอร์เซ็นต์ โดยคุณสมบัติของน้ำหมักชีวภาพปลา มีองค์ประกอบของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส อินทรีย์วัตถุ และค่าการนำไฟฟ้าสูง ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานและกิจกรรมการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ อีกทั้งในน้ำหมักชีวภาพมีเชื้อ *Bacillus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลส เอนไซม์โปรติเอสทำหน้าที่ย่อยสลายโปรตีน และเอนไซม์ฟอสฟาเทสทำหน้าที่ปลดปล่อยธาตุฟอสฟอรัสให้เป็นประโยชน์ต่อพืช (โสฬส, 2559) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ

วีณารัตน์ (2553) พบว่า การหมักฟางข้าวด้วยน้ำหมักชีวภาพจากปลา ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวมากตามไปด้วย และสอดคล้องกับรายงานของนวลจันทร์ (2557) พบว่า การหมักฟางข้าวด้วยน้ำหมักชีวภาพปลา มีผลทำให้มีปริมาณแบคทีเรีย และปริมาณแอกติโนมัยซิสย่อยสลายเซลลูโลสเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก และส่งผลต่อการย่อยสลายฟางข้าวที่เพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาจากข้อมูลผลการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ ในอัตราที่แตกต่างกันต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพโรงเรือนกระจก จึงคัดเลือกวิธีการและอัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ คือ ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ใช้ระยะเวลาย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการปลูกพืช เป็นวิธีการที่เหมาะสมในการนำไปใช้ศึกษาผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อการเปลี่ยนแปลงของสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลองต่อไป

4.7.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังต่อการย่อยสลายของต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในทุ่งตาข่ายทดลอง ในสภาพแปลงทดลองจาก 2 รอบการปลูก

1) ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังแบบผงละลายน้ำ ต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในทุ่งตาข่ายทดลอง ในสภาพแปลงทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 มีรายละเอียดดังนี้

(1) ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช

จากการเก็บตัวอย่างน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในทุ่งตาข่ายทดลอง เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (ตารางที่ 15) พบว่า ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 70.29 - 83.40 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่า ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 56.76 - 63.06 เปอร์เซ็นต์ แต่มีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุด 70.75 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า การใช้

ผลิตภัณฑ์เร่งการย่อยต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีผลต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็วขึ้น คิดเป็นค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไป 39.77 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากกว่าตำรับควบคุมที่มีค่า 29.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 30 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่า 49.95 และ 47.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่มีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ ที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 56.89 - 61.43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 วัน จะเห็นได้ว่า ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชลดลงอย่างรวดเร็ว โดยตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 10.03 - 13.88 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังคงมีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชสูงสุด 20.71 เปอร์เซ็นต์ และในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 50 - 60 วัน มีแนวโน้มการลดลงของค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชค่อนข้างคงที่ โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 50 และ 60 วัน มีค่าต่ำสุด 4.43 และ 3.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 1

ดำรับการทดลอง	น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (เปอร์เซ็นต์)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	83.40	70.75 a	61.43 a	20.71 a	8.59 a	8.01 a
2 = น้ำหมักชีวภาพ	70.29	63.06 b	56.89 a	11.40 b	5.31 bc	6.71 ab
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	78.14	61.50 b	60.73 a	13.88 b	4.43 c	3.13 c
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	75.01	56.76 b	49.95 b	10.03 b	7.63 ab	6.70 ab
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	83.23	59.60 b	47.83 b	12.71 b	7.59 ab	4.96 bc
F-test	ns	**	**	*	*	**
CV (%)	9.04	7.04	7.64	26.17	25.14	23.27

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

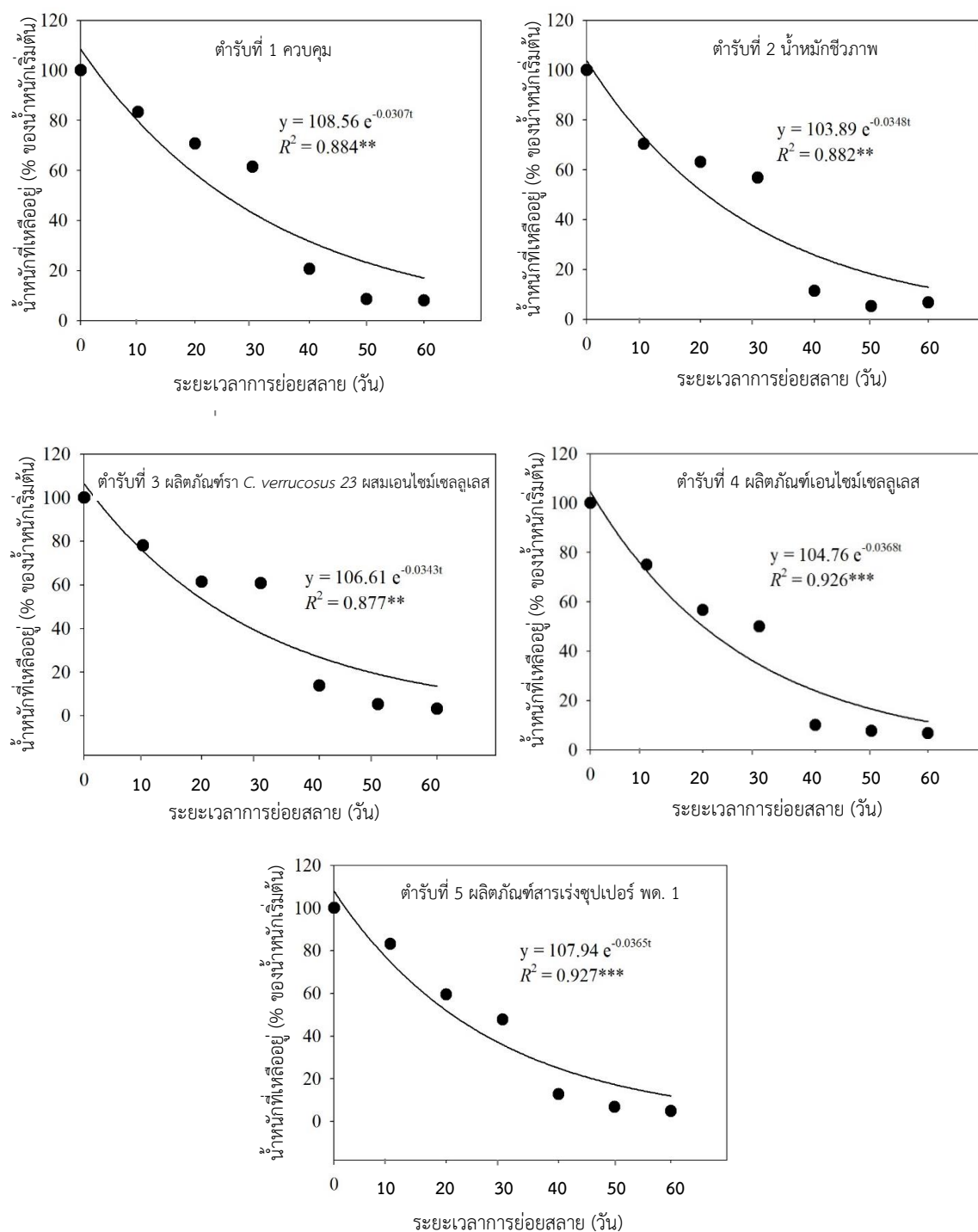
* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

(2) อัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากข้อมูลน้ำหนักแห้งของซากพืชในถุงตาข่ายไนล่อนที่เก็บตามช่วงเวลาการย่อยสลายทุก 10 วัน ตลอดระยะเวลา 60 วัน เมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช ตามช่วงเวลาทุก 10 วัน จากผลการทดลองของการปลูกรอบที่ 1 นำมาประเมินรูปแบบอัตราการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ด้วยสมการแบบจำลอง พบว่า ไม่สามารถใช้สมการแบบจำลอง double pool ในการแบ่งการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกเร็ว และช่วงหลังช้าลง (ปีทมา และ อรรถนพ, 2552) ทั้งนี้อาจเกิดข้อผิดพลาดในขั้นตอนการสุ่มตัวอย่างตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ใส่ในถุงตาข่ายไนล่อน ที่อาจมีการสุ่มสัดส่วนของใบพืชมากกว่าส่วนของลำต้น และข้อปล้อง เนื่องจากส่วนของเนื้อใบมีส่วนประกอบของเซลลูโลสที่ย่อยสลายง่ายจะเกิดอัตราการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งลดลงรวดเร็ว และเป็นเนื้อเยื่อส่วนที่ย่อยสลายได้ง่าย (Leash and Daynard, 1973) ขณะที่ส่วนของลำต้นและข้อปล้องจะเป็นส่วนที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ลิกนิน และไคติน ที่ย่อยสลายยาก (Cummins, 1970) และอาจเกิดจากการเก็บถุงตัวอย่างไม่ตรงช่วงเวลาที่กำหนด จึงอาจส่งผลให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช รอบเก็บที่ 40 วัน ลดลงมาก เกิดการสูญเสียน้ำหนักแห้งของเศษพืชสูงผิดปกติ อีกทั้งอาจมีผลจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณจุลินทรีย์ เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามในการปลูกรอบที่ 1 ยังสามารถประเมินด้วยสมการ Olson (1963) ในการหาค่าคงที่อัตราการย่อยสลายรวมในช่วงเวลาการย่อยสลาย 10 วัน (ค่า k) เพื่ออธิบายอัตราการย่อยสลายของวัสดุ แสดงดังภาพที่ 19 เมื่อพิจารณาค่า k จากกราฟ ซึ่งมีรูปแบบค่าคงที่ของการย่อยสลายแบบเอ็กซ์โพเนนเชียลต่อหน่วยเวลาทุก 10 วัน ของแต่ละตำรับการทดลอง พบว่า ถ้าค่า k สูง แสดงค่าเป็นแบบจำลองการถดถอยรูปแบบของอัตราการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ลดลงตามช่วงเวลาสูง ซึ่งค่า k จะแสดงเครื่องหมายลบ เมื่อพิจารณาจากกราฟของตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าคงที่ของการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงตามเวลาสูงสุด มีค่า k เท่ากับ 0.0368 รองลงมา คือ ตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า k เท่ากับ 0.0365 ขณะที่ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า k เท่ากับ 0.0348 และตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ค่า k เท่ากับ 0.0343 ขณะที่ตำรับควบคุม มีค่า k ต่ำสุด เท่ากับ 0.0307 สามารถประเมินได้เบื้องต้นว่ามีค่าคงที่ของการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงตามช่วงเวลา 10 วัน ตลอด 60 วัน น้อยสุดจากการประเมินเบื้องต้นด้วยสมการแสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ช่วยเพิ่มค่าคงที่ k ของอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงได้สูงกว่าการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์

เมื่อพิจารณาจากผลการประเมินด้วยสมการ Olson (1963) จากค่าอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังใส่ลงในดิน จากการใช้ผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส จากข้อมูลน้ำหนักแห้งของซากพืชในถุงตาข่ายไนล่อนที่เก็บในแต่ละช่วงเวลาการย่อยสลายทุก 10 วัน ตลอด 60 วัน เมื่อพิจารณาจากค่าคงที่อัตราการย่อยสลายรวมในช่วงเวลาการย่อยสลาย เมื่อพิจารณา ค่า k จากกราฟ เพื่อใช้ในการอธิบายอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูกรอบที่ 1 จะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด มีค่า k อยู่ในช่วง 0.0343 - 0.0368 และมีค่าสูงกว่าค่ารับควบคุมที่มีค่า k เท่ากับ 0.0307 ซึ่งอาจมีค่า k ไม่ต่างกันมากนัก แต่อย่างไรก็ตามค่า k เป็นเพียงค่าประเมินเบื้องต้นจากสมการเท่านั้น ซึ่งจะต้องพิจารณาร่วมกับข้อมูลอื่น ๆ และจากการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับผลวิเคราะห์ ได้แก่ ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส และปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินที่มีค่าสูงกว่าค่ารับควบคุม และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายไนล่อนมีค่าต่ำกว่าค่ารับควบคุม ตั้งแต่ช่วงเวลาการย่อยสลาย 10 วัน จนถึง 40 วัน ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลส จะช่วยเพิ่มจุลินทรีย์และเอนไซม์เซลลูเลสในการเร่งอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงได้เร็วขึ้น เมื่อวัสดุอินทรีย์เกิดกระบวนการย่อยสลายจะเกิดการปลดปล่อยสารอินทรีย์และธาตุอาหารพืชที่เป็นประโยชน์คืนลงสู่ดิน (Georgieva *et al.*, 2005) ซึ่งสารอาหารดังกล่าวจะช่วยส่งเสริมความเป็นประโยชน์ของกลุ่มจุลินทรีย์ในดินตามธรรมชาติ พืชสามารถดูดธาตุอาหารนำใช้ประโยชน์ต่อการเจริญเติบโต (ธงชัย, 2550) และดินที่มีกลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในปริมาณสูง จะส่งผลต่อกระบวนการผลิตเอนไซม์ที่มีผลต่ออัตราการย่อยสลายเศษพืชสูงกว่าอัตราการย่อยสลายเศษพืชตามธรรมชาติ (ปัทมา และคณะ, 2556)



ภาพที่ 19 ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1

ที่มา: ข้อมูลจากตารางที่ 15 คำนวณจากค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของซากพืชในถุงตาข่ายไนลอน แต่ละช่วงเวลาหารด้วยน้ำหนักแห้งของซากพืชเมื่อเริ่มวางทิ้งไว้ คูณด้วย 100

จากข้อมูลค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 1 ให้ผลการทดลองสอดคล้องเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ให้ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย (k) สูงกว่าค่ารับควบคุม หากพิจารณาจากข้อมูลค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช จากการปลูกรอบที่ 1 ข้อมูลจากตารางที่ 15 พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช จากการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ภายหลังระยะเวลาย่อยสลายช่วง 0 ถึง 10 วัน มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช อยู่ในช่วง 75.01 - 78.14 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่สลายตัวของเศษพืช อยู่ในช่วง 21.86 - 24.99 เปอร์เซ็นต์ เกิดการสูญเสียน้ำหนักแห้งของเศษพืชสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ ระยะเวลาย่อยสลายช่วง 10 ถึง 20 วัน มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช อยู่ในช่วง 56.76 - 61.50 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่สลายตัวของเศษพืช อยู่ในช่วง 16.64 - 18.25 เปอร์เซ็นต์ และเกิดการสูญเสียน้ำหนักแห้งของเศษพืชสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่ารับควบคุม ทั้งในระยะเวลาย่อยสลายช่วง 0 ถึง 10 วัน และช่วง 10 ถึง 20 วัน คิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่สลายตัวของเศษพืช 16.60 เปอร์เซ็นต์ และ 12.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า การใช้ ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ฉีดพ่นเศษ ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ แล้วสับกลบทั้งระยะเวลาย่อยสลาย 10 วัน ถึงแม้จะมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ที่เหลืออยู่ของเศษพืช อยู่ในช่วง 75.01 - 78.14 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตาม ก็ไม่ส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตของพืช เมื่อพิจารณาจากข้อมูลด้านการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ค่าความเขียวใบ และความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ภายหลังการปลูกที่อายุ 30 วัน มีค่าสูงกว่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่ารับควบคุม ถึงแม้ว่าจะให้ค่าน้ำหนักเมล็ดแห้ง ไม่แตกต่างกันทางสถิติก็ตาม แต่มีแนวโน้มให้ค่าน้ำหนักเมล็ดแห้งสูงกว่าค่ารับควบคุม ซึ่งให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ในการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้วทั้งระยะเวลาย่อยสลาย 10 วัน ถึงแม้จะมีเปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช อยู่ในช่วง 75.01 - 78.14 เปอร์เซ็นต์ ก็ไม่ส่งผลกระทบต่อการ เจริญเติบโตของพืชปลูก ซึ่งกรณีการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ภายหลังการหยอดเมล็ด ยังมีช่วงระยะ การย่อยสลายเศษพืชก่อนการงอกของรากอีกประมาณ 3 วัน ในระยะเริ่มหยอดเมล็ดแปลงปลูก และระยะที่ต้นข้าวโพดมี 2 ใบ และความสูงที่ 10 เซนติเมตร ในระยะเวลา 7 วัน หลังจากการปลูก (ไสว, 2534) ส่วนกรณีการปลูกพืชอื่น เช่น ข้าว ภายหลังการหว่านเมล็ดจะมีระยะเวลาก่อนการงอก ของเมล็ดประมาณ 4 - 7 วัน (ทวี, 2541) จึงมีผลทำให้การย่อยสลายเศษพืชที่ยังเหลืออยู่ ในดินไม่ส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตของพืช

(3) ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดิน

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดิน (ตารางที่ 16) พบว่า ช่วงแรกของการย่อยสลาย 10 - 20 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณเชื้อรา ระหว่าง 5.680 - 5.880 log CFU ต่อกรัม ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีปริมาณเชื้อรา ระหว่าง 5.764 - 5.993 log CFU ต่อกรัม และช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 40 และ 50 วัน มีปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดินมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อรา สูงสุด 6.863 log CFU ต่อกรัม มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อรา ระหว่าง 6.771 - 6.824 log CFU ต่อกรัม โดยปริมาณเชื้อรา มีค่าลดลงที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 40 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อรา สูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ 6.642 และ 6.715 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาการย่อยสลาย 50 วัน การใช้ผลิตภัณฑ์ทุกชนิด มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีปริมาณเชื้อรา ระหว่าง 5.396 - 5.498 log CFU ต่อกรัม แต่ทุกตำรับการทดลองมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด ขณะที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 60 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีปริมาณเชื้อรา ระหว่าง 5.387 - 5.497 log CFU ต่อกรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ผิดพันลงบนเศษซากพืชในแปลงและลงดิน มีผลให้ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดิน เพิ่มขึ้นในช่วงการย่อยสลายเศษพืชที่ระยะเวลา 30 วัน หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดินเริ่มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ของน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช และอัตรา การย่อยสลายเศษพืชลดลง ภายหลังการย่อยสลาย 30 วัน ทำให้ปริมาณเชื้อราลดลง เนื่องจากจุลินทรีย์ขาดแหล่งอาหาร และสารตั้งต้นในกระบวนการย่อยสลายเศษพืช

ตารางที่ 16 ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อรา (log CFU ต่อกรัม)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	5.690	5.764	5.858 b	5.674 c	4.457 b	5.433
2 = น้ำหมักชีวภาพ	5.880	5.918	6.824 a	5.859 b	5.396 a	5.456
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	5.844	5.839	6.863 a	6.642 a	5.437 a	5.443
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	5.750	5.993	6.771 a	6.715 a	5.432 a	5.387
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	5.680	5.874	6.809 a	5.759 bc	5.498 a	5.497
F-test	ns	ns	**	**	**	ns
CV (%)	3.09	2.02	2.05	1.55	2.77	2.08

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

(4) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน (ตารางที่ 17)

พบว่า ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน สูงสุด 3.56 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ ผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 3.29 - 3.42 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่า 4.13 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับ ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1

อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.57 - 3.69 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ขณะที่ดำรับควบคุมยังคงมีค่าต่ำสุด และช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 และ 40 วัน ทุกดำรับการทดลองมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.02 - 3.60 และ 2.93 - 3.36 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมงตามลำดับ และมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึง 60 วัน ทุกดำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 0.59 - 0.72 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง

ตารางที่ 17 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลองจากการปลูกรอบที่ 1

ดำรับการทดลอง	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ($\mu\text{g glucose g}^{-1} \text{ soil h}^{-1}$)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	2.93 b	3.09 c	3.02	2.93	2.23 a	0.63
2 = น้ำหมักชีวภาพ	3.29 ab	3.57 b	3.13	3.09	1.59 b	0.65
3 = ผลิทดักแธรา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	3.56 a	4.13 a	3.60	3.09	1.68 b	0.66
4 = ผลิทดักแธราเอนไซม์เซลลูเลส	3.42 a	3.68 b	3.32	3.36	2.05 a	0.72
5 = ผลิทดักแธราสารเร่งซูเปอร์ พด. 1	3.29 ab	3.69 b	3.37	3.15	1.43 b	0.59
F-test	*	**	ns	ns	**	ns
CV (%)	7.37	6.64	9.22	7.43	10.63	22.83

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า จากการศึกษาการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองด้วยเทคนิคถุงตาข่ายที่มีขนาดรูเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร จากการปลูกรอบที่ 1 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ส่งผลต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ดีที่ 10 - 20 วันแรก สามารถย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ถึง 36.94 - 43.24 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุเริ่มต้น สอดคล้องกับค่าวิเคราะห์ปริมาณเชื้อราในดิน และค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ในดินที่มีค่าสูงในช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 - 30 วัน และมีค่าลดลงที่ 40 วัน ทั้งนี้เนื่องจากการเติมเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลสลงในเศษพืชจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกิจกรรมจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของซากพืชได้ดี (Deacon, 1980) สอดคล้องกับรายงานของ Tchobanoglous *et al.* (1993) พบว่า การเติมเชื้อเริ่มต้นในการหมักวัสดุจะช่วยลดระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาการย่อยสลาย และช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายของวัสดุหมักได้เร็วขึ้น และสอดคล้องกับรายงานของ Tian *et al.* (1992); Kaewpredit *et al.* (2008) พบว่า ซากพืชที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ ตัวอย่างเช่น ฟางข้าว มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 78 หรือ ต้นและใบข้าวโพดมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 62 จะเกิดกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยกิจกรรมจุลินทรีย์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงหมุนเวียนธาตุในช่วงแรกของการย่อยสลายเกิดขึ้นเร็ว 1 - 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นกระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นในระดับต่ำ จะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีค่า k ระหว่าง 0.0343 - 0.0368 มีค่าสูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพด จากรายงานของปรีชา และคณะ (2562) พบว่า อัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดด้วยเทคนิคถุงตาข่าย จากการหมักวัสดุที่ใช้ผงเชื้อผสมแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลส มีอัตราการย่อยสลายสูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 โดยมีค่าอัตราการย่อยสลายสูงสุด เท่ากับ 0.0272 และมีค่าอัตราการย่อยสลายของวัสดุหมักสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อเช่นเดียวกัน

2) ผลการศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังแบบผงละลายน้ำ ต่อการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลอง ในสภาพแปลงทดลองจากการปลูกรอบที่ 2 มีรายละเอียดดังนี้

(1) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช

จากการเก็บตัวอย่างน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถุงตาข่ายทดลองจากการปลูกรอบที่ 2 เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (ตารางที่ 18) พบว่า ในช่วงแรกของการย่อยสลาย 10 และ 20 วัน ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำสุด 55.38 และ 42.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

และมีค่าต่ำกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และตำรับควบคุมที่มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลือน้อยของเศษพืชสูงสุด 68.71 และ 78.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน ในตำรับควบคุมยังคงมีค่าสูงสุด 66.33 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลือน้อยของเศษพืชลดลงต่ำสุดอย่างต่อเนื่องไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 30 40 และ 50 วัน มีค่าระหว่าง 39.73 - 41.08 34.26 - 36.79 และ 24.93 - 29.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ยังคงพบว่า ตำรับควบคุมมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลือน้อยของเศษพืชสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในช่วงระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 60 วัน พบว่า ค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลือน้อยของเศษพืชลดลงอย่างรวดเร็ว โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ยังคงมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลือน้อยของเศษพืชต่ำสุด 3.64 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตำรับควบคุมยังคงมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลือน้อยของเศษพืชสูงสุดตลอดช่วงการย่อยสลาย 60 วัน แสดงให้เห็นได้ว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลทำให้เกิดการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็วขึ้น โดยใช้ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปมีค่ามากที่สุด 44.62 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปสูงกว่าผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 31.71 - 37.32 เปอร์เซ็นต์ และยังคงมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุมที่มีปริมาณน้ำหนักแห้งของเศษพืชที่หายไปเพียง 21.40 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 18 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช (เปอร์เซ็นต์)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	78.60 a	66.33 a	54.03 a	42.08 a	36.14 a	6.89 a
2 = น้ำหมักชีวภาพ	62.68 bc	47.28 b	39.73 b	34.26 bc	24.93 b	3.90 bc
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	55.38 c	42.79 b	41.08 b	36.79 b	25.98 b	3.64 c
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	64.96 bc	48.29 b	40.41 b	31.56 c	29.78 b	4.68 b
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1	68.71 ab	44.66 b	39.90 b	36.33 b	28.57 b	4.66 b
F-test	**	**	**	*	*	**
CV (%)	9.74	8.77	11.34	8.37	16.59	12.42

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยการใช้ DMRT

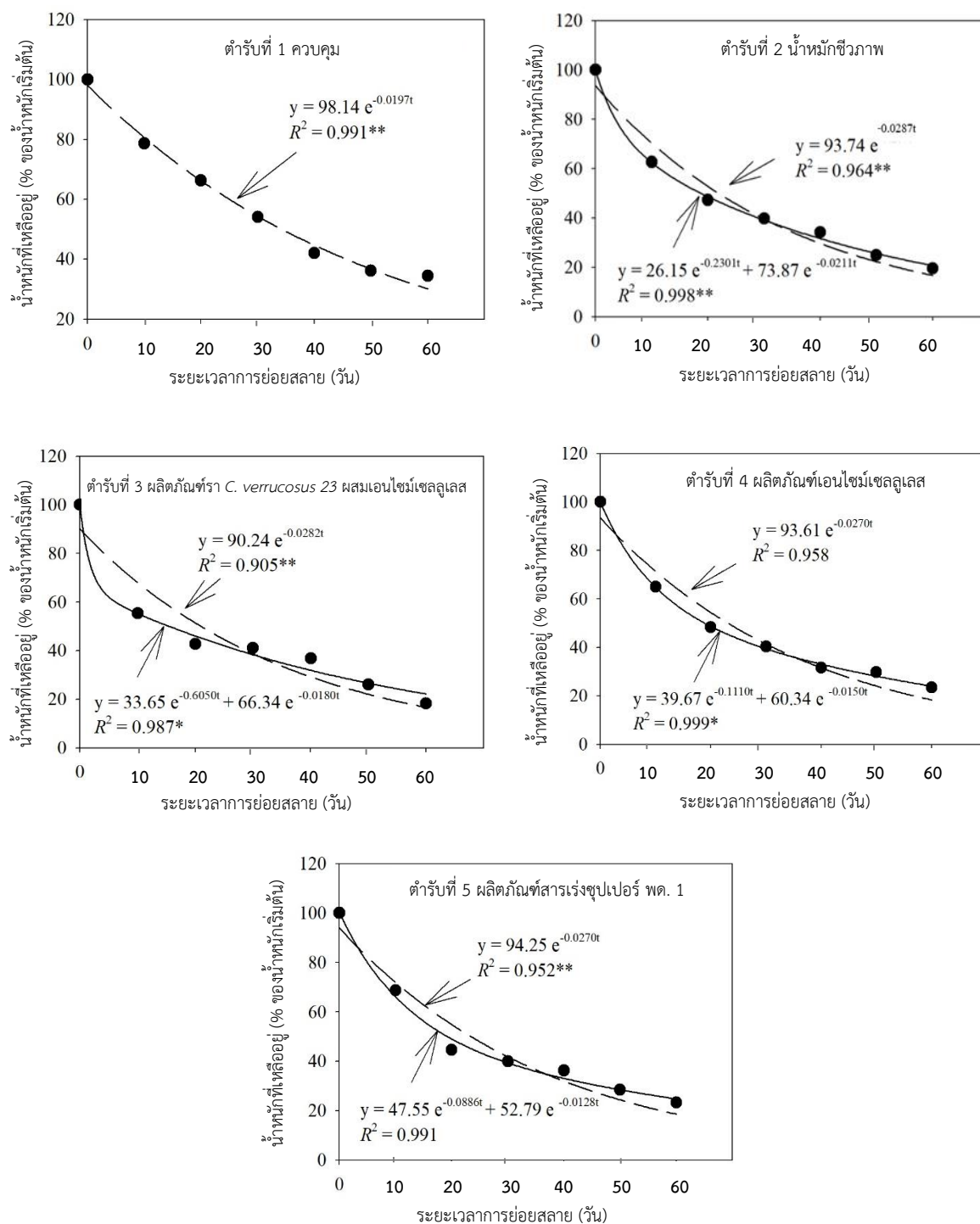
* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

(2) อัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

เมื่อพิจารณาอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ภายหลังไถลงดินตามช่วงเวลา จากการปลูกรอบที่ 2 (ภาพที่ 20) เมื่อพิจารณาค่าคงที่ของการย่อยสลายรวมจากกราฟเส้นประ จากการประเมินด้วยสมการ Olson (1963) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าคงที่ของการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงตามเวลาสูงสุด มีค่า k เท่ากับ 0.0287 รองลงมา คือ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า k เท่ากับ 0.0282 ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า k เท่ากับ 0.0270 ขณะที่ตำรับควบคุมมีค่าคงที่อัตราการรวมของการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงตามเวลาดำสุด มีค่า k เท่ากับ 0.0197 เมื่อพิจารณา

แบบจำลองการถดถอยรูปแบบ double pool สามารถแบ่งการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์เป็น 2 ช่วง จากกราฟเส้นทึบ พบว่า อัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วงแรกมีการย่อยสลายเร็ว ในช่วง 10 - 20 วันแรก และช่วงหลังมีการย่อยสลายช้าลง ดังนั้น ค่าคงที่ของการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วงแรก คือ k_1 ในตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าคงที่ของการย่อยสลายลดลงตามเวลา สูงสุด มีค่า k_1 เท่ากับ 0.6050 รองลงมา คือ ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า k_1 เท่ากับ 0.2301 0.1110 และ 0.0886 ตามลำดับ ส่วนในช่วงที่ 2 หรือช่วงหลังของการย่อยสลายเป็นแบบช้า พิจารณาจากค่าคงที่ของการย่อยสลาย k_2 พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าคงที่ของการย่อยสลายสูงสุด มีค่า k_2 เท่ากับ 0.0211 รองลงมา คือ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า k_2 เท่ากับ 0.0180 0.0150 และ 0.0128 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของปรีชา และคณะ (2562) พบว่า การย่อยสลายของวัสดุหมักซังข้าวโพด และผักตบชวาด้วยผงเชื้อผสมแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลส ช่วงแรกอัตราการย่อยสลายสูงในสัปดาห์ที่ 2 โดยมีอัตราการย่อยสลาย 0.0272 และช่วงหลังมีค่าอัตราการย่อยสลายลดลงมีค่า 0.0132 ทั้งนี้รูปแบบและอัตราการย่อยสลายของค่า k_1 และ k_2 จาก double pool มีสหสัมพันธ์สูงทางบวกกับไนโตรเจน วัสดุที่มีไนโตรเจนสูงส่งเสริมต่อการย่อยสลายเร็ว (Puttaso, 2011) จะเห็นได้ว่า ตำรับควบคุมไม่สามารถแบ่งช่วงการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ เช่นเดียวกับการปลูกรอบที่ 1 และเมื่อพิจารณาจากค่าคงที่ของการย่อยสลายรวม (k) ของปี 1 มีค่าสูงกว่าปี 2 เมื่อนำข้อมูลน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชมาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ในปี 1 ช่วงการย่อยสลาย 10 วัน ถึง 20 วัน มีการสูญเสียน้ำหนักแห้งของเศษพืชไม่มาก แต่ในช่วงระยะเวลาการย่อยสลายที่ 30 วัน ถึง 40 วัน มีการสูญเสียน้ำหนักแห้งของเศษพืชสูงมาก สอดคล้องกับปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสเพิ่มขึ้นสูงสุด จึงอาจส่งผลต่อค่าคงที่ของการย่อยสลายรวม (k) ของปี 1 มีค่าสูงกว่าปี 2 ซึ่งต่างจากปี 2 มีค่าคงที่ของการย่อยสลายช่วงแรกเร็ว และช่วงหลังช้า ส่งผลต่อการสูญเสียน้ำหนักแห้งของเศษพืชต่ำ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อาจมีผลมาจากปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมในสภาพแปลง เช่น อุณหภูมิ และความชื้น (Meentemeyer, 1978) ส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่างกัน ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มประชากรของเชื้อรา และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส รวมถึงการสูญเสียน้ำหนักแห้งของวัสดุที่ต่างกัน (ธัญรัตน์ และคณะ, 2551)



ภาพที่ 20 ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย (k) ของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2

หมายเหตุ --- หมายถึง ค่าคงที่ของการย่อยสลายรวม
 ——— หมายถึง ค่าคงที่ของการย่อยสลาย แบ่งออกเป็น 2 ช่วง

(3) ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่แปลงทดลอง เพื่อวิเคราะห์ ปริมาณเชื้อรา ย่อยเซลลูโลสในดิน (ตารางที่ 19) พบว่า ช่วงแรกของการย่อยสลาย 10 - 20 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยได้รับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์ รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลา การย่อยสลาย 10 วัน มีปริมาณเชื้อสูงสุด 6.426 log CFU ต่อกรัม เมื่อระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 6.766 log CFU ต่อกรัม แต่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับได้รับการทดลอง ที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ได้รับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์ เอนไซม์เซลลูเลส และได้รับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัม ต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 และ 20 วัน มีปริมาณเชื้อระหว่าง 6.107 - 6.426 และ 6.340 - 6.775 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ แต่ทุกได้รับการทดลองข้างต้นมีค่าสูงกว่า ได้รับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด และช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีแนวโน้มปริมาณเชื้อรา ย่อย เซลลูโลสในดินเพิ่มขึ้นสูงสุด พบว่า ได้รับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสม เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อสูงสุด 6.881 log CFU ต่อกรัม ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับได้รับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อ 6.785 log CFU ต่อกรัม แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับได้รับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ได้รับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 และได้รับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด มีค่าระหว่าง 5.778 - 6.109 log CFU ต่อกรัม เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 วัน ปริมาณเชื้อ เริ่มลดลงมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) พบว่า ได้รับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณเชื้อสูงสุด 5.905 log CFU ต่อกรัม มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับได้รับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และได้รับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า 5.325 และ 5.841 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ แต่ยังคงพบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์เร่งการย่อยสลายต่อซังทุกชนิด มีผลให้ปริมาณเชื้อในดินสูงกว่า ได้รับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด และในช่วงการย่อยสลาย 50 และ 60 วัน ปริมาณเชื้อลดลงต่อเนื่อง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีปริมาณเชื้อระหว่าง 4.622 - 5.535 และ 4.677 - 4.812 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ผลิตภัณฑ์ เอนไซม์เซลลูเลส ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 และน้ำหมักชีวภาพ มีผลให้ปริมาณรา ย่อยเซลลูโลส ในดินเพิ่มขึ้นสูงกว่าได้รับควบคุม

ตารางที่ 19 ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในดินตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อรา (log CFU ต่อกรัม)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	5.344 b	5.366 b	5.778 b	4.529 c	4.622	4.676
2 = น้ำหมักชีวภาพ	6.248 a	6.645 a	6.785 a	5.069 bc	5.449	4.767
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	6.426 a	6.766 a	6.881 a	5.325 ab	5.535	4.750
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	6.346 a	6.775 a	6.109 b	5.905 a	4.623	4.693
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	6.107 a	6.340 a	6.092 b	5.841 a	5.358	4.812
F-test	**	**	*	**	ns	ns
CV (%)	5.20	4.80	6.76	7.44	10.54	6.95

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

(4) ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน

จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน (ตารางที่ 20) พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินมีค่าสูงสุดตั้งแต่ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน และมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดอย่างต่อเนื่องจนถึงระยะเวลาการย่อยสลาย 30 วัน มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ ดังนี้ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดิน ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีค่าสูงสุด 3.25 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ

อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า 2.78 และ 2.76 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ ดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และดำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด มีค่า 2.45 และ 2.48 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ ขณะที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 20 วัน ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้น 4.05 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองอื่น ๆ มีค่าระหว่าง 3.63 - 3.65 ไมโครกรัมของ กลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินเพิ่มขึ้นต่อเนื่องจนถึง 30 วัน มีค่า 4.14 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ ดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 และดำรับควบคุมที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.16 - 3.84 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง เมื่อระยะเวลาการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็น 40 50 และ 60 วัน มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินลดลงอย่างต่อเนื่องไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 3.37 - 3.74 3.28 - 3.79 และ 2.89 - 3.12 ไมโครกรัมของกลูโคสต่อดิน 1 กรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินสูงสุด สอดคล้องกับปริมาณเชื้อราย่อยสลายเซลลูโลสมีค่าสูงสุดตั้งแต่ช่วงระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน จนถึง 30 วัน เช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มเชื้อรา *C. verrucosus* 23 เจริญได้ดีในสภาพอุณหภูมิสูง และมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาภายนอกเซลล์ได้สูง (Soni *et al.*, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีค่าสูง ส่งผลต่อการสูญเสีย น้ำหนักแห้งของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 และ 20 วัน มีค่าสูงสุด 44.62 และ 57.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สูงกว่าดำรับการทดลองอื่น ๆ มีการสูญเสียน้ำหนักแห้งของตอซัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 และ 20 วัน มีค่าระหว่าง 21.40 - 37.32 และ 33.67 - 55.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 20 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสตามช่วงระยะเวลาการย่อยสลายต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในสภาพแปลงจากการปลูกรอบที่ 2

ดำรับการทดลอง	กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ($\mu\text{g glucose g}^{-1} \text{ soil h}^{-1}$)					
	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	2.48 b	3.27 c	3.16 c	3.38	3.28	2.89
2 = น้ำหมักชีวภาพ	2.78 ab	3.64 b	3.36 bc	3.61	3.61	3.08
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	3.25 a	4.05 a	4.14 a	3.68	3.43	3.09
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	2.76 ab	3.65 b	3.84 ab	3.74	3.66	3.12
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	2.45 b	3.63 b	3.48 bc	3.37	3.79	3.12
F-test	*	**	*	ns	ns	ns
CV (%)	11.89	4.57	11.22	11.88	6.79	5.51

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยการใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ผลิภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ มีประสิทธิภาพต่อการย่อยสลายของต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทั้ง 2 รอบการปลูก และเห็นผลชัดเจนจากการปลูกรอบที่ 2 เมื่อพิจารณาจากค่าคงที่ของการย่อยสลายแบ่งออกเป็น 2 ช่วง พิจารณาจากกราฟเส้นทึบ (ภาพที่ 20) พบว่า ช่วงแรกมีค่าคงที่ของการย่อยสลายสูงในช่วง 10 - 20 วันแรก โดยการใช้ผลิภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีอัตราการย่อยสลายต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูกที่ 1 มีค่า k เท่ากับ 0.0343 และรอบการปลูกที่ 2 มีค่า k เท่ากับ 0.0282 โดยทั้ง 2 รอบมีค่าอัตราการย่อยสลายสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของปรีชา และคณะ (2562) พบว่า จากการหมักวัสดุที่ใช้ฝังเชื้อผสมแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลส

มีค่าอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดและผักตบชวาสูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 โดยมีอัตราการย่อยสลายเท่ากับ 0.0272 และมีค่าอัตราการสลายของวัสดุหมักสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อเช่นเดียวกัน ซึ่งจากการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ สามารถย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็ว ใช้ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน มีน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ 55.38 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเริ่มต้น และมีอัตราการย่อยสลายที่เร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของศกุนตลา และคณะ (2566) พบว่า อัตราการย่อยสลายของซากถั่วลิสง ใบหญ้าแฝก แกลบ และฟางข้าว หลังการใส่ลงไปในดินในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากเกลือที่มีเนือหยาบ หรือที่มีเนือดินเป็นดินร่วนปนทราย เริ่มมีการย่อยสลายหลังใส่ลงดินในสัปดาห์ที่ 1 โดยมีน้ำหนักเหลืออยู่ของเศษพืช 64.45 - 83.41 เปอร์เซ็นต์ และที่ 52 สัปดาห์ ยังพบปริมาณของซากฟางข้าวเหลืออยู่ และจากรายงานของปัทมา และคณะ (2556) พบว่า จากการศึกษากการย่อยสลายของฟางข้าวในดินทราย พบว่า ฟางข้าวมีอัตราการย่อยสลายในช่วงสัปดาห์ที่ 4 มีน้ำหนักที่เหลืออยู่ของเศษพืช 42.30 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบปริมาณของซากฟางข้าวเหลืออยู่เลยที่ 52 สัปดาห์ ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส มีองค์ประกอบของเชื้อราเริ่มต้นสูง 15.528 log CFU ต่อกรัม และเอนไซม์เซลลูเลส 0.250 หน่วยต่อมิลลิลิตร มีค่าสูงกว่ารายงานของ Martinez-viveros *et al.* (2010) ผงเชื้อสำหรับใส่ลงดินควรมีปริมาณเชื้ออยู่ที่ 8.0 - 9.0 log CFU ต่อกรัม และจากรายงานปริชา และคณะ (2562) พบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 8.0 log CFU ต่อกรัม ในผลิตภัณฑ์ย่อยสลายเซลลูโลสมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายตอซังข้าวโพดและผักตบชวาได้ดี ซึ่งกลุ่มของแบคทีเรียและรา สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยสลายเศษพืช และได้สารต่าง ๆ มากมายที่เป็นประโยชน์ต่อพืชและจุลินทรีย์ในดิน (ธงชัย, 2550) แสดงให้เห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เกิดขึ้นได้รวดเร็ว ในช่วง 10 วันแรก มีอัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์เร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรย่อยสลายตามธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากในผลิตภัณฑ์มีองค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลสเริ่มต้นที่จะช่วยเร่งการย่อยสลายเซลลูโลสให้สลายตัวง่ายมากขึ้น อีกทั้งส่งเสริมการทำงานของเชื้อรา *C. verrucosus* 23 ที่มีประสิทธิภาพผลิตเอนไซม์เซลลูเลสใหม่ออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายเซลลูโลส จึงเกิดการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในช่วงแรกได้เร็วกว่าไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ หลังจากนั้นอัตราการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ในดินเกิดจากกระบวนการของจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในเศษพืช และจากรายงานของ Leash and Daynard (1973) พบว่า ตอซังข้าวโพดในส่วนของใบและก้าน จะมีอัตราการย่อยสลายได้ของวัตถุแห้งลดลง 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อสัปดาห์ ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อส่วนที่ย่อยสลายได้ง่าย และส่วนของลำต้นอย่างน้อย 2 สัปดาห์ โดยมีปัจจัยสำคัญในการควบคุมอัตราการย่อยสลายขึ้นอยู่กับความชื้นในแปลง กระบวนการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ โครงสร้างทางเคมีของวัสดุอินทรีย์ที่มี

สารประกอบโมเลกุลเล็ก เช่น แป้งและน้ำตาล จะถูกย่อยง่ายกว่าสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส และส่วนที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ลิกนิน และไคติน (Cummins, 1970) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Thomas and Asakawa (1993) พบว่า เศษพืชมีอัตราการย่อยสลายในช่วงที่สอง (k_2) ช้า เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงแรก (k_1) เกิดจากอิทธิพลขององค์ประกอบทางเคมีของสารอินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณลิกนิน และโพลีฟีนอล เป็นปัจจัยที่จำกัดที่มีบทบาทต่ออัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ (Muller *et al.*, 1988; ปัทมา และคณะ, 2556) เมื่อพิจารณาในด้านการทดลองที่มีการใช้น้ำหมักชีวภาพ พบว่า มีอัตราการย่อยสลายของตอซังข้าวโพดต่ำกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แต่มีอัตราการย่อยสลายสูงกว่าอัตราการย่อยสลายตามธรรมชาติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำหมักชีวภาพจากปลาหมักทั้งแบคทีเรียและยีสต์ ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายและแปรสภาพวัสดุอินทรีย์ โดยน้ำหมักชีวภาพจากปลาหมักมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด $3.35 - 3.68 \log \text{CFU}$ ต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียแปรสภาพฟอสเฟต $3.02 - 3.51 \log \text{CFU}$ ต่อมิลลิลิตร ยีสต์ $2.15 - 3.76 \log \text{CFU}$ ต่อมิลลิลิตร และมีกรดฮิวมิก $0.02 - 0.59$ เปอร์เซ็นต์ ที่เป็นประโยชน์สำหรับจุลินทรีย์และระบบนิเวศดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2543) จึงมีผลต่อกระบวนการย่อยสลายเศษพืชในดิน

ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง เมื่อตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ย่อยสลายสมบูรณ์จะเพิ่มธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ และอินทรีย์วัตถุในดิน ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช แต่หากตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ย่อยสลายไม่สมบูรณ์จะเป็นผลเสียต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกต่อเนื่องในพื้นที่เดิม หรือในบริเวณใกล้เคียง โดยจุลินทรีย์ดินที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายจะดึงไนโตรเจนจากดินบริเวณนั้นไปใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ จนทำให้ปริมาณไนโตรเจนในดินน้อยลงจนอาจถึงระดับขาดแคลนไนโตรเจนในดิน มีผลทำให้พืชแสดงอาการขาดไนโตรเจน ซึ่งระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จึงเป็นสิ่งสำคัญ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) แต่หากตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีการย่อยสลายได้ไม่ดีเมื่ออยู่ในสภาวะการย่อยสลายยังคงเกิดสูงอยู่ และมีปริมาณออกซิเจนลดลงจนกลายเป็นสภาพไร้ออกซิเจน ทำให้เกิดกิจกรรมการย่อยสลายของกลุ่มจุลินทรีย์ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic organism) เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ต่อไป จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะใช้สารอินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron donor) แทนออกซิเจน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นก๊าซพิษหลายชนิด ได้แก่ มีเทน (CH_4) 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 30 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจกสำคัญ และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เป็นก๊าซพิษในดินชนิดหนึ่งที่เกิดจากการสลายของตอซังพืชที่ไม่สมบูรณ์ (Atlas and Philp, 2005) ทำให้เกิดอาการรากเน่าดำ รากพืชไม่สามารถดูดธาตุอาหารจากดินได้ และพืชชะงักการเจริญเติบโต เช่น กรณีการไถกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ที่ย่อยสลายได้ไม่ดี หรือการไถกลบตอซังข้าว แล้วปลูกข้าวแบบขังน้ำอย่างต่อเนื่องจะส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของพืช และปัญหาสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ หรือเศษพืชที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายสมบูรณ์ จะได้แหล่งธาตุอาหาร และแหล่งอินทรีย์วัตถุ ที่เป็นประโยชน์ต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน และสิ่งมีชีวิตในดิน จึงเป็นแนวทางการจัดการตอซัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่เพาะปลูกอย่างถูกต้องและเหมาะสม

4.7.4 ผลการศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ต่อสมบัติดิน การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจาก 2 รอบการปลูก มีรายละเอียดดังนี้

1) การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายของดิน

(1) ความชื้นดินจากรอบการปลูกที่ 1

จากการเก็บตัวอย่างดินวิเคราะห์ความชื้นดินภายหลังฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ ที่ 0 10 20 30 40 50 และ 60 วัน และอายุเก็บเกี่ยว 120 วัน พบว่า ความชื้นดินในแต่ละ ช่วงเวลา มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างดำรับการทดลอง จะเห็นได้ว่า ความชื้นดินเริ่มต้นหลัง การฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ตามดำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 8.59 - 9.54 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็น ดินแห้งภายหลังการเตรียมแปลงปลูก และหลังการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลา 10 วัน ความชื้นดิน เพิ่มขึ้น มีค่าระหว่าง 28.05 - 28.90 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นช่วงการให้น้ำหลังปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะเวลา 20 วัน ความชื้นดินมีค่าระหว่าง 21.46 - 22.11 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 30 วัน ความชื้นดิน มีค่าระหว่าง 23.67 - 24.97 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 40 วัน ความชื้นดินมีค่าระหว่าง 18.10 - 18.76 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 50 วัน ความชื้นดินมีค่าระหว่าง 18.91 - 19.47 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 60 วัน ความชื้นดินมีค่าระหว่าง 17.82 - 17.89 เปอร์เซ็นต์ และเมื่ออายุเก็บเกี่ยว 120 วัน ความชื้นดิน มีค่าระหว่าง 8.93 - 9.24 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ค่าเปอร์เซ็นต์ความขึ้นดินจากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	ความขึ้นดิน (เปอร์เซ็นต์)							
	เริ่มต้น	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน	120 วัน
1	9.54	28.65	21.75	24.16	18.76	19.32	17.95	9.24
2	8.59	28.39	22.11	24.97	18.46	19.47	17.89	8.93
3	8.78	28.90	21.46	24.24	18.29	18.91	17.82	9.16
4	9.10	28.80	22.07	24.23	18.10	19.35	17.87	9.00
5	9.37	28.05	21.65	23.67	18.27	18.97	17.92	9.19
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	4.74	2.89	2.25	4.48	2.72	3.43	5.78	3.25

