

BA03: การใช้รังสีแกมมาเพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในวัสดุพาหะ ที่ใช้ในการผลิตหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพ

*พรรณดา ดิตตะบุตร¹, กมลลักษณ์ เทียมไธสง¹, วชิราภรณ์ ผิวทอง²,

หนึ่ง เดียอรุ่ง¹, สิรินาถ เลาหะโรจนพันธ์², นันทกร บุญเกิด¹

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 044-224159 โทรสาร 044-224154 E-mail: panlada@sut.ac.th

²สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ 02-5967600 ต่อ 5211 โทรสาร 02-5620121 E-mail: sirinart@tint.or.th

บทคัดย่อ

การฉายรังสีถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ และส่งผลให้สินค้ามีคุณภาพสูงขึ้น เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์หัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพหากมีการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะก่อนนำไปผลิตก็จะได้ปุ๋ยชีวภาพที่มีคุณภาพสูงขึ้น วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของวัสดุพาหะ ความชื้นของวัสดุพาหะ ขนาดบรรจุ รวมทั้งชนิดของพลาสติกที่ใช้บรรจุ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยวิธีการฉายรังสีแกมมา ทั้งนี้พบว่า การฉายรังสีสามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะทั้ง peat และ compost ได้ดี และสามารถใช้ ปริมาณรังสีเพียง 15 กิโลเกรย์ เพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะที่มีความชื้นต่ำกว่า 20% ในขณะที่ต้องใช้ปริมาณรังสีสูงถึง 25 กิโลเกรย์ เพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะที่มีความชื้น 30% อีกทั้งขนาดบรรจุของวัสดุพาหะที่มีขนาดใหญ่ขึ้นส่งผลให้ต้องใช้ปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นเพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อนเช่นกัน สำหรับชนิดของพลาสติก พบว่าถุงบรรจุพลาสติกชนิด polyethylene มีความคงทนต่อรังสีแม้การฉายที่ปริมาณรังสีสูง อย่างไรก็ตามได้ตรวจพบเชื้อปนเปื้อนเกิดขึ้นในวัสดุพาหะที่ผ่านการฉายรังสีแล้วหลังจากเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสปอร์ และทนต่อรังสีแกมมาได้ ซึ่งจะต้องทำการพิสูจน์ต่อไป รวมทั้งนำวัสดุพาหะที่ผ่านการฉายรังสีแล้วไปใช้ทดสอบในการผลิตหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพ

คำสำคัญ: วัสดุพาหะ รังสีแกมมา หัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพ การกำจัดเชื้อปนเปื้อน

Sterilization of Carriers by using Gamma Irradiation for Biofertilizer

Inoculum Production

*Panlada Tittabutr¹, Kamonluck Teamtison¹, Wachiraporn Pewlong², Neung Teamroong¹, Sirinart

Laoharajanaphand², Nantakorn Boonkerd¹

¹School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000

Phone: 044-224159, Fax: 044-224154, E-mail: panlada@sut.ac.th

²Thailand Institute of Nuclear Technology, Chatuchak, Bangkok 10900

Phone: 02-5967600 ext. 5211, Fax: 02-5620121, E-mail: sirinart@tint.or.th

Abstract

Gamma irradiation has been widely used in sterilization process, which leads to improvement in the quality of the products. In the case of biofertilizer inoculum, the sterilized carrier is also needed for producing high quality biofertilizer. This study aimed at determining the factors, such as carrier materials, moistures, and packing sizes including packaging materials that may affect the sterilization efficiency by using gamma irradiation. All carrier materials, peat and compost, could be efficiently sterilized by irradiation. The carriers that have moisture content lower than 20% could be sterilized by irradiation at 15 kGy, while carrier with 30% moisture content must be sterilized by irradiation at 25 kGy. Higher irradiation dose was also necessary for sterilization of bigger carrier packing sizes. For, packaging materials, polyethylene bag appeared most durable after gamma irradiation even at high doses. However, contaminants could be detected in irradiated carrier after storage at room temperature for two months. It was hypothesized that these contaminants are spore forming microorganisms, which resist gamma irradiation. This hypothesis, as well as the quality of biofertilizer produced from irradiated carrier, will be further evaluated.

