# ผลของชนิดหัวเชื้อต่อการปลดปล่อยธาตุอาหารระหว่างการหมักน้ำสกัดชีวภาพ

# The effect of different starters on nutrient release during bio-extract fermentation

สุพัตรา เจริญภักดี[1] ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน[2] อัจฉรียา ชมเชย[3] และชวิศ จิตรวิจารณ์[3]

Supattra Charoenpakdee[1], Pairote Wongputthisin[2], Atchareeya Chomchoei[3] and Chawit Chitwicharn[3]

[1]Biology program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkramsongkram Rajabhat University, Playchumpol District, Muang, Phitsanulok, Thailand 65000

[2]Biotechnology program, Faculty of Science, Maejoe University, NhongHan district, Sunsay, Chiang Mai, Thailand 50290

[3]Biology program, Faculty of Science and Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Changpueak District, Muang, Chiang Mai, Thailand 50300

## บทคัดย่อ

จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสามารถปลดปล่อยธาตุอาหารพืชให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกหัวเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นสำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในจังหวัดเชียงใหม่ในการผลิตน้ำสกัดชีวภาพ จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สูตร MMO-01 MMO-02 MMO-03 พด.2 และพด.3 เปรียบเทียบกับการหมักด้วยน้ำเปล่า (จุลินทรีย์ทั่วไปที่มีอยู่เดิม) โดยใช้เศษผักและผลไม้สุกเป็นวัตถุดิบ ทดสอบนาน 8 สัปดาห์ ในถังหมักขนาด 30 ลิตร วิเคราะห์คุณภาพของน้ำสกัดชีวภาพแต่ละสูตรทุกสัปดาห์ พบว่าหัวเชื้อสูตร MMO-02 สามารถใช้ผลิตน้ำสกัดชีวภาพที่มีคุณภาพดีที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้หัวเชื้อสูตรอื่นๆ เนื่องจากมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ (3.99) ค่าการนำไฟฟ้าสูง (15.06 dS/m) และให้ปริมาณสารอาหารมากที่สุด ได้แก่ อินทรีย์วัตถุ (13.78%) ไนโตรเจนทั้งหมด (0.28%) ฟอสฟอรัสทั้งหมด (0.08%) โพแทสเซียมทั้งหมด (1.18%) แคลเซียมทั้งหมด (0.24%) และแมกนีเซียมทั้งหมด (0.20%) น้ำสกัดชีวภาพที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella-Shigella* spp. ได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 และเมื่อสิ้นสุดการหมักในสัปดาห์ที่ 5 ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียแลกติกจำนวน 7.94 (log[cfu/ml]) และไม่พบเชื้อก่อโรค *Escherichia coli* ปนเปื้อน หัวเชื้อสูตร MMO-02 เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำสกัดชีวภาพจากเศษผักและผลไม้สุก

**คำสำคัญ:** น้ำสกัดชีวภาพ ธาตุอาหารพืช หัวเชื้อจุลินทรีย์

## Abstract

Available form of nutrients were released during bio-extract fermentation by effective microorganism. The aim of this study was comparing of different commercial starters for bio-extract production from raw materials composing of vegetable residues and ripened fruits in Chiang Mai province, Thailand. Five Instant microorganism starters (MMO-01, MMO-02, MMO-03, PD.2 and PD.3) were evaluated their activities compared with control (local microorganism from water and raw materials) for 8

weeks in fermentor containing 30 liters. Subsequently, the quality of every formula of bio-extract was analyzed to select the most suitable bio-extract. The results showed that the MMO-02 produced the highest quality of bio-extract comparing to the other starters and higher than control significantly including low pH (3.99), high electrical conductivity (15.06 dS/m), organic matter content (13.78%), total nitrogen (0.28%), total phosphorus (0.08%), total potassium (1.18%), total calcium (0.24%) and total magnesium (0.20 %). Lactic acid bacteria was detected as 7.94 (log[cfu/ml]) while the growth of *Salmonella-Shigella* spp. was inhibited since week 1 and no *Escherichia coli* contaminated. Then, only 5 weeks of fermentation, effective microorganisms could release a lot of available plant nutrients from raw materials. Therefore, MMO-02 is suitable for bio-extract production from vegetable residues and ripened fruits.

**Key word**: bio-extract, plant nutrient, microorganism starter

**บทนำ**

น้ำสกัดทางชีวภาพ หรือปุ๋ยอินทรีย์น้ำ (Enzyme Ionic Plasma) เป็นสารละลายเข้มข้นที่ได้จากการหมักเศษพืชหรือสัตว์จะถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์ การหมักมีสองแบบ คือ หมักแบบต้องการออกซิเจน (หมักแบบเปิดฝา) และหมักแบบไม่ต้องการออกซิเจน (หมักแบบเปิดฝา) [1] สารละลายเข้มข้นอาจจะมีสีน้ำตาลเข้มกรณีที่ใช้กากน้ำตาลเป็นตัวหมัก หรือมีสีน้ำตาลอ่อนเมื่อใช้น้ำตาลชนิดอื่นเป็นตัวหมัก ซึ่งถ้าการหมักไม่สมบูรณ์จะพบสารประกอบพวกโปรตีน กรดอะมิโน คาร์โบไฮเดรท โปรตีน กรดอะมิโน ฮอร์โมน และเอนไซม์ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ (พืชหรือสัตว์) จุลินทรีย์ที่พบในน้ำสกัดชีวภาพหรือปุ๋ยอินทรีย์น้ำมีทั้งที่ต้องการออกซิเจน และไม่ต้องการออกซิเจน มักเป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., และ *Streptococus* sp. นอกจากนี้ยังอาจพบเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger, Pennicillium, Rhizopus* และยีสต์ ได้แก่ *Candida* sp. เป็นต้น [1, 2]

การผลิตน้ำสกัดทางชีวภาพมีจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้องจำนวนมากถึง $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในระยะต้นของการหมัก โดยจะลดจำนวนชนิดและปริมาณลงตามระยะเวลา แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกจะมีบทบาทอย่างมากในกระบวนการผลิตที่มีน้ำตาลเกี่ยวข้อง แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถสร้างกรดแลคติก กรดฟอร์มิค เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียหลายสายพันธุ์สามารถละลายฟอสเฟตซึ่งอยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถใช้ประโยชน์ในการเป็นธาตุอาหารพืชได้ โดยเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ [3] แบคทีเรียที่พบในน้ำหมักหลายสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชบางชนิด ส่วนเชื้อราจะประกอบด้วยยีสต์ที่เป็นราเซลล์เดี่ยว ซึ่งมักจะมีรูปทรงกลมหรือรี พบกระจายทั่วไปในธรรมชาติบนผิวผลไม้และใบไม้ ในน้ำสกัดทางชีวภาพยีสต์หมักน้ำตาลเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และราเส้นใยเป็นจุลินทรีย์พวกที่ต้องการอากาศ ในลักษณะของการทำน้ำสกัดทางชีวภาพ ซึ่งเป็นการหมักที่มีออกซิเจนน้อย สภาพดังกล่าวไม่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของราเส้นใย จึงมักจะพบราเส้นใยอยู่บนผิวหน้าของน้ำสกัดทางชีวภาพ หรือบนพื้นผิวภาชนะที่มีน้ำตาลติดอยู่ [1, 4]

ในจังหวัดเชียงใหม่มีการผลิตหัวเชื้อที่มีกลุ่มจุลินทรีย์ในท้องถิ่นบรรจุอยู่ภายใน พบมีจำหน่ายหลายชนิด หากแต่กลุ่มเกษตรกรหลายหมู่บ้านให้ความเชื่อถือ และนิยมเลือกใช้หัวเชื้อของกรมพัฒนาที่ดินและของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งผ่านการศึกษาและคัดเลือกเชื้อมาแล้ว มีการจำหน่ายหลากหลายชนิดในท้องตลาด ดังนั้นจึงได้นำหัวเชื้อชนิดต่างๆ ที่ได้รับความนิยมมาตรวจสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ของหัวเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด เพื่อศึกษาและนำผลิตภัณฑ์ไปส่งเสริมการปลูกพืชของเกษตรกรในท้องถิ่นต่อไป