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตำรับการทดลองที่ 1 = ควบคุม

ตำรับการทดลองที่ 2 = น้ำหมักชีวภาพ

ตำรับการทดลองที่ 3 = ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

ตำรับการทดลองที่ 4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส

ตำรับการทดลองที่ 5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1

(2) ความขึ้นดินจากรอบการปลูกที่ 2

จากการเก็บตัวอย่างดินวิเคราะห์ความขึ้นดินภายหลังฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ที่ 0 10 20 30 40 50 และ 60 วัน และอายุเก็บเกี่ยว 120 วัน พบว่า ความขึ้นดินของแต่ละช่วงเวลา มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างตำรับการทดลอง จะเห็นได้ว่า ความขึ้นดินเริ่มต้นหลังการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ตามตำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 9.07 - 11.05 เปอร์เซ็นต์ หลังการฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลา 10 วัน ความขึ้นดินเพิ่มสูงขึ้น มีค่าระหว่าง 25.16 - 29.42 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการให้น้ำหลังการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ที่ระยะเวลา 20 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 22.85 - 24.62 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 30 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 19.65 - 24.33 เปอร์เซ็นต์

ที่ระยะเวลา 40 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 19.40 - 21.99 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 50 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 14.08 - 16.14 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 60 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 13.84 - 14.92 เปอร์เซ็นต์ และเมื่ออายุเก็บเกี่ยว 120 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 8.95 - 9.37 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 22)

เมื่อพิจารณาความขึ้นดินจากการเก็บข้อมูลตัวอย่างดินภายหลังฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ที่ 0 10 20 30 40 50 และ 60 วัน และอายุเก็บเกี่ยว 120 วัน ทั้งจากการปลูกรอบที่ 1 และรอบที่ 2 จะเห็นได้ว่า ความขึ้นดินของทั้ง 2 รอบการปลูก มีการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกันเริ่มต้นดินแปลงปลูกแห่งมีความขึ้นดินน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ในช่วง 10 - 40 วัน ดินมีความขึ้นสูงขึ้นมีค่าระหว่าง 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และช่วงเวลา 50 - 60 วัน ความขึ้นดินมีค่าระหว่าง 13 - 18 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นช่วงการให้น้ำในแปลงปลูก จะเห็นได้ว่า ความขึ้นดินในแปลงทดลองทั้ง 2 รอบการปลูก มีช่วงความขึ้นดินใกล้เคียงกัน ซึ่งระดับความขึ้นดินดังกล่าวมีค่าสอดคล้องกับรายงานของสมจินต์ และคณะ (2564) พบว่า การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในดินคล้ายชุดดินภูพานานเนื้อดินบนเป็นดินร่วนเหนียว จากการให้น้ำทุก 2 3 หรือ 4 วัน มีผลให้ความขึ้นดินมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าความขึ้นดินระหว่าง 15.69 - 20.23 เปอร์เซ็นต์ และมีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีค่าระหว่าง 1,390 - 1,523 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยนี้ให้ผลผลิตมีค่าระหว่าง 932 - 1,505 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อพิจารณาความขึ้นดินในช่วงการย่อยสลายต่อซังข้าวโพด 10 - 30 วัน ดินมีความขึ้นระหว่าง 21.64 - 29.42 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสอดคล้องกับค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในดินที่เกิดขึ้นสูง เกิดการสูญเสียน้ำหนักต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เพิ่มขึ้น และปริมาณเชื้อราเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pant and Tiwari (1992) พบว่า ความขึ้นดินที่เหมาะสมมีผลต่ออัตราการย่อยสลายของเศษพืชที่สูง การสูญเสียน้ำหนักเศษพืชที่เพิ่มขึ้น และความขึ้นดินที่เหมาะสมมีผลต่อประชากรเชื้อราที่มีมากขึ้น เนื่องจากน้ำที่อยู่ในดิน และการคายระเหยของน้ำ จึงเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่ออัตราการย่อยสลายของเศษพืช (Meentemeyer, 1978) ซึ่งไม่เพียงแต่ความขึ้นเท่านั้น แต่อัตราการย่อยสลายของเศษพืช ยังขึ้นอยู่กับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ อัตราส่วนของเชื้อราและแบคทีเรีย และอุณหภูมิ ล้วนเป็นปัจจัยเร่งอัตราการย่อยสลายของเศษพืช เช่น ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำและความชื้นต่ำในฤดูหนาวจะมีผลต่ออัตราการย่อยสลายของเศษพืชต่ำ และอัตราการย่อยสลายของเศษพืชเร็วในฤดูฝน ซึ่งเกิดจากการมีฝนตกเพียงพอ ส่งผลต่อความขึ้นที่เหมาะสม และประชากรเชื้อราที่มากขึ้น (Parsons *et al.*, 2014)

ตารางที่ 22 ค่าเปอร์เซ็นต์ความขึ้นดินจากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	ความขึ้นดิน (เปอร์เซ็นต์)							
	เริ่มต้น	10 วัน	20 วัน	30 วัน	40 วัน	50 วัน	60 วัน	120 วัน
1	9.97	26.85	23.98	22.11	19.46	14.08	13.84	9.37
2	10.80	26.91	24.62	22.48	19.98	15.17	14.92	9.34
3	10.32	25.16	24.00	24.33	20.65	14.03	13.78	9.29
4	9.07	29.42	22.85	21.64	21.99	16.14	14.89	8.95
5	11.05	26.19	24.10	19.65	19.40	15.21	14.72	8.97
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	23.69	6.62	11.50	8.89	11.48	17.59	7.23	4.88

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตำรับการทดลองที่ 1 = ควบคุม

ตำรับการทดลองที่ 2 = น้ำหมักชีวภาพ

ตำรับการทดลองที่ 3 = ผลิภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

ตำรับการทดลองที่ 4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส

ตำรับการทดลองที่ 5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1

2) การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดิน

(1) สมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่มจำนวน 15 จุด และนำมาคลุกเคล้าให้เข้ากันให้เป็น 1 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์สมบัติของดิน (ตารางที่ 23) พบว่า ดินมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8.60 ดินเป็นด่างจัด ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 2.50 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548) ซึ่งการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำเป็นต้องใช้ทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง และการใช้ปุ๋ยเคมีในการเพิ่มธาตุอาหาร โดยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต้องการไนโตรเจน 10 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 5 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 5 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

(2) สมบัติทางเคมีของดินหลังการทดลอง จากการปลูกรอบที่ 1

จากตัวอย่างดินในแปลงทดลองหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีดิน และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ แสดงในตารางที่ 23 รายละเอียดดังนี้

(2.1) ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่างของดินหลังการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างดำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 8.37 - 8.49 เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่าดินภายหลังการทดลอง ดินเป็นด่างปานกลาง มีผลให้ดินเป็นด่างลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8.60 ดินเป็นด่างจัด

(2.2) ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน พบว่า ดินหลังการทดลองในดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อไร่ 50 ลิตรต่อไร่ ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อไร่ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินมีค่าสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 2.22 - 2.27 เปอร์เซ็นต์ แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับควบคุมมีค่าต่ำสุด 1.97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินจัดอยู่ในระดับปานกลาง จากผลการทดลองเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ส่งผลต่อการสะสมปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินสูงกว่าการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้เนื่องจากการสับกลบตอซังพืช หรือเศษพืชที่เหลือลงดิน เป็นการเพิ่มแหล่งอินทรีย์คาร์บอนเกิดการย่อยสลายเป็นอินทรีย์วัตถุในดินจากกิจกรรมจุลินทรีย์ ช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน

ได้เร็วขึ้น และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ส่งผลให้พืชสามารถดูดธาตุอาหารที่ได้จากการย่อยสลาย เก็บสะสมได้มากขึ้น ช่วยเพิ่มมวลชีวภาพของพืชในส่วนเหนือดินและในดิน (Graham *et al.*, 2002) อีกทั้งการสับกลบเศษพืชอย่างต่อเนื่องเป็นการเพิ่มแหล่งอินทรีย์วัตถุ และเพิ่มการสะสมอินทรีย์วัตถุ ในดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) สอดคล้องกับรายงานของปรีชา และคณะ (2562) พบว่า การหมัก เศษพืชจากข้าวโพดที่มีองค์ประกอบของเซลลูโลส และแหล่งสารอินทรีย์ ด้วยการเพิ่มจุลินทรีย์ใน กระบวนการหมักช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายเซลลูโลสสูงขึ้น และมีปัจจัยสำคัญในการควบคุมอัตรา การย่อยสลาย คือ อุณหภูมิ และความชื้นในกองปุ๋ยหมักนั้นด้วย เมื่อเศษพืชย่อยสลายสมบูรณ์ ส่งผลให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารพืชในดิน และการสะสมของอินทรีย์วัตถุใหม่คืนกลับให้กับดิน (วิสุทธิ, ม.ป.ป.) เช่นเดียวกับรายงานผลการศึกษาศึกษาการสับกลบต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแปลง มีผลให้ ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร เกิดการทับถมและสะสมเซลล์จุลินทรีย์ อยู่บริเวณผิวดินบนมากกว่าดินล่างที่ระดับความลึก 15 - 30 เซนติเมตร และยังส่งผลช่วยรักษา โครงสร้างและคุณภาพดิน (สุนิสสา, 2560)

(2.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ พบว่า ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์ เอนไซม์เซลลูเลส และดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัม ต่อ น้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่า ระหว่าง 45.44 - 47.87 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อ น้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และดำรับควบคุม มีค่า 31.67 และ 31.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ มีค่าเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(2.4) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกัน ทางสถิติระหว่างดำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 177.46 - 192.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่าเพิ่ม สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ 120 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ดินภายหลังการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ จัดอยู่ในระดับสูงมาก และ ยกกระดับสูงขึ้นจากดินก่อนการทดลองที่อยู่ในระดับสูง

(3) สมบัติทางเคมีของดินหลังการทดลอง จากการปลูกรอบที่ 2 (ตารางที่ 23)

(3.1) ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่าง ของดินหลังการทดลอง ทุกดำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 8.23 - 8.30 สมบัติดินเป็นด่างปานกลาง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548) จากข้อมูลความเป็นด่าง

ของดินลดลงจากการปลูกรอบที่ 2 มีค่าลดลงต่ำกว่าดินก่อนการทดลองจาก 8.60 และภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่า 8.43 ทั้งนี้เนื่องจากอินทรีย์วัตถุในดินมีประจุลบเป็นจำนวนมาก และมีความสามารถในการดูดซับประจุบวกได้สูง จึงมีผลทำให้ดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูงมีความต้านทานการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของดินได้ดี (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541)

(3.2) ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 2.84 - 3.03 เปอร์เซ็นต์ จากค่าเฉลี่ยปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน 2.90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง 2.50 เปอร์เซ็นต์ และดินภายหลังการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 2.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้หลักเกณฑ์ของสำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2548) มาพิจารณาร่วมด้วย พบว่า ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินภายหลังการทดลอง มีการสะสมเพิ่มขึ้น จัดอยู่ในระดับสูง สามารถยกระดับปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง และดินภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเพิ่มสูงขึ้นคิดเป็น 16.0 เปอร์เซ็นต์ และ 32.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการสับกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีผลต่อการสะสมปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินเพิ่มขึ้น จากการสับกลบตอซังพืช หรือเศษพืชที่เหลือลงดินเป็นการเพิ่มแหล่งอินทรีย์คาร์บอน เกิดการย่อยสลายเกิดเป็นอินทรีย์วัตถุในดินจากกิจกรรมจุลินทรีย์ อีกทั้งการสับกลบเศษพืชอย่างต่อเนื่องเป็นการเพิ่มแหล่งอินทรีย์วัตถุ และเพิ่มการสะสมอินทรีย์วัตถุในดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

(3.3) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ พบว่า ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงสุด 73.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองอื่น มีค่าระหว่าง 46.75 - 58.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับปานกลาง และดินภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 40.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

(3.4) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างดำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 211.5 - 231.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก และมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลองมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ 120 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูง และดินภายหลังจากการปลูกรอบที่ 1 มีค่าเฉลี่ย 186.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับสูงมาก (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2548)

เมื่อพิจารณาสมบัติทางเคมีของดินหลังการทดลองระหว่างดำรับการทดลองอาจยังไม่เห็นผลความแตกต่างที่ชัดเจน จากการปลูกทั้ง 2 รอบ ทั้งนี้เมื่อประเมิน

มวลชีวภาพของพืชจากการคูณด้วยค่าสัดส่วนมวลชีวภาพของต้น ตอ และใบของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็น 1.245 ตันต่อตันผลผลิต (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) จากค่าเฉลี่ยผลผลิต รอบปลูกที่ 1 ต่ำรับควบคุม มีน้ำหนักผลผลิต 932.80 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1,161.34 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ย่อยสลายสมบูรณ์ จะปลดปล่อยธาตุอาหารกลับสู่ดิน คิดเป็น ไนโตรเจน 6.16 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.74 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 25.67 กิโลกรัม ต่อไร่ ขณะที่การใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีน้ำหนักผลผลิต เฉลี่ย 1,031.10 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1,283.72 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อต่อชั่ง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ย่อยสลายสมบูรณ์ จะปลดปล่อยธาตุอาหารกลับสู่ดิน คิดเป็น ไนโตรเจน 6.80 กิโลกรัม ต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.93 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 28.37 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน จึงทำให้ สมบัติทางเคมีดินไม่เห็นผลระหว่างดำรับการทดลองที่ชัดเจน แต่อย่างไรก็ตาม การสับกลบต่อชั่ง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลงดินอย่างต่อเนื่องในทุกดำรับการทดลอง มีผลต่อสมบัติทางเคมีดินดีขึ้น ทำให้ดิน มีค่าเป็นต่างลดลง เพิ่มอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารพืชสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการสับกลบ ต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื่องจากการเพิ่มวัสดุอินทรีย์ลงดินเมื่อย่อยสลายด้วยกระบวนการของ จุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุ และธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ในดิน (ธงชัย, 2550) สอดคล้องกับ รายงานของณรงค์เดช และคณะ (2564) พบว่า การสับกลบต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลงดินอย่างต่อเนื่อง ส่งผลต่อการสะสมอินทรีย์วัตถุในดิน ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียม ที่เป็นประโยชน์ในดิน มีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเผาต่อชั่ง

ตารางที่ 23 สมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1 และรอบที่ 2

ตัวรับการทดลอง	pH (1 : 1)		OM (%)		Avail. P (mg/kg)		Avail. K (mg/kg)	
ก่อนการทดลอง	8.60		2.50		13		120	
หลังการทดลอง	crop 1	crop 2	crop 1	crop 2	crop 1	crop 2	crop 1	crop 2
1	8.47	8.30	1.97 b	2.87	31.05 b	58.75 b	192.50	231.00
2	8.40	8.23	2.27 a	2.86	31.67 b	46.75 b	177.46	211.50
3	8.49	8.30	2.23 a	2.87	45.44 a	73.25 a	191.20	212.00
4	8.37	8.25	2.26 a	3.03	47.87 a	51.50 b	184.98	214.75
5	8.46	8.30	2.22 a	2.84	47.37 a	53.25 b	188.71	224.75
F-test	ns	ns	*	ns	*	*	ns	ns
CV (%)	2.57	1.03	5.09	5.01	19.86	18.58	15.55	16.13

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตัวรับการทดลองที่ 1 = ควบคุม

ตัวรับการทดลองที่ 2 = น้ำหมักชีวภาพ

ตัวรับการทดลองที่ 3 = ผลิตรั้วรา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

ตัวรับการทดลองที่ 4 = ผลิตรั้วราเอนไซม์เซลลูเลส

ตัวรับการทดลองที่ 5 = ผลิตรั้วราสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1

จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า การใช้ผลิตรั้วราชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงจากการปลูก 2 รอบ มีผลต่อสมบัติทางเคมีของดิน พบว่า มีผลต่อการสะสมอินทรีย์วัตถุในดินเพิ่มสูงขึ้น คิดเป็น 16.00 เปอร์เซนต์ ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินมีค่าเพิ่มขึ้น คิดเป็น 83.75 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง โดยตัวรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตรั้วรา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีผลให้การสะสมปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้น คิดเป็น 39.36 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากการใส่ปัจจัยการทดลองมีการใส่ปุ๋ยเคมีเป็นแหล่งธาตุอาหารพืชเกิดการสะสมในดิน และจากการสับกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นการเพิ่มแหล่งธาตุอาหารจากพืช อีกทั้งเพิ่มอินทรีย์วัตถุใหม่ลงในดิน สอดคล้องกับรายงานของ Matsumoto *et al.* (2008) การสับกลบเศษซากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทำให้มีคาร์บอนในดินเฉลี่ย 488.70 กิโลกรัมคาร์บอนต่อไร่ เป็นปัจจัยที่ทำให้อินทรีย์วัตถุในดินเพิ่มขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติของอินทรีย์วัตถุมีพื้นที่ผิวสัมผัสมาก มีประจุลบเป็นส่วนใหญ่ และมีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนได้สูงกว่าดินเหนียวชนิดอื่น ๆ และเศษพืชที่เกิดการย่อยสลายด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์จะเป็นอินทรีย์วัตถุที่สลายตัวได้ดีแล้ว จะมีค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนสูงถึง 300 เมกะกรัมต่อ 100 กรัมของฮิวมัส ซึ่งสูงกว่าค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของแร่ดินเหนียวประมาณ 2 - 30 เท่า และมีความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารประจุบวกมาจับกับประจุลบจำนวนมากของอินทรีย์วัตถุ (โสฬส, 2559) จึงมีความสำคัญมากในการป้องกันมิให้ธาตุอาหารพืชที่ใส่ลงไปอยู่ในดินในรูปปุ๋ยเคมี หรือธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติ ถูกดูดซับไว้ที่ผิวอินทรีย์วัตถุ ทำให้ลดการสูญเสียธาตุอาหารไปกับกระบวนการชะล้างโดยเฉพาะดินทรายหรือดินเนื้อหยาบ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารของพืชเป็นไปได้ดียิ่งขึ้น และเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยเคมี (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541) ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์พืช ทำให้เกิดการย่อยสลาย และปลดปล่อยธาตุอาหารพืช จากกิจกรรมของจุลินทรีย์และเอนไซม์ เกิดการสะสมในดินได้เร็วและมากขึ้น ทั้งนี้ต้นข้าวโพดเป็นวัสดุย่อยสลายง่าย มีองค์ประกอบทางเคมีประกอบด้วยอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 62 ไนโตรเจน 0.53 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ และโพแทสเซียม 2.21 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งอินทรีย์วัตถุ ธาตุอาหารพืช และยังเป็นแหล่งอาหารและพลังงานที่สำคัญให้กับจุลินทรีย์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) โดยเศษซากพืชมีปริมาณเยื่อใยสูงมีผลต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง จากรายงาน Leash and Daynard (1973) พบว่าความหนาแน่นของต้นข้าวโพด 8,533 ต้นต่อไร่ มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งของตอซังข้าวโพดสูง มีอัตราการย่อยสลายลดลง 1.5 เปอร์เซ็นต์ต่อสัปดาห์ และจากผลการทดลองของงานวิจัยนี้ พบว่าเมื่อประเมินวัสดุเศษเหลือใช้ในส่วนของตอซังข้าวโพด จากการคูณด้วยค่าสัดส่วนมวลชีวภาพของต้นตอ และใบของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็น 1.245 ต้นต่อตันผลผลิต (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน, 2561) เมื่อประเมินโดยคิดจากค่าเฉลี่ยผลผลิตจากการปลูกรอบที่ 1 ดำรับควบคุม มีค่าผลผลิต 932.80 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1,161.34 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่การใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ย 1,031.10 กิโลกรัม มวลชีวภาพตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1,283.72 กิโลกรัมต่อไร่ และจากการปลูก

รอบที่ 2 มีค่าเฉลี่ยผลผลิตสูงขึ้นเป็น 1,104.96 กิโลกรัม คิดเป็นมวลชีวภาพต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1,375.68 กิโลกรัมต่อไร่ จึงมีการสะสมอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารในดินได้เพิ่มมากขึ้น และจากงานวิจัยของชนากานต์ และคณะ (2565) การสับกลบหมักฟางข้าวด้วยสารเร่งชุปเปอร์ พด. 2 ที่ขยายเชื้อทำให้มีปริมาณอินทรีย์วัตถุเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.80 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินได้เช่นกัน ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในการย่อยสลายต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงอย่างต่อเนื่อง 2 รอบการปลูก มีผลต่อการสะสมปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด หากดินมีการสะสมฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมอยู่ในระดับความเข้มข้นสูงมาก สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมลงได้

3) การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูก
รอบที่ 1

(1) การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 1 (ตารางที่ 24)

(1.1) ค่าความเขียวใบ พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน จากตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งชุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าความเขียวใบสูงสุดมีค่าระหว่าง 47.11 - 47.62 (SPAD reading) มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่า 46.24 (SPAD reading) แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมมีค่าความเขียวใบต่ำสุด 43.45 (SPAD reading) เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 60 วัน มีค่าความเขียวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อชั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีค่าความเขียวใบระหว่าง 54.43 - 56.30 (SPAD reading) มีแนวโน้มความเขียวใบสูงกว่าตำรับควบคุม มีค่าความเขียวใบ 53.46 (SPAD reading)

(1.2) ความสูงต้น พบว่า ค่าความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน และ 60 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งชุปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 22.20 - 22.91 เซนติเมตร แต่ทุกตำรับการทดลองมีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่มีค่าความสูงต้นต่ำสุด 15.72 เซนติเมตร เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

มีอายุ 60 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 มีค่าความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 165.32 - 169.72 เซนติเมตร แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่มีค่าความสูงต้นต่ำสุด 138.05 เซนติเมตร

ตารางที่ 24 ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	ค่าความเขียวใบ (SPAD reading)		ความสูงต้น (เซนติเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	43.45 b	53.46	15.72 b	138.05 b
2 = น้ำหมักชีวภาพ	46.24 ab	55.64	22.91 a	165.32 a
3 = ผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	47.11 a	56.30	22.20 a	169.12 a
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	47.62 a	55.19	22.75 a	169.85 a
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	47.24 a	54.43	22.76 a	169.72 a
F-test	*	ns	*	*
CV (%)	5.39	3.49	18.47	10.51

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

(2) น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 1

น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ แสดงรายละเอียดตารางที่ 25 พบว่า ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์

สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 943.30 - 1,067.00 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่ตำรับควบคุม มีน้ำหนักเมล็ด 932.80 กิโลกรัมต่อไร่

ตารางที่ 25 น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 1

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ (กิโลกรัมต่อไร่)
1 = ควบคุม	932.80
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1,055.80
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสม เอนไซม์เซลลูเลส	1,067.00
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1,058.30
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1	943.30
F-test	ns
CV (%)	9.68

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 โดยใช้ DMRT
 ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลทดลองชี้ให้เห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ผิดพันต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแปลง เพื่อเร่งการย่อยสลายต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการหยอดเมล็ด มีผลให้การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ด้านความสูงต้นเพิ่มขึ้นคิดเป็น 22.77 เปอร์เซ็นต์ และมีแนวโน้มผลผลิตเพิ่มขึ้นคิดเป็น 13.92 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส หรือผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสเพียงอย่างเดียว มีประสิทธิภาพช่วยเร่งอัตรา การย่อยสลายต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลงทดลองสูงกว่าการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้เนื่องจากต่อซึ่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีองค์ประกอบของธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (ยงยุทธ และคณะ, 2551) ภายหลังกระบวนการย่อยสลายเศษวัสดุอินทรีย์จากกิจกรรมจุลินทรีย์จะ