Keywords: Carrier, Gamma irradiation, Biofertilizer inoculum, Sterilization

1. บทนำ

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่ผลิตได้จากระบบเกษตรอินทรีย์ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้น เนื่องจากประชาชนใส่ใจกับเรื่องของสุขภาพ รวมทั้งสิ่งแวดล้อมที่อาจได้รับผลกระทบจากการตกค้างของปุ๋ยเคมี หรือสารเคมีที่ใช้ในการเกษตร นอกจากนี้ด้วยราคาของปุ๋ยเคมีที่สูงส่งผลให้เกษตรกรหันมาใช้ปุ๋ยชีวภาพกันมากขึ้น ดังนั้นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้เกษตรกรประสบความสำเร็จเมื่อนำปุ๋ยชีวภาพไปใช้จริง ทั้งนี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนั้นจะขึ้นอยู่กับจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนั้น ๆ หากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้ลดลง ก็จะส่งผลให้ประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพลดลงเมื่อนำไปใช้กับพืช สาเหตุสำคัญที่ทำให้จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้ลดลง คือ การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ในวัสดุพาหะที่ใช้ในการผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนเหล่านี้ ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย รา หรือยีสต์ มักจะเจริญได้รวดเร็ว ทำให้แย่งสารอาหารจาก จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในวัสดุพาหะ รวมทั้งยังอาจผลิตสารที่เป็นพิษ ทำให้จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ลดลง^{1, 2} นอกจากนี้การที่มีจุลินทรีย์อื่น ๆ ปนเปื้อนอยู่ในวัสดุพาหะที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพส่งผลให้อายุการเก็บรักษา หรืออายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพที่วางขายในท้องตลาดลดลงอีกด้วย ดังนั้นหากมีการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะก่อนการนำมาผลิตปุ๋ยชีวภาพก็น่าจะทำให้จำนวนของเชื้อ

จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในปุ๋ยชีวภาพไม่ถูกทำให้ลดลงเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ซึ่งโดยทั่วไปแล้ววัสดุพาหะที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพจะถูกนำมากำจัดเชื้อปนเปื้อนโดยใช้วิธีนึ่งด้วยไอน้ำ ภายใต้สภาวะความร้อน และความดันสูง หรือ autoclaving ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ทั้งเวลา และพลังงานมากในการกำจัดเชื้อปนเปื้อน และยังพบว่าความร้อนที่เกิดขึ้นสามารถทำลายสารอาหารที่อยู่ในวัสดุพาหะ รวมทั้งอาจทำให้มีสารพิษบางชนิดเกิดขึ้น เนื่องจากภายใต้สภาวะความดันและความร้อนสูงนี้อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสารที่อยู่ในวัสดุพาหะ และทำให้วัสดุพาหะนั้นไม่เหมาะที่จะนำไปใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญหรือการดำรงชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สำหรับการผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพต่อไป³ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะนำเทคโนโลยีนิวเคลียร์โดยการฉายรังสีแกมมา มาประยุกต์ใช้เพื่อการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะก่อนนำไปผลิตปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากการฉายรังสีไม่ก่อให้เกิดความร้อนแก่วัสดุพาหะ จึงทำให้สารอาหารในวัสดุพาหะไม่ถูกทำลาย รวมทั้งไม่ก่อให้เกิดสารพิษ เนื่องจากความร้อนที่เกิดจากการฉายรังสีไม่เพียงพอที่จะกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี วัสดุพาหะที่ผ่านการกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยวิธีนี้จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ผลิตหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพต่อไป ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในครั้งนี้ก็เพื่อที่จะศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในวัสดุพาหะด้วยวิธีการฉายรังสีแกมมา เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อปนเปื้อน และได้ผลิตภัณฑ์หัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพที่มีคุณภาพสูง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมวัสดุพาหะที่จะใช้ทดสอบ

วัสดุพาหะจะถูกเตรียมเพื่อดำเนินการทดสอบปัจจัยต่างๆ ที่อาจมีผลต่อการกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยวิธีการฉายรังสี ดังนี้

2.1.1 ชนิดของวัสดุพาหะ และชนิดของถุงพลาสติกที่ใช้บรรจุ

วัสดุพาหะ 2 ชนิด คือ peat และ compost จะถูกนำมาทดสอบในการทดลองนี้ โดย peat เป็นวัสดุพาหะที่ใช้โดยทั่วไปสำหรับการผลิตปุ๋ยชีวภาพ มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 4.5 และมีความชื้นเริ่มต้น 8.07 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ compost ได้มาจากการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เช่น เปลือกมันสำปะหลัง กากหม้อกรองอ้อย มูลไก่ และมูลโค โดย compost มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.49 และมีความชื้นเริ่มต้น 6.78 เปอร์เซ็นต์ ในการทดสอบวัสดุพาหะจะถูกบดละเอียดโดยให้มีอนุภาคขนาด 100-150 mesh ปรับ pH เริ่มต้นให้เท่ากับ 7.0 และปรับความชื้นเริ่มต้นให้เป็น 20 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นบรรจุวัสดุพาหะ 80 กรัม ในถุงพลาสติก 2 ชนิด คือ ถุงพลาสติกที่ทำจาก polyethylene (PE) และ

polypropylene (PP) จากนั้นปิดผนึกถุงโดยใช้เครื่องรีดความร้อนก่อนนำไปทดสอบการกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ

2.1.2 ขนาดบรรจุของวัสดุพาหะ

ในการทดลองนี้ใช้ compost เป็นวัสดุพาหะในการทดสอบ โดยปรับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุพาหะเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ และบรรจุในถุงพลาสติกชนิดที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 2.1.1 โดยบรรจุในขนาดที่แตกต่างกัน คือ บรรจุขนาด 80, 160 และ 320 กรัม จากนั้นปิดผนึกถุงโดยใช้เครื่องรีดความร้อนก่อนนำไปทดสอบการกำจัดเชื้อปนเปื้อนด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ

2.1.3 ความชื้นของวัสดุพาหะ

ในการทดลองนี้ใช้ compost เป็นวัสดุพาหะในการทดสอบ โดยปรับความชื้นของวัสดุพาหะให้มีความชื้นเริ่มต้นที่แตกต่างกัน คือ ความชื้นเริ่มต้น 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นบรรจุวัสดุพาหะในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) ขนาด 80 กรัม แล้วปิดผนึกถุงโดยใช้เครื่องรีดความร้อน ทำการทดสอบหาเชื้อปนเปื้อนก่อนการฉายรังสีก่อนนำไปฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ แล้วทดสอบหาเชื้อปนเปื้อนหลังจากฉายรังสีแล้วเก็บไว้นาน 1 และ 2 เดือน

2.2 การฉายรังสีแกมมาเพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อน

วัสดุพาหะที่เตรียมไว้ถูกส่งมาฉายรังสีแกมมาที่สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ โดยใช้โคบอลต์-60 เป็นแหล่งกำเนิดของรังสี จากนั้นทำการฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ คือ 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 40 กิโลเกรย์ โดยทำการตรวจวัดปริมาณรังสีที่วัสดุได้รับจริงในแต่ละครั้งของการทดลองจำนวนสองซ้ำ

2.3 การตรวจสอบปริมาณเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะ

ทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะทั้งก่อนและหลังการฉายรังสี โดยตรวจสอบเชื้อปนเปื้อนแยกเป็น 2 กลุ่ม คือ เชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรียทั้งหมด โดยตรวจสอบบนอาหาร PCA (plate count agar) และเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์ โดยตรวจสอบบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) ทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อโดยชั่งวัสดุพาหะ 1 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เพื่อทำการเจือจางเชื้อโดยใช้วิธี serial dilution จากนั้นทำการเพาะเชื้อบนอาหารทั้ง 2 ชนิดที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้วทำการนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น เพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่เหลืออยู่ในวัสดุพาหะ โดยทำการสุ่มตัวอย่างครั้งละ 2 ถุง ในแต่ละครั้งของการตรวจสอบ ทั้งนี้ถุงของตัวอย่างที่ถูกเปิดแล้วจะไม่ถูกนำมาใช้ในการทดลองอีกในครั้งต่อไป

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

การกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพืชนำไปใช้ในการผลิตหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะทำให้ปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตได้มีคุณภาพสูงขึ้น ทั้งนี้ในงานวิจัยได้มุ่งเน้นไปที่การกำจัดเชื้อปนเปื้อนโดยใช้วิธีการฉายรังสีแกมมา โดยทำการตรวจสอบปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อปนเปื้อนโดยใช้การฉายรