

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดหอม (Lentinus edodes) ของหน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและเห็ดนางรม (Pleurotus ostreatus) ของฟาร์มสวนเห็ดศรีอยุธยา จ.นครปฐม
2. กุญแจเห็ดของหน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. สารประกอบไนโตรเจน
 - 3.1 สารประกอบไนโตรเจนในรูปอนินทรีย์ ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46%N)
 - 3.2 สารประกอบไนโตรเจนในรูปสารอินทรีย์ ได้แก่ มูลวัว (4.5%N) จาก อ.บางไทร จ.พระนครศรีอยุธยา
4. สารเร่งพด.-1 เป็นสารเร่งประเภทจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยหมักที่ผลิตขึ้นโดยฝ่ายอินทรีย์วัตถุและวัสดุเหลือใช้ กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน สารเร่งพด.-1 เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติย่อยสลายวัสดุเศษพืชและทำให้เป็นปุ๋ยหมักในเวลาอันสั้น มีลักษณะเป็นผงละเอียด สีน้ำตาลเข้มขนาดบรรจุ 150 กรัมต่อถุง ประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม คือ เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อแอคติโนมัยซีส จำนวน 12 สายพันธุ์
5. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของปุ๋ยหมักที่เลือกได้แก่ HNO_3 (nitric acid), HClO_4 (perchloric acid) และ 0.25% ammonium metavanadate solution (molybdate-vanadates solution)
6. เครื่องมือมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี
 - 6.1 เครื่องมือวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนและไนโตรเจน C/N Analyzer (ภาพที่ 1) ประกอบด้วย
 - ก. Gas chromatograph ชนิด TCD ของ SHIMAZU รุ่น GC-8A โดย Helium Gas ความบริสุทธิ์ 99.95 เปอร์เซ็นต์เป็น carrier gas

- ข. Combustion ชนิด oxygen circulating combustion system ของ SUMITOMO CHEMICAL รุ่น Sumigraph NC-80 Auto. โดยใช้ Oxygen Gas เป็นตัว combustion
- ค. Recorder ชนิด thermal sensitive printer plotter ของ SHIMAZU รุ่น C-R3A