ปลดปล่อยสารอินทรีย์ และธาตุอาหารพืชที่เป็นประโยชน์ตอบสนองต่อช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืช และช่วยคืนธาตุอาหารลงสู่ดิน (Georgieva *et al.* 2005) ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตพืชที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งมีแนวโน้มการสะสมปริมาณอินทรีย์วัตถุ และธาตุอาหารในดินภายหลังการเก็บเกี่ยวเพิ่มสูงขึ้น ขณะที่การใช้น้ำหมักชีวภาพจากปลา อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน อาจเนื่องจากน้ำหมักชีวภาพจากปลา มีองค์ประกอบของแหล่งไนโตรเจน แหล่งอาหาร และกรดอะมิโน ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารและพลังงานให้กับจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ ในการช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายต่อซัง มีทั้งแบคทีเรียกลุ่มย่อยซากพืชและซากสัตว์ และมีคำแนะนำสำหรับการหมักย่อยสลายต่อซังข้าว (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) และจากรายงานของจันทนา (2558) การใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์จากท้องตลาด หรือสารเร่งซุปเปอร์ พด. 1 ของกรมพัฒนาที่ดิน มีจุลินทรีย์ในกลุ่มย่อยสลายเซลลูโลส จะช่วยย่อยสลายเยื่อใย และเซลลูโลส เชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสจนได้โมเลกุลขนาดเล็กลง และนำเข้าไปในเซลล์ ใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงาน และจากรายงานของ Stuetzenberger *et al.* (1970) พบว่าปริมาณของเซลลูโลสในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีประมาณ 30 - 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด โดยจุลินทรีย์จะปลดปล่อยเอนไซม์เซลลูเลสออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายองค์ประกอบของพืชให้กลายเป็นอินทรีย์วัตถุ (Cowling and Kirk, 1976) และใช้อินทรีย์วัตถุเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญและขยายพันธุ์ โดยปริมาณของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นมากเมื่อเกิดการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสในสภาพที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ และแหล่งอาหารที่เพียงพอ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อรา หรือแบคทีเรีย มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสได้เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม (Mawadza *et al.*, 2000)

(3) ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 1

การประเมินค่าผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในตำรับการทดลองวิธีการแบบต่าง ๆ พบว่า จากการใช้ปัจจัยการผลิตในแต่ละตำรับการทดลอง มีผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ให้รายได้สุทธิมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มพบว่า จากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 1 ในตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในการฉีดพ่นเพื่อเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการหยอดเมล็ด ให้รายได้สุทธิสูงสุด 5,634.50 บาทต่อไร่ รองลงมา คือ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ 5,553.59 บาทต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ 5,380.34 บาทต่อไร่ และตำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่ง พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ 4,484.09 บาทต่อไร่ ขณะที่ตำรับควบคุมให้รายได้สุทธิ 4,436.44 บาทต่อไร่ ดังตารางที่ 26 และตารางผนวกที่ 4

ตารางที่ 26 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 1

ดำรับการทดลอง	รายได้สุทธิ (บาทต่อไร่)
1 = ควบคุม	4,436.44
2 = น้ำหมักชีวภาพ	5,380.34
3 = ผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	5,634.50
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	5,553.59
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	4,484.09
F-test	ns
CV (%)	17.86

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
 โดยการใช้ DMRT
 ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4) การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จากการปลูก
 รอบที่ 2

(1) การเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 2 (ตารางที่ 27)

ดังนี้

(1.1) ค่าความเขียวใบ เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 30 วัน พบว่ามีค่าความเขียวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างดำรับการทดลอง มีค่าระหว่าง 38.41 - 40.32 (SPAD reading) เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีอายุ 60 วัน พบว่า ดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพ อัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่าความเขียวใบไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 41.25 - 45.09 (SPAD reading) แต่มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับควบคุมที่มีค่าต่ำสุด 36.34 (SPAD reading)

(1.2) ความสูงต้น พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน และ 60 วัน ทุกตำรับการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยค่าความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 30 วัน มีค่าระหว่าง 25.91 - 29.16 เซนติเมตร และค่าความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 60 วัน มีค่าระหว่าง 166.01 - 175.95 เซนติเมตร

ตารางที่ 27 ค่าความเขียวใบและความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	ค่าความเขียวใบ (SPAD reading)		ความสูงต้น (เซนติเมตร)	
	30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน
1 = ควบคุม	38.41	36.34 b	25.91	166.01
2 = น้ำหมักชีวภาพ	39.08	41.25 a	27.12	169.44
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	39.64	41.83 a	27.30	175.95
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	38.71	42.04 a	28.01	172.95
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	40.32	45.09 a	29.16	172.97
F-test	ns	*	ns	ns
CV (%)	8.04	7.24	8.52	5.67

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองด้านการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ระหว่างดำรับการทดลอง อาจยังไม่เห็นผลความแตกต่างที่ชัดเจนจากการปลูกทั้ง 2 รอบ ทั้งนี้เนื่องจากการเติมปริมาณตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในรอบการปลูกที่ 1 และมวลชีวภาพของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่สับกลบในรอบการปลูกที่ 2 มีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างดำรับการทดลอง จึงทำให้ปริมาณธาตุอาหารที่ได้จากพืชไม่ต่างกัน อีกทั้งการใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส น้ำหมักชีวภาพ และสารเร่งซุเปอร์ พด. 1 ของกรมพัฒนาที่ดิน เป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ จะเห็นได้ว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพทุกดำรับการทดลอง มีแนวโน้มการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สูงกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ และมีอัตราการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในช่วงแรกเร็วกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ส่งผลให้เศษพืชส่วนที่ย่อยสลายแล้วจะปลดปล่อยธาตุอาหารและอินทรีย์วัตถุสู่ดินได้เร็วขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของศกุนตลา และคณะ (2566) พบว่าการย่อยสลายของฟางข้าว และซากถั่วลิสงที่ใส่ลงดิน มีอัตราการย่อยสลายเร็วในช่วงแรกมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณมวลชีวภาพจุลินทรีย์และปริมาณไนโตรเจน สามารถช่วยเพิ่มค่าความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน ดินมีความเข้มข้นของธาตุอาหารเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการดูดใช้ธาตุอาหารของพืช และอินทรีย์วัตถุ ซึ่งสารประกอบฮิวมัสที่มีความสำคัญต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ส่งผลต่อการเจริญของระบบรากพืชที่อยู่ในดิน อีกทั้งช่วยดูดจับธาตุอาหารพืชในดินแล้วดูดซึมผ่านทางรากพืช จึงทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี (Nardi *et al.*, 2002)

(2) น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จากการปลูกรอบที่ 2 (ตารางที่ 28)

น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ พบว่าดำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีน้ำหนักเมล็ดสูงสุด 1,505.00 กิโลกรัมต่อไร่ มีค่าสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพอัตรา 5 ลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ดำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส และดำรับการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่งซุเปอร์ พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ และดำรับควบคุมที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าระหว่าง 1,329.90 - 1,353.60 กิโลกรัมต่อไร่

ตารางที่ 28 น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ (กิโลกรัมต่อไร่)
1 = ควบคุม	1,340.80 b
2 = น้ำหมักชีวภาพ	1,353.60 b
3 = ผลิภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสม เอนไซม์เซลลูเลส	1,505.00 a
4 = ผลิภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1,335.60 b
5 = ผลิภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	1,329.90 b
F-test	**
CV (%)	6.05

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
โดยใช้ DMRT

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการปลูกรอบที่ 2 พบว่า ตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ผลิตพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน เพื่อเร่งการย่อยสลายเศษตอซังก่อนการปลูกข้าวโพด มีผลให้ผลผลิตน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มขึ้นได้สูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายตอซังพืชประกอบด้วยเชื้อรา *C. verrucosus* 23 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และมีสารสกัดยับยั้งของเอนไซม์เซลลูเลส ที่มีประสิทธิภาพเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็วขึ้น ส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดิน ส่งเสริมการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตพืช และสอดคล้องกับงานวิจัยของดุสิต (2562) พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ชนิดผงสำหรับการย่อยสลายฟางข้าว และควบคุมโรคขอบใบไหม้ของข้าว ประกอบด้วยเชื้อ *B. subtilis* *Aspergillus* sp. *Azotobacter* sp. *Saccharomyces cerevisiae* และ *Trichoderma* sp. มีอัตราการย่อยสลายฟางข้าวสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อ อีกทั้งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตข้าว และจากการใช้เชื้อ *Aspergillus* sp. สามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์เป็นกรด ช่วยย่อยสลายซากอินทรีย์วัตถุให้กลายเป็นอนินทรีย์สารที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

และจากการใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมี ทำให้ผลผลิตน้ำหนักรวมเพิ่มขึ้น 35 - 60 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งการสับกลบตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลงดิน จากการปลูกรอบที่ 1 ตอซังของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีองค์ประกอบของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เมื่อผ่านกระบวนการย่อยสลาย สารอินทรีย์ด้วยกิจกรรมจุลินทรีย์แล้ว พืชสามารถดูดใช้ธาตุอาหารเหล่านี้เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิต ซึ่งตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ย่อยสลายสมบูรณ์จะช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน ช่วยปรับปรุงโครงสร้างดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และส่งเสริมระบบนิเวศในดินอีกด้วย เนื่องจากอินทรีย์วัตถุในดินประกอบด้วยสารฮิวมิก (ไพบูลย์, 2546) โดยจะพบสารฮิวมิกประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของอินทรีย์วัตถุในดิน (Muscolo *et al.*, 2007) ซึ่งสารฮิวมิกมีบทบาทที่สำคัญต่อดินทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ช่วยให้ดินโปร่งไม่อัดกันแน่น (Soane, 1990) เพราะทำให้อนุภาคของดินเกาะรวมกันเป็นเม็ดดิน มีผลทำให้ดินมีการระบายอากาศได้ดี จึงช่วยให้รากพืชหายใจได้ดี เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ และลดการชะล้างพังทลายของหน้าดิน (Piccolo *et al.*, 1997) อีกทั้งเป็นแหล่งธาตุอาหารแก่พืช ช่วยให้พืชดูดซึมธาตุอาหารได้ดีขึ้น จึงทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี (Nardi *et al.*, 2002) และปลดปล่อยธาตุอาหารหลักให้แก่พืชที่ละน้อย (Ayuso *et al.*, 1996) ทำให้ช่วยชะลอการสูญเสียธาตุอาหารพืชจากดิน และคงความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดิน นอกจากนี้อินทรีย์วัตถุยังมีกรดฟูลวิกที่มีบทบาทสำคัญช่วยให้สารอาหารพืชเกิดความพร้อมใช้ และทำให้ดูดซึมได้ง่ายยิ่งขึ้น (Christman *et al.*, 1983) โดยให้รากพืชดูดซึมธาตุอาหารผ่านผนังเซลล์ได้อย่างง่าย ๆ (Prakash, 1971; Williams, 1963) ซึ่งสารเหล่านี้มีผลในการกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์และแข็งแรง และช่วยให้เกิดแบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซิส เพื่อย่อยสลายซากพืชในดิน (Kanonova, 1966) และยังช่วยให้อากาศมีการซึมผ่านรากได้ดี ทำให้รากพืชได้รับออกซิเจนเพิ่มขึ้น กระตุ้นการเจริญเติบโตและสร้างระบบภูมิคุ้มกันของพืชได้ดีขึ้นด้วย (Rashid, 1985; Kanonova, 1966)

(3) ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 2

จากการประเมินผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในตำรับการทดลองวิธีการแบบต่าง ๆ พบว่า จากการใช้ปัจจัยการผลิตในแต่ละตำรับการทดลอง มีผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ให้รายได้สุทธิมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยตำรับการทดลองที่ 3 การใช้ผลิตภัณท์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในการฉีดพ่นเพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการหยอดเมล็ด ให้รายได้สุทธิสูงสุด 9,707.90 บาทต่อไร่ สูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับการทดลองอื่น ๆ ขณะที่ตำรับควบคุม ให้รายได้สุทธิ 8,230.84 บาทต่อไร่ มีรายได้สุทธิไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ 2 การใช้น้ำหมักชีวภาพจากปลาอัตรา 5 ลิตร ผสมน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ 8,142.88 บาทต่อไร่ ตำรับการทดลองที่ 4 การใช้ผลิตภัณท์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่

ให้รายได้สุทธิ 8,132.48 บาทต่อไร่ และดำเนินการทดลองที่ 5 การใช้ผลิตภัณฑ์สารเร่ง พด. 1 อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ให้รายได้สุทธิ 8,078.47 บาทต่อไร่ ดังตารางที่ 29 และตารางผนวกที่ 5

ตารางที่ 29 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รอบที่ 2

ดำเนินการทดลอง	รายได้สุทธิ (บาทต่อไร่)
1 = ควบคุม	8,230.84 b
2 = น้ำหมักชีวภาพ	8,142.88 b
3 = ผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	9,707.90 a
4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	8,132.48 b
5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูเปอร์ พด. 1	8,078.47 b
F-test	**
CV (%)	5.24

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้ DMRT

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

4.7.5 คุณสมบัติด้านข้อดีและข้อจำกัดของการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์

จากการเปรียบเทียบคุณสมบัติด้านข้อดีและข้อจำกัดของการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ระหว่างผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส (ตารางที่ 30) ดังนี้

1) ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

(1) คุณสมบัติด้านข้อดี ได้แก่ ด้านผลิตภัณฑ์จะประกอบด้วยเชื้อรา *C. verrucosus* 23 และเอนไซม์เซลลูเลส มีปริมาณเชื้อ 15.53 log CFU ต่อกรัม และค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.264 ยูนิตต่อมิลลิกรัม เป็นผลิตภัณฑ์แบบผงละลายน้ำ พร้อมใช้เร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการปลูกพืช ด้านประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เซลลูเลสได้โดยตรงในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสของผนังเซลล์พืช ทำให้กระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสเกิดขึ้นได้เร็ว และเป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่รุนแรง ไม่ส่งผลกระทบต่อ

จุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตในดิน ช่วยเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็วในช่วงแรก และด้านประสิทธิภาพของเชื้อรา *C. verrucosus* 23 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาภายนอกเพื่อย่อยสลายเซลลูโลส และเจริญได้ในสภาพที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูง และความชื้นต่ำ เป็นต้น ในการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้อย่างต่อเนื่องในสภาพแปลง

(2) คุณสมบัติด้านข้อจำกัด ได้แก่ ด้านการผลิต ในขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อรา และผลิตเอนไซม์ต้องเหมาะสม ต้องคำนึงถึงการมีชีวิตรอดของเชื้อราในผลิตภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์คงประสิทธิภาพกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส และข้อจำกัดด้านการใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ คือ อัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ต้องเหมาะสมกับปริมาณเศษพืช และความชื้นที่เหมาะสม ดังนั้นควรฉีดพ่นหลังเก็บเกี่ยวพร้อมไถกลบ ช่วงเช้า หรือหลังฝนตก เพื่อให้ต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความชื้น และดินมีความชื้น จะทำให้การย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เกิดขึ้นได้ดี

2) ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส

(1) คุณสมบัติด้านข้อดี ได้แก่ ด้านผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูเลส มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส 0.264 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้แบบผงละลายน้ำ สำหรับเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 20 วัน ก่อนการปลูกพืช ด้านประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เซลลูเลสได้โดยตรง ในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสของผนังเซลล์พืช ทำให้กระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นได้เร็ว และเป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่รุนแรง ไม่ส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตในดิน และช่วยเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็วในช่วงแรก เพื่อปลดปล่อยแหล่งพลังงานและแหล่งอาหารให้กับจุลินทรีย์ดินในการย่อยสลายเศษพืชตามสภาพธรรมชาติต่อไป

(2) คุณสมบัติด้านข้อจำกัด ได้แก่ ด้านการผลิต ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสเป็นวิธีการสกัดเอนไซม์แบบหยาบ เน้นต้นทุนการผลิตต่ำ ผลิตภัณฑ์เก็บรักษาได้นาน 4 เดือน ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ และข้อจำกัดด้านการใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ คือ อัตราการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสต้องเหมาะสมกับปริมาณเศษพืช ซึ่งการย่อยสลายที่ดีเอนไซม์เซลลูเลสต้องสัมผัสกับพื้นผิวเศษพืช มีความชื้นที่เหมาะสมในการเป็นตัวกลางในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีประสิทธิภาพ หากสภาพแวดล้อมแห้งแล้ง และอุณหภูมิสูง จะมีผลให้เอนไซม์เซลลูเลสเสื่อมประสิทธิภาพ ดังนั้นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมควรฉีดพ่นหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตพร้อมไถกลบ หรือช่วงเช้า หรือหลังฝนตก เพื่อให้ต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และดินมีความชื้น จะทำให้การย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เกิดขึ้นได้ดี

ตารางที่ 30 การเปรียบเทียบคุณสมบัติด้านข้อดีและข้อจำกัดระหว่างผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส

ชนิดผลิตภัณฑ์	ข้อดี	ข้อจำกัด
ผลิตภัณฑ์รา <i>C. verrucosus</i> 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส	1. ผลิตภัณฑ์พร้อมใช้แบบผงละลายน้ำ 2. มีเอนไซม์เซลลูเลสเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสได้เร็ว 3. มีเชื้อราผลิตเอนไซม์เซลลูเลส 3.1 สามารถย่อยสลายเศษพืชอย่างต่อเนื่องในสภาพแปลง 3.2 ทนต่อสภาวะแห้งแล้ง และอุณหภูมิสูง 4. มีประสิทธิภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน	1. การผลิตต้องคำนึงถึงสภาพที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณเชื้อรา และเอนไซม์เซลลูเลส 2. การใช้ประโยชน์ต้องคำนึงถึงความชื้นที่เหมาะสม 3. อัตราการใช้ต้องเหมาะสมกับปริมาณเศษพืช
ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส	1. ผลิตภัณฑ์พร้อมใช้แบบผงละลายน้ำ 2. มีเอนไซม์เซลลูเลสเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสได้เร็ว 3. เป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่รุนแรง ไม่ส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตในดิน 4. มีประสิทธิภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 20 วัน	1. ผลิตภัณฑ์เก็บรักษาได้ไม่นาน เสื่อมสภาพที่อุณหภูมิสูง 2. การใช้ประโยชน์ต้องคำนึงถึงความชื้นที่เหมาะสม 3. อัตราการใช้ต้องเหมาะสมกับปริมาณเศษพืช 4. เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลลูโลสบริเวณพื้นผิวสัมผัส

4.8 สรุปและเสนอแนะ

4.8.1 เทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง แบบผงละลายน้ำ กระบวนการผลิตที่เหมาะสม คือ การเลี้ยงเชื้อรา *C. verrucosus* 23 เพิ่มปริมาณเชื้อในข้าวเสาให้ ที่เต็มสารชักนำในอัตราส่วน 1 : 1 เพื่อการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยสารเซลล์ไบโอส 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารแกล็กโทส 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร ทำการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 7 วัน โดยใช้หมอลโตเดกซ์ตรินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เป็นสารปกป้องเซลล์และเอนไซม์เซลลูเลส ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ ประกอบด้วยปริมาณเชื้อรา 15.53 log CFU ต่อกรัม และค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส

0.264 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร คงความมีชีวิตรอดของเชื้อในผลิตภัณฑ์เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 9 เดือน และคงประสิทธิภาพเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ได้นาน 7 เดือน และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลสแบบผงละลายน้ำ ประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 0.259 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร คงประสิทธิภาพเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์ได้นาน 7 เดือน

4.8.2 วิธีและอัตราการใช้ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในโรงเรือนกระจก คือ การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเกิดขึ้นได้เร็วและสูงสุดที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 10 วัน และการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเกิดขึ้นสูงที่ระยะเวลากการย่อยสลาย 20 วัน

4.8.3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ และการใช้ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ จากการปลูกทั้ง 2 รอบ ในสภาพแปลง ที่ระยะเวลากการย่อยสลาย 10 วันแรก มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืช 66.76 เปอร์เซ็นต์ และ 69.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งที่เหลืออยู่ของเศษพืชต่ำกว่าการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ 17.58 และ 13.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.8.4 การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง แบบผงละลายน้ำ ในการเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สามารถเพิ่มการสะสมอินทรีย์วัตถุในดินเป็น 2.90 เปอร์เซ็นต์ จากดินก่อนการทดลอง 2.50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็น 16.00 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นคิดเป็น 83.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง และการใส่ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ส่งผลต่อการสะสมปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน เพิ่มขึ้นคิดเป็น 39.36 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ

4.8.5 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 50 ลิตรต่อไร่ ในการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 10 วัน ก่อนการปลูก มีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มีค่าเฉลี่ยผลผลิตจาก 2 รอบการปลูกสูงสุด 1,286 กิโลกรัมต่อไร่ เพิ่มขึ้นคิดเป็น 13.12 เปอร์เซ็นต์ และให้รายได้สุทธิเฉลี่ยสูงสุด 7,671.20 บาทต่อไร่ เพิ่มขึ้นคิดเป็น 21.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ผลิตภัณฑ์

5. ผลสำเร็จของงาน

5.1 ผลสำเร็จของงานเชิงปริมาณ

5.1.1 เทคโนโลยีการผลิตผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ มีประสิทธิภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 2 ต้นแบบ

5.1.2 องค์ความรู้วิธีการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส แบบผงละลายน้ำ และประสิทธิภาพการเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในสภาพแปลง จำนวน 1 องค์ความรู้

5.1.3 เอกสารวิชาการผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 1 เรื่อง

5.2 ผลสำเร็จของงานเชิงคุณภาพ

5.2.1 ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส และผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส มีประสิทธิภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เร็ว 44.62 และ 35.04 เปอร์เซ็นต์จากน้ำหนักเริ่มต้น ในระยะเวลา 10 วัน ลดระยะเวลาการหมักเศษพืชในแปลง สะดวกและง่ายต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้จริงในพื้นที่

5.2.2 การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วยเพิ่มธาตุอาหาร ได้แก่ เพิ่มฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน 39.36 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดิน 83.75 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน 16.00 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน

5.2.3 การใช้ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส เร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เพิ่มผลผลิต 13.12 เปอร์เซ็นต์ และรายได้สุทธิเพิ่มขึ้น 21.12 เปอร์เซ็นต์

6. การนำไปใช้ประโยชน์/ผลกระทบ

6.1 การนำไปใช้ประโยชน์เชิงนโยบาย กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สามารถนำไปใช้ในการวางแผนกำหนดนโยบายการพัฒนาที่ดินอย่างยั่งยืน จากการใช้ประโยชน์นวัตกรรมผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แบบผงละลายน้ำ ในการจัดการวัสดุเหลือใช้ในพื้นที่เกษตรกรรม ส่งเสริมการเพิ่มธาตุอาหารและอินทรีย์วัตถุในดิน เป็นวิธีการจัดการบำรุงดินที่ไม่ต้องหาอินทรีย์วัตถุจากภายนอก และสนับสนุนยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปี (พ.ศ. 2561 - 2580) ในการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขัน จากการใช้ประโยชน์ด้านความหลากหลายทางชีวภาพด้วยนวัตกรรม เพื่อให้เกิดเศรษฐกิจ BCG ที่ลดความเหลื่อมล้ำ ชุมชนเข้มแข็ง หมุนเวียนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรนำกลับมาใช้ประโยชน์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และการพัฒนาที่ดินอย่างยั่งยืน

6.2 การนำไปใช้ประโยชน์เชิงเศรษฐกิจ เช่น เกษตรกรผู้ผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สามารถนำเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซังแบบผงละลายน้ำ มาใช้ประโยชน์ในการจัดการวัสดุเหลือใช้ในพื้นที่เกษตรกรรมภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต ช่วยเพิ่มอินทรีย์วัตถุ เพิ่มการหมุนเวียนธาตุพืชในดิน ช่วยลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มรายได้ เช่น ลดต้นทุนปุ๋ยเคมี ลดต้นทุนด้านการบำรุงด้วยอินทรีย์วัตถุจากค่าอินทรีย์วัตถุ และค่าขนส่งจากภายนอกมาใช้ในพื้นที่เกษตรกรรม อีกทั้งรูปแบบการนำไปใช้ประโยชน์ง่าย นำไปปฏิบัติได้จริง สะดวกต่อการประยุกต์ใช้กับเครื่องจักร และโดรนบินฉีดพ่น เกษตรกรสามารถนำเทคโนโลยีเข้ามาประยุกต์ใช้ขยายผลในพื้นที่แปลงใหญ่