**วิธีการศึกษา**

**การผลิตน้ำหมักชีวภาพจากเศษผักและผลไม้สุก**

เตรียมวัตถุดิบจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรในท้องถิ่น ได้แก่ 1) เศษผักที่นำมาศึกษาผลิตน้ำหมักชีวภาพเป็นเศษเหลือทิ้งหลังกระบวนการตัดแต่งผักของโรงงานคัดบรรจุ โครงการหลวงเชียงใหม่ ได้แก่ กะหล่ำปลี ผักสลัด พริกหวาน และผักกาดขาว 2) เศษผลไม้ที่นำมาศึกษาเป็นผลไม้สุกงอม แต่ไม่เน่าและไม่สามารถจำหน่ายได้ต่อไป โดยจัดหามาจากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ มะละกอ กล้วยน้ำหว้า และสับปะรด และ 3) กากน้ำตาล (Molasses) จัดจำหน่ายโดยมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนหัวเชื้อจุลินทรีย์คัดเลือกจากสถิติการใช้และการซื้อ-ขาย โดยการสัมภาษณ์ และเก็บข้อมูลจากเกษตรกรในท้องถิ่น ซึ่งเป็นผู้ใช้ และหน่วยงานราชการ ซึ่งเป็นผู้ผลิต [5] ได้แก่ กรมพัฒนาที่ดิน และมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้หัวเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ 1) หัวเชื้อสูตร พด.2 จากกรมพัฒนาที่ดิน 2) หัวเชื้อสูตร พด.3 จากกรมพัฒนาที่ดิน 3) หัวเชื้อสูตร MMO-01 จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ 4) หัวเชื้อสูตร MMO-02 จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และ 5) หัวเชื้อสูตร MMO-03 จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ทรีทเม้นต์ ดังต่อไปนี้ ทรีทเม้นต์ที่ 1: ไม่เติมหัวเชื้อ (กลุ่มควบคุม) ทรีทเม้นต์ที่ 2: หัวเชื้อสูตร พด.2 ทรีทเม้นต์ที่ 3: หัวเชื้อสูตร พด.3 ทรีทเม้นต์ที่ 4: หัวเชื้อสูตร MMO-01 ทรีทเม้นต์ที่ 5: หัวเชื้อสูตร MMO-02 ทรีทเม้นต์ที่ 6: หัวเชื้อสูตร MMO-03 แต่ละทรีทเม้นต์ทดลอง 3 ซ้ำ โดยรวบรวมผักและผลไม้ที่เป็นวัตถุดิบ แล้วนำผักทุกชนิดมาสับให้ละเอียด ส่วนผลไม้นำมาบีบให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำส่วนผสมทุกอย่างมารวมกันในอัตราส่วนที่ดัดแปลงจากสูตรหมักน้ำผัก-ผลไม้ของกรมพัฒนาที่ดิน [5] ดังต่อไปนี้ เศษกะหล่ำปลี 1.5 กิโลกรัม เศษผักสลัด 1 กิโลกรัม เศษพริกหวาน 0.8 กิโลกรัม เศษผักกาดขาว 1 กิโลกรัม มะละกอ 1.5 กิโลกรัม กล้วยน้ำว้าใกล้เน่า 1.5 กิโลกรัม สับปะรดสุกงอม 1.5 กิโลกรัม กากน้ำตาล 3 กิโลกรัม น้ำ 4 ลิตร หัวเชื้อ 40 มิลลิลิตร บรรจุลงในถังพลาสติกใสขนาดความจุ 30 ลิตร คลุมด้วยผ้าขาวบาง ปิดฝา และคลุมด้วยผ้าใบอีกครั้ง เพื่อป้องกันแสงแดด ทำการหมักเป็นเวลา 2 เดือน ในโรงเรือนที่มีหลังคา

เก็บตัวอย่างน้ำสกัดชีวภาพครั้งละ 50 มิลลิลิตร ทุกสัปดาห์ โดยกรองผ่านผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ด้วย conductivity meter ปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจนรวม ฟอสเฟตอิสระ โพแทสเซียม และอินทรีย์วัตถุ และการเจริญของจุลินทรีย์บาง

กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียรวมชนิดใช้อากาศ (total plate count) นับบนอาหาร Nutrient agar ด้วยวิธี spread plate แบคทีเรียแลกติก (lactic acid bacteria) นับบนอาหาร MRS agar ด้วยวิธี pour plate *Escherichia coli* นับบนอาหาร EMB agar ด้วยวิธี spread plate *Salmonella* spp. และ *Shigella* spp. นับบนอาหาร SS agar ด้วยวิธี spread plate และผลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistix for window© (FL, USA) แล้วคัดเลือกหัวเชื้อที่ผลิตน้ำสกัดชีวภาพที่มีคุณภาพดีที่สุด

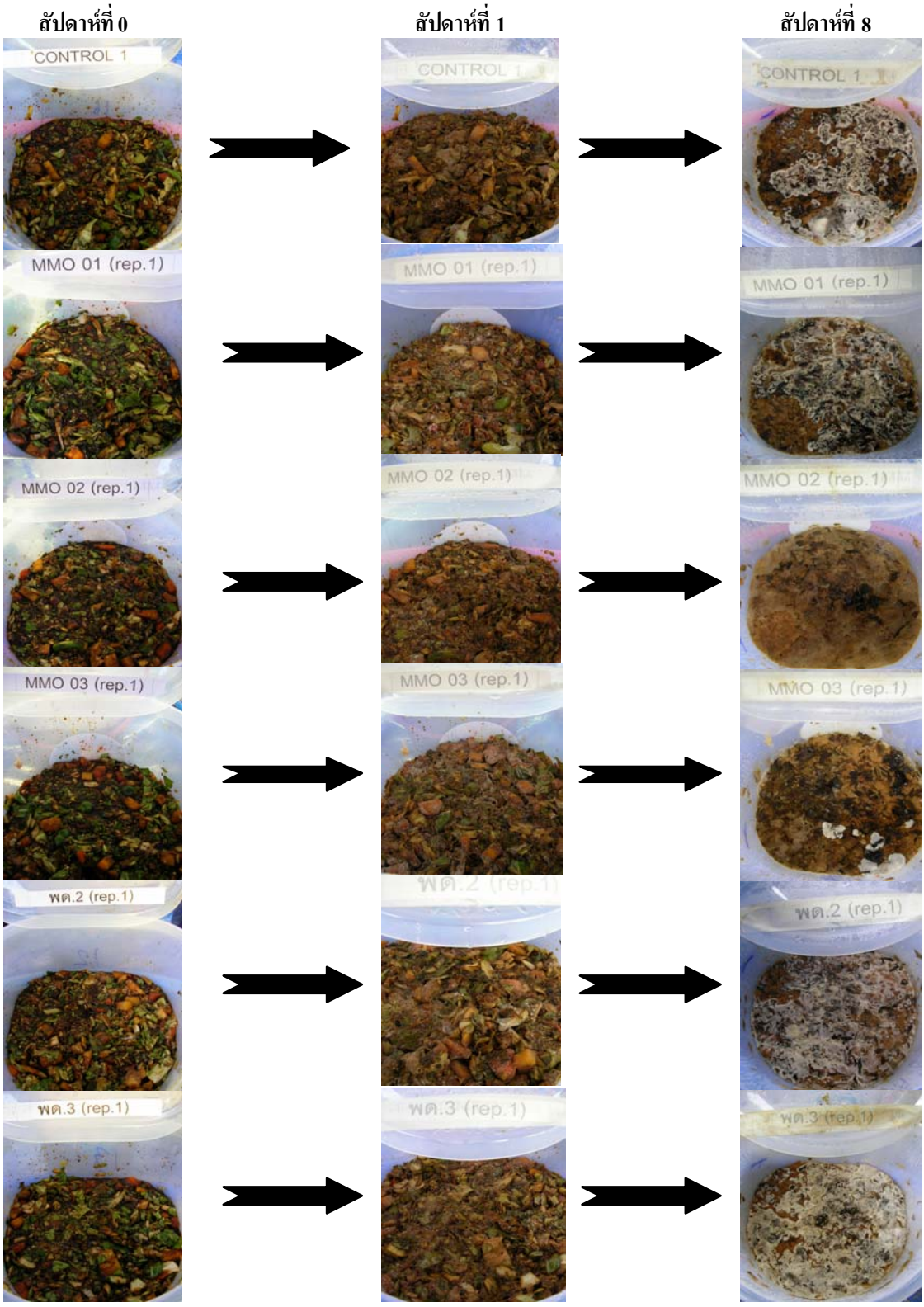
**ผลการทดลอง**

**ลักษณะทางกายภาพของน้ำสกัดชีวภาพ**

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของน้ำสกัดชีวภาพที่พบในระหว่างการหมักมีลักษณะดังนี้ สัปดาห์แรกเศษและกากวัตถุดิบต่าง ๆ จมอยู่ในส่วนของเหลว กลิ่นของกากน้ำตาลเด่นชัดมาก สัปดาห์ที่ 2-4 กากวัตถุดิบลอยขึ้นสู่ผิวหน้า และพบกลิ่นเปรี้ยวที่ค่อนข้างชัดเจน คล้ายกลิ่นผลไม้ดอง มีฟองเล็กๆ ลอยขึ้นมาตลอดเวลา ทรีทเม้นต์ที่ 5: หัวเชื้อสูตร MMO-02 มีกลิ่นเปรี้ยวรุนแรงที่สุด คาดว่าน่าจะเกิดจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลกติกมากที่สุด สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์แบคทีเรียแลกติกที่กล่าวมาแล้ว ในขณะที่ทรีทเม้นต์ที่ 1: ไม่เติมหัวเชื้อ (กลุ่มควบคุม) พบกลิ่นเปรี้ยวน้อยที่สุด และกากวัตถุดิบลอยขึ้นมาน้อยกว่า และในสัปดาห์ที่ 5-8 กากวัตถุดิบเริ่มเละมากขึ้น พบเส้นใยเชื้อราจำนวนมากปกคลุมผิวหน้าในทุกทรีทเม้นต์ และมีกลิ่นค่อนข้างรุนแรงมากกว่าเดิม (ภาพที่ 1)

**การคัดเลือกหัวเชื้อสำหรับผลิตน้ำหมักชีวภาพ**

การเลือกหัวเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตน้ำสกัดชีวภาพจากเศษผักและผลไม้สุกที่มีในท้องถิ่นนั้น โดยทั่วไปนิยมศึกษาปัจจัยทางด้านเคมี ชีวภาพ และกายภาพ [6] มีเกณฑ์ในการคัดเลือกจากปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มระหว่างการหมักน้ำหมัก การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า และการเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหารในน้ำหมัก พบดังต่อไปนี้



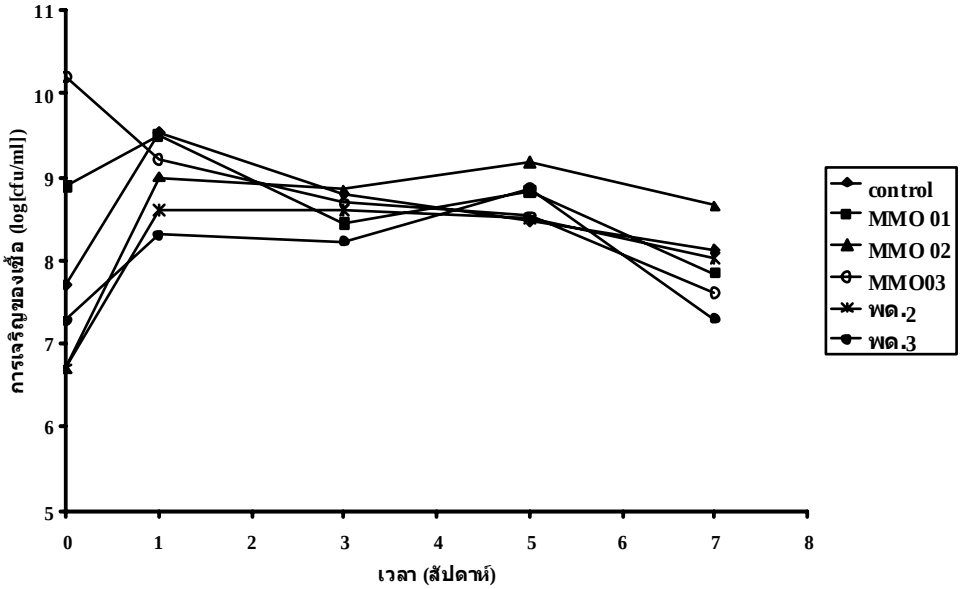

**ภาพที่ 1** การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเศษผักและผลไม้ด้วยหัวเชื้อสูตรต่างๆ นาน 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

**การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำหมัก**

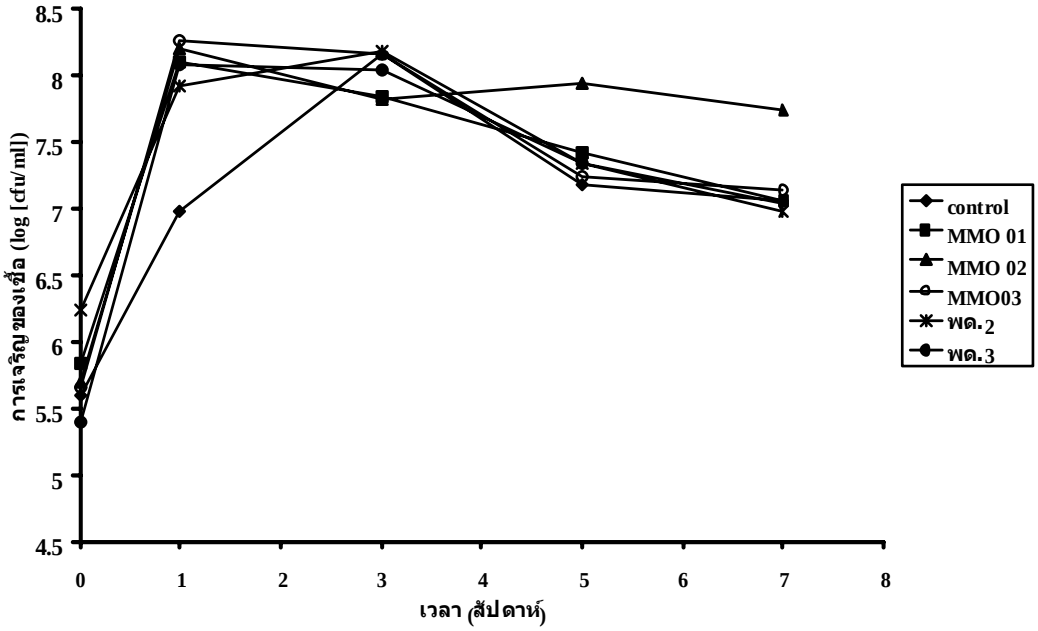
กลุ่มแรกที่ได้ทำการติดตาม คือ แบคทีเรียชนิดใช้อากาศในการเจริญเติบโต (aerobic bacteria) เนื่องจากส่วนใหญ่จะติดมากับเศษวัสดุตั้งต้น และน้ำที่ใช้ในการหมัก พบว่าช่วงสัปดาห์แรกของการหมัก เกือบทุกทรีทเม้นต์จะมีการเจริญของเชื้อกลุ่มนี้เพิ่มขึ้น ยกเว้นกลุ่มที่ใช้หัวเชื้อสูตร MMO-03 ที่การเจริญของเชื้อกลุ่มนี้ลดลง แต่เมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้นก็พบว่าการเจริญของเชื้อเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และลดลงเล็กน้อยเมื่อถึงสัปดาห์ที่ 7 ของการหมัก อาจกล่าวได้ว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียกลุ่มใช้อากาศในการเจริญเติบโตมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (ภาพที่ 2) เมื่อเวลาการหมักผ่านไป จำนวนเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลกติก (Lactic Acid Bacteria; LAB) สามารถเจริญเติบโตได้เพิ่มมากขึ้นในทุกทรีทเม้นต์ ไม่เว้นแม้แต่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (control) (ภาพที่ 3) แต่ในช่วงสัปดาห์แรกกลุ่มควบคุมมีการเจริญจะต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างชัดเจน แต่หลังจากนั้นการเจริญของ LAB ในทุกกลุ่มต่างกันน้อยมาก ยกเว้นกลุ่มที่ใช้หัวเชื้อสูตร MMO-02 ที่การเจริญของ LAB โดดเด่นขึ้นมาอย่างชัดเจน ผลการทดลองสอดคล้องกับการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำหมักที่พบว่ามีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (pH ลดลง) (ภาพที่ 4)

จุลินทรีย์อีกกลุ่มที่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์คือ แบคทีเรียกลุ่มก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้พบได้ทั่วไปในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ (ภาพ 5) พบว่าเริ่มต้นในทุกทรีทเม้นต์มีเชื้อ *Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. ปนเปื้อน แต่เมื่อการหมักผ่านไปเป็นเวลา 1 สัปดาห์ กลับพบจำนวนเชื้อดังกล่าวลดลง โดยลดลงมากที่สุดในน้ำหมักที่หมักด้วยหัวเชื้อ MMO-02 และลดลงน้อยที่สุดในกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมหัวเชื้อลงไปเพิ่ม แต่เมื่อการหมักเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 ก็ไม่สามารถตรวจพบเชื้อ *Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. ในส่วนของเชื้อ *E. coli* นั้น พบว่าไม่สามารถตรวจพบได้ในน้ำหมักทุกทรีทเม้นต์และทุกช่วงระยะเวลา

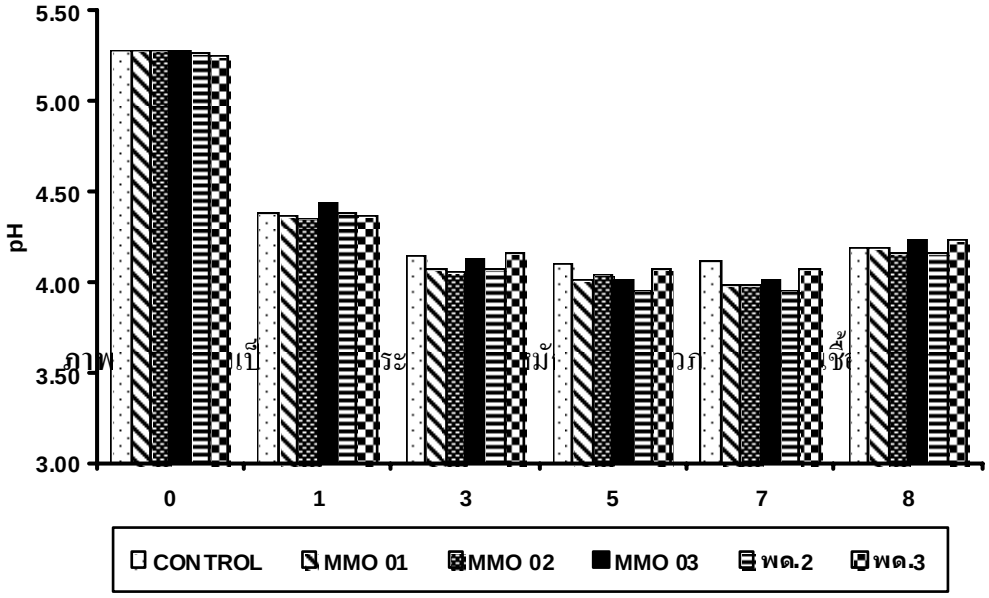
นอกจากกลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวที่ได้ตรวจวิเคราะห์แล้วนั้น ยังคงมีจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ อีกมากมายที่ยังได้ตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ ยีสต์ (yeasts) ซึ่งจะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ กลุ่ม acetic acid bacteria ทำให้หน้าที่เปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก กลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจน ทำหน้าที่เปลี่ยนโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน และกลุ่มจุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัส ที่ช่วยเปลี่ยนฟอสฟอรัสอินทรีย์และอนินทรีย์ให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ยังสามารถพบเชื้อราเจริญได้ที่ผิวหน้าอีกด้วย ดังเช่นในการทดลองนี้ พบว่าหลังจากสัปดาห์ที่สอง จะมีเชื้อราเจริญขึ้นที่ผิวหน้าเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต โดยเชื้อราก็จะช่วยย่อยอินทรีย์สารในวัตถุดิบด้วยเช่นกัน



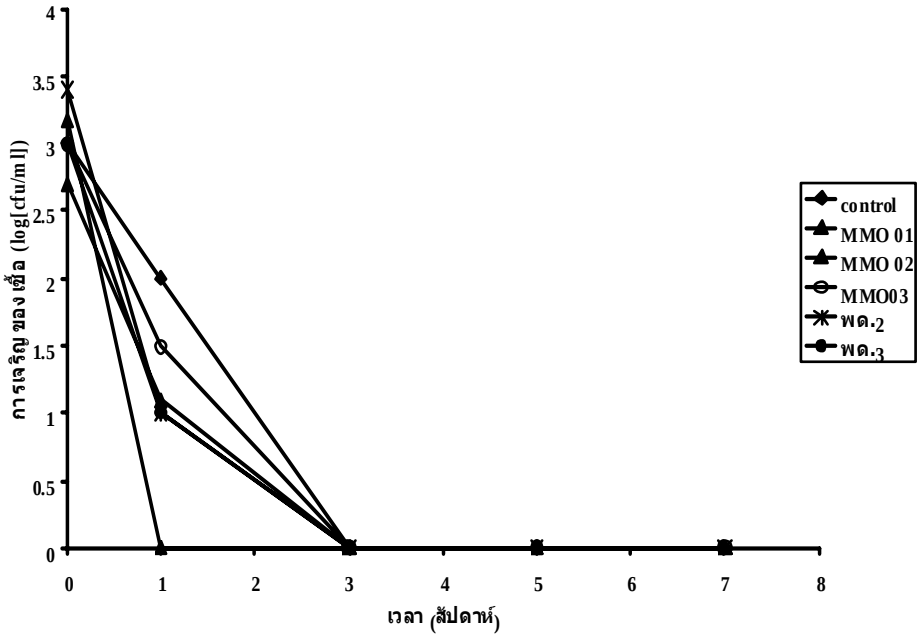

**ภาพที่ 2** การเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้อากาศระหว่างการผลิตน้ำสกัดชีวภาพด้วยหัวเชื้อสูตรต่างๆ นาน 7 สัปดาห์




