การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมักและการประยุกต์ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Isolation and Screening of Lactic Acid Bacteria from Fermented Food and Application in Bioextract Production for Plant Growth Promotion

ซอฟียะห์ ยูโซะ[1] อาดีลา เด็ง[1] และสุธิมา ปรีเปรม[2*]
Sorfeeyah Yusoh[1], Adeela Deng[1] and Sutima Preeprem[2*]

[1]หลักสูตรจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000
[2]หลักสูตรจุลชีววิทยาทางการแพทย์และอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000
[1]Microbiology Program, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Muang, Yala 95000, Thailand
[2]Medical and Industrial Microbiology Program, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Muang, Yala 95000, Thailand
*Corresponding author, e-mail: sutima.p@yru.ac.th
(Received: Mar 27, 2023; Revised: Oct 10, 2023; Accepted: Oct 10, 2023)

บทคัดย่อ

ปุ๋ยหมักน้ำมีส่วนประกอบสำคัญเป็นจุลินทรีย์เช่นแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งช่วยย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้กลายเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อพืช ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมักรวมถึงศึกษาลักษณะและประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้ง จากการแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมักพบว่า สามารถแยกแบคทีเรียกรดแลคติกได้ 9 ไอโซเลท (PB1-5 และ PS6-9) โดย PS6 และ PS8 เป็นเชื้อที่สามารถย่อยแป้งและโปรตีนได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกมาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำ และจากการผลิตปุ๋ยหมักน้ำจำนวน 8 สูตรที่มีส่วนประกอบของแบคทีเรียกรดแลคติกและสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันพบว่าในระหว่างการหมักปุ๋ยหมักน้ำมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล pH 3.89-6.00 กลิ่นปกติ ไม่เหม็นเน่า จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่ระหว่าง 0.07×10^{8} – 3.87×10^{9} CFU/ml และ 0.00 – 4.37×10^{8} CFU/ml ตามลำดับ นอกจากนี้จากการศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำพบว่า ปุ๋ยสูตร 3 และ 4 ซึ่งมีแบคทีเรียกรดแลคติกแบบชนิดเดียวเป็นส่วนประกอบสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของผักบุ้งได้ดีทั้งด้านจำนวนใบ ความยาวใบ และความสูงต้น และที่น่าสนใจคือ ปุ๋ยทั้งสองสูตรนี้สามารถเร่งการเจริญเติบโตของผักบุ้งได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) กับปุ๋ยสูตร 2 ซึ่งประกอบด้วยสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่า ปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้สามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้ดีและสามารถใช้เพื่อพัฒนาปุ๋ยที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมต่อไปได้

คำสำคัญ : ปุ๋ยหมักน้ำ แบคทีเรียกรดแลคติก การส่งเสริมการเจริญของพืช

Abstract

Bioextract is composed of microbes such as lactic acid bacteria. These bacteria play a role in nutrient degradation and important substance production. Therefore, the objectives of this research were to isolate and select lactic acid bacteria from fermented food and to characterize and investigate the efficacy of bioextracts from lactic acid bacteria in order to promote morning glory growth. Nine isolates of lactic acid bacteria (PB1-5 and PS6-9) were isolated from fermented food. All lactic acid bacteria isolates (n=9) were investigated for protease and amylase enzymes. The results showed PS6 and PS8 had the highest protease and amylase activities and were used for bioextract production. The bioextract production of 8 formulas was performed using different ratios of lactic acid bacteria and microbial activator (PD.2). The result of the properties investigation of bioextract found that during the period of fermentation, eight bioextracts were brown color, with pH 3.89-6.00, and normal smell without

unpleasant odor. The total number of bacteria and lactic acid bacteria in each bioextract during fermentation ranged between 0.07×10^{8} – 3.87×10^{9} CFU/ml and 0.00– 4.37×10^{8} CFU/ml, respectively. In addition, the efficacy study of the bioextracts revealed that formula no. 3 and 4 were able to promote the growth by increasing the number of leaves, leaf length, and also plant height of morning glory. Interestingly, the ability of the bioextract formula no.3 and 4 had no significant differences ($p\leq0.05$) with the bioextract formula no.2 that contained microbial activator PD.2. Therefore, the results of this study indicated that the bioextracts supplemented with lactic acid bacteria isolates from traditional fermented food can enhance plant growth and can further be studied for development as an eco-friendly bioextract.

Keywords: Bioextract, Lactic acid bacteria, Plant growth promotion

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีพื้นที่เกษตรกรรมขนาดใหญ่และมีผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Chankaweekul & Rangseesuriyachai, 2020) ในการทำเกษตรกรรมมักมีการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อบำรุงและเร่งการเจริญเติบโตของพืชเพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณสูงและรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามการใช้ปุ๋ยเคมีนั้นเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ต้นทุนของการเกษตรเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกษตรกรไม่สามารถผลิตปุ๋ยชนิดนี้ได้เองจึงจำเป็นต้องซื้อปุ๋ยเคมีเชิงพาณิชย์รวมถึงปุ๋ยดังกล่าวมีการขนส่งมาจากต่างพื้นที่จึงส่งผลต่อต้นทุนการผลิตทำให้ต้นทุนเพิ่มสูงขึ้นได้ (Atieno *et al*., 2020) ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาปุ๋ยอินทรีย์ที่เกษตรกรสามารถใช้วัสดุอินทรีย์ต่าง ๆ มาใช้ในการผลิตปุ๋ยได้เองจึงสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตและนำไปสู่การทำเกษตรกรรมอย่างยั่งยืน ปุ๋ยอินทรีย์เช่น ปุ๋ยชีวภาพและปุ๋ยหมักรูปแบบต่าง ๆ เป็นปุ๋ยบำรุงพืชที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและมีส่วนประกอบหลักเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยปุ๋ยอินทรีย์ประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิดซึ่งมีบทบาทในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ให้กลายเป็นสารอาหารที่พืชสามารถใช้ประโยชน์และช่วยในการบำรุงดิน (Atieno *et al*., 2020; Nosheen *et al*., 2021; Raman *et al*., 2022)