6.3 การนำไปใช้ประโยชน์เชิงสาธารณะ การจัดการวัสดุเหลือใช้จากต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่เพาะปลูกด้วยผลิตภัณฑ์ชีวภาพเร่งการย่อยสลายต่อซัง ช่วยลดการเผาเศษข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่เพาะปลูก ลดปัญหาดินเสื่อมคุณภาพจากการเผาเศษวัสดุเหลือทิ้ง ลดปัญหาหมอกควัน และ PM2.5 ช่วยรักษาระบบนิเวศดินและสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย เพิ่มคุณภาพชีวิตของเกษตรกรและคนในชุมชน เป็นระบบการผลิตทางการเกษตรที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมได้อย่างยั่งยืน

6.4 การประยุกต์วิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพย่อยสลายต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สำหรับเกษตรกร สามารถใช้ภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ทันที ไม่ควรทิ้งให้ดินแห้ง และสามารถประยุกต์ใช้กับเครื่องจักรที่ติดตั้งเครื่องฉีดพ่นไปพร้อมกับการไถกลบต่อซังในแปลงปลูก หรือการใช้โดรนบินฉีดพ่น หรือการใช้แรงงานคนฉีดพ่นต่อซังพืชก่อน แล้วไถกลบต่อซังลงดินทันที ที่ระยะเวลาหมักย่อยสลายเศษพืช 10 วัน ก่อนเตรียมดินปลูกพืชต่อไป กรณีที่ช่วงการปลูกไวนาน ควรทิ้งเศษพืชไว้คลุมดินเป็นการรักษาหน้าดิน หากดินแห้งมากควรรองฟืน หรือฉีดย่นช่วงเช้าที่มีความชื้นสูง และน้ำค้างแรง แล้วทำการไถกลบต่อซังลงดินแล้วทิ้งให้ย่อยสลาย ทำการสังเกตต่อซังที่ย่อยสลายสมบูรณ์จะมีลักษณะเปื่อยยุ่ย เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ จึงทำการไถเตรียมดินปลูกพืชต่อไป

6.5 การใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ชีวภาพย่อยสลายต่อซัง เช่น ข้าว และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายเศษพืชได้เร็วขึ้น ลดระยะเวลาการหมักเศษพืชในไร่นา โดยไม่ส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตของพืชปลูก ช่วยลดการเผาต่อซังเป็นหมุนเวียนวัสดุเหลือใช้ในไร่นากลับมาเป็นแหล่งอินทรีย์คาร์บอน แหล่งอินทรีย์วัตถุ และธาตุอาหารพืชในดิน เป็นรูปแบบวิธีการใช้ประโยชน์ที่ง่าย สร้างแรงจูงใจให้กับเกษตรกรปฏิบัติตามได้จริงในการมีส่วนร่วมเพื่อแก้ไขปัญหาการเผาเศษพืชอย่างจริงจัง ในการลดปัญหาก๊าซพิษและลดฝุ่นละออง PM2.5 จากการใช้เทคโนโลยีปลอดการเผาด้วยผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 เร่งการย่อยสลายต่อซังพืช ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการฟื้นฟูทางชีวภาพ (Bioremediation) สามารถย่อยสลาย หรือแปรสภาพอินทรีย์สารจากต่อซังข้าวโพดให้เป็นปุ๋ยอินทรีย์บำรุงดิน เป็นแหล่งธาตุอาหาร และเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดิน อีกทั้งเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่สำคัญให้กับจุลินทรีย์ดิน รวมถึงได้ธาตุอาหารพืชจากต่อซังกลับคืนสู่ดินต่อไป หากมีการเผาเศษพืชในแปลงจะส่งเสียทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจนในดิน

สูญเสียอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารในดิน ส่งผลเสียทำให้โครงสร้างดินแน่นทึบและแข็ง และทำลายระบบนิเวศของสิ่งมีชีวิตในดิน รวมถึงเกิดมลพิษทางอากาศ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ ก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ และก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นต้น และเกิดปัญหาฝุ่น PM2.5 ที่ส่งผลเสียต่อสุขภาพประชาชนและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการฟื้นฟูทางชีวภาพจะส่งผลดีในการลดการเผา ลดปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อมที่สำคัญ และมีผลดีต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม หากเกษตรกรมีจัดการต่อซังด้วยการย่อยสลาย เช่น ตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เมื่อประเมินจากมวลชีวภาพของตอซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เฉลี่ย 852 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นไนโตรเจน 4.52 กิโลกรัมต่อไร่ ฟอสฟอรัส 1.28 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม 18.83 กิโลกรัมต่อไร่ สามารถลดต้นทุนค่าปุ๋ยเคมีในแปลงปลูก คิดเป็นปุ๋ยไนโตรเจน (46 - 0 - 0) 9.83 กิโลกรัมต่อไร่ มูลค่า 155.31 บาท ปุ๋ยฟอสฟอรัส (18 - 46 - 0) 2.78 กิโลกรัมต่อไร่ มูลค่า 69.50 บาท และปุ๋ยโพแทสเซียม (0 - 0 - 60) 31.38 กิโลกรัมต่อไร่ มูลค่า 483.25 บาท และรวมเป็นต้นทุนปุ๋ยเคมี 708.06 บาทต่อไร่ อีกทั้งการจัดการตอซังด้วยการย่อยสลายในแปลงเป็นการส่งเสริมคุณภาพดินให้มีความอุดมสมบูรณ์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตสมบูรณ์แข็งแรง ต้านทานการเกิดโรค ลดการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช ส่งผลให้ลดต้นทุนการใช้สารกำจัดศัตรูพืชได้อีกด้วย

7. ความยั่งยืนและข้อดีในการดำเนินการ

7.1 ขั้นตอนการขยายเพิ่มปริมาณเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส เนื่องจากเชื้อราต้องการแหล่งอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อ และต้องเป็นแหล่งอาหารชนิดแข็งที่ส่งเสริมชักนำให้เกิดการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการผลิตพร้อมกันในครั้งเดียว อีกทั้งกระบวนการผลิตแบบแช่เยือกแข็ง ต้องมีการศึกษาสภาวะการผลิตที่เหมาะสม เช่น ปริมาณ ความชื้น และอุณหภูมิ เพื่อลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อการควบคุมคุณภาพของเชื้อราและเอนไซม์เซลลูเลส

7.2 ขั้นตอน วิธีการสกัด การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากวัสดุหมัก และวิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสจากตัวอย่างดิน ที่จะต้องหาวิธีการวิเคราะห์ที่เหมาะสมจากการเปรียบเทียบวิธีการต่าง ๆ และการทำซ้ำหลายครั้ง เพื่อให้ได้ค่าที่ถูกต้องและแม่นยำ

7.3 การทดสอบในแปลงทดลอง เนื่องจากสภาพแวดล้อมในแปลงไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความชื้นในดิน อุณหภูมิ และสภาพอากาศ เป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และการเกิดกระบวนการทางชีวภาพ ซึ่งส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายของเศษพืช และการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นการดำเนินงานต้องตรวจสอบ ควบคุมดูแลแปลงทดลอง การให้น้ำพืช และการเก็บข้อมูลอย่างละเอียด เพื่อลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลกระทบต่อการวิจัย

8. ปัญหาและอุปสรรคในการดำเนินการ

เนื่องจากขั้นตอนการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ วิธีการสกัดเอนไซม์เซลล์จากตัวอย่างดิน มีหลายวิธีการ จำเป็นต้องดำเนินการวิเคราะห์เปรียบเทียบวิธีการหลายวิธี จำเป็นต้องใช้สารเคมี วิเคราะห์ที่ได้มาตรฐาน ซึ่งต้องนำเข้าจากต่างประเทศเท่านั้น และขั้นตอนการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ ผงแห้งละลายน้ำ ต้องใช้ความรู้ ความเชี่ยวชาญ และประสบการณ์ในกระบวนการผลิต อีกทั้ง นักวิจัยต้องมีความเชี่ยวชาญด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการวิเคราะห์ผล เพื่อลดข้อผิดพลาด จากการวิเคราะห์ข้อมูล

9. ข้อเสนอแนะ

9.1 จากผลการวิจัยประสิทธิภาพการย่อยสลายเศษพืชโดยผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ดังกล่าว ทำหน้าที่ได้ดีในสภาพดินที่มีความชื้น 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มกิจกรรมการย่อยสลายพืชในดิน จึงควรพิจารณามุ่งประเด็นพื้นที่เพาะปลูกช่วงเวลาใดมีความชื้นเพียงพอต่อการใช้ผลิตภัณฑ์เชื้อราดังกล่าว เพื่อย่อยสลายต่อช่วงข้าวโพด หรืออาจจะพิจารณาใช้ผลิตภัณฑ์ ช่วงก่อนเก็บผลผลิตข้าวโพด สำหรับการย่อยสลายเศษพืชในดินน้ำขังจะส่งผลกระทบเพิ่มจากการเกิดก๊าซเรือนกระจก เช่น มีเทน (CH_4) และไนตรัสออกไซด์ (N_2O)

9.2 ควรมีการทดสอบกับวัสดุเหลือใช้จากเศษพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีปริมาณวัสดุเหลือใช้จำนวนมากในพื้นที่แปลงเกษตร เช่น อ้อย ข้าว เป็นต้น เพื่อเป็นแหล่งอินทรีย์วัตถุ และธาตุอาหารพืชในพื้นที่เกษตรกรรม

9.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพดิน และสมบัติทางชีวภาพ ภายหลังการใช้ผลิตภัณฑ์ หรือการใช้ประโยชน์ร่วมกับผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดอื่น ๆ เช่น ปุ๋ยชีวภาพ เพื่อประโยชน์ในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพิ่มผลผลิตพืช และการต่อยอดขยายผลสู่ นักวิชาการและเกษตรกรต่อไป

9.4 ควรต่อยอดการศึกษาวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแบบแข็งจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เป็นส่วนผสมร่วมกับข้าวสาลี เพื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์เซลล์ให้สูงขึ้น การศึกษาตัวอย่าง เช่น การใช้ใบข้าวโพด หรือใบอ้อยสด เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแบบแข็งในการเพิ่มเอนไซม์เซลล์มากขึ้น ซึ่งใบพืชสดดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ จะกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ได้

9.5 ควรมีการวิจัยติดตามการอยู่รอดของผลิตภัณฑ์เชื้อราดังกล่าวในแปลงปลูกพืช โดยเทคนิคชีวโมเลกุล

10. การเผยแพร่ผลงาน

10.1 การจัดทำเอกสารเผยแพร่หน้าเว็บไซต์หน่วยงานกองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน

แหล่งเผยแพร่: <http://180.180.244.229/osb/Index.htm?mode=document>

(แสดงเอกสารเผยแพร่ที่ภาคผนวก ค ข้อ 1.)

10.2 การจัดทำเอกสารเผยแพร่หน้าเว็บไซต์ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

แหล่งเผยแพร่: <http://library.ddd.go.th:8991/F/67YUDQBX1EAE1>

LQI2YNRIQF2Q3PBCM 417P5494KHFHNJM4LE9-40332?func=full-set-set&set_number=000057&set_entry=000001&format=999

(แสดงเอกสารเผยแพร่ที่ภาคผนวก ค ข้อ 2.)

11. ผู้มีส่วนร่วมในผลงาน

11.1 นางจันจิรา แสงสีเหลือง ตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ มีหน้าที่ดำเนินการวางแผนการทดลอง วิจัย วิเคราะห์แปรข้อมูล และเขียนรายงาน สัดส่วนร้อยละ 90

11.2 นางนวลจันทร์ ชะบา ตำแหน่ง ผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน มีหน้าที่ร่วมดำเนินการวางแผนการทดลอง สัดส่วนร้อยละ 5

11.3 นางสาวดารรัตน์ โฮตาก้า ตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ มีหน้าที่ร่วมดำเนินการวางแผนการทดลองขั้นตอนในห้องปฏิบัติการ สัดส่วนร้อยละ 5

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

(ลงชื่อ)

จันจิรา

(นางจันจิรา แสงสีเหลือง)

ตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ

ผู้ขอประเมิน

วันที่ 24 / กรกฎาคม / 2568

ขอรับรองว่าสัดส่วนการดำเนินการข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

รายชื่อผู้มีส่วนร่วมในผลงาน	ลายมือชื่อ
1. นางนวลจันทร์ ชะบา	<i>นวลจันทร์</i>
2. นางสาวดารารัตน์ โฮตาก้า	<i>โฮตาก้า</i>

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

(ลงชื่อ)

(นายอริวัฒน์ สิทธิปัญญาพัฒน์)

ตำแหน่ง ผู้อำนวยการกองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

ผู้บังคับบัญชาที่กำกับดูแล

วันที่ 24 / กรกฎาคม / 2568

(ลงชื่อ)

(นายทวีศักดิ์ ธนเดโชพล)

ตำแหน่ง อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน

ผู้บังคับบัญชาที่เหนือขึ้นไป

วันที่ 8 / สิงหาคม / 2568

หมายเหตุ - คำรับรองจากผู้บังคับบัญชาอย่างน้อยสองระดับ คือ ผู้บังคับบัญชาที่กำกับดูแล และผู้บังคับบัญชาที่เหนือขึ้นไปอีกหนึ่งระดับ เว้นแต่ในกรณีที่ผู้บังคับบัญชาดังกล่าวเป็นบุคคลคนเดียวกัน ก็ให้มีคำรับรองหนึ่งระดับได้

- ผู้บังคับบัญชาที่กำกับดูแล ผู้ลงนามในแบบการประเมินบุคคล มีการโยกย้ายไปดำรงตำแหน่ง ผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 10

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2543. **คู่มือปฏิบัติงานหมอดินอาสา**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2551. **คู่มือการจัดการอินทรีย์วัตถุเพื่อการปรับปรุงบำรุงดินและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2556ก. **ชุดองค์ความรู้กึ่งศตวรรษพัฒนาที่ดิน เทคโนโลยีชีวภาพทางดิน**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2556ข. **ระเบียบกรมพัฒนาที่ดินว่าด้วยการใช้เครื่องหมายรับรองมาตรฐานปัจจัยการผลิตทางการเกษตร**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2557. **ลักษณะและสมบัติของชุดดินในภาคกลาง**. กองสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2562. **คำอธิบายลักษณะและสมบัติของชุดดินจัดตั้งในประเทศไทย**. กองสำรวจดินและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2561. **การวิเคราะห์บททวนปรับปรุงค่าคงที่ของอัตราส่วนชีวมวลและค่าสัมประสิทธิ์ชีวมวลเหลือใช้**. แหล่งที่มา: https://www.dede.go.th/ewt_dl_link.php?nid=48362, 10 สิงหาคม 2566.
- กรมวิชาการเกษตร. 2548. **คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2553. **เอกสารประกอบคำบรรยายการฝึกอบรมสถิติหลักสูตร การใช้สถิติกับงานวิจัยเกษตร เล่ม 1**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2564. **คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- กรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา. 2543. **จุลชีววิทยาส่งแวดล้อม**. โคราซอพอเซ็ทการพิมพ์, นครราชสีมา.
- กานต์มณี จันทรชาว, พิกุล เกตุชาญวิทย์ และสิรินภา ชินอ่อน. 2566. **การศึกษาความหลากหลายและกิจกรรมของจุลินทรีย์เป็นประโยชน์ทางการเกษตรในสภาวะทนแล้ง**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- เกษสินี แก้วสระแสน และ จุริมาศ วังศิริ. 2564. **วัสดุที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อรา และประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยแป้งสีชมพู (*Phenacoccus manihoti* Matile - Ferrero)**. **แก่นเกษตร** 49: 254 - 259.

- ไกรศักดิ์ พิมพ์. 2559. การผลิตผงกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก *Lactobacillus plantarum* TU01 ด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง. แหล่งที่มา: https://digital.library.tu.ac.th/tu_dc/frontend/Info/item/dc:307764, 30 กรกฎาคม 2567.
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2541. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- _____. 2548. **เอกสารประกอบการฝึกอบรมเรื่องระบบข้อมูลและธาตุอาหารพืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
- คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่. 2542. **พืชเศรษฐกิจ**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จรัญ จันทลักษณ์. 2534. **สถิติ: วิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย**. พิมพ์ครั้งที่ 6. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จันจิรา แสงสีเหลือง และ วรยา สุธรรมชัย. 2558. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมและสังคมจุลินทรีย์บริเวณรากพืชต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารภายใต้การจัดการดินในระบบการปลูกข้าวโพดหวานอินทรีย์. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- จันทนา พันธุ์ประดิษฐ์. 2558. **คุณภาพปุ๋ยหมักชนิดของจุลินทรีย์ต่อยุ่หมักใบไม้จากโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ที่หมักด้วยจุลินทรีย์**. โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ, กรุงเทพฯ.
- จารุวรรณ มณีศรี. 2541. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อราด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตนครศรีธรรมราช, นครศรีธรรมราช.
- ชนากานต์ แยมภูิก, ผานิตย์ นาขยัน, สาวิกา กองแสง, ภาวิณี อารีศรีสม และ วิณา นิลวงศ์. 2565. อิทธิพลของน้ำหมักชีวภาพต่อการย่อยสลายและการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของฟางข้าว. **แก่นเกษตร** 50 (6): 1797 - 1807.
- ฐิติกร มหิสนันท์. 2559. **ผลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อเสถียรภาพของกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB - MYP - 1 ที่เก็บรักษาด้วยแป้งข้าวเหลืองซึ่งเป็นสารปกป้องจากความเย็น**. แหล่งที่มา: <http://sutir.sut.ac.th:8080/jspui/bitstream/123456789/6983/1/>, 29 สิงหาคม 2567.
- ณรงค์เดช ฮองกุล, วิชิตา อินทรศรี, สมจินต์ วาณิชเสถียร, พงศ์ธร เพียรพิทักษ์ และ ธนัญชัย คำข้า. 2564. **ผลกระทบจากการเผาตอซังและการไถพรวนต่อสมบัติดิน เพื่อการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนที่สูง จังหวัดเชียงใหม่**. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- ดวงฤทัย นิคมรัฐ และ มาโนช หลักฐานดี. 2560. **การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากผักเหลือทิ้งและเปลือกผลไม้ เพื่อใช้ในการหมักแอลกอฮอล์**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

- ดุสิต อธิวัฒน์. 2562. การใช้ชีวภัณฑ์ชนิดผงจากดินขาวสำหรับย่อยฟางข้าวและควบคุมโรค
ขอบใบไหม้ในระบบการปลูกข้าวอินทรีย์. แหล่งที่มา: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/tjst/article/view/175572>, 29 สิงหาคม 2567.
- ทวี ศุภต์กาญจนากุล. 2541. เทคโนโลยีการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดี. กรมวิชาการเกษตรและ
กรมส่งเสริมสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพเทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ธงชัย ศรีวรรณะ. 2560. ความต้องการและพฤติกรรมการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ชีวภาพของ
ผู้บริโภค. แหล่งที่มา: <https://so04.tci-thaijo.org/index.php/kjss/article/242639/164869/837766>, 29 กรกฎาคม 2567.
- ธัญรัตน์ สหายา, จริญญา ฉัตรมานพ และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. 2551. การพัฒนาถังหมักแพคเบด
เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตเอมไซม์โปรติเอส สำหรับการหมักแบบแห้ง. มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์.
- ธิดา เดชฮวบ และ เลขา มาโนช. 2553. การศึกษาเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและราทนความร้อน
จากดินและเศษซากพืชที่เหลือจากการเกษตร. แหล่งที่มา: https://agkb.lib.ku.ac.th/BKN_AGRI/search_detail/download_digital_file/11942/1, 29 สิงหาคม 2567.
- ธีรินทร์ ฉายศิริโชค. 2560. การใช้กากมะพร้าวจากการคั่นกะทิในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วย
การหมักแบบอาหารแข็ง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- นวลจันทร์ ชะบา. 2557. ศึกษาการใช้น้ำหมักชีวภาพ และจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายตอซังข้าว
การปลดปล่อยไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ และการปลูกข้าวสุพรรณบุรี 1 ในชุดดินเดิมบาง.
กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- เนริสา คุณประทุม. 2543. การผลิตไซแลนเนสจาก *Trichoderma reesei* โดยวัสดุเหลือใช้จาก
การเกษตร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปรารณา เกตุบท, รัตติยา แววนุกุล, จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ, ภัทรา ผาสอน, อะกิฮิโกะ โคสึกิ และ
กนก รัตน์กนกชัย. 2556. การคัดแยกแบคทีเรียชนิดชอบร้อนและไม่ใช้ออกซิเจนในการ
เจริญที่มีความสามารถสูงในการย่อยสลายฟางข้าว. วิทยาศาสตร์ กษ. 44 (2): 165 - 168.
- ปรีชา ยอดยิ่ง, ศิริณา ทองดอนน้อย และ สิริินภา ช่วงโอภาส. 2562. การคัดแยกแบคทีเรียย่อย
สลายเซลลูโลส และประสิทธิภาพของการย่อยสลายซังข้าวโพดและผักตบชวาที่ใช้เป็น
ซับสเตรต. แก่นเกษตร 47 (1): 177 - 186.

- ปัทมา วิทยากร และ อรรณพ พุทธิโส. 2552. การเปลี่ยนแปลงและการสะสมอินทรีย์วัตถุในดินทรายเนื่องจากการสลายตัวของสารอินทรีย์ต่างคุณภาพที่ใส่อย่างต่อเนื่องในระยะยาว. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- _____, อรรณพ พุทธิโส, สมชาย บุตรนันท์, ภาณุเดช กมลมานิตย์, เบ็ญจพร กุลนิตย และ รติกร แสงห้าว. 2556. การปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดินทรายโดยใช้สารอินทรีย์: การศึกษาเชิงกระบวนการ. **แก่นเกษตร** 41 (2) (พิเศษ): 1 - 12.
- เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. 2551. เอนไซม์ตัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม. ศูนย์หนังสือแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- ผกามาศ ราชมนตรี. 2560. การย่อยสลายฟางข้าวโดยเชื้อจุลินทรีย์ทนร้อนที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม, มหาสารคาม.
- พลอยปภัส จรรยา. 2561. การทำงานร่วมกันของกลุ่มแบคทีเรียลิกโนเซลลูเลสจากนาข้าวอินทรีย์จังหวัดกาญจนบุรี เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการย่อยฟางข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- พนิดา ปรีเปรมโมทย์ และ โอนชา เทพสุภรณ์กุล. 2558. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมและสังคมจุลินทรีย์บริเวณรากพืชต่อการหมุนเวียนธาตุอาหารพืชภายใต้การจัดการดินในระบบปลูกไม้ผลอินทรีย์. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- พิจิตรา ตั้งเชื่อนขันธุ์, รสรินทร์ รุจนาพันธ์ และ อัญชลี อานาตสมบุญ. 2548. การคัดเลือกเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากวัชพืชรำที่พิเศษเหลือทิ้งจากโรงงาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- พิทยากร ลิ้มทอง และ ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์. 2541. การวิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำระบบการจัดเก็บข้อมูลด้านวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมทางการเกษตรของประเทศไทย. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนพานนท์. 2552. ลิกนิน. แหล่งที่มา: <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3289/lignin>, 20 มิถุนายน 2567.
- พัชรารณ นาคเทวัญ และ วลัยพร มัชพาน. 2562. การคัดเลือกและการระบุชนิดของเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร. **แก่นเกษตร** 47 (ฉบับพิเศษ 1): 1613 - 1618.
- ไพบุลย์ วิวัฒน์วงศ์นา. 2546. **เคมีดิน**. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- มานะ กาญจนมณีเสถียร. 2531. **ราที่เจริญที่อุณหภูมิสูง และราทนความร้อนจากดิน มูลสัตว์ และเศษเหลือจากการเกษตร: การจำแนกและประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- มธุรส ประเดิมชัย. 2554. สารปกป้องเซลล์และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *Lactobacillus plantarum* FT35 สำหรับเป็นหัวเชื้อหมักปลาต้ม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มยุรา ศรีกัลยานุกุล, ฐปน ชื่นบาล, ศิราภรณ์ ชื่นบาล และ ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน. 2555. การผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เมธานี หอมทอง, วันเพ็ญ แก้วพุก, สุกัญญา แยมสรวล และ อนัญญา ทองสีมา. 2561. ผลของระบบเกษตรกรรมต่อความหลากหลายของชนิดจุลินทรีย์ในดินในพื้นที่ปลูกผัก จังหวัดนครปฐม. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.
- เมฆ ขวัญแก้ว, พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์ และ วิศิษฐ์พร สุขสมบัติ. 2553. การใช้เปลือกมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังเป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารหยาบหมัก. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- ยงยุทธ โอสดสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ขวลิต ฮงประยูร. 2551. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ระพีพรรณ อินปันแก้ว. 2536. แบคทีเรียในกระเพาะหมักของโคพื้นเมือง และการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วรรณลดา สุนันทวงศ์ศักดิ์. 2538. บทบาทของอินทรีย์วัตถุต่อระบบนิเวศของจุลินทรีย์ในดิน. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- วิทวัส แจ้งเอี่ยม. 2562. การพัฒนาการย่อยสลายสารอินทรีย์ประเภทเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ. แหล่งที่มา: <https://buuir.buu.ac.th/xmlui/handle/1234567890/3870>, 29 สิงหาคม 2567.
- วิวัฒน์ เสือสะอาด, พิมพ์วรรณ สมมาตย์, ปวีณา บุษาทิเยน, รัตติรส เชียงสิน และ อาภรณ์ ปั่นทองคำ. 2551. วัสดุที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณโคโคนีเดียของเชื้อราขาว *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, น. 125 - 130. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 วันที่ 1 - 4 กุมภาพันธ์ 2554, กรุงเทพฯ.
- วิเชียร กิจปรีชาวนิช, วิเชียร สีสุข, อัญชริดา สวาจร และ นภา โล่ทอง. 2535. การผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสและไซแลนจากวัสดุทิ้งทางเกษตรกรรม โดยเชื้อ *Aspergillus fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-IF. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 26: 296 - 309.
- วิสุทธิ เลิศไกร. ม.ป.ป. การหมუნเวียนธาตุอาหารและเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดินจากเศษซากพืชในแปลงเกษตรกรรมด้วยวิธีการไถกลบตอซัง. สำนักพัฒนาพื้นที่ปฏิรูปที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

- วิณารัตน์ มุลรัตน์. 2553. ประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพจากเศษปลาที่ใช้น้ำกากส่าเหล้า
ทดแทนกากน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมผัก (*Amaranthus tricolor*)
ผักกวางตุ้งฮ่องเต้ (*Brassica campestris* var. *chinensis*) และผักบุ้งจีน (*Ipomoea*
aquatica var. *reptans*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- วีรชัย อัจหาญ, สมรัฐ เกิดสุวรรณ และ วิรัช อยู่ชา. 2555. โครงการศึกษาแนวทางบริหารจัดการ
เศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงและลดการเกิดหมอกควัน.
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- ศกุนตลา สุภาสัย, วิทยา ตริโลเกศ และ อรรณพ พุทธิโส. 2566. การใส่วัสดุอินทรีย์ต่างชนิดกันต่อ
รูปแบบการสลายตัว กิจกรรมจุลินทรีย์ และสมบัติดินบางประการในพื้นที่ได้รับอิทธิพลจาก
เกลือที่มีเนื้อดินหยาบ. แก่นเกษตร 51 (1): 187 - 209.
- สมจินต์ วานิชเสถียร, วิชิตา อินทศรี, ณรงค์เดช ฮองกุล, พงศ์ธร เพียรพิทักษ์ และ ธัญญชย์ คำขำ.
2564. ผลกระทบการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อความชื้นในดินและการเจริญเติบโต
ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บนพื้นที่สูง จังหวัดเชียงใหม่. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและ
สหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สมใจ ศิริโชค. 2537. เทคโนโลยีการหมัก. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพมหานคร.
- สัณห์ศักดิ์ สันจรรณศักดิ์. 2553. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซทานเนสโดยเชื้อรา *Bacillus subtilis*
และการใช้ประโยชน์ในการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2564. กระทรวงเกษตรและ
สหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. 2548. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช
วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า. พิมพ์ครั้งที่ 2.
กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สุนิสา จันสารี. 2560. ผลของการไถพรวนที่มีต่อปริมาณคาร์บอนที่เก็บสะสมในดิน และผลผลิต
ข้าวโพด กรณีศึกษาพื้นที่เกษตรกรรม จังหวัดลพบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, สถาบัน
บัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์.
- สุปิ่น ไม้ดัดจันทร์, บุญปิยธิดา คล่องแคล่ว, นันทินี ศรีจุมปา และ สุธามาศ ณ น่าน. 2566. วิจัยและ
พัฒนาการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของพืชและจุลินทรีย์
เพื่อเพิ่มมูลค่าและพัฒนานวัตกรรม. แหล่งที่มา: <https://www.doa.go.th/plan/wp-content/uploads/2023/08/2802.1>, 2 เมษายน 2568.

- สุภัตตรา โอกระโทก. 2556. ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อเป็นอาหารในไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สุภาวดี ไช้สกุล. 2543. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- โสฬส แซ่ลิ้ม. 2559. ปุ๋ยอินทรีย์และการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- ไสว พงษ์เก่า. 2534. พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- หนึ่ง เตียอำรุง และ พรรณลดา ติตตะบุตร. 2557. การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อการผลิต และการยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพทางการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.
- Acebal, C., M.P. Castillon, P. Estrada, I. Mata, E. Costa, J. Aguado, D. Romero and F. Jimenez. 1986. Enhanced cellulase production from *Trichoderma reesei* QM 9414 on physically treated wheat straw. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 24: 218 - 223.
- Admin, T.A. 2010. Food chemistry of carbohydrate and drying process. **Dry. Technol.** 55: 421 - 433.
- Alam, M., I. Gomes, G. Mohiuddin and M.M. Hoq. 1994. Production characterization of thermostable xylanase by *Thermomyces lanuginosus* and *Thermoascus aurantiacus* grown on lignocellulose. **Enzyme Microb. Technol.** 16: 298 - 302.
- Alexander, M. 1977. **Introduction to soil microbiology.** Jon Wiley and Sons, New York.
- Alexopoulos, C.J., C.W. Mims and M. Blackwell. 1996. **Introductory mycology.** John Wiley and Sons, New York.
- Ali, H.K.Q. and M.M.D. Zulkali. 2011. **Design aspects of bioreactors for solid state fermentation.** University Malaysia Perlis, Malaysia.
- Ananda, K. and K.R. Sridhar. 2004. Diversity of filamentous fungi on decomposing leaf and wood litter of mangrove forest in the southwest coast of India. **Curr. Sci. India.** 87: 1431 - 1437.
- Anupama, S. 2022. **Microbial degradation of cellulose (enzymes, steps, mechanisms).** Available Source: <https://microbenotes.com/microbial-degradation-of-cellulose/>, September 2, 2024.

- Asha, C. and P. Prema. 2007. Production of cellulose - free endoxylanases from novel alkalophilic thermotolerant *Bacillus pumilus* by solid - state fermentation and its application in wastepaper recycling. **Bioresource Technol.** 485 - 490.
- Atlas, R.M. 1997. **Handbook of microbiological media**. Second edition. Lawrence C. Parks.
- ____ and J. Philp. 2005. Bioremediation: Applied microbial solutions for real - world environmental cleanup. **Ameri. Soci. Microbiol.** 75 - 105.
- Ayuso, M., T. Hernandez, C. Garca and J.A. Pascual. 1996. Stimulation of barely growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. **Bioresource Technol.** 57 (3): 251 - 257.
- Bajpai, P. 2016. **Pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel production**. Available Source: <https://lib.ugent.be/catalog/ebk01:3710000000617207>, July 16, 2024.
- Balat, M. 2011. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the bio - chemical pathway. **Energy Conv. and Manag.** 52 (2): 858 - 875.
- Battaylino, R.A., M. Huergo, A.M.R. Pilosof and G.B. Barthelomai. 1991. Culture requirement for the production of protease by *Aspergillus oryzae* in solids sate fermentation. **App. Microbiol. Biotechol.** 35: 292 - 296.
- Beg, Q.K., M. Kapoor, L. Mahajan and G.S. Hoondal. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications. **Appl. Microbiol. Biot.** 56: 326 - 338.
- Belghith, H., E.C. Semia and G. Ali. 2001. **Stabilization of *Penicillium occitanis* cellulases by spray drying in presence of maltodextrin**. Available Source: <https://www.sciencedirect.com/journal/enzyme-and-microbial-technology/vol/28/issue/2>, July 22, 2024.
- Berg, B. and R. Laskowski. 2006. **Litter decomposition: A guide to carbon and nutrient turnover**. UK.
- Boza, Y., D. Barbin and A.R.P. Scamparini. 2004. Effect of spray - drying on the quality of encapsulated cells of *Beijerinckia* sp. **Process Biochm.** 39: 1275 - 1284.
- Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. **Soil Sci.** 59: 39 - 45.

- Brink, J.V.D., R.A. Samson, F. Hagen, T. Boekhout and P.V. Ronald. 2012. Phylogeny of the industrial relevant thermophilic genera *Myceliophthora* and *Corynascus*. **Fungal Divers.** 52: 197 - 207.
- Busk, P.K. and L. Lange. 2013. **Cellulolytic potential of thermophilic species from four fungal order.** Available Source: <http://www.amb-express.com/content/3/1/47>, May 15, 2023.
- Chahal, D.S. 1985. Solid - state fermentation with *Trichoderma reesei* for cellulase production. **Appl. Environ. Micro.** 49 (1): 205 - 210.
- Chem Sources Ltd. 2006. **Cellulose derivatives.** Available Source: https://www.chemsources.co.th/index.php?option=catalog_result&c=28&lang=en&sub=3, April 5, 2023.
- Christman, R.F. and E.T. Gjessing. 1983. **Aquatic and terrestrial humic materials.** The Butterworth Grove, England.
- Collins, T., C. Gerday and G. Feller. 2005. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiol. Rev.** 29: 3 - 23.
- Couto, S.R. and M.A Sanroman. 2006. Application of solid - state fermentation to food industry. **J. Food Eng.** 76 (3): 291 - 302.
- Cowling, B.B. and T.K. Kirk. 1976. Properties of cellulose and lignocellulosic materials as substrate for enzymatic conversion process. **Biotech. Bioeng. Symp.** 6: 95 - 123.
- Crowe, J.H., L.M. Crowe and D. Chapman. 1984. Infrared spectroscopic studies on interactions of water and carbohydrates with a biological membrane. **Arch. Biochem. Biophys.** 232: 400 - 407.
- Cummins, D.S. 1970. Quality and yield of corn plant and component parts when harvested for silage at different maturity stages. **Agron. J.** 62: 781 - 784.
- Deacon, J.W. 1980. **Introduction to modern mycology.** Blackwell Scientific Publication, London.
- de Jesus, S.S. and R.M. Filho. 2014. Drying of α - amylase by spray drying and freeze - drying - a comparative study. **Braz. J. Chem. Eng.** 31 (3): 625 - 631.
- Depeint, F., W.R. Bruce, N. Shangari, R. Mehta and P.J. O'Brien. 2006. Mitochondrial function and toxicity: Role of the B vitamin family on mitochondrial energy metabolism. **Chem. Biol. Interact.** 163: 94 - 112.

- De Rosier, A., B. Norberto and K.R. Wilkosz. 2001. **Method and formulation for stabilization of enzymes**. Available Source: <https://patents.justia.com/inventor/therese-a-de-rosier>, September 10, 2024.
- Desmond, C., R.P. Ross, E. O'Callaghan, G. Fitzgerald and C. Stanton. 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFCB 338 in spray - drying powders containing gum acacia. **J. Appl. Microbiol.** 93: 1003 - 1011.
- Desmons, S., H. Krhouz, P. Evrard and P. Thonart. 1998. Improvement of lactic cell production, pp. 513 - 526. *In Proceedings of the nineteenth symposium on biotechnology for fuels and chemicals*. May 4 - 8, 1997, Totowa.
- Deschamps, F., C. Giuliano, M. Asther, M.C. Hnet and S. Roussost. 1985. Cellulose production by *Trichoderma harzianum* in static and mixed solid - state fermentation reactors under non septic conditions. **Biotech. Bioeng.** 27: 1385 - 1388.
- Deshpande, S.K., M.G. Bhotomange, T. Chakrabati and P.N. Shastri. 2008. Production of cellulase and xylanase by *Trichoderma reesei* (QM 9414 mutant), *Aspergillus niger* and mixed culture by solid state fermentation (SSF) of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). **Indian J. Chem. Techn.** 15: 449 - 456.
- Desrosier, N.W. 1959. **The technology of food reservation**. The AVI Publishing Co. Inc., Westport Connecticut, New York.
- Deaker, R., R.J. Roughley and I.R. Kennedy. 2004. Legume seed inoculation technology. **Soil Biol. Biochem.** 36: 1275 - 1288.
- El-Ghany, T.M.A. and H.H. El-Sheikh. 2016. **Mycology**. Available Source: <http://www.esciencecentral.org/ebooks>, September 24, 2024.
- Elzwai, J., M.A. Alshareef, E.A. Elbarkoli and S.A. Aldokali. 2018. Fungal biomass production in mycological liquid medium by some ochratoxigenic fungi under static and shake culture conditions. **J. Pure Appl. Sci.** 17 (1): 2521 - 9200.
- EuropaBio's Industrial Biotechnology Council. 2013. **Building a bio - based economy for Europe in 2020**. Brussels, Belgium.
- Fan, L.T. and Y.H. Lee. 1983. Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: Derivation of a mechanistic model. **Biotechnol. Bioeng.** 15: 2707 - 2733.

- Food network. 2010. **Carbohydrate chemistry and food technology**. Available Source: <https://www.foodnetworksolution.com>, April 10, 2023.
- Food network solution. 2015. **Cellulose**. Available Source: <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose>, April 10, 2023.
- Ford, A.W. and P.J. Dawson. 1992. The effect of carbohydrate additives in the freeze - drying of alkaline phosphatase. **J. Pharm. Pharmacol.** 45: 86 - 93.
- Fungladda, E. 2009. **Soil carbon sequestration in organic tapioca at Tambon Maghurmai Amphur Soongern Nakon Ratchasima Province**. Thammasat University, Bangkok.
- Gao, Y., C. Wang, Q. Zhu and G. Qian. 2013. Optimization of solid - state fermentation with *Lactobacillus brevis* and *Aspergillus oryzae* for trypsin inhibitor degradation in soybean meal. **J. Integr. Agr.** 12 (5): 869 - 876.
- Garg, S.K. and S. Neelakantan. 1982. Studies on the properties of cellulase enzyme from *Aspergillus terreus* GN1. **Biotechnol. Bioeng.** 24: 3.
- Georgieva, K., C. Bianchi and B. Kirov. 2005. Once again about global warming and solar activity. **Mem. Della Soc.** 76: 969 - 971.
- Graham, M.H., R.F. Haynes and J.H. Meyer. 2002. Soil organic matter content and quality: Effects of fertilizer applications, burning and trash retention on a long - term sugarcane experiment in South Africa. **Soil Biol. Biochem.** 34: 93 - 102.
- Gupta, P., K. Samant and A. Sahu. 2012. Isolation of cellulose - degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. **Int J. Microbiol.** 2012: 578925.
- Hayer, K., M. Stratford and D.B. Archer. 2014. Germination of *Aspergillus niger* conidia is triggered by nitrogen compounds related to L - amino acids. **Appl. Environ. Microbiol.** 80 (19): 6046 - 6053.
- Hope, C.F.A. and R.G. Burn. 1987. Activity origins and location of cellulase in a silt loam soil. **Biol. Fertil. Soils.** 5: 164 - 170.
- Hughenoltz, J. and E.J. Smid. 2002. Nutraceutical production with food - grade microorganisms. **Curr. Opin. Biotechnol.** 13 (5): 497 - 507.
- Insel, P., D. Ross, K. McMahon and M. Bernstein. 2010. **Nutrition**. 4th ed. Jones and Bartlett Publishers, United States of America.

- Jiang, X., A. Geng, N. He and Q. Li. 2011. New isolate of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. **J. Biosci. Bioeng.** 111: 121 - 127.
- Johnson, L.F. and E.A. Curl. 1972. **Methods for research on the ecology of soil - borne plant pathogens.** Burgess Publishing Co., Minneapolis, MN.
- Kaewpredit, W., B. Toomsan, P. Vityakon, V. Limpinuntana, P. Saenjan, S. Jogloy, A. Pathanothai and G. Cadisch. 2008. Regulating mineral N release and greenhouse gas emissions by mixing groundnut residues and rice straw under field conditions. **Eur. J. Soil Sci.** 59 (4): 640 - 652.
- Kanakdande, D., R. Bhosale and R.S. Singhal. 2007. Stability of cumin oleoresin micro encapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. **Carbohydr. Polym.** 67 (4): 536 - 541.
- Kannangara, B.T.S.D.P. and N. Deshappriya. 2005. Microfungi associated with leaf litter decomposition of *Michelia nilagirica* and *Semecarpus coriacea* at Hakgala montane forest. **J. Natn. Sci.** 33: 81 - 91.
- Kanonova, M.M. 1966. **Soil organic matter: Its nature, Its role in soil formation and in soil fertility.** Pergamon Press Ltd., Oxford.
- Kim, J.H., M. Hosobuchi, M. Kishimoto, T. Seki, T. Yoshida, H. Taguchi and D.D.Y. Ryu. 1985. Cellulase production by a solid - state culture system. **Biotech. Bioeng.** 27: 1145 - 1150.
- Kirk, T.K. 1983. Degradation and conversion of lignocellulose, pp. 226 - 295. In J.E. Smith, D.R. Berry and B. Kristiansen, eds. **The filamentous fungi.** John Wiley & Sons Inc, New York.
- Kurasawa, T., M. Yachi, M. Suto, Y. Kamagata, S. Takao and F. Tomita. 1992. Induction of cellulase by gentiobiose and its sulfur - containing analog in *Penicillium purpurogenum*. **App. Environ. Microb.** 58 (1): 106 - 110.
- Leash, W.C. and T.B. Daynard. 1973. Dry mater yield, in vitro digestibility, percent protein and moisture or corn stover following grain maturity. **J. Plant Sci.** 53: 515 - 522.

- Leslie, S., E. Israeli, B. Lighthart, J. Crowe and L. Crowe. 1995. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacterial during drying. **App. Environ. Microb.** 61: 3592 - 3597.
- Lian, W.C., H.C. Hsiao and C.C. Chou. 2002. Survival of bifidobacterial after spray drying. **Int. J. Food Microbiol.** 74: 79 - 86.
- Liu, Q. and C.L. Xiao. 2005. Influence of nutrient and environmental factors on conidial germination of *Potrebniamyces pyri*. **Phytopathology.** 95 (5): 572 - 580.
- Martinez-Viveros, O., M.A. Jorquera, D.E. Crowley, G. Gajardo and M.L. Mora. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **J. Soil Sci. Plant Nut.** 10: 293 - 319.
- Maryanty, Y., S. Hadianoro, A. Takwanto, Kamilia and L. Ardhanariswari. 2020. Waste mud in oil and gas CEPU PPSDM using bioremediation. **IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.** 854 (1).
- Matsummoto, N., K. Paisanchoen and T. Hakamata. 2008. Carbon balance in maize fields under cattle manure application and no - tillage cultivation in northeast Thailand Soil. **Sci. Plant Nutr.** 54: 277 - 288.
- Mawadza, C., H. Rahni, R. Zvauya and M. Bo. 2000. Purification and characterization of cellulases produced by two *Bacillus* strains. **J. Biotechnol.** 83: 177 - 187.
- Meentemeyer, V. 1978. Macroclimate and lignin control of litter decomposition rates. **Ecol.** 59 (4): 65 - 72.
- Meir, Z. and N. Osherov. 2018. Vitamin biosynthesis as an antifungal target. **J. Fungi.** 4 (72).
- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem.** 31: 426 - 429.
- Monclaro, A.V. and E.X.F. Filho. 2017. Fungal lytic polysaccharide monooxygenases from family AA9: Recent developments and application in lignocellulose breakdown. **Int. J. Biol. Macromol.** 12: 771 - 778.
- Mondal, S., S.K. Halder and K.C. Mondal. 2022. Tailoring in fungi for next generation cellulase production with special reference to CRISPR/CAS system. **Syst. Microbiol. Biomanuf.** 2: 113 - 129

- Moo-Young, M., A.R. Moreira and R.P. Tengerdy. 1983. Principles of solid substrate fermentation, pp. 117 - 144. *In* J.E. Smith., D.R. Berry and B. Kristiansen, eds. **The Filamentous Fungi**. John Wiley & Sons Inc, New York.
- Morgan, C.A., N. Herman, P.A. White and G. Vesey. 2006. Preservation of micro - organisms by drying. **J. Microbiol. Meth.** 66: 183 - 193.
- Morikawa, Y., T. Ohashi, O. Mantani and H. Okada. 1995. Cellulase induction by lactose in *Trichoderma reesei* PC - 3 - 7. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 44: 106 - 111.
- Murao, S., J. Kanamoto and M. Arai. 1979. Isolation and identification of a cellulolytic enzyme producing microorganism. **J. Ferment. Technol.** 57 (3): 151 - 156.
- Muller, M.M., V. Sudmam, O. Soinnivaara and A. Merilainen. 1988. Effect of chemical composition on the release of nitrogen from agricultural plant materials decomposing in soil under field condition. **Biol. Fertil. Soils.** 6: 621 - 262.
- Muscolo, A., M. Sidari, E. Attin, O. Francioso, V. Tugnoli and S. Nardi. 2007. Biological activity of humic substances is related to their chemical structure. **Soil Sci. Am. J.** 71: 75 - 85
- Nardi, S., D. Pizzeghello, A. Muscolo and A. Vianello. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. **Soil Biol. and Biochem.** 34 (11): 1527 - 1536.
- Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **J. Biol. Chem.** 153: 375 - 380.
- Nishio, N., H. Kurisu and S. Nagai. 1981. Thermophilic cellulase production by *Talaromyces* sp. in solid - state cultivation. **J. Ferment. Technol.** 59 (5): 407 - 417.
- Norkrans, B. 1967. Cellulose and cellulolysis. **Adv. Appl. Microbiol.** 9: 91 - 215.
- Olson, J. 1963. Energy storage and balance of producers and decomposers in ecological systems. **Ecol.** 44: 322 - 331.
- Pant, S.C. and S.C. Tiwari. 1992. Litter fall and litter decomposition in a montane oak forest of Garhwal Himalaya. **Trop. Ecol.** 33 (1): 103 - 9.
- Parsons, S.A., V. Valdez-Ramirez, R.A. Congdon and S.E. Williams. 2014. Contrasting patterns of litterfall seasonality and seasonal changes in litter decomposability in a tropical rainforest region. **Biogeosciences.** 11: 5047 - 56.

- Philippe, J., A. Mokhtari, E. Riboulet-Bisson, V.S. Blancato, M. Espariz, C. Magni, A. Hartke, J. Deutscher and N. Sauvageot. 2017. Enzymes required for maltodextrin catabolism in enterococcus faecalis exhibit novel activities. **Appl. Environ. Microbiol.** 83 (13): 17.
- Piccolo, A., G. Pietramellara and J.S.C. Mbagu. 1997. Reduction in soil loss from erosion - susceptible soils amended it humic substances from oxidized. **Soil Technol.** 10 (3): 235 - 245.
- Portnoy, T., A. Margeot, V. Seidl-Seiboth, S.L. Crom, F.B. Chaabane, R. Linke, B. Seiboth and C.P. Kubicek. 2011. Differential regulation of the cellulase transcription factors XYR1, ACE2 and ACE1 in *Trichoderma reesei* strains producing high and low levels of cellulase. **Eukaryot Cell.** Feb. 10 (2): 262 - 271.
- Prakash, A. 1971. Terrigenous organic matter and coastal phytoplankton fertility, pp. 351 - 368. *In* J. D. Costlow, eds. **Fertility of Sea V. 2**, Gordon and Breach.
- Puranong, W., P. Lerstaveesin, L. Ampornpan and P. Srikitikulchai. 2007. **Succession of fungi associated to decomposition of leaf litter in tropical evergreen forest (north - eastern Thailand)**. Available Source: http://www.scisoc.or.th/stt/33/sec_b/paper/stt33_B1_B0096, April 2, 2024.
- Puttaso, A. 2011. **Changes in soil quality under long - term application of different quality organic residues in a sandy soil**. Thesis for the degree of doctor of philosophy, Khon Kaen University.
- Raper, K.B. and D.F. Alexander. 1945. Preservation of molds by the lyophil process. **Mycologia.** 37: 499 - 525.
- Rashid, M.A. 1985. **Geochemistry of marine humic substances**. New York, Springer - Verlag.
- Richards, B.N. 1976. **Introduction to the soil ecosystem**. Longman Group Limited, London.
- Rosenberg, M. and T.Y. Sheu. 1996. Microencapsulation of volatiles by spray - drying in whey protein - based wall system. **Int. Dairy J.** 6 (3): 273 - 284.
- Samaksh, R., Y. Mago, G. Aggarwal, A. Yadav and S. Tewar. 2023. **Liquid bioformulation: A trending approach towards achieving sustainable agriculture**. Available Source: <https://www.researchgate.net/publication/375331099>, July 18, 2024.

- Santivarangkna, C., B. Higl and P. Foerst. 2008. Protection mechanisms of sugar during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures. **J. Food Microbiol.** 25: 429 - 441.
- Santoro, P.H., J. Zorzetti, K. Constansk and P.M.O.J. Neves. 2015. Quality of *Beauveria bassiana* conidia after successive passages through *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Rev. Colomb. Entomol.** 41: 87 - 94.
- Shim, Y.H., P.L. Shinde, J.Y. Choi, J.S. Kim, D.K. Seo, J.I. Pak, B.J. Chae and I.K. Kwon. 2010. Evaluation of multi - microbial probiotics produced by submerged liquid and solid substrate fermentation methods in broilers. **Asian - Australas. J. Anim. Sci.** 23: 521 - 529.
- Silva, J., A.S. Carvalho, H. Pereira, P. Teixeira and P.A. Gibbs. 2004. Induction of stress tolerance in *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* by the addition of sucrose to the growth medium. **J. Dairy Res.** 71: 121 - 125.
- Singh, R., A. Shukla, S. Tiwai and M. Srivastava. 2014. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. **Renew. Suat. Energ. Rev.** 32: 713 - 728.
- Singleton, P., H. Keyser and E. Sande. 2002. Development and evaluation of liquid inoculants, pp. 52 - 66. In D. Herridge, eds. **Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam**. ACIAR, Canberra.
- Soane, B.D. 1990. The role of organic matter in soil compatibility: A review of some practical aspects. **Soil Till. Res.** 16: 179 - 201.
- Sojka, M. and A. Saeid. 2022. Chapter 10 Bio - based products for agriculture, pp. 279 - 310. In K. Chojnacka and A. Saeid, eds. **Smart agrochemicals for sustainable agriculture**. Academic Press.
- Soni, R., A. Nazir, B.S. Chadha and H.S. Saini. 2008. **Novel sources of fungal cellulases for efficient deinking of composite paper waste**. Available Source: [https://bioresources.cnr.ncsu.edu/BioRes_03/BioRes_03_1_0234_Soni_NCS_Fungal Cellulases_Deinking.pdf](https://bioresources.cnr.ncsu.edu/BioRes_03/BioRes_03_1_0234_Soni_NCS_Fungal_Cellulases_Deinking.pdf), July 30, 2024.
- Stewart, J.C. and J.B. Parry. 1981. Factor influencing the production of cellulase by *Aspergillus fumigatus* (Fresenius). **J. Gen. Microbiol.** 125: 33 - 39.

- Stchigel, S.M, J. Cano and J. Guarro. 2000. Three new thermotolerant species of *Corynascus* from soil, with a key to the known species. **Mycol. Res.** 104: 879 - 887.
- Stuetzenberger, F.J., A.J. Kaufman and R.D. Lossin. 1970. Cellulolytic activity in municipal solid waste composting. **Can. J. Microbiol.** 16: 553 - 560.
- Sunny-Robert, E.O., E. Ananta and D. Knorr. 2007. Flow cytometry assessment of *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) response to non - electrolytes stress. **Eenvironm. Sci.** 37: 184 - 200.
- Tan, C.S. 1997. Preservation of fungi. **Cryptogamie Mycol.** 18: 157 - 163.
- Tchobanoglous, G., H. Theisen and S.A. Vigil. 1993. **Integrated solid waste management: Engineering principle and management issue.** McGraw Hill Inc., New York.
- Teixeira, P., H. Castro. and R. Kirby. 1995. Spray drying as a method for preparing concentrated cultures of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* following spray - drying. **Agr. Food Sci.** 78: 456 - 462.
- Thomas, R.J. and N.M. Asakawa. 1993. Decomposition of leaf litter from tropical forage grasses and legumes. **Soil Biol. Biochem.** 25: 1351 - 1361.
- Tian, G., B.T. Kang and L. Brussaard. 1992. Biological effects of plant residues with contrasting chemical compositions under humid tropical condition decomposition and nutrient release. **Soil Biol. Biochem.** 24 (10): 1051 - 1060.
- Tittabutr, P., W. Payakapong, N. Teaumroong, P.W. Singleton and N. Boonkerd. 2007. Growth survival and field performance of *Bradyrhizobium* liquid inoculant formulations with polymeric additives. **Agr. Food Sci.** 33: 69 - 77.
- Umikalsom, M.S., A.B. Ariff, Z.H. Shamsuddin, C.C. Tong, M.A. Hassan and M.I.A. Karim. 1997. Production of cellulase by a wild production of cellulase by a wild strain of *Chaetomium globosum* using delignified oil palm empty - fruit - bunch fibre as substrate. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 47: 590 - 595.
- USDA. 2018. **Nutrient database.** Available Source: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169721/nutrients>, July 19, 2024.
- Viikari, L., A. Suumakki, L.G. Raaska and S. Gronqvist. 2009. Forest products: biotechnology in pulp and paper processing, pp. 80 - 94. *In Encyclopedia of microbiology* (Third Edition). Oxford: Academic Press.

- Walkley, A. and I.A. Black. 1947. Chromic acid titration method for determination of soil organic matter. **Soil. Sci. Amer. Proc.** 63: 257.
- Williams, S.T. 1963. Are antibiotics produced in soil. **Pedobi.** 23: 426 - 435.
- Young, S.L., X. Sarda and M. Rosenbergn. 1993. Microencapsulating properties of whey protein. 1. Microencapsulation of anhydrous milk fat. **J. Dairy Sci.** 76 (10): 2668 - 2877.
- von Arx, J.A. 1973. Further observations on *Sporotrichum* and some similar fungi. **Persona.** 7: 127 - 131.
- Zhang, D., Y. Wang, D. Zheng, P. Guo, W. Cheng and Z. Cui. 2016. New combination of xylanolytic bacteria isolated from the lignocellulose degradation microbial consortium XDC - 2 with enhanced xylanase activity. **Bioresource Technol.** 221: 686 - 6390.
- Zhang, N., D. Li, X. Zhang, Y. Shi and H. Wang. 2015. Solid - state fermentation of whole oats to yield a synbiotic food rich in lactic acid bacteria and prebiotics. **Food Funct.** 6: 2620 - 2625.
- Zhang, S., Y. Shi, S. Zhang, W. Shang, X. Gao and H. Wang. 2014. Whole soybean as pro - biotic lactic acid bacteria carrier food in solid - state fermentation. **Food Control.** 41: 1 - 6.
- Zhao, H.M., X.N. Guo and K.X. Zhu. 2017. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. **Food Chem.** 217: 28 - 36.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณเชื้อรา *C. verrucosus* 23 ในผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ตัวรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อ (log CFU ต่อกรัม)												
	0 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน	9 เดือน	10 เดือน	11 เดือน	12 เดือน
1	15.528 a	14.410 a	14.255 a	13.253 a	12.338 a	12.160 a	9.808 a	9.665 a	8.500 a	8.325 a	6.175 a	4.124 a	2.984 a
2	14.503 b	13.440 c	13.440 b	12.423 b	11.325 b	11.325 b	9.565 b	9.020 b	8.360 a	8.260 a	6.140 a	4.248 a	2.744 b
3	14.528 b	13.493 b	12.425 c	12.368 b	11.333 b	11.258 bc	9.520 b	8.725 b	8.407 a	8.010 a	6.248 a	3.354 b	2.980 a
4	14.383 c	13.420 c	12.493 c	11.448 c	11.230 bc	11.168 c	9.000 c	8.000 c	6.993 b	6.683 b	4.295 b	2.912 c	2.464 c
5	13.530 d	12.563 d	12.520 c	11.465 c	11.112 c	11.305 b	9.000 c	8.000 c	7.135 b	6.240 b	4.075 b	2.991 c	2.619 bc
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	0.33	0.23	0.59	0.52	0.75	0.60	1.44	4.78	1.37	4.38	3.51	2.87	4.74

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้ DMRT

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตัวรับการทดลองที่ 1 = มอลโตเดกซ์ตริน (MD) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร ตัวรับการทดลองที่ 4 = ทรีฮาโลส (TH) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตัวรับการทดลองที่ 2 = แล็กโทส (LT) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตัวรับการทดลองที่ 5 = โพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตัวรับการทดลองที่ 3 = สกิมมิลค์ (SM) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตารางผนวกที่ 2 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ตำรับการทดลอง	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)								
	0 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1	0.264	0.250 a	0.160 a	0.138 ab	0.148 a	0.115 b	0.065 a	0.022 b	nd
2	0.247	0.126 c	0.109 b	0.069 c	0.073 c	0.081 c	0.020 e	0.035 a	nd
3	0.221	0.215 ab	0.162 a	0.120 b	0.086 bc	0.090 c	0.057 b	0.020 b	nd
4	0.240	0.205 b	0.174 a	0.164 a	0.162 a	0.151 a	0.044 c	0.009 c	nd
5	0.248	0.117 c	0.111 b	0.109 b	0.102 b	0.087 c	0.032 d	0.000 d	nd
F-test	ns	**	**	**	**	**	**	**	-
CV (%)	10.53	15.69	16.58	18.35	9.41	8.97	9.91	29.99	-

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้ DMRT

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

nd (not detected) ตรวจไม่พบ

ตำรับการทดลองที่ 1 = มอลโตเดกซ์ตริน (MD) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร ตำรับการทดลองที่ 4 = ทรีฮาโลส (TH) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตำรับการทดลองที่ 2 = แล็กโทส (LT) 10 เปอร์เซนต์โดย

ตำรับการทดลองที่ 5 = โพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตำรับการทดลองที่ 3 = สกิมมิลค์ (SM) 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร

ตารางผนวกที่ 3 ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสในผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส ตามช่วงระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (37 องศาเซลเซียส)

ตัวรับการทดลอง	ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)								
	0 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1	0.227 a	0.167 a	0.155 a	0.107 b	0.133 a	0.110 a	0.032 d	0.030 a	nd
2	0.099 c	0.044 c	0.074 c	0.031 d	0.094 b	0.098 b	0.082 a	0.023 b	nd
3	0.199 b	0.155 a	0.149 a	0.108 b	0.137 a	0.109 a	0.082 a	0.022 b	nd
4	0.119 c	0.143 ab	0.137 a	0.124 a	0.093 b	0.057 d	0.053 c	0.000 c	nd
5	0.222 ab	0.115 b	0.099 b	0.044 c	0.104 b	0.067 c	0.063 b	0.000 c	nd
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	-
CV (%)	9.91	21.06	11.89	6.01	16.36	4.01	10.01	6.25	-

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้ DMRT

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวรับการทดลองที่ 1 = มอลโตเดกซ์ตริน (MD) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ตัวรับการทดลองที่ 4 = ทรีฮาโลส (TH) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ตัวรับการทดลองที่ 2 = แล็กโทส (LT) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ตัวรับการทดลองที่ 5 = โพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ตัวรับการทดลองที่ 3 = สกิมมิลค์ (SM) 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ตารางผนวกที่ 4 ประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละ
ตำรับการทดลองจากการปลูกรอบที่ 1

รายการค่าใช้จ่าย	ตำรับการทดลอง				
	1	2	3	4	5
1. ค่าแรงงาน (บาท/ไร่)					
- ไถดะ ไถแปร และซักร่อง	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
- ปลูกข้าวโพด คนหยอดเมล็ด	300	300	300	300	300
- สับกลบ/พูนโคน/กำจัดวัชพืช	500	500	500	500	500
- ใส่ปุ๋ยเคมี	140	140	140	140	140
- ฉีดพ่นผลิตภัณฑ์	-	50	50	50	50
- เก็บเกี่ยว	600	600	600	600	600
2. ค่าวัสดุ (บาท/ไร่)					
- ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0	450	450	450	450	450
- ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0	381.50	381.50	381.50	381.50	381.50
- ปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0	307.10	307.10	307.10	307.10	307.10
- น้ำหมักชีวภาพปลา	-	150	-	-	-
- เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	560	560	560	560	560
รวมต้นทุน (บาท/ไร่)	4,238.60	4,438.60	4,288.60	4,288.60	4,288.60
ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)	932.80	1,055.80	1,067.00	1,058.30	943.30
ราคา (บาท/กิโลกรัม)	9.30	9.30	9.30	9.30	9.30
มูลค่าผลผลิต (บาท)	8,675.04	9,818.94	9,923.10	9,842.19	8,772.69
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	4,436.44	5,380.34	5,634.50	5,553.59	4,484.09
F-test			ns		
CV (%)			17.86		

หมายเหตุ ค่าแรง 300 บาทต่อคนต่อวัน

ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 เท่ากับ 25 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 18.00 กิโลกรัมต่อไร่)

ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 เท่ากับ 35 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 10.90 กิโลกรัมต่อไร่)

ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0 เท่ากับ 37 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 8.30 กิโลกรัมต่อไร่)

ราคาน้ำหมักชีวภาพ 30 บาทต่อลิตร 5 ลิตรต่อไร่

หมายเหตุ ราคาผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กิโลกรัมละ 9.30 บาท

ดำเนินการทดลองที่ 1 = ควบคุม

ดำเนินการทดลองที่ 2 = น้ำหมักชีวภาพ

ดำเนินการทดลองที่ 3 = ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

ดำเนินการทดลองที่ 4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส

ดำเนินการทดลองที่ 5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1

ตารางผนวกที่ 5 ประเมินค่าใช้จ่ายและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แต่ละ
ตำรับการทดลองจากการปลูกรอบที่ 2

รายการค่าใช้จ่าย	ตำรับการทดลอง				
	1	2	3	4	5
1. ค่าแรงงาน (บาท/ไร่)					
- ไถตะ ไถแปร และซักร่อง	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
- ปลูกข้าวโพด คนหยอดเมล็ด	300	300	300	300	300
- สับกลบ/พูนโคน/กำจัดวัชพืช	500	500	500	500	500
- ใส่ปุ๋ยเคมี	140	140	140	140	140
- ฉีดพ่นผลิตภัณฑ์	-	50	50	50	50
- เก็บเกี่ยว	600	600	600	600	600
2. ค่าวัสดุ (บาท/ไร่)					
- ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0	450	450	450	450	450
- ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0	381.50	381.50	381.50	381.50	381.50
- ปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0	307.10	307.10	307.10	307.10	307.10
- น้ำหมักชีวภาพปลา	-	150	-	-	-
- เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	560	560	560	560	560
รวมต้นทุน (บาท/ไร่)	4,238.60	4,438.60	4,288.60	4,288.60	4,288.60
ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)	1,340.80	1,353.60	1,505.00	1,335.60	1,329.90
ราคา (บาท/กิโลกรัม)	9.30	9.30	9.30	9.30	9.30
มูลค่าผลผลิต (บาท)	12,469.44	12,588.48	13,996.50	12,421.08	12,368.07
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	8,230.84 b	8,149.88 b	9,707.90 a	8,132.48 b	8,078.47 b
F-test			**		
CV (%)			5.24		

หมายเหตุ ค่าแรง 300 บาทต่อคนต่อวัน

ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 เท่ากับ 25 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 18.00 กิโลกรัมต่อไร่)

ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 เท่ากับ 35 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 10.90 กิโลกรัมต่อไร่)

ราคาปุ๋ยเคมีสูตร 60 - 0 - 0 เท่ากับ 37 บาทต่อกิโลกรัม (ใช้ 8.30 กิโลกรัมต่อไร่)

ราคาน้ำหมักชีวภาพ 30 บาทต่อลิตร 5 ลิตรต่อไร่

หมายเหตุ ราคาผลผลิตเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กิโลกรัมละ 9.30 บาท

ตำรับการทดลองที่ 1 = ควบคุม

ตำรับการทดลองที่ 2 = น้ำหมักชีวภาพ

ตำรับการทดลองที่ 3 = ผลิตภัณฑ์รา *C. verrucosus* 23 ผสมเอนไซม์เซลลูเลส

ตำรับการทดลองที่ 4 = ผลิตภัณฑ์เอนไซม์เซลลูเลส

ตำรับการทดลองที่ 5 = ผลิตภัณฑ์สารเร่งซูปเปอร์ พด. 1

ภาคผนวก ข

1. การคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ CMCase เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคส ดังนี้
กำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์ คือ ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายซัสเตรตให้เป็นน้ำตาล
กลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดสอบ นั่นคือ

$$\begin{aligned} 1 \text{ หน่วยเอนไซม์} &= 1 \text{ ไมโครโมลของซัสเตรตที่ถูกย่อยใน 1 นาที} \\ &= 1 \text{ ไมโครโมลของกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที} \\ &= 0.18 \text{ มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที} \end{aligned}$$

ถ้า 0.18 มิลลิกรัมกลูโคส ที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 1 นาที มีค่า = 1 หน่วย

$$1.00 \text{ มิลลิกรัมกลูโคส ที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน 10 นาที มีค่า} = \frac{1}{0.18 \times 10} \text{ หน่วย}$$

$$\text{มีค่า} = 0.555$$

สมมติปลดปล่อยกลูโคส X มิลลิกรัม ใน 10 นาที มีค่า = $X \times 0.555$ หน่วย

จากการทดลองใช้เอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตร = $X \times 0.555$ หน่วย

ถ้าใช้เอนไซม์ 1.0 มิลลิลิตร = $\frac{X \times 0.555}{0.5}$ หน่วย

$$\text{CMCase} = \frac{\text{มิลลิกรัมกลูโคส}}{0.18 \times \text{มิลลิลิตรของเอนไซม์} \times \text{เวลา (นาที)}} \text{ หน่วยต่อมิลลิลิตร (U/ml)}$$

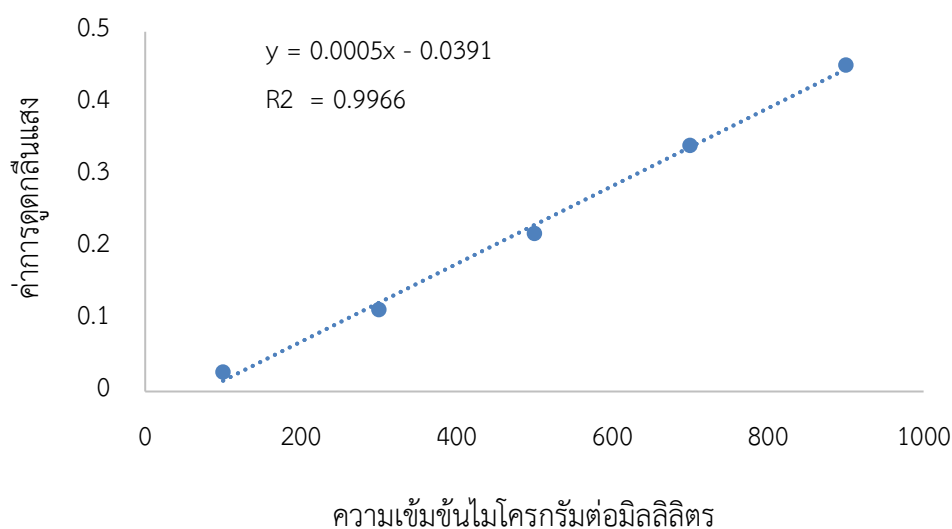
$$\text{หรือ} \quad \text{CMCase} = \frac{\text{มิลลิกรัมกลูโคส} \times 0.555}{\text{มิลลิลิตรของเอนไซม์}} \text{ หน่วยต่อมิลลิลิตร (U/ml)}$$

การทำกราฟมาตรฐานของกลูโคส

ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี DNS นั้นใช้ในขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานจะเตรียมสารมาตรฐาน และมีความเข้มข้น 100 300 500 700 และ 900 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ผลการทดลองการสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้ ดังแสดงในตาราง

ตารางผนวกที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
100	0.027
300	0.114
500	0.220
700	0.342
900	0.454



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของกลูโคสในการหาค่ากิจกรรมเอนไซม์โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี DNS

2. การคำนวณค่าคงที่ของการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์จากน้ำหนักวัสดุอินทรีย์ที่เหลือในช่วงเวลาที่ศึกษา คำนวณได้จากสมการ exponential decay model (Olson, 1963) ดังสมการ มีดังนี้

$$W_t = e^{-kt}$$

$$W_t/W_0 = e^{-kt}$$

$$k = -[\ln(W_t/W_0)]/t$$

เมื่อ W_t คือ น้ำหนักแห้งของซากพืชที่เหลืออยู่ในช่วงเวลา t (กรัม)
 W_0 คือ น้ำหนักแห้งพืชเริ่มต้น (กรัม)
 t คือ ช่วงเวลาที่ศึกษา
 k คือ ค่าคงที่ของการย่อยสลาย

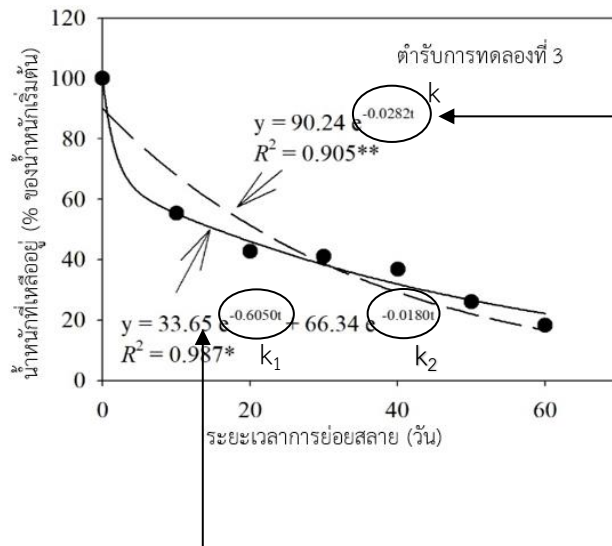
ตัวอย่างเช่น

เมื่อ W_t คือ น้ำหนักแห้งของซากพืชที่เหลืออยู่ในช่วงเวลา t
 เท่ากับ 11.08 กรัม
 W_0 คือ น้ำหนักแห้งซากพืชเริ่มต้น เท่ากับ 20 กรัม
 t คือ เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 10 วัน
 $k = -[\ln(11.08/20)]/10$
 $k = -0.0240$

แสดงว่า ค่าคงที่ของการย่อยสลาย (k) เท่ากับ 0.0240

ค่า k มีเครื่องหมายลบ แสดงแบบจำลองการถดถอยรูปแบบของอัตราการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ลดลงตามช่วงเวลาที่เพิ่มขึ้น

3. การอธิบายค่าจากกราฟ แสดงค่าคงที่ของการย่อยสลาย (k) ต่อซังข้าวโพดเลี้ยงสัตว์



--- เส้นประ

แสดงค่าจากสมการ (1) $W_t = e^{-kt}$

พิจารณาค่าคงที่ของการย่อยสลาย คือ

ค่า k เท่ากับ 0.0282 ช่วงเวลา 10 วัน

ค่า k สูง แสดงว่าค่าคงที่ของการย่อยสลายสูง

ค่า k มีเครื่องหมายลบ เป็นแบบจำลองการ

ถดถอยรูปแบบของอัตราการย่อยสลายของ

วัสดุอินทรีย์ลดลงตามช่วงเวลาที่เพิ่มขึ้น

— เส้นทึบ แสดงสมการ (2) $W = C_1 (1 - e^{-k_1 t}) + C_2 (1 - e^{-k_2 t})$

จากการทำกราฟแบบจำลอง double pool

จากค่า C_1 และ C_2 คือ ค่าประมาณการของวัสดุอินทรีย์ที่เหลืออยู่ แบ่งเป็น 2 ช่วง จากกราฟ ดังนี้

ค่า k_1 หมายถึง สัมประสิทธิ์ค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลาย ช่วงแรก เท่ากับ 0.6050

ค่า k_2 หมายถึง สัมประสิทธิ์ค่าคงที่ของอัตราการย่อยสลาย ช่วงหลัง เท่ากับ 0.0180

แสดงว่า อัตราการย่อยสลายในช่วงแรก (k_1) มากกว่าอัตราการย่อยสลายในช่วงหลัง (k_2)

โดย ค่า R^2 (R - Squared) คือ ค่าความผันแปรของตัวแปร

ถ้า R มีค่าใกล้ 1 แสดงว่า ตัวแปรสองตัวนั้นมีความสัมพันธ์กันมาก และมีทิศทางเดียวกัน

ถ้า R จะเข้าใกล้ 0 แสดงว่า x และ y มีความสัมพันธ์กันน้อย

$R^2 *$ = ค่าความผันแปรตัวแปรสองตัวนั้นมีความสัมพันธ์กัน $p < 0.05$

$R^2 **$ = ค่าความผันแปรตัวแปรสองตัวนั้นมีความสัมพันธ์กัน $p < 0.01$

$R^2 ***$ = ค่าความผันแปรตัวแปรสองตัวนั้นมีความสัมพันธ์กัน $p < 0.001$

2. จัดทำเอกสารเผยแพร่หน้าเว็บไซต์หน่วยงาน ได้แก่ ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

แหล่งเผยแพร่: http://library.idd.go.th:8991/F/67YUDQBX1EAE1LQI2YNRIQF2Q3PBCM417P5494KHFH9NJM4LE9-40332?func=full-set-t&set_number=000057&set_entry=000001&format=999



ห้องสมุดพัฒนาที่ดิน

[←](#) [→](#) [C](#) [Not secure](#) [library.idd.go.th:8991/F/67YUDQBX1EAE1LQI2YNRIQF2Q3PBCM417P5494KHFH9NJM4LE9-40332?func=full-set-t&set_number=000057&set_entry=000001&format=999](#)

IDD01 Library (OPAC)				
เลขที่ระบบ	ชื่อภาษาอังกฤษ	ชื่อภาษาไทย	กำหนดรูปแบบ	รูปเล่ม (Datebase)
eBook 24 hrs.	สืบค้นตามลำดับอักษร	สืบค้นตามลำดับตัวอักษร	ผลการสืบค้น	ประวัติการสืบค้น

จองซื้อเรื่อง

เก็บไว้ใน e-Shelf

บันทึก/ส่งอีเมล

บันทึกไว้ที่ Server

Full View of Record

Choose format: [Standard format](#) [Catalog Card](#) [Citation](#) [Name tags](#) [MARC tags](#)

Record 1 out of 7

Book Number	000010912
Record Format	Monograph
Main Entry	๑ ผู้เข้า และผู้เขียน
Title	๑ รายงานผลของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเพิ่มผลผลิตและอายุขัยของปลานิล (Effect of using biological products for accelerating the degrowth of tilapia, <i>Oreochromis niloticus</i>) / ชื่นหา แสงสีเหลือง
Imprint	กรุงเทพฯ : กองเทคโนโลยีชีวภาพพัฒนาที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน, 2566.
Descr.	96 หน้า : ภาพประกอบ. ตาราง
Abstract	ศึกษาวิธีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพ และผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์จากจุลินทรีย์และพืชสมุนไพร เพื่อเพิ่มผลผลิตและอายุขัยของปลานิล และทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ชีวภาพในการเพิ่มผลผลิตและการเจริญเติบโต ผลการศึกษาค้นคว้าได้แก่ผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์จากจุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์จากพืชสมุนไพร สามารถนำมาใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตและอายุขัยของปลานิลได้ และผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์จากจุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์จากพืชสมุนไพร
Subject	๑ ผลิตภัณฑ์ชีวภาพพัฒนาที่ดิน ๑ ฐานข้อมูลปลานิล

3. คู่มือ สารเร่งจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตทางการเกษตร ปี 2550



คณะผู้จัดทำ

นายชัยวัฒน์	ลิขิตชัย	อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน
นายไพบูลย์	ต้นศิริ	รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน
นายปรานี	วิเศษศรี	รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน
นายอิทธิพล	งสกล	รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน
นางสาวเสาวนีย์	พิริยพัฒน์	ผู้เชี่ยวชาญด้านปุ๋ยอินทรีย์และอินทรีย์วัตถุ
นางเบญจรัตน์	อนันต์พงษ์สุข	ผู้อำนวยการสำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

คณะผู้จัดทำ

นางสาวฉวีวรรณ	เหลืองสุวิไลโรจน์	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวนงนุชภัทร์	ภาสดา	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางวรรณภา	สงวนพงษ์	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวจุฑารัตน์	คำพิณกิจ	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวทวิกุล	พระราชปณิฏา	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นายสุวิชัย	จันทร์สมบัติ	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวพิมพ์ิศา	เรืองไพศาล	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวดารารัตน์	ไธยกัก	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวมนต์ธรี	พิริยพัชร	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวณัฏฐา	แสงสีเหลือง	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวพินิจ	ปรีเปรมโพธิ์	สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

สอบถามข้อมูลเพิ่มเติมที่
ศูนย์ถ่ายทอดส่งเสริมเกษตรอินทรีย์
สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
กรมพัฒนาที่ดิน โทร. 0-2579-0679
E-mail : osb_5@dd.go.th

4. คู่มือ มหัทศกรรยสารเร่ง พด. 7 สำหรับผลิตสารป้องกันแมลงศัตรูพืช ปี 2550

มหัทศกรรยสารเร่ง

พด. 7



สำหรับผลิตสารป้องกันแมลงศัตรูพืชจากพืชสมุนไพร



จัดทำโดย
กรมพัฒนาที่ดิน
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
ปี ๒๕๕๐
www.idd.go.th

คณะผู้จัดทำ

นางรัชต์ชนัน	ลัญฉุณย์	อดิศักดิ์ภักดี
นางนันทิยา	ธนิต	รองอธิบดีกรมส่งเสริมการค้า
นางไพจิตร	วิเศษ	รองอธิบดีกรมส่งเสริมการค้า
นางอริยา	จงกล	รองอธิบดีกรมส่งเสริมการค้า
นางสาวสันทิษา	พิชญ์พูน	ผู้ช่วยอธิบดีกรมส่งเสริมการค้า
นางนฤชนัน	อนันต์พงษ์	ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

คณะผู้จัดทำ

นางสาววิมล	เสด็จวิโรจน์	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวศันสน์	ภาสกร	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางรชดา	สงวน	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางพรนิจา	เสด็จใน	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวกานันท์	โอภาส	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวกนก	วิเศษ	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวกมล	บรรณ	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
นางสาวกมล	พิชญ์	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

สอบถามข้อมูลเพิ่มเติม

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมส่งเสริมการค้า
โทร. 0-2579-0679 E-mail : osb_5@idd.go.th

5. คู่มือ การจัดการอินทรีย์วัตถุ เพื่อปรับปรุงบำรุงดินและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ปี 2551



6. คู่มือ จุลินทรีย์สำหรับพืชปรับปรุงบำรุงดิน พด. 11 ปุ๋ยชีวภาพ พด. 12 ปี 2551



คณะผู้จัดทำ

คณะที่ปรึกษา นายบัณฑิต ดันศิริ นายฉลอง เทพวิทักษกิจ นายเกษม ทองปาน นายเกรียงศักดิ์ หงษ์โต นางเบญจรัตน์ อนันต์พงษ์สุข	อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
--	--

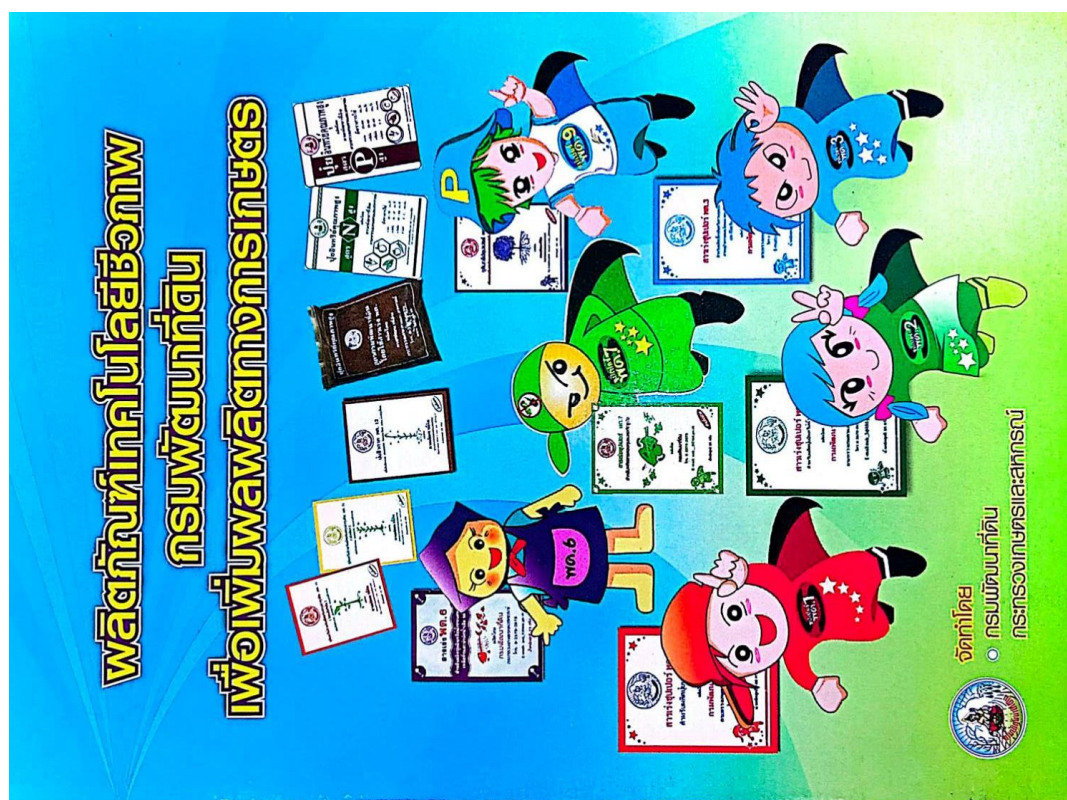
คณะผู้จัดทำ

นางสาวสุภาพร จันรุ่งเรือง นางสาววิวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์ นางสาวกนกนา สนวนพงษ์ นางสาวพิมพ์ธิดา เรืองไพศาล นางสาวจันจิรา แสงสีเหลือง นางสาวสิริภา ชินอ่อน นางสาวพิกุล ธรรมชาติกุล	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
---	--

สอบถามข้อมูลเพิ่มเติมที่ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
 กรมพัฒนาที่ดิน โทร. 0-2579-2875 E-mail : osb_8@idd.go.th

7. คู่มือ ผลิตภัณฑ์เทคโนโลยีชีวภาพ กรมพัฒนาที่ดิน เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร

คณะผู้จัดทำ	
ที่ปรึกษา	
นายเกรียงศักดิ์ พงษ์ไค	อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน
นางกุลธรีณี อนันต์พงษ์สุข	รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดินด้านวิชาการ
คณะผู้ดำเนินการ	
นางสาวฉวีวรรณ เหลืองวุฒิมณีโรจน์	
นางสาวสุภาพร จันรุ่งเรือง	
นายไสเฟส แซ่ลิ้ม	
นางนวลจันทร์ ะบา	
นางพิกุล เกตุงานุรักษ์	
นางสาวพิมพ์ธิดา เรืองไพศาล	
นายวุฒิชัย จันทรสมบัติ	
นางสาวเบตระวี พิวาวัชร	
นางสาวพนิดา ปรีเปรมโนย์	
นางจันจิรา แสงสีทอง	
นางสาวสิรินภา ชื่นอ่อน	
นางสาวภาณุภา อยู่ขุนพะเนา	
นางสาวลักขณ์ มอธโรลล์	
นางสาวดารารัตน์ โยธากา	
สอบถามข้อมูลเพิ่มเติม	
กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์	
โทร.0-2579-0679 E-mail: osb_8_ddd@hotmail.com	



8. คู่มือ การจัดการอินทรีย์วัตถุ เพื่อปรับปรุงบำรุงดินและเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ปี 2558



9. คู่มือ แนะนำการจัดการขยะ เพื่อส่งเสริมการใช้สารอินทรีย์ลดการใช้สารเคมี ปี 2561



ที่ปรึกษา

นายสุรเดช เดียวตระกูล อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน
 นายเข้มแข็ง ยุติธรรมดำรง รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ด้านวิชาการ
 นายปราโมทย์ ยาใจ รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ด้านปฏิบัติการ
 นางสาวเบญจพร ชาครานนท์ รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ด้านบริหาร

คณะผู้จัดทำ

นางสาวสุภาพร จันทรงเรือง ผู้อำนวยการกองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
 นางนวลจันทร์ สะมา นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ
 นายวุฒิชัย จันทระสมบัติ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ
 นางสาวมนต์ระวี นีราวัชร นักวิชาการเกษตรชำนาญการ
 นางจันทิรา แสงสีเหลือง นักวิชาการเกษตรชำนาญการ
 นางสาวกัญญา อยู่อุ่มพะเนา นักวิชาการเกษตรชำนาญการ
 นางสาวดารารัตน์ โยธาก้า นักวิชาการเกษตรชำนาญการ

ออกแบบภาพการ์ตูน

นางสาวดารารัตน์ โยธาก้า นักวิชาการเกษตรชำนาญการ

ติดต่อสอบถามข้อมูลเพิ่มเติม

กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน
 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ถนนพหลโยธิน
 โทรทัศน์ 02-579-0679
 โทรศัพท์ 02-579-2875
<http://www.ddd.go.th>

11. คู่มือ การผลิตและการใช้สารบำบัดน้ำเสียขจัดกลิ่นเหม็น ชูเปอร์ พด. 6 ปี 2566

ที่ปรึกษา	
อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน	
รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ด้านวิชาการ	
รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ด้านปฏิบัติการ	
รองอธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน ด้านบริหาร	

คณะผู้ดำเนินการ	
นายอาทิตย์ ศุภเกษม	นายอรรถพร พุทโส
นางนงวลจันทร์ ชะบา	นางจันจิรา แสงสีเหลือง
นางพิกุล เกตุกาญจน์	นางสาวพิมพ์ริดา เรืองไพศาล
นางสาวสุนาลี กลางสุข	นางมนต์ระวี มีไธม
นางสาวพนิดา ประปรมโนทัย	นางสาวสิริมา ชินอ่อน
นางสาวกานุกา อยู่อุ่มพะเนา	นางสาวดารารัตน์ ไฮตัก้า
นางสาวกนกวรรณ เชื้อพันธุ์	นายพิสิษฐ์ กิยงค์
นางสาวกานต์ณัฏฐ์ จันทร์ท้าว	

ข้อมูลเพิ่มเติม
กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
โทร 0 2579 0679 FB: กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน



12. คู่มือ Soil Biotechnology for Increasing crop Production in Thailand

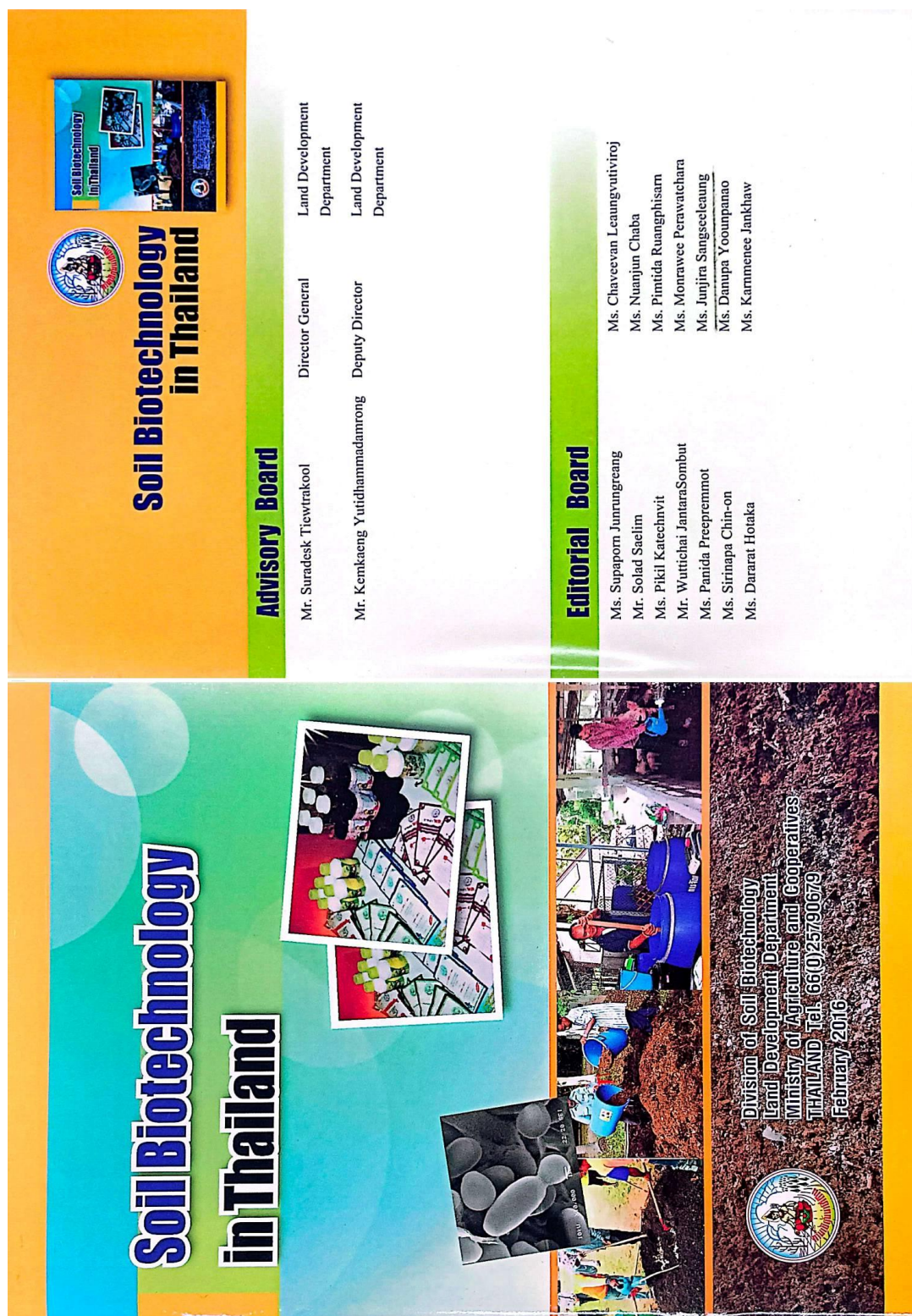
Editorial Board

Ms. Supapom Junnureang <i>Director Office of soil Biotechnology</i> Ms. Chaveevan Leungwutiviroj Ms. Nuanjun Pasda Ms. Pimida Ruangphisarn Ms. Monrwee Peerawatchara Mr. Wuttichai Juntarasombut Ms. Sirinapa Chin-on Mrs. Junjira Sagseeleuang	Land Development Department Mr. Solod Saelim Ms. Jutharat Khumnungkit Ms. Pikul Hunsanimitkul Ms. Panida Preepremmot Ms. Saowaluck Wongthianlai Ms. Danupa Yoonunpanao
---	---

Soil Biotechnology for Increasing crop Production in Thailand

Office of Soil Biotechnology
Land Development Department
Ministry of Agriculture and Cooperatives
THAILAND
Tel.66(0)-2579-0679
E-mail:osb_2@dd.go.th

13. គំរូ Soil Biotechnology in Thailand ปี 2559



14. คู่มือ Organic Matter and Soil Biotechnology Management in Thailand ปี 2559



ภาคผนวก ง

1. คุณสมบัติของข้าวเสาไห้สำหรับการเจริญของเชื้อรา *C. verrucosus* 23

ข้าวเสาไห้ มีองค์ประกอบสารอาหารในน้ำหนัก 100 กรัม แสดงดังตารางผนวกที่ 7 ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ปริมาณสูง 79.30 และ 6.60 กรัม ต่อ 100 กรัมของน้ำหนัก ตามลำดับ โดยคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งน้ำตาลกลูโคสที่เป็นสารอาหารสำคัญ สามารถนำไปใช้ได้ทันที สำหรับสร้างเส้นใยของรา ทำให้เชื้อราสามารถผลิตเส้นใยได้มาก ส่วนโปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจน ที่สำคัญสำหรับการเจริญของเชื้อรา (สุปัน และคณะ, 2566) ส่วนองค์ประกอบของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง และวิตามินบี เป็นสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา มีบทบาทสำคัญต่อการสร้างโคนิเดีย (conidia) และส่งเสริมการงอกของโคนิเดียของเชื้อรา (Liu and Xiao, 2005) ดังนั้นองค์ประกอบทางโภชนาการสูงเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อการเจริญของเส้นใย และการสร้างโคนิเดียเชื้อราได้ดี (Hayer *et al.*, 2014) ส่วนวิตามินบีเป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้ มีความจำเป็นสำหรับเอนไซม์และการทำงานของเซลล์ โดยบทบาทสำคัญของวิตามินบี คือ การรักษาการทำงานของไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ไมโทคอนเดรียจะถูกทำลายลงจากการขาดวิตามินบี ซึ่งวิตามินบีทำหน้าที่สำคัญเป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) ที่ทำงานร่วมกับเอนไซม์ในกระบวนการห่วงโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport chain) ในกระบวนการหายใจเพื่อสร้างพลังงาน (ATP) ของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มยูคาริโอต (eukaryote) เช่น เชื้อรา โดยกระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นที่เมทริกซ์ของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial matrix) (Depeint *et al.*, 2006) ซึ่งวิตามินบีที่สำคัญต่อกิจกรรมอื่น ๆ ในเซลล์ ได้แก่ ไทอามีน (thiamine) หรือวิตามินบี 1 (vitamin B1) เป็นโคเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) แบบออกซิเดชัน (oxidation) ของคอมเพล็กซ์ คีโตแอซิดดีไฮโดรจีเนส (keto acid dehydrogenase complex) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) หรือวิตามินบี 2 (vitamin B2) มีความจำเป็นสำหรับกระบวนการหายใจ กรดนิโคตินิก (nicotinic acid) หรือวิตามินบี 3 (vitamin B3) ใช้สำหรับขนส่งโปรตอนในกระบวนการฟอสโฟรีเลชัน (phosphorylation) กรดแพนโททีนิก (pantothenic acid) หรือวิตามินบี 5 (vitamin B5) จำเป็นต่อการสร้างโคเอนไซม์เอ (coenzyme A) ตลอดจนกระบวนการออกซิเดชันของกรดไขมัน และกรดโฟลิก (folic acid) หรือวิตามินบี 9 (vitamin B9) เป็นแหล่งโคแฟกเตอร์ (cofactor) ที่สำคัญสำหรับเอนไซม์หลายร้อยชนิดที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเผาผลาญที่จำเป็นของเชื้อรา (Depeint *et al.*, 2006; Meir and Osharov, 2018)

ตารางผนวกที่ 7 องค์ประกอบสารอาหารต่อน้ำหนัก 100 กรัมของข้าวเสาไห้

องค์ประกอบของสารอาหารต่อน้ำหนัก 100 กรัม	ข้าวเสาไห้
น้ำ (กรัม)	12.70
เถ้า (กรัม)	0.58
ไขมัน (กรัม)	0.58
โปรตีน (กรัม)	6.60
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	79.30
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	108
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	86
โซเดียม (มิลลิกรัม)	1
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	9
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.80
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	35
สังกะสี (มิลลิกรัม)	1.16
ทองแดง (มิลลิกรัม)	0.11
แมงกานีส (มิลลิกรัม)	1.10
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.07
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.04
วิตามินบี 3 (มิลลิกรัม)	1.60
วิตามินบี 5 (มิลลิกรัม)	1.34
วิตามินบี 6 (มิลลิกรัม)	0.14
วิตามินบี 9 (มิลลิกรัม)	0.01

ที่มา: USDA (2018)