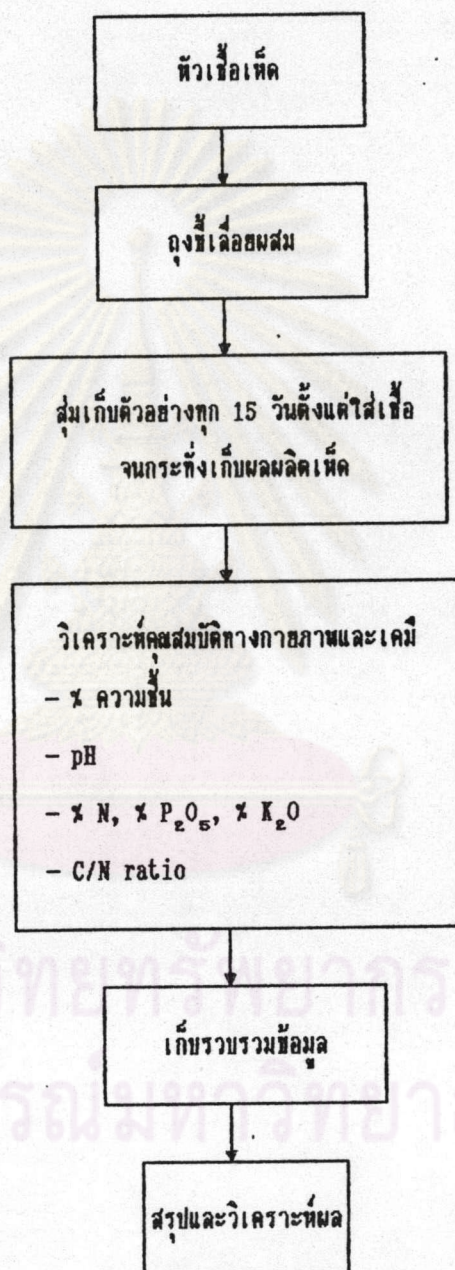
ส่วนประกอบปลีกย่อยได้แก่

1. เครื่องกรอง Helium Gas ของ Sumitomo Chemical รุ่น GF-2
2. Adaptor แปลงไฟจาก 220 โวลต์ เป็น 100 โวลต์ ขนาด 4 กิโลวัตต์ สำหรับจ่ายไฟ ของ TOYODEN
- 6.2 เครื่องย่อยตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ธาตุฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม เครื่อง Kjeldatherm หรือ Scrubber unit ของ Gerhardt
- 6.3 Flame photometer ของ CORNING รุ่น 410C
- 6.4 Spectrophotometer (double beam) ของ SHIMAZU รุ่น uv-160
- 6.5 pH meter ของ Beckman รุ่น Zeromatic IV
- 6.5 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาการย่อยสลายของงอกก้อนเชื้อเห็ดหอมและเห็ดนางรมในระยะบ่มเส้นใย
สรุปขั้นตอนการศึกษา ตามแผนภาพที่ 1 ส่วนรายละเอียดการดำเนินการศึกษามีดังนี้
เชื้อเห็ดที่ใช้มี 2 ชนิด คือ เชื้อเห็ดหอม (*L. edodes*) และเชื้อเห็ดนางรม (*P. ostreatus*) ซึ่งเลี้ยงด้วยเมล็ดข้าวฟ่างบรรจุในขวดแบน จากหน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (สรุปตามแผนภาพที่ 1)

แผนภาพที่ 1: สรุปขั้นตอนการศึกษาดรรชนีการย่อยสลายของชีวมวลจากดักกิ้นเชื้อเห็ดหอม (*L. edodes*) และเห็ดนางรม (*P. ostreatus*) ในระยะบ่มเส้นใย



1.1 การเตรียมวัสดุเพาะและการบรรจุถุง (ภาพที่ 2) วัสดุเพาะผสมตามสูตรมาตรฐาน (Triratana & Osathaphant, 1988) ดังนี้

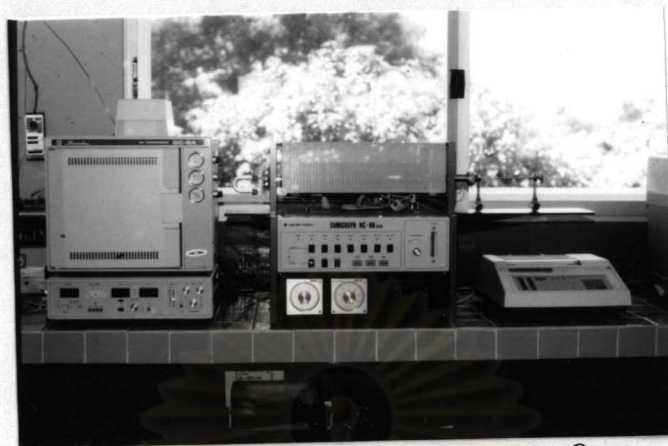
ขี้เถ้า	32.9	เปอร์เซ็นต์
รำ	5.0	เปอร์เซ็นต์
ยิปซั่ม (CaSO_4)	0.5	เปอร์เซ็นต์
ดีเกลือ (MgSO_4)	0.1	เปอร์เซ็นต์
แป้ง	0.5	เปอร์เซ็นต์
น้ำ	61.0	เปอร์เซ็นต์

ผสมวัสดุเพาะด้วยเครื่องผสมขี้เถ้า (mixer) บรรจุลงในถุงพลาสติกกนร้อนขนาดมาตรฐาน (7นิ้วx11นิ้ว) น้ำหนัก 600 กรัมต่อถุง ใส่คอขวด ปิดจุกสำลีหุ้มทับด้วยกระดาษนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