**ภาพที่ 3** การเจริญของแบคทีเรียแลคติกระหว่างการผลิตน้ำสกัดชีวภาพด้วยหัวเชื้อสูตรต่างๆ นาน 7 สัปดาห์



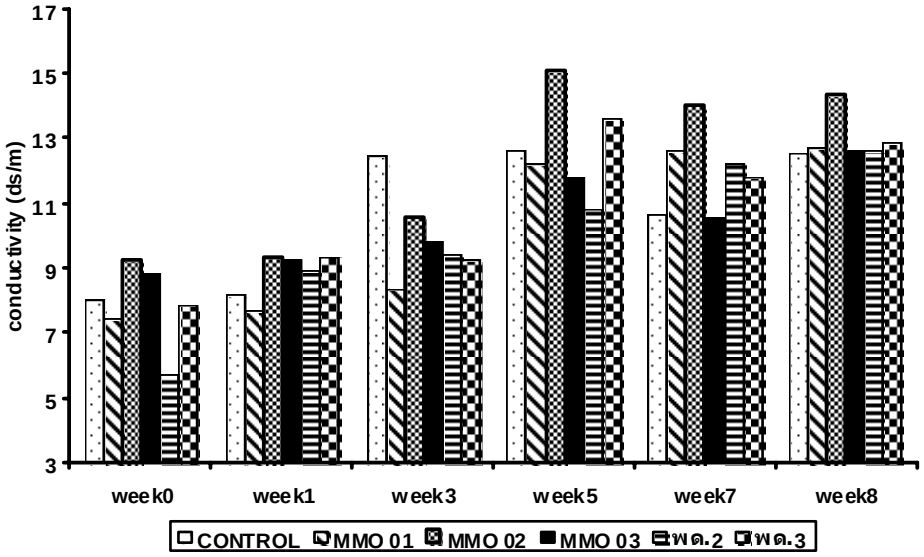

**ภาพที่ 4** ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่างการหมักน้ำหมักชีวภาพด้วยหัวเชื้อสูตรต่างๆ




**ภาพที่ 5** การเจริญของเชื้อ *Salmonella* spp. และ *Shigella* spp. ระหว่างการผลิตน้ำสกัดชีวภาพด้วยหัวเชื้อสูตรต่างๆ

**ค่าการนำไฟฟ้า (EC)**

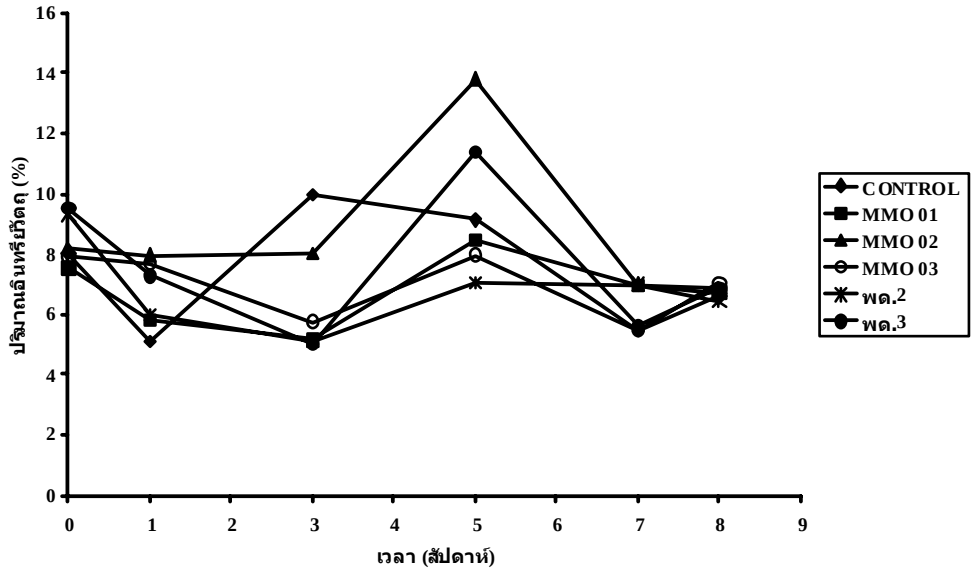
ในระหว่างการหมักน้ำหมักชีวภาพ พบว่าค่า EC จะเพิ่มขึ้นในทุกทรีทเม้นต์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 5 และจะเริ่มลดลงตามลำดับ โดยทรีทเม้นต์ที่หมักด้วยหัวเชื้อสูตร MMO-02 จะมีค่า EC สูงโดดเด่นกว่าสูตรอื่นๆ



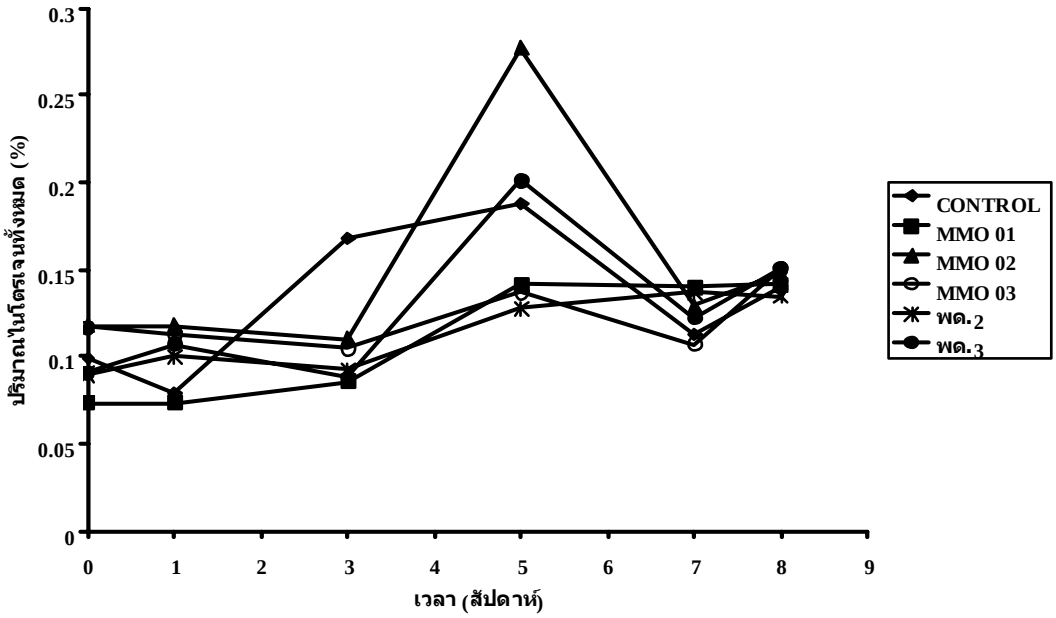

**ภาพที่ 6** ค่าการนำไฟฟ้า(EC) ของน้ำหมักชีวภาพทุกสูตรในแต่ละช่วงเวลาของการหมัก

**ธาตุอาหารในน้ำหมักชีวภาพ**

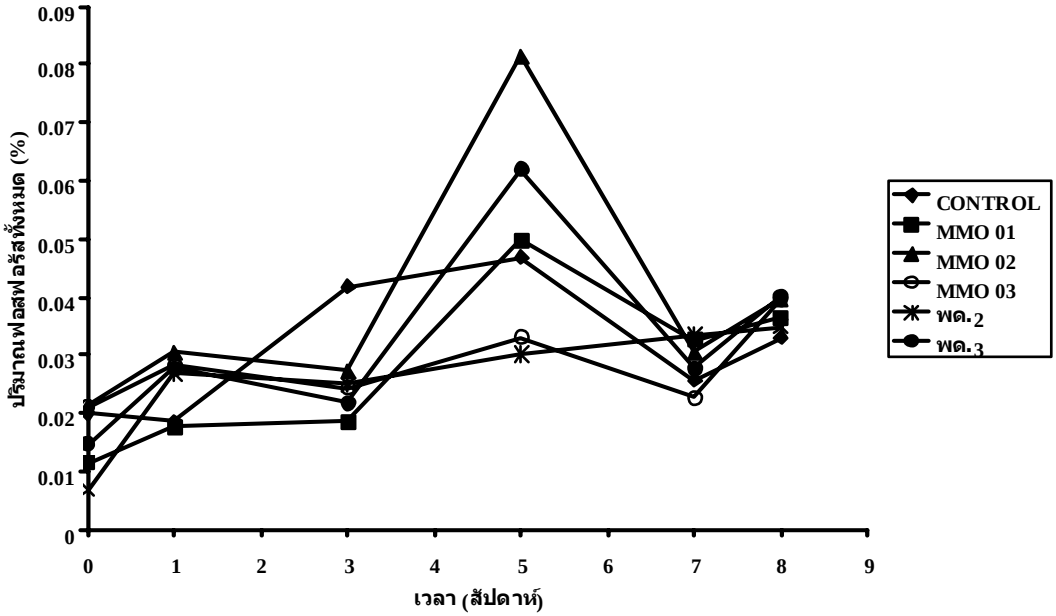
ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในน้ำสกัดชีวภาพทุกชนิด ได้แก่ อินทรีย์วัตถุ (organic matter) ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ธาตุอาหารรอง ได้แก่ แมกนีเซียม และแคลเซียม (ภาพ 7-12) ปริมาณอินทรีย์วัตถุและธาตุอาหารหลักทั้ง 3 ชนิด ในน้ำหมักทุกสูตรจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น และสูงสุดในสัปดาห์ที่ 5 ของการหมัก และหลังจากนั้นก็จะลดลงเหมือนกัน ในขณะที่ปริมาณธาตุอาหารรองทั้งสองชนิดกลับมีปริมาณสูงสุดในสัปดาห์ที่ 3 ของการหมัก และลดลงไปเรื่อยๆ เมื่อเปรียบเทียบน้ำหมักชีวภาพที่ได้จากการหมักด้วยหัวเชื้อทั้ง 5 สูตรนี้ พบว่าหัวเชื้อสูตร MMO-02 ทำให้เกิดธาตุอาหารเพิ่มขึ้นสูงสุด รองลงมาคือหัวเชื้อ พด.3 โดยเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อ MMO-02 แล้วพบว่ามีปริมาณอินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด โพแทสเซียมทั้งหมด แคลเซียมทั้งหมด และแมกนีเซียมทั้งหมด เท่ากับ 13.78, 0.28, 0.08, 1.18, 0.24 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



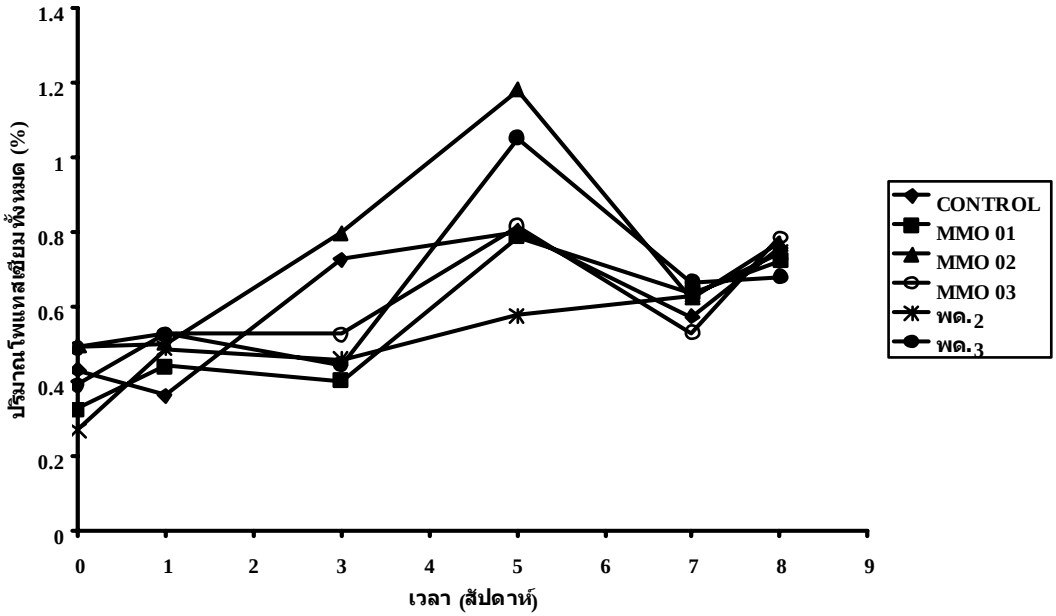

**ภาพที่ 7** ปริมาณอินทรียวัตถุในน้ำหมักชีวภาพเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่างๆ



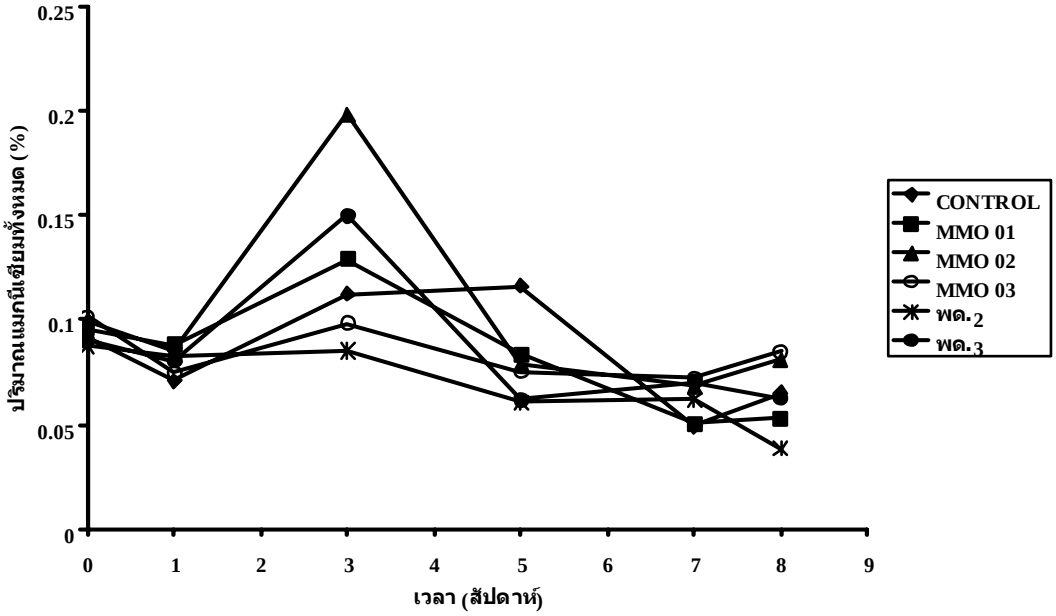

**ภาพที่ 8** ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในน้ำหมักชีวภาพเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่างๆ



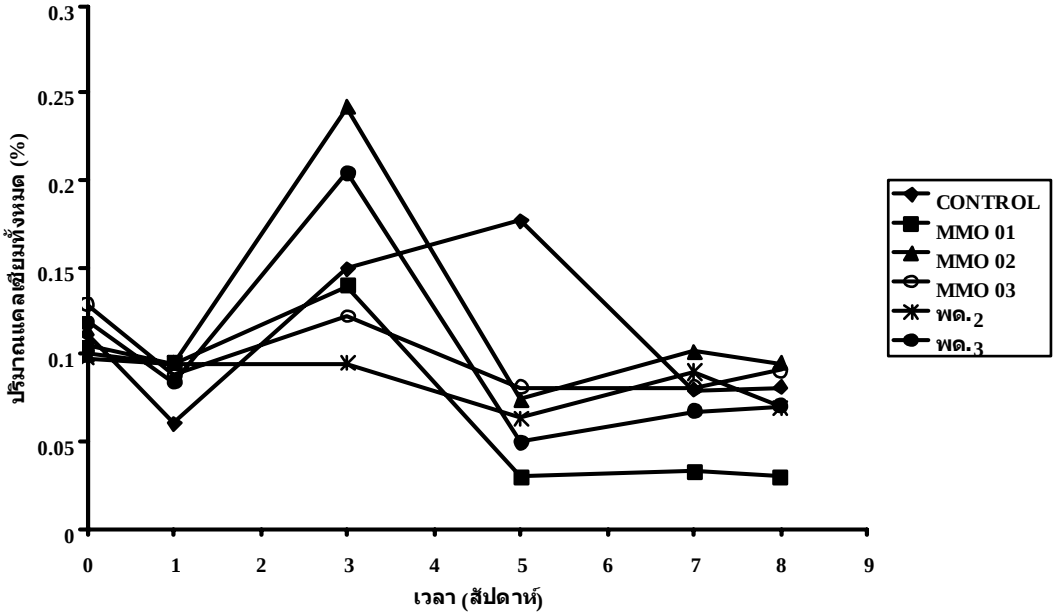

**ภาพที่ 9** ปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำหมักชีวภาพเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่างๆ




**ภาพที่ 10** ปริมาณโพแทสเซียมในน้ำหมักชีวภาพเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่างๆ




**ภาพที่ 11** ปริมาณแมกนีเซียมทั้งหมดในน้ำหมักชีวภาพเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่างๆ




**ภาพที่ 12** ปริมาณแคลเซียมในน้ำหมักชีวภาพเมื่อหมักด้วยหัวเชื้อชนิดต่างๆ

**สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง**

กระบวนการผลิตน้ำสกัดชีวภาพเริ่มต้นมักจะมีจุลินทรีย์อยู่ในระบบอยู่แล้ว ซึ่งปนเปื้อนมาจากวัตถุดิบทุกชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลไม้สุกใกล้เน่า รวมไปถึงน้ำที่ใช้เติมในน้ำหมัก และสิ่งแวดล้อมระหว่างการเตรียมน้ำสกัด จุลินทรีย์เหล่านี้ช่วยย่อยเศษวัตถุดิบต่างๆ จากอินทรียวัตถุให้กลายเป็นอินทรียวัตถุที่พืชพร้อมนำไปใช้ [7] ซึ่งการหมักอาจดำเนินไปได้ช้า หรือเป็นไปในทิศทางที่ไม่ได้คาดหวังไว้ การเติมหัวเชื้อเข้าไปสามารถช่วยเร่งอัตราเร็วการหมัก และควบคุมให้การหมักเป็นไปตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ หัวเชื้อที่คัดเลือกมาศึกษาทุกชนิดได้ผ่านการคัดเลือก และทดสอบจากผู้ผลิตว่ามีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และสามารถผลิตน้ำสกัดชีวภาพที่มีคุณภาพได้ดีออกมาวางขายในท้องตลาด

ในกระบวนการหมักพบแบคทีเรียกลุ่ม aerobic bacteria เจริญมากเมื่อเริ่มกระบวนการผลิต และไม่สามารถเจริญเติบโตไปได้มากกว่านี้ อาจเนื่องจากออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักเริ่มหมดไป จนเชื้อไม่สามารถเจริญได้ ซึ่งนับว่าเป็นสิ่งที่ดี เนื่องจากการในการหมักน้ำหมักชีวภาพนั้น เราต้องการให้จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ (anaerobic bacteria) สามารถเจริญได้แทน ได้แก่ ยีสต์ และแบคทีเรียแลกติก เป็นต้น เพราะสามารถผลิตสารเมทาบอไลท์ที่มีประโยชน์ได้ดีกว่า และพืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที [8] และการที่ความเป็นกรดเพิ่มขึ้นคาดว่าเกิดจากกรดอินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดแลกติก ซึ่งกรดอินทรีย์เหล่านี้มีข้อดีในการช่วยกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ ส่วนใหญ่น้ำสกัดชีวภาพที่ได้จากผลไม้สุกมักจะมี ค่า pH ต่ำกว่าน้ำหมักอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ อาจมีสาเหตุจากปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่มาก ทำให้ยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* spp. และ *Candida* spp. นำไปใช้สร้างแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารให้แบคทีเรียสกุล *Acetobacter* spp. ผลิตกรดอะซิติก และ LAB ผลิตกรดแลกติก หากมีปริมาณมากส่งผลให้ค่าความเป็นกรดมากขึ้น ส่วนกลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายอินทรีย์กลุ่มไนโตรเจนจะทำหน้าที่เปลี่ยนโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน และกลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสฟอรัสจะแปรสภาพให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ [2, 6, 9] ทั้งนี้ค่า pH มีความสำคัญมากต่อการเจริญของพืช ในด้านความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชในสารละลาย โดยทั่วไปสารละลายควรมี pH อยู่ในช่วง 5.5-6.5 จะถือว่ามีความเหมาะสมที่สุด แต่หากค่า pH ต่ำกว่า 4 มาก จะเป็นอันตรายต่อรากพืช แต่ถ้าสูงกว่า 7 ติดต่อกันเป็นเวลานาน จะทำให้การดูดซึมฟอสฟอรัส เหล็ก และแมงกานีสผิดปรกติไป [10, 11, 12] ตลอดระยะเวลาการผลิตน้ำสกัดชีวภาพไม่พบเชื้อ *Escherichia coli* เลย และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ไม่พบแบคทีเรียกลุ่มก่อโรคทั้ง *Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. ในการผลิตสิ่งแวดล้อมในถังหมักอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อดังกล่าว จึงส่งผลให้เชื้อหายไปในระหว่างการผลิต ซึ่งหากตรวจพบแบคทีเรียเหล่านี้แสดงให้เห็นว่ามีการปนเปื้อนของของเสียจากทางเดินอาหารของคนและสัตว์ในน้ำสกัดชีวภาพ [13] โดยอาจปนเปื้อนอยู่บนวัตถุดิบได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อกลุ่ม LAB สามารถสร้างแบคทีริโอซิน (bacteriocins) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ [14] การปนเปื้อนของเชื้อทั้ง 3 ชนิด สามารถใช้ประเมินถึงคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้เตรียมน้ำสกัดชีวภาพได้ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เชื้อ LAB ที่พบว่ามี LAB จำนวนมากในน้ำหมักที่เติมหัวเชื้อสูตร MMO-02 ดังนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำมาก จึงช่วยควบคุมเชื้อดังกล่าวได้

ระยะเวลาการผลิตน้ำสกัดชีวภาพควรหมักนานเพียง 5 สัปดาห์ เนื่องจากพบปริมาณธาตุอาหารหลักอินทรีย์วัตถุและค่า EC มากที่สุด ซึ่งค่า EC บ่งบอกถึงความเข้มข้นของสารละลาย ถ้าค่า EC สูงก็แสดงว่า

สารละลายมีความเข้มข้นสูง คือมีธาตุอาหารละลายอยู่มาก [6] ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ เพราะจุลินทรีย์เป็นแหล่งของเอนไซม์ต่างๆ ที่ช่วยย่อยผนังเซลล์ของพืช เมื่อผนังเซลล์ถูกย่อยสลาย ก็จะทำให้สารต่างๆ ในเซลล์ละลายออกมามากขึ้น ตลอดจนสารเมทาบอไลท์ต่างๆ ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ก็จะทำให้ค่า EC สูงขึ้นได้ด้วย โดยพืชแต่ละชนิดต้องการค่า EC นี้แตกต่างกันไป ยกตัวอย่างกรณีการปลูกพืชด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์ พบว่าผักที่กินใบ เช่น ผักสลัด ผักกาด คะน้า กวางตุ้ง อาจต้องการค่า EC ในสารละลายปุ๋ยน้ำที่เท่ากัน แต่กรณีพืชกินผลนั้น เช่น มะเขือเทศ พริกหวาน แตงกวา เมลอนและแคนตาลูป จะต้องการค่า EC ในสารละลายที่ไม่เท่ากัน นอกจากนี้พืชในแต่ละระยะของอายุก็ต้องการปุ๋ยที่มีค่า EC ไม่เท่ากันด้วย [11]

จากการทดลองพบว่าหัวเชื้อสูตร MMO-02 น่าจะมีประสิทธิภาพมากกว่าหัวเชื้อชนิดอื่น เพราะใช้ระยะเวลาสั้นในการย่อยสลายสารอาหารออกมา ซึ่งหัวเชื้อสูตร MMO-02 เป็นหัวเชื้อที่ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้พัฒนาขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์ในการใช้เป็นแหล่งของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์และแข็งแรงเหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นของประเทศไทย สามารถยับยั้งและกำจัดเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อโรคได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมของไคโตซาน และฮอร์โมนจากผลไม้สุกคือ จิบเบอเรลิน ไซโตไคนิน และซีเอดิน (www.iqs.mju.ac.th /IQS_PHP/index-10.html) กรมพัฒนาที่ดินรายงานปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองในตัวอย่างปุ๋ยอินทรีย์น้ำแต่ละชนิด พบว่าปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในน้ำหมักผักผสมผลไม้ด้วยหัวเชื้อสูตร MMO-02 สูงกว่ามาตรฐานน้ำหมักผลไม้รวมแต่ต่ำกว่าน้ำหมักผัก ปริมาณโพแทสเซียมสูงกว่ามาตรฐานน้ำหมักผักและผลไม้รวม ปริมาณแคลเซียมต่ำกว่ามาตรฐานน้ำหมักผักและผลไม้รวม ส่วนปริมาณแมกนีเซียมสูงกว่ามาตรฐานน้ำหมักผลไม้รวมแต่ต่ำกว่าน้ำหมักผัก

แม้จะมีปริมาณธาตุอาหารสูงในน้ำหมักชีวภาพ แต่เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำหมักชีวภาพมีค่าค่อนข้างต่ำ ซึ่งจะส่งผลเสียต่อการดูดซึมแร่ธาตุอาหารของพืช ดังนั้นหากจะนำไปใช้จริงอาจจะต้องทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง รวมทั้งเจือจางให้ได้ค่า EC เหมาะสมกับระยะอายุของต้นพืช ซึ่งน่าจะอยู่ที่ไม่เกิน 3.0 หากไม่ปรับค่า pH แล้ว จะส่งผลเสียต่อการเจริญของพืชเป็นอย่างมาก เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำเกินไปจะทำให้ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทสเซียม ถูกชะล้างออกจากดินหรือวัสดุปลูกได้ง่าย ส่วนฟอสฟอรัสก็จะถูกตรึงไว้ในรูปเหล็กและอะลูมินัมฟอสเฟต ซึ่งดูดซึมไปใช้ได้ยาก ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ธาตุอาหารที่พืชจะดูดซึมไปใช้ได้ก็จะน้อยลง [12] น้ำสกัดชีวภาพไม่ได้เป็นแหล่งอาหารหลักในการเจริญเติบโตของพืช หากแต่เป็นส่วนช่วยส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน การให้น้ำสกัดชีวภาพบ่อยครั้ง และเป็นช่วงๆ สามารถเพิ่มผลผลิตของพืชได้ [9] จากการศึกษาคัดเลือกหัวเชื้อสูตร MMO-02 สำหรับใช้ในการผลิตน้ำหมักชีวภาพจากผักและผลไม้ในท้องถิ่น พบการเจริญของจุลินทรีย์ภายในน้ำหมักได้ดี และปลดปล่อยปริมาณธาตุอาหารได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หัวเชื้อชนิดอื่น น้ำสกัดชีวภาพมีแนวโน้มสามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมีที่ให้กับต้นพืชได้ หากต้องมีการปรับสภาพน้ำสกัดชีวภาพให้เหมาะสมก่อนนำไปใช้จริงในแปลงเกษตรกรรม

**กิตติกรรมประกาศ**

โครงการวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2552 มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ ขอขอบคุณองค์การบริหารส่วนตำบลโป่งแยง คุณจตุรพร วงษ์งาม นักวิชาการเกษตร อบต.โป่งแยง และคุณปั๋น แก้ว ตะติยา พร้อมครอบครัว ที่เป็นแกนนำในการประสานงาน อำนวยความสะดวก และให้ใช้สถานที่ในการจัดกิจกรรมและทดลองตามกรอบการวิจัยให้สำเร็จได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

[1] ทิพวรรณ สิทธิรังสรรค์, 2542, ปุ๋ยหมัก ดินหมักและปุ๋ยน้ำชีวภาพเพื่อการปรับปรุงดินโดยวิธีเกษตรธรรมชาติ, สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์; กรุงเทพมหานคร.

[2] ดวงพร คันธโชติ, 2545, นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์, พิมพ์ครั้งที่ 1, สำนักพิมพ์ โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์; กรุงเทพมหานคร, น. 216.

[3] Coleman, D.C., Crossley, D.A., Jr., and Hendrix, P.F., 2004, Fundamentals of soil ecology, 2nd edition, Elsevier Academic Press; United State of America, P. 386.

[4] พงษ์ พฤกษา, 2547, เกษตรอินทรีย์ ชุดปุ๋ยและน้ำสกัดชีวภาพ เทคนิคการผลิตปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด ปุ๋ยชีวภาพและอินทรีย์น้ำ, สำนักพิมพ์นีออน บุ๊ค มีเดีย; กรุงเทพมหานคร. น. 102.

[5] กรมพัฒนาที่ดิน, 2550, การขยายเชื้อจุลินทรีย์ในสารเร่ง พด.1 พด.2 พด.3 ของกรมพัฒนาที่ดิน, เอกสารเพื่อการถ่ายทอดเทคโนโลยี ชุดความรู้และเทคโนโลยี, สำนักนิเทศและถ่ายทอดเทคโนโลยีการพัฒนาที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

[6] ชวนพิศ อรุณรังสิกุล ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล ธีรนุต ร่มโพธิ์ภักดิ์, 2547, คุณภาพน้ำหมักชีวภาพ และองค์ประกอบ, เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาพืช สาขาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร, น. 481-488.

[7] ออมทรัพย์ นพอมรบดี, 2542, ปุ๋ยชีวภาพกับการจัดการดินและปุ๋ย, วารสารดินและปุ๋ย, 21 (3); 113-131.

[8] พจนีย์ ไม้หอม, 2552, ผลของน้ำหมักอินทรีย์ต่อมวลชีวภาพ, กิจกรรมของจุลินทรีย์ดินและการเจริญเติบโตของคะน้า, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น; ขอนแก่น.

[9] Kamla, N., 2007, Roles of fermented bio-extracts on soil microbial processes and crop growth, Doctor of Philosophy Thesis in Agronomy, Graduate School, Khon Kaen University; Khon Kaen.

[10] อานัฐ ตันโช, 2549ก, เกษตรธรรมชาติประยุกต์ แนวคิด หลักการ เทคนิคปฏิบัติในประเทศไทย, พิมพ์ครั้งที่ 1, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, น. 300.

[11] อานัฐ ตันโช, 2549ข, คู่มือ การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (ไฮโดรโพนิคส์), (พิมพ์ครั้งที่ 3), บริษัท ทรีโอ แอดเวอร์ไทซิ่ง; เชียงใหม่.

[12] มงคล ต๊ะอุ่น และศรจิตร ศรีณรงค์, 2552, ดินขาดธาตุอาหาร, พิมพ์ครั้งที่ 2, สาขาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม, ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร, คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น; ขอนแก่น, น. 130.

[13] ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ, 2552, ความปลอดภัยของอาหาร (Food safety) การประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) โรคอาหารเป็นพิษ ปัจจัยเสี่ยงในอาหาร, ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; กรุงเทพมหานคร, น. 700.

[14] อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2550, แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก, วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; กรุงเทพมหานคร, 23 (2); 145-.160.