แบคทีเรียกรดแลคติกมักพบได้ในอาหารหมักต่าง ๆ และมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกซึ่งมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียกรดแลคติกมีบทบาทสำคัญในการบำรุงดินและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของหน่อและราก โดยแบคทีเรียดังกล่าวย่อยสลายสารอินทรีย์ ผลิตสารสำคัญ และกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก สารละลายธาตุอาหารของพืชโดยเฉพาะโพแทสเซียม รวมถึงสารยับยั้งศัตรูพืชจึงส่งผลในการช่วยป้องกันโรคและศัตรูพืชได้ (Petnuan *et al*., 2020; Raman *et al*., 2022) นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้แบคทีเรียกรดแลคติกในการผลิตปุ๋ยชีวภาพและปุ๋ยหมักน้ำโดยใช้ร่วมกับวัตถุดิบต่าง ๆ เช่น เศษปลาและเศษผัก เพื่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Petnuan *et al*., 2020; Chooklin *et al*., 2022) ดังนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกจึงเป็นจุลินทรีย์ที่น่าสนใจในการนำมาใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อผลิตปุ๋ยหมักน้ำเนื่องจากการใช้ปุ๋ยชนิดนี้สามารถช่วยลดต้นทุนทางการเกษตรได้เพราะในกระบวนการผลิตปุ๋ยสามารถใช้วัตถุดิบหลักเป็นวัสดุอินทรีย์ที่เหลือใช้จากครัวเรือน การเกษตร และอุตสาหกรรม เช่น เศษผัก เศษอาหาร และกากน้ำตาล โดยนำส่วนประกอบทั้งหมดหมักร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำหน้าที่เปลี่ยนวัตถุดิบต่าง ๆ ให้กลายเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อพืช (Wongsuwan & Khaengkhan, 2019) การผลิตปุ๋ยหมักโดยเติมจุลินทรีย์จึงเป็นวิธีที่ง่ายและน่าสนใจในการนำไปใช้บำรุงดินและพืช ช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมและช่วยเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งรวมถึงทดแทนการใช้สารเคมีในการเกษตรและช่วยลดต้นทุนการผลิตทางเกษตร (Nosheen *et al*., 2021; Raman *et al*., 2022) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมักพร้อมทั้งศึกษาลักษณะและประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้ง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมัก

คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมักจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ผักเสี้ยนดองและสะตอดอง โดยนำตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้ได้ระดับความเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-6} จากนั้นนำตัวอย่างที่ระดับความเจือจางเท่ากับ 10^{-3} ถึง 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาทำการคัดแยกเชื้อด้วย

เทคนิค Spread plate บนอาหาร de man Rogosa and Sharpe (MRS agar) ผสม Bromocresol purple ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใน Candle jar เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีเหลือง มาทำการคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Streak plate บนอาหาร MRS agar ผสม Bromocresol purple ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 จากนั้นจึงทดสอบลักษณะของแบคทีเรียด้วยวิธีการย้อมสีแกรมศึกษาลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์และทดสอบการผลิตเอนไซม์คะตะเลสโดยทดสอบการทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) (Chaleoisap *et al*., 2011; Rattanachak *et al*., 2020)

2. ศึกษาคุณสมบัติในการย่อยแป้งและโปรตีนของแบคทีเรียกรดแลคติก

2.1 ทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล

นำแบคทีเรียกรดแลคติกมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth ที่บรรจุหลอดดักแก๊ส จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใน Candle jar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตรวจสอบการสร้างแก๊สในหลอดดักแก๊ส โดยกลุ่ม Heterofermentative lactic acid bacteria จะพบการสร้างแก๊สในหลอดดักแก๊ส ส่วน Homofermentative lactic acid bacteria จะไม่พบการสร้างแก๊ส (Tayuan *et al*., 2021)

2.2 ทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งและโปรตีน

ทำการทดสอบการย่อยแป้งและโปรตีนโดยนำแบคทีเรียกรดแลคติกปริมาตร 10 ไมโครลิตรหยดลงบนอาหาร MRS agar ผสม Soluble starch ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ อาหาร MRS agar ผสมนมผงขาดมันเนย (Skim milk) ความเข้มข้นร้อยละ 2 ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใน Candle jar เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมงและบันทึกผลการทดลองโดยสังเกตและวัดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดวงใส (Clear zone) จำนวน 2 ระนาบรอบโคโลนีหลังจากบ่ม 24 48 และ 72 ชั่วโมง ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์จากนั้นจึงคำนวณหาค่าเฉลี่ยของขนาดวงใสในการย่อยแป้งและโปรตีน (ดัดแปลงจาก Linares-Morales *et al*., 2020; Nimrat *et al*., 2021)

3. การผลิตปุ๋ยหมักน้ำและการศึกษาลักษณะของปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติก

3.1 การผลิตปุ๋ยหมักน้ำ

ทำการหมักปุ๋ยหมักน้ำจำนวน 8 สูตร โดยแต่ละสูตรมีส่วนประกอบของเศษเปลือกกล้วย กากน้ำตาล น้ำ สารเร่งซุปเปอร์ พด.2 และแบคทีเรียกรดแลคติกตัวแทนที่ย่อยแป้งและโปรตีนได้ดีในอัตราส่วนที่ต่างกันดังตารางที่ 1 จากนั้นทำการหมักปุ๋ยหมักน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 28 วัน จากนั้นกรองและนำส่วนใสที่ได้ไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป (ดัดแปลงจาก Land development department, 2007)

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของปุ๋ยหมักน้ำจำนวน 8 สูตร

สูตร	ส่วนประกอบของปุ๋ยหมักน้ำ					
	เศษเปลือกกล้วย (กรัม)	กากน้ำตาล (กรัม)	น้ำ (มิลลิลิตร)	สารเร่งซุปเปอร์ พด.2 (กรัม)	แบคทีเรียกรดแลคติก ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml	
					1 (PS6) (มิลลิลิตร)	2 (PS8) (มิลลิลิตร)
1	800	200	200	0	0	0
2	800	200	200	0.5	0	0
3	800	200	200	0	0.5	0
4	800	200	200	0	0	0.5
5	800	200	200	0.25	0.25	0
6	800	200	200	0.25	0	0.25
7	800	200	200	0.16	0.16	0.16
8	800	200	200	0	0.25	0.25

(ดัดแปลงจาก Land development department, 2007)

3.2 การศึกษาลักษณะทางกายภาพของปุ๋ยหมักน้ำ

ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของปุ๋ยหมักน้ำในระหว่างการหมักในวันที่ 0 7 14 21 และ 28 โดยทำการศึกษาสีด้วยตาเปล่า ตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของปุ๋ยหมักน้ำด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างและตรวจสอบกลิ่นด้วยวิธีการดมกลิ่น (ดัดแปลงจาก Chanchay *et al*., 2017)

3.3 การตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักน้ำ

ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักน้ำโดยนำตัวอย่างปุ๋ยหมักน้ำในวันที่ 0 7 14 21 และ 28 มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้ได้ระดับความเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-7} จากนั้นนำตัวอย่างที่ระดับความเจือจางเท่ากับ 10^{-5} ถึง 10^{-7} มาตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียกรดแลคติกด้วยวิธี Drop plate โดยหยดตัวอย่างปริมาตร 30 ไมโครลิตรลงบนอาหาร Plate count agar (PCA) และอาหาร MRS agar ที่ผสม Bromocresol purple ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 ตามลำดับ ทำการทดสอบซ้ำจำนวน 3 ซ้ำต่อความเข้มข้น จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสำหรับแบคทีเรียทั้งหมดและบ่มใน Candle jar เป็นเวลา 24 -48 ชั่วโมงสำหรับเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก จากนั้นนับจำนวนโคโลนีและคำนวณรายงานผลในหน่วย Colony forming unit ต่อมิลลิตร (CFU/ml) (ดัดแปลงจาก Gavrilova *et al*., 2019; Petnuan *et al*., 2020)

4. การศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้ง

ทำการปลูกผักบุ้งจีนในกระถางพลาสติกขนาด 5×11 นิ้วและปลูกด้วยดินปลูกสำเร็จรูป โรยเมล็ดผักบุ้งจำนวน 10 เมล็ดต่อกระถาง โดยในชุดทดสอบทำการรดปุ๋ยหมักน้ำแต่ละสูตรซึ่งทำการเจือจางด้วยน้ำในอัตรา 1:500 และใช้รดพืชปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อชุดทดสอบในช่วงเช้า-เย็น ส่วนชุดควบคุมทำการรดด้วยน้ำเปล่าโดยวิธีเดียวกันกับชุดทดสอบ จากนั้นทำการนับจำนวนใบ วัดความยาวใบ และความสูงของต้นตัวแทนจำนวน 3 ต้น ในวันที่ 7 14 21 และ 28 และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และทดสอบความแปรปรวนเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยพิจารณาค่าความแตกต่างทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ (ดัดแปลงจาก Petnuan *et al*., 2020)

ผลการวิจัย

1. ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมัก

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากผักเสี้ยนดองและสะตอดองสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลท ซึ่งมาจากตัวอย่างผักเสี้ยนดองจำนวน 5 ไอโซเลท (PB1 PB2 PB3 PB4 และ PB5) และตัวอย่างสะตอดองจำนวน 4 ไอโซเลท (PS6 PS7 PS8 และ PS9) โดยเชื้อทุกไอโซเลทมีลักษณะโคโลนีบนอาหาร MRS agar ผสม Bromocresol purple เป็นโคโลนีเป็นสีเหลือง กลม นูน และจากการศึกษาลักษณะของเชื้อพบว่าเชื้อทั้ง 9 ไอโซเลท ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลสและมีลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วย เชื้อรูปร่างท่อนจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ PB1 PB2 PB3 PB4 PB5 PS6 และ PS9 และเชื้อรูปร่างกลมจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ PS7 และ PS8

2. คุณสมบัติในการหมักน้ำตาลและการย่อยแป้งและโปรตีนของแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาลของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักทั้ง 9 ไอโซเลท พบว่า มีเพียงเชื้อไอโซเลท PB5 ที่เป็นกลุ่ม Heterofermentative lactic acid bacteria ซึ่งผลิตกรดแลคติกและสร้างแก๊ส ส่วนเชื้ออีก 8 ไอโซเลทเป็นกลุ่ม Homofermentative lactic acid bacteria ที่ผลิตกรดแลคติกแต่ไม่สร้างแก๊ส นอกจากนี้จากการตรวจสอบความสามารถในการย่อยแป้งและโปรตีนของแบคทีเรียกรดแลคติกพบว่าเชื้อทุกไอโซเลทสามารถย่อยโปรตีนได้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมง และมีค่าเฉลี่ยขนาดวงใสอยู่ในช่วงระหว่าง 6.1 - 21.3 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2) โดยเชื้อไอโซเลท PS6 PS8 และ PS9 มีความสามารถในการย่อยโปรตีนได้ดีเป็นสามอันดับแรก ส่วนการย่อยแป้งพบกิจกรรมการย่อยในชั่วโมงที่ 24 เพียง 4 ไอโซเลท (PB1 PS6 PS8 และ PS9) ส่วนเชื้อที่เหลือพบกิจกรรมการย่อยแป้งที่ 72 ชั่วโมง และมีค่าเฉลี่ยของขนาดวงใสอยู่ในช่วงระหว่าง 7.1-15.8 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2) โดยไอโซเลท PS6 PS8 และ PS7 มีความสามารถในการย่อยแป้งได้ดีเป็นสามอันดับแรก ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียกรดแลคติกไอโซเลท PS6 และ PS8 มีความสามารถในการย่อยทั้งแป้งและโปรตีนได้ดีที่สุดจึงคัดเลือกไปใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยขนาดวงใสในการย่อยแป้งและโปรตีนของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมัก

ไอโซเลท*	ค่าเฉลี่ยขนาดวงใสในการย่อยแป้ง ±SD (มิลลิเมตร)			ค่าเฉลี่ยขนาดวงใสในการย่อยโปรตีน ±SD (มิลลิเมตร)		
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
PB1	7.1±0.1	8.1±0.0	9.2±0.0	7.1±0.0	8.9±0.0	15.6±4.9
PB2	0.0±0.0	0.0±0.0	9.1±2.8	6.1±0.0	10.6±0.7	13.6±0.7
PB3	0.0±0.0	0.0±0.0	8.1±0.0	7.1±0.0	7.6±0.7	10.1±0.0
PB4	0.0±0.0	0.0±0.0	11.1±0.0	10.1±0.0	10.1±0.0	18.2±0.1
PB5	0.0±0.0	0.0±0.0	8.6±0.7	9.6±0.7	10.3±0.3	17.1±0.0
PS6	8.7±1.4	10.6±0.7	15.8±0.6	11.2±0.0	11.2±0.0	21.3±0.0
PS7	0.0±0.0	0.0±0.0	11.2±0.1	9.7±0.8	10.2±0.0	11.2±0.0
PS8	8.7±0.6	11.2±0.0	15.8±0.6	11.2±0.0	11.2±0.0	20.7±0.7
PS9	8.1±0.0	9.2±1.3	10.2±0.0	10.1±0.0	10.1±0.0	18.7±3.5

***หมายเหตุ** PB = แบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากผักเสี้ยนดอง ; PS = แบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากสะตอดอง

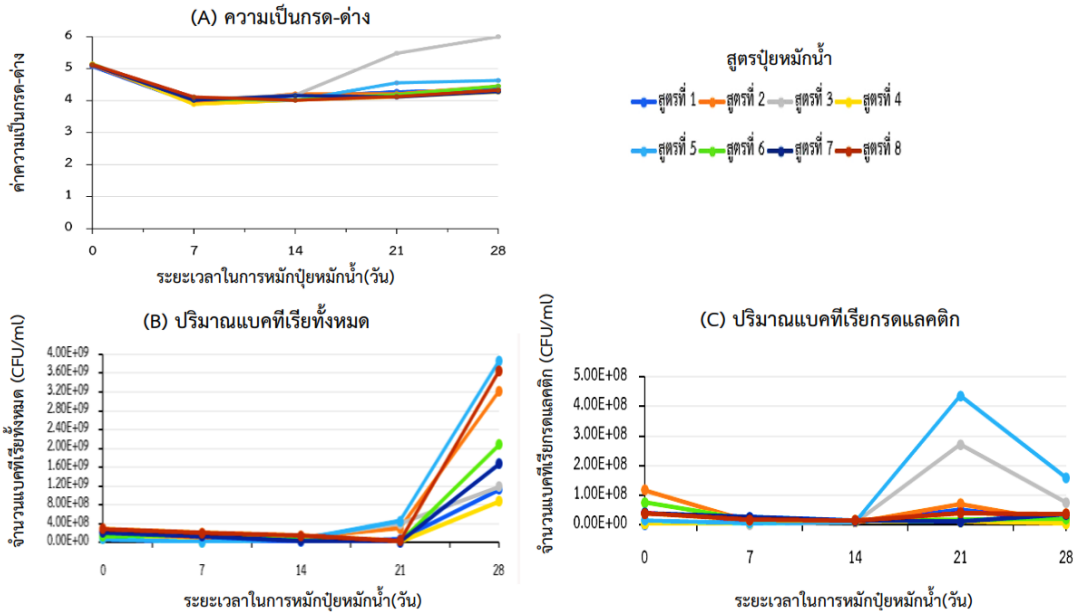
3. ลักษณะของปุยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติก

3.1 ลักษณะทางกายภาพของปุยหมักน้ำ

ลักษณะของปุยหมักน้ำทั้ง 8 สูตร ในวันแรกของการหมักปุยหมักน้ำมีลักษณะสีน้ำตาลเข้มและมีกลิ่นคล้ายกลิ่นของกากน้ำตาลและในระยะหมักต่อมาปุยหมักน้ำสีน้ำตาลอ่อนลงและมีกลิ่นเปรี้ยวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างของปุยหมักน้ำทั้ง 8 สูตร ในวันที่ 0 ของการหมักพบว่า ปุยทั้งหมดมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 5.06 – 5.15 จากนั้นจึงมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเล็กน้อยและค่อย ๆ คงที่ โดยจากการหมักปุยหมักน้ำทั้ง 8 สูตร ในวันที่ 7 ตลอดจนสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 28 มีเพียงแค่สูตรที่ 3 ของปุยหมักน้ำที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 4.05-6.00 ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างของปุยหมักน้ำสูตรที่ 1 2 4 5 6 7 และ 8 อยู่ในช่วง 3.89 – 4.63 (ภาพที่ 1A)

3.2 ปริมาณจุลินทรีย์ในปุยหมักน้ำแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการตรวจสอบปริมาณของจุลินทรีย์ในปุยหมักน้ำจำนวน 8 สูตรพบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในปุยหมักน้ำทั้ง 8 สูตร ตั้งแต่เริ่มต้นของการหมักปุยหมักน้ำในวันที่ 0 ถึงวันที่ 28 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมีปริมาณอยู่ระหว่าง 0.07×10^{8} – 3.87×10^{9} CFU/ml ซึ่งตั้งแต่การหมักวันที่ 0 7 14 และ 21 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดค่อนข้างคงที่และเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้นในวันที่ 28 ดังภาพที่ 1B ส่วนปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในปุยหมักน้ำทั้ง 8 สูตรในวันที่ 0-28 อยู่ในช่วงระหว่าง 0.00 – 4.37×10^{8} CFU/ml โดยในช่วงเริ่มต้นของการหมักในวันที่ 0 ปุยหมักน้ำสูตรที่ 1 ซึ่งไม่เติมหัวเชื้อในการหมักเป็นเพียงสูตรเดียวที่ไม่พบแบคทีเรียกรดแลคติก ในขณะที่ปุยหมักน้ำสูตรที่ 2 ที่ใส่สารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 1.19×10^{8} CFU/ml สำหรับปุยหมักน้ำสูตรที่ 3 4 5 6 7 และ 8 ที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกจากอาหารหมักมีค่าอยู่ในระหว่าง 0.03×10^{8} - 0.75×10^{8} CFU/ml และจากการหมักปุยในช่วงระยะเวลา 7-14 วันพบว่า ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกมีค่าคงที่โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 0.02×10^{8} - 0.26×10^{8} CFU/ml และที่น่าสนใจคือในปุยสูตรที่ 3 และ 5 ที่เวลา 21 วัน เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นโดยมีค่าเท่ากับ 2.72×10^{8} และ 4.37×10^{8} CFU/ml ตามลำดับ อีกทั้งปุยหมักน้ำสูตรที่ 3 และ 5 เป็นสูตรที่มีค่าของแบคทีเรียกรดแลคติกสูงสุดเป็นสองอันดับแรกในวันที่ 28 (ภาพที่ 1C)



ภาพที่ 1 ลักษณะของปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกในวันที่ 0 ถึง 28 (A) ความเป็นกรด-ด่าง (B) ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (C) ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก

4. ประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งในระยะเวลา 28 วัน พบว่า ต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำทั้ง 8 สูตร มีค่าเฉลี่ยของจำนวนใบอยู่ในช่วงระหว่าง 5.0-6.7 ใบ ค่าเฉลี่ยความยาวใบ 4.0-6.7 เซนติเมตร และค่าเฉลี่ยความสูงต้น 10.5-22.3 เซนติเมตร ส่วนต้นผักบุ้งในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ 4.6 ใบ ความยาวใบเท่ากับ 5 เซนติเมตร ความสูงต้นเท่ากับ 12 เซนติเมตร และต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 2 ซึ่งผสมสารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ 6.7 ใบ ความยาวใบเท่ากับ 6.7 เซนติเมตรและความสูงต้นเท่ากับ 22.3 เซนติเมตร รองลงมาคือ ต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 3 และ 4 ซึ่งมีส่วนผสมของแบคทีเรียกรดแลคติกแบบชนิดเดียว (PS6 และ PS8) โดยต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 3 มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ 6.3 ใบ ความยาวใบเท่ากับ 5.7 เซนติเมตร และความสูงของต้นผักบุ้งเท่ากับ 22.3 เซนติเมตร และต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 4 มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ 6.3 ใบ ความยาวใบเท่ากับ 6.3 เซนติเมตร ความสูงของต้นผักบุ้ง 20.2 เซนติเมตร ซึ่งที่น่าสนใจคือการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 3 และ 4 นี้มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากสูตรที่ 2 ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ต้นผักบุ้งที่รดด้วยปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 6 7 5 8 และ 1 พบว่ามีค่าเฉลี่ยใบ ความยาวใบ และความสูงของต้นผักบุ้งน้อยกว่าสูตรที่ 2 3 และ 4 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนใบ ความยาวใบ และความสูงต้นของต้นผักบุ้งในชุดทดสอบและชุดควบคุมในวันที่ 7 14 21 และ 28

สูตรปุ๋ยหมักน้ำ	จำนวนใบ ±SD (เซนติเมตร)				ความยาวใบ ±SD (เซนติเมตร)				ความสูงต้น ±SD (เซนติเมตร)			
	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
ชุดควบคุม	0.0 ± 0.0^{c}	3.0 ± 0.0^{b}	4.0 ± 0.0^{c}	4.6 ± 1.0^{a}	0.0 ± 0.0^{b}	3.3 ± 0.0^{c}	3.3 ± 1.2^{b}	5.0 ± 0.6^{bc}	3.3 ± 0.6^{c}	5.7 ± 0.0^{c}	6.7 ± 2.1^{c}	12.0 ± 1.0^{b}
สูตรที่ 1	3.0 ± 1.0^{b}	4.0 ± 0.0^{a}	4.0 ± 1.0^{c}	5.7 ± 1.5^{a}	3.3 ± 0.6^{a}	3.7 ± 0.6^{bc}	4.3 ± 0.6^{ab}	4.3 ± 0.6^{c}	4.7 ± 0.6^{bc}	8.0 ± 1.0^{b}	8.0 ± 3.2^{c}	11.0 ± 3.6^{b}
สูตรที่ 2	4.0 ± 0.0^{a}	4.0 ± 0.6^{a}	6.7 ± 0.6^{a}	6.7 ± 0.6^{a}	3.3 ± 0.6^{a}	4.3 ± 0.6^{ab}	6.3 ± 1.0^{a}	6.7 ± 2.6^{a}	5.7 ± 0.6^{b}	11.0 ± 2.0^{a}	15.7 ± 2.1^{a}	22.3 ± 0.6^{a}
สูตรที่ 3	4.0 ± 0.0^{a}	5.0 ± 0.6^{a}	6.7 ± 0.6^{a}	6.3 ± 1.2^{a}	3.3 ± 0.6^{a}	4.3 ± 0.6^{ab}	5.0 ± 0.0^{ab}	5.7 ± 0.6^{ab}	5.7 ± 1.0^{b}	11.0 ± 1.0^{a}	14.0 ± 1.7^{bc}	22.3 ± 1.5^{a}
สูตรที่ 4	4.0 ± 0.0^{a}	4.0 ± 0.6^{a}	5.6 ± 1.2^{ab}	6.3 ± 1.0^{a}	3.3 ± 0.6^{a}	4.7 ± 0.6^{a}	5.6 ± 0.6^{ab}	6.3 ± 0.6^{a}	5.7 ± 0.6^{b}	11.0 ± 2.1^{a}	14.7 ± 6.4^{a}	20.2 ± 5.3^{a}
สูตรที่ 5	3.0 ± 0.0^{b}	4.0 ± 0.0^{a}	$5.3^{a}\pm0.6^{bc}$	5.0 ± 1.7^{a}	3.3 ± 0.6^{a}	4.0 ± 0.0^{ab}	4.6 ± 0.6^{ab}	4.7 ± 1.2^{bc}	5.7 ± 0.6^{b}	9.0 ± 1.0^{ab}	11.0 ± 2.1^{abc}	14.7 ± 3.1^{b}
สูตรที่ 6	4.0 ± 0.0^{a}	4.0 ± 0.6^{a}	5.3 ± 1.2^{abc}	6.0 ± 0.6^{a}	3.0 ± 0.0^{a}	3.7 ± 0.6^{bc}	4.0 ± 0.0^{b}	4.7 ± 0.6^{bc}	5.7 ± 1.2^{b}	9.0 ± 0.0^{ab}	11.0 ± 1.5^{abc}	15.0 ± 2.6^{b}
สูตรที่ 7	3.0 ± 1.2^{ab}	4.0 ± 0.0^{a}	5.3 ± 0.6^{abc}	5.0 ± 1.2^{a}	2.6 ± 1.5^{a}	4.3 ± 0.6^{ab}	5.0 ± 0.0^{ab}	5.0 ± 1.0^{bc}	5.7 ± 0.0^{b}	11.0 ± 2.0^{a}	13.3 ± 2.9^{bc}	15.0 ± 1.7^{b}
สูตรที่ 8	3.0 ± 0.0^{b}	4.0 ± 0.6^{a}	5.0 ± 0.0^{bc}	5.0 ± 2.1^{a}	3.6 ± 0.6^{a}	3.7 ± 0.6^{bc}	4.0 ± 0.0^{b}	4.0 ± 0.0^{c}	7.7 ± 0.6^{a}	9.0 ± 0.6^{ab}	9.0 ± 0.0^{bc}	10.5 ± 1.0^{b}

***หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งคือ ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

อภิปรายผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้สามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากผักเสี้ยนดองและสะตอดองซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นบ้านได้จำนวน 9 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียกรดแลคติกมีบทบาทสำคัญในอาหารหมัก แบคทีเรียชนิดนี้จะผลิตกรดอินทรีย์ที่มีประโยชน์และทำให้อาหารหมักมีลักษณะและรสชาติเฉพาะ (Raman *et al*., 2022) ซึ่งลักษณะของแบคทีเรียที่พบบนอาหาร MRS ผสม Bromocresol purple จะมีโคโลนีสีเหลืองเนื่องจากเชื้อมีการผลิตกรดจึงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีของสีบ่งชี้จากสีม่วงเป็นสีเหลือง (Sharma *et al*., 2018) นอกจากนี้จากการย้อมสีแกรมและส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อนจำนวน 7 ไอโซเลท และรูปร่างกลมจำนวน 2 ไอโซเลท และเชื้อทั้งหมดไม่สามารถผลิตเอนไซม์คะตะเลสซึ่งเป็นลักษณะเบื้องต้นของแบคทีเรียกรดแลคติกที่รายงานก่อนหน้านี้ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถสังเคราะห์สารกลุ่มพอร์ไฟริน (Porphyrin group) จึงทำให้ไม่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสที่แท้จริงได้ (Khalid, 2011; Linares-Morales *et al*., 2020; Raman *et al*., 2022) จากการจำแนกกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกโดยอาศัยความสามารถในการหมักน้ำตาลพบว่า มีเชื้อเพียง 1 ไอโซเลท ที่จัดเป็นกลุ่ม Heterofermentative lactic acid bacteria ซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกและสารอื่น ๆ เช่น เอทานอลหรือกรดอะซิติก ในขณะที่เชื้อที่เหลือจำนวน 8 ไอโซเลท จัดเป็นกลุ่ม Homofermentative lactic acid bacteria ซึ่งเป็นกลุ่มที่ผลิตเพียงกรดแลคติกซึ่งจะส่งผลให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นเร็วและทำให้เกิดสารอินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้ (Raman *et al*., 2022) จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกจากอาหารหมักส่วนใหญ่จัดเป็นกลุ่ม Homofermentative lactic acid bacteria จึงเป็นแบคทีเรียที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างกรดที่เป็นประโยชน์ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของพืชในปริมาณมากและรวดเร็ว นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้มีความสามารถในการย่อยแป้งและโปรตีนได้ดี ซึ่งมีการรายงานว่า แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอสที่มีบทบาทในการย่อยแป้งและโปรตีน ทั้งนี้คุณสมบัติดังกล่าวมีความสำคัญกับกระบวนการย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดเล็กลงและกลายเป็นสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อพืชได้ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กรดอินทรีย์ และฮอร์โมนพืช เป็นต้น (Petnuan *et al*., 2020; Raman *et al*., 2022; Jaffar *et al*., 2023) โดยผลการวิจัยนี้พบว่า เชื้อไอโซเลท PS6 และ PS8 มีความสามารถย่อยแป้งและโปรตีนได้ดี ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทมาใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำซึ่งพบว่า ปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักมีลักษณะสีน้ำตาล กลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อยสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีค่าอยู่ในช่วง pH 3.89-6.00 ทั้งนี้การลดลงของความเป็นกรด-ด่างเกิดจากแบคทีเรียกรดแลคติกในปุ๋ยผลิตกรดและหลั่งออกสู่ปุ๋ยหมักน้ำจึงทำให้เกิดสภาวะที่เป็นกรดเพิ่มขึ้นและมีผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ รวมถึงยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (Petnuan *et al*., 2020; Raman *et al*., 2022) นอกจากนี้จากการตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียพบว่า มีการพบแบคทีเรียกรดแลคติกตลอดช่วงระยะเวลาของการหมัก โดยจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียทั้งหมดตั้งแต่วันที่ 7-28 อยู่ในช่วงระหว่าง 10^8-10^9 CFU/ml และในช่วงแรกจุลินทรีย์มีจำนวนคงที่และค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 21 โดยในกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกลดลงในช่วงวันที่ 28 ซึ่งแตกต่างจากจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่ยังคงมีอัตราเพิ่มสูงขึ้นซึ่งอาจเกิดจากแบคทีเรียทั่วไปที่มาจากสิ่งแวดล้อม เช่น วัตถุดิบได้แก่ เปลือกกล้วยและกากน้ำตาล รวมถึงแบคทีเรียกรดแลคติกในปุ๋ยหมักน้ำมีการแข่งขันเพื่อใช้สารอาหารจึงอาจจะทำให้อัตราของแบคทีเรียกรดแลคติกลดลง ทั้งนี้รูปแบบการเจริญดังกล่าวมีความสอดคล้องกับรูปแบบการเจริญของแบคทีเรียที่ในช่วงแรกเชื้อจะปรับตัวเพื่อให้อยู่รอดในสภาวะใหม่และค่อยเพิ่มจำนวนสูงขึ้น จากนั้นจึงมีจำนวนคงที่และลดลงในช่วงหลังเนื่องจากสารอาหารลดน้อยลง (Prisillia *et al*., 2021)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้งพบว่า ปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 2 ซึ่งมีส่วนผสมของสารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 ที่ประกอบไปด้วยจุลินทรีย์จำนวน 5 สายพันธุ์ได้แก่ ยีสต์ที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์และกรดอินทรีย์ แบคทีเรียกรดแลคติก แบคทีเรียย่อยสลายโปรตีน แบคทีเรียย่อยสลายไขมัน และแบคทีเรียละลายอินทรีย์ฟอสฟอรัส ซึ่งมีการรายงานว่า จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถช่วยในการเจริญเติบโตของพืชและป้องกันโรคพืชได้ (Land development department, 2007; Chooklin *et al*., 2022) และที่น่าสนใจคือ ปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 3 และ 4 ซึ่งมีส่วนประกอบของแบคทีเรีย กรดแลคติก PS6 และ PS8 ตามลำดับ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งได้ดีทั้งในด้านจำนวนใบ ความยาวใบและความสูงต้น และประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งของปุ๋ยหมักน้ำทั้งสองสูตรนี้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับประสิทธิภาพของปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 2 ซึ่งมีสารเร่งซุปเปอร์ พด. 2 ที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์มากถึง 5 ชนิด อีกทั้งปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 3 และ 4 ซึ่งประกอบด้วยเชื้อแบบชนิดเดียวสามารถส่งเสริมความยาวใบและความสูงของต้นผักบุ้งได้ดีกว่าปุ๋ยหมักน้ำสูตรอื่น ๆ ที่ประกอบด้วยเชื้อแบบรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองนี้ชี้ให้ว่า

ปุ๋ยหมักน้ำแบบเชื้อรวมอาจจะมีปริมาณอัตราส่วนของเชื้อที่ไม่เหมาะสมทำให้มีผลต่อการทำงานของเชื้อและประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งในด้านต่าง ๆ ในขณะที่ปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกแบบชนิดเดียวซึ่งแยกได้จากอาหารหมักสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งได้ดีซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Petnuan *et al.* (2020) ที่รายงานเกี่ยวกับปุ๋ยชีวภาพจาก *Lactobacillus casei* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้งได้ดี (Petnuan *et al*., 2020) นอกจากนี้ Lamont *et al.* (2017) และ Raman *et al.* (2022) ยังรายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพของแบคทีเรียกรดแลคติกในปุ๋ยชีวภาพโดยแบคทีเรียชนิดนี้สามารถย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้ได้เป็นสารที่มีประโยชน์ต่อพืช เช่น แร่ธาตุ ได้แก่ ไนโตรเจน (N) และฟอสฟอรัส (P) กรดแลคติก ฮอร์โมนพืชและสารที่ส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น auxin indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (Lamont *et al*., 2017; Raman *et al*., 2022) นอกจากนี้ยังมีการรายงานเกี่ยวกับความสามารถของแบคทีเรียกรดแลคติก ในการต่อต้านแบคทีเรียและเชื้อราก่อโรครวมถึงแมลงศัตรูพืชอีกด้วย (Raman *et al*., 2022) ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชแต่อย่างไรก็ตามในอนาคตยังคงจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคต่าง ๆ รวมถึงความสามารถในการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืชเพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกและสามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาปุ๋ยหมักน้ำที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชพร้อมทั้งช่วยลดต้นทุน เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และช่วยในการลดการใช้สารเคมีในการเกษตรต่อไปได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

แบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างท่อนและรูปร่างกลม ส่วนใหญ่จัดอยู่กลุ่มที่ไม่สร้างแก๊สจากการหมักน้ำตาลกลูโคส (Homofermentative lactic acid bacteria) และมีคุณสมบัติในการย่อยแป้งและโปรตีนได้ นอกจากนี้ปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 2 ซึ่งมีสารเร่งซุปเปอร์ พด.2 เป็นส่วนประกอบและปุ๋ยหมักน้ำสูตรที่ 3 และ 4 ซึ่งมีแบคทีเรียกรดแลคติกแบบชนิดเดียวที่แยกได้จากอาหารหมักเป็นส่วนประกอบสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งได้ดี ดังนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอาหารหมักจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการผลิตปุ๋ยหมักน้ำ อีกทั้งปุ๋ยหมักน้ำจากแบคทีเรียกรดแลคติกดังกล่าวยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้งได้ดี ข้อมูลเหล่านี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาปุ๋ยหมักน้ำที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและช่วยในการลดการใช้สารเคมีในการเกษตรในอนาคตต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณหลักสูตรจุลชีววิทยาทางการแพทย์และอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลาในการสนับสนุนสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอบคุณนางสาวสุภาภรณ์ ชุมพลและโครงการ Publication Clinic คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลาในการตรวจสอบภาษาอังกฤษของบทความวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Atieno, M., Herrmann, L., Nguyen, H. T., Phan, H. T., Nguyen, N. K., Srean, P., *et al*., (2020). Assessment of biofertilizer use for sustainable agriculture in the Great Mekong Region. *Journal of Environmental Management*, *275*, 111300; https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111300.

Chaleoisap, S., Gongseng, S. & Lertcanawanichaku, M. (2011). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from foods and *Lactobacillus plantarum* strain improvement for using as probiotic. *Thaksin University Journal*, *14*(3), 10-18. (in Thai)

Chanchay, N., Boonkerd, S. & Phukkarawek, Y. (2017). Study and development of pickled starter for producing of biologically fermented plant for consumption. *Journal of Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology)*, *9*(17), 26-40. (in Thai)

Chankaweekul, K. & Rangseesuriyachai, T. (2020). Co–composting production from elephant fodder with elephant dung and fermented slurry using anaerobic digestion. *The 25th National Convention*

on Civil Engineering, July 15-17, 2020. Chonburi: The Engineering Institute of Thailand Under H.M. The King's Patronage. (in Thai)

Chooklin, S. C., Sawain, A. & Krualee, S. (2022). Effect of fermented bio-extract from fish residues by *Lactobacillus casei* on growth and yield of *Brassica campestris* var. *chinensis*. *RMUTSV Research Journal*, *14*(1), 253-265. (in Thai)

Gavrilova, E., Anisimova, E., Gabdelkhadieva, A., Nikitina, E., Vafina, A., Yarullina, D., *et al*., (2019). Newly isolated lactic acid bacteria from silage targeting biofilms of foodborne pathogens during milk fermentation. *BMC Microbiology*, *19*(1), 1-12.

Jaffar, N. S., Jawan, R. & Chong, K. P. (2023). The potential of lactic acid bacteria in mediating the control of plant diseases and plant growth stimulation in crop production-A mini review. *Frontiers in plant science*, *13*, 1047945; DOI: 10.3389/fpls.2022.1047945. PMID: 36714743; PMCID: PMC9880282.

Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, *1*(3), 1-13.

Lamont, J. R., Wilkins, O., Bywater-Ekegärd, M. & Smith, D. L. (2017). From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biology and Biochemistry*, *111*, 1-9.

Land development department. (2007). Microbial activator (PD.2) [Online]. Retrieved January 3, 2022, from: http://slbkb.psu.ac.th/jspui/bitstream/2558/1246/1/010027-2550.pdf. (in Thai)

Linares-Morales, J. R., Cuellar-Nevárez, G. E., Rivera-Chavira, B. E., Gutiérrez-Méndez, N., Pérez-Vega, S. B. & Nevárez-Moorillón, G. V. (2020). Selection of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables based on their antimicrobial and enzymatic activities. *Foods*, *9*(10), 1399.

Nimrat, S., Sae-Kow, W. & Vuthiphandchai, V., (2021). Survey on quality of commercial probiotic products used for marine culture of ornamental fish. *Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University, 40*(1), 31-45. (in Thai)

Nosheen, S., Ajmal, I., & Song, Y. (2021). Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. *Sustainability*, *13*(4), 1868.

Petnuan, N.,Tilaruk, P.,Anartngam, P. & Suwanposri, A. (2020). Biofertilizer from plant probiotic microorganisms. *Agriculture and Technology Journal, 1*(2), 12-21. (in Thai)

Prisillia, R. M. A., Susilowati, A., & Solichatun, S. (2021). Screening of phosphate solubilizing bacteria from sugarcane plant rhizosphere as biofertilizer agent for sorghum growth (*Sorghum bicolor*). *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, *18*(1), 37-45.

Raman, J., Kim, J. S., Choi, K. R., Eun, H., Yang, D., Ko, Y. J., *et al*., (2022). Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: Advantages and limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(14), 7784; https://doi.org/10.3390/ijms23147784.

Rattanachak, N., Nualsri, C., Srisayam, M., Urtgam, S. & Chodnakarin, A. (2020). Solation and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from raw banana (*Musa sapientum* L.) in Phitsanulok province. *Journal of Science and Technology Ubon Ratchathani University, 22*(2), 50-57. (in Thai)

Sharma, N., Yadav, N., Bhagwani, H., Chahar, D. & Singh, B. (2018). Screening of lactic acid bacteria from effluent samples of Jaipur dairy. *International Journal of Waste Resources, 8*(2), 332; DOI: 10.4172/2252-5211.1000332.

Tayuan, C., Hunghoul, W., Maneenop, T. & Tuanted, S. (2021). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from fermented meats. *PBRU Science Journal*, *18*(2), 62-72. (in Thai)

Wongsuwan, N. & Khaengkhan, P. (2019). Benefits of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on increasing efficiency for economic crops. *Prawarun Agricultural Journal, 16*(1), 19-33. (in Thai)