- 1.2 การนึ่งฆ่าเชื้อถุงวัสดุขี้เถ้าด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ทำการนึ่ง 2 ครั้งคือ ครั้งแรก 3 ชั่วโมง ปลดปล่อยทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนึ่งซ้ำอีกครั้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 1.3 การใส่หัวเชื้อ ทำโดยใส่เมล็ดข้าวฟ่างหัวเชื้อเห็ดลงในวัสดุเพาะประมาณ 20 เมล็ด และทำในตู้ถ่ายเชื้อ ใส่เชื้อเห็ดหอมจำนวน 300 ถุงใส่เชื้อเห็ดนางรมจำนวน 100 ถุง
- 1.4 การบ่มถุงก้อนเชื้อขี้เถ้าเพาะเห็ด บ่มที่อุณหภูมิห้อง (22-28 องศาเซลเซียส) ที่มีการระบายอากาศ
- 1.5 ศึกษาการย่อยสลายของถุงก้อนเชื้อเห็ดหอมและเห็ดนางรมในระยะบ่มเส้นใย โดยทำการสุ่มตัวอย่างถุงก้อนเชื้อเห็ดหอมและเห็ดนางรม ชนิดละ 5 ตัวอย่างทุก 15 วัน จนกระทั่งเก็บผลผลิตเห็ด นำแต่ละตัวอย่างมาคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกันวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

วิเคราะห์ทางกายภาพ: หาเปอร์เซ็นต์ความชื้น โดยน้ำหนัก

วิเคราะห์ทางเคมี: ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) จากนั้นนำตัวอย่างไปตากให้แห้ง บดให้ละเอียดนำมาวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (%N) เปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัส ($\%P_2O_5$) เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม ($\%K_2O$) และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio)



ก ข ค

ภาพที่ 1 เครื่องมือวิเคราะห์ธาตุคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N Analyzer)
ประกอบด้วย

- ก. Gas Chromatography
- ข. Combustion
- ค. Recorder



ภาพที่ 2 ถุงก้อนเชื้อเพาะเห็ด

การหาปริมาณความชื้น (โดยน้ำหนัก): เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ โดยนำมาชั่งน้ำหนักสดแล้ว จึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ถึง 2 วัน จนกระทั่งตัวอย่างที่เลือกแห้งสนิท นำมาใส่ในโถ ความชื้น (desiccators) เมื่ออุณหภูมิของตัวอย่าง ลดลง จึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วคำนวณหาปริมาณ ความชื้นของตัวอย่างที่เลือก

ระดับความเป็นกรดเป็นด่าง (pH): เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยแบ่งตัวอย่างมาชั่ง 10 กรัม ผสมในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ นาน 15 นาที โดย เขย่าอยู่เสมอ หลังจากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้ ดังกล่าวไปวัดความเป็นกรดเป็นด่างด้วยเครื่องวัด pH ตามวิธีการวิเคราะห์ของ Stuetzenberger และคณะ (1970)

การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส (P_2O_5): นำตัวอย่างที่เลือกที่บดแล้วมาย่อย (digest) ด้วยกรด ไนตริกเข้มข้น และกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 300-400 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใส นำมา วิเคราะห์ตามวิธีการของ Olsen และ Sommer (1983) Molybdate-vanadate solution 2.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที นำไปวัดความเข้มข้นของสีที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตรด้วย double beam spectrophotometer ของ Shimadzu รุ่น uv-160

การวิเคราะห์หาโปแตสเซียม (K_2O): นำสารละลายที่ย่อยแล้วด้วยกรดไนตริกเข้มข้นและกรด เปอร์คลอริกเข้มข้น เหมือนวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสมา 2.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดด้วยเครื่อง Flame photometer ตามวิธีการของ Knudsen, Petersons และ Pratt (1983)

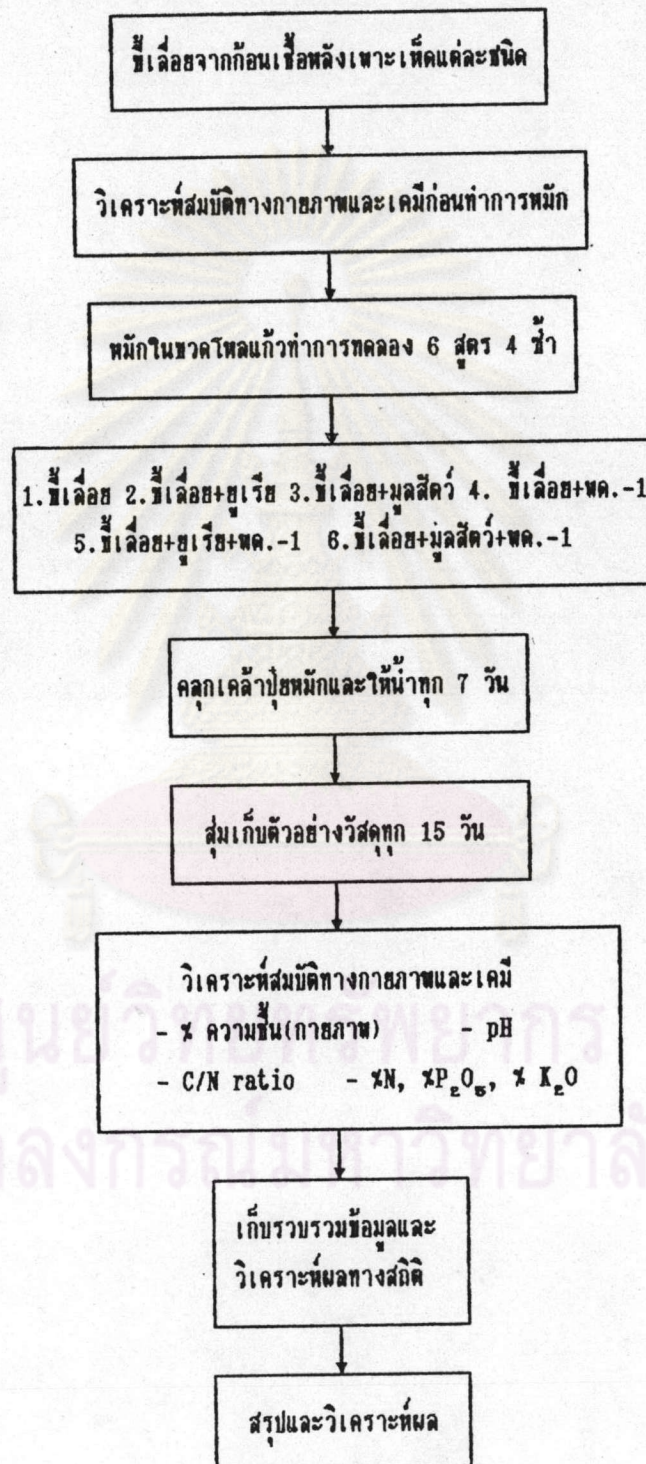
การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) และค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อ ไนโตรเจน (C/N ratio): เก็บตัวอย่างที่เลือก นำมาอบแห้งและบดละเอียดขนาด 0.2

มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน และค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนด้วยเครื่อง C/N Analyzer

- 1.6 การเปิดถุงก้อนเชื้อเพื่อสร้างดอกเห็ด เมื่อเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่นำไปเปิดดอก สำหรับเห็ดนางรมนำไปเปิดจุลินทรีย์ออกวางถุงแบบนอนบนชั้นวางในโรงเพาะเห็ด ที่ภาควิชาพฤกษศาสตร์ และให้ความชื้นภายในโรงเพาะสูง (ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์) มีแสง สำหรับเห็ดหอม เมื่อเส้นใยเจริญเติบโตเต็มที่ ทำการเปิดจุลินทรีย์และแกะถุงพลาสติกออกวางก้อนเชื้อเห็ดหอมแบบตั้งบนชั้นวางในโรงเพาะเห็ด ควบคุมสภาพแวดล้อม ของหน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 1.7 การเก็บผลการทดลอง เก็บรวบรวมผลวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับอัตราการย่อยสลาย ของขี้เลื่อยจากถุงก้อนเชื้อเห็ดหอมและเห็ดนางรมในระยะบ่มเส้นใย

2. ศึกษาผลของสารประกอบไนโตรเจนและสารเร่งพด.- 1 ต่อการย่อยสลายขี้เลื่อยจากถุงก้อนเชื้อที่ใช้เพาะเห็ดหอมและเห็ดนางรมแล้ว ในห้องปฏิบัติการ
 - 2.1 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของถุงก้อนเชื้อขี้เลื่อยที่ใช้เพาะเห็ดแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างขี้เลื่อยที่ใช้เพาะเห็ดหอมและเห็ดนางรมแล้ว โดยแยกเป็น 2 ชนิด คือ ขี้เลื่อยหลังเพาะเห็ดหอมและขี้เลื่อยหลังเพาะเห็ดนางรม นำตัวอย่างแต่ละชนิดมาคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องมือขี้เลื่อย ตัวอย่างแต่ละชนิดทำการทดลอง วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีตามวิธีการทดลองข้อ 1.5 เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการย่อยสลายเป็นปัสหมัก
 - 2.2 ศึกษาการย่อยสลายขี้เลื่อยจากถุงก้อนเชื้อที่ใช้เพาะเห็ดหอม และเห็ดนางรมแล้วในห้องปฏิบัติการ
 - 2.2.1 การเตรียมวัสดุขี้เลื่อย: นำขี้เลื่อยจากถุงก้อนเชื้อที่ใช้เพาะเห็ดหอมและเห็ดนางรมแล้ว โดยแยกขี้เลื่อยเป็น 2 ชนิด นำขี้เลื่อย

แผนภาพที่ 2: สรุปขั้นตอนการศึกษามูลของสารประกอบไนโตรเจนและสารเร่ง พด.-1 ต่อการย่อยสลายขี้เลื่อยจากกกกอนเชื้อเห็ดคอม (*L. edodes*) และเห็ดนางรม (*P. ostreatus*) ที่ใช้แล้ว ในห้องปฏิบัติการ



แต่ละชนิดมาคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมที่เลือก จากนั้นนำไปผึ่งให้แห้งในอากาศ แล้วคลุกเคล้าที่เลือกแต่ละชนิด ให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง ซึ่งที่เลือกแต่ละชนิดจำนวน 150 กรัม ใส่ในขวดโหลแก้วสีเหลี่ยมขนาด 800 มิลลิเมตร แล้วเติมน้ำกลั่น จำนวน 100 มิลลิเมตร คลุกเคล้าให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอเพื่อทำให้ความชื้นของที่เลือกอยู่ในช่วง 50 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) เพื่อนำมาใช้ในการทดลองหมักตามสูตรต่างๆในข้อ

2.2.2

2.2.2 สูตรการทดลอง: นำวัสดุที่เลือกแต่ละชนิดจากข้อ 2.2.1 (แยกเป็น 2 ชนิด) มาคิดแปลงตามสูตรทดลองต่างๆ 6 สูตร ดังต่อไปนี้

- สูตรทดลองที่ 1: ที่เลือก 150 กรัม
- สูตรทดลองที่ 2: ที่เลือก 150 กรัมผสม ยูเรีย 1.0 % โดยน้ำหนัก (0.66 กรัม)
- สูตรทดลองที่ 3: ที่เลือก 150 กรัม ผสม มูลวัว 10.0 % โดยน้ำหนัก (15 กรัม)
- สูตรทดลองที่ 4: ที่เลือก 150 กรัม ผสมสารเร่งพด.-1 อัตรา 150 กรัม คอวีสดูแห้ง 1,000 กิโลกรัม (0.023 กรัม)
- สูตรทดลองที่ 5: ที่เลือก 150 กรัม ผสม ยูเรีย 0.66 กรัมและสารเร่งพด.-1 0.023 กรัม
- สูตรทดลองที่ 6: ที่เลือก 150 กรัม ผสม มูลวัว 15 กรัม และสารเร่งพด.-1 0.023 กรัม

เพื่อศึกษาการย่อยสลายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีแผนการทดลองทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) 4 ซ้ำ

2.2.3 สภาพที่ใช้ในการทดลอง: นำขวดโหลแก้วสีเหลี่ยมที่ใส่ที่เลือกแต่ละสูตรทดลอง ไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิคงที่ 50 องศาเซลเซียส เติมน้ำกลั่นเพื่อควบคุมระดับความชื้นให้อยู่ในช่วงประมาณ 50 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ตลอดการทดลอง และทำการคลุกเคล้าวัสดุที่เลือกในแต่ละขวดโหล ทุก 7 วัน เก็บตัวอย่างที่เลือกจากขวดโหลแก้วสีเหลี่ยม เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีทุก 15 วัน จนกระทั่งค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อ

ไนโตรเจน(C/N ratio) ลดลงเหลือ 20 ต่อ 1

2.2.4 การวิเคราะห์: เก็บตัวอย่างที่เลือกจากขวดโหลแก้วสี่เหลี่ยมทุก 15 วันจนกระทั่งเสร็จสิ้นการทดลองแต่ละขวดโหลจะเก็บตัวอย่าง 3 จุดนำมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี ตาม 1.5

2.2.5 การเก็บผลการทดลอง: เก็บรวบรวมผลวิเคราะห์และวิเคราะห์ผลทางสถิติ(ตัวอย่างอยู่ในภาคผนวก) เปรียบเทียบหาสูตรการทำปุ๋ยหมักที่ดีที่สุดเพื่อนำไปทำปุ๋ยหมักภาคสนาม

3. ศึกษาอัตราการย่อยสลายของขี้เลื่อยจากกองก้อนเชื้อที่ใช้เพาะเห็ดแล้ว ในระยะก่อนและหลังการทำปุ๋ยหมักภาคสนาม

สรุปขั้นตอนการดำเนินการทดลองตามแผนภาพที่ 3

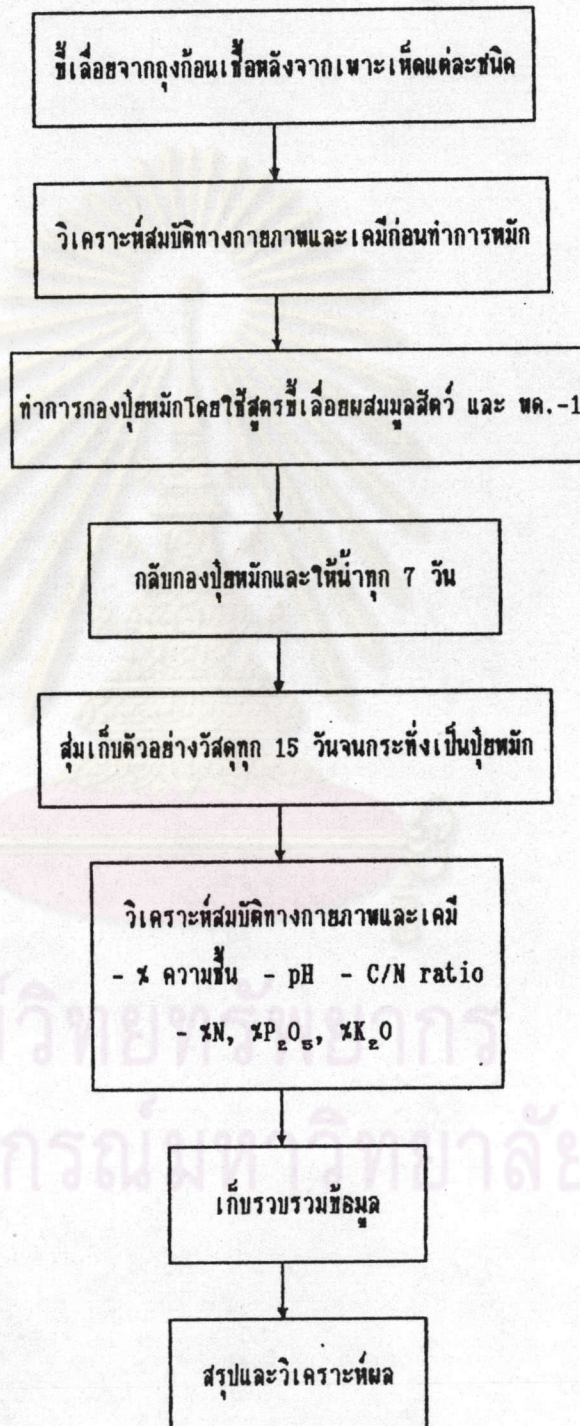
การเตรียมวัสดุ: นำขี้เลื่อยจากกองก้อนเชื้อที่ใช้เพาะเห็ดหอมและเห็ดนางรมแล้ว โดยแยกขี้เลื่อยเป็น 2 ชนิดนำขี้เลื่อยแต่ละชนิดมาคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมขี้เลื่อย (ภาพที่ 3) ผึ่งให้แห้งในอากาศ (air dry) สุ่มเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี ตาม 2.1 เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการย่อยสลายไปเป็นปุ๋ยหมัก

เนื่องจากการศึกษาอัตราการย่อยสลายของขี้เลื่อยที่ใช้เพาะเห็ดหอม และเห็ดนางรมแล้วในห้องปฏิบัติการ พบว่าสูตรการทำปุ๋ยหมักที่ดีที่สุดคือสูตรทดลองที่ 6 ได้แก่ ขี้เลื่อยผสมมูลวัวและสารเร่ง พด.-1 (ภาพที่ 4) จากนั้นนำขี้เลื่อยที่ใช้เพาะเห็ดหอมและเห็ดนางรมแล้ว มาศึกษาการย่อยสลายในภาคสนามตามสูตรการทดลองที่ 6 แยกเป็น 2 ชนิด(2กอง) โดยการกองปุ๋ยหมักขี้เลื่อยหลังเพาะเห็ดแต่ละชนิดในภาคสนาม

การกองปุ๋ยหมัก: ใช้ขี้เลื่อยหลังเพาะเห็ดหอมและเห็ดนางรม กองขี้เลื่อยแต่ละชนิดกองละ 150 กิโลกรัม ปริมาณการใช้มูลสัตว์ 1.0 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณการใช้สารเร่งพด.-1 150 กรัมต่อวัสดุแห้ง 1,000 กิโลกรัม รดน้ำให้ชุ่มคลุกเคล้าให้เข้ากันและจัดกองปุ๋ยให้เรียบร้อย แล้วคลุมด้วยผ้าพลาสติก

การปฏิบัติและดูแลรักษา: รักษาระดับความชื้นของกองปุ๋ยหมักให้อยู่ในช่วง 50 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยการรดน้ำให้แก่งกองปุ๋ยหมักและกลับ

แผนภาพที่ 3: สรุปขั้นตอนการศึกษาค้นคว้าการย่อยสลายของขี้เลื่อยจากถั่วลิสงเพื่อให้เกิดพอม (L.edodes) และเห็ดนางรม (P. ostreatus) ที่ใช้แล้ว ในภาคสนาม





ภาพที่ 3 ชี้เลื่อยหลังเพาะเห็ดนำมาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมชี้เลื่อย
ก่อนทำปุ๋ยหมัก



ภาพที่ 4 วัสดุชี้เลื่อยหลังเพาะเห็ดหอม มูลสัตว์ และสารเร่งจุลินทรีย์ พด.-1 เป็น
สูตรที่ดีที่สุดที่นำมาใช้ทำปุ๋ยหมักภาคสนาม

กองปฐหมักเพื่อเป็นการระบายอากาศทุก 15 วัน จนกระทั่งเสร็จสิ้นการทดลอง
การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ : เก็บตัวอย่างและทำการวิเคราะห์
คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีเช่นเดียวกับข้อ 2.2.4 และวัดอุณหภูมิของกองปฐ
หมักทุก 15 วัน จนกระทั่งเสร็จสิ้นการทดลอง

อุณหภูมิภายในกองปฐหมัก: วัดระดับอุณหภูมิภายในกองปฐหมักโดยใช้เทอร์-
โมมิเตอร์แบบแท่งโลหะโดยวัดที่ระดับความลึกประมาณ 12 นิ้ว จากผิวนอกกอง
ปฐหมักและวัดอุณหภูมิทุก 15 วัน ตั้งแต่เริ่มกองปฐหมักจนกระทั่งเสร็จสิ้นการ
ทดลอง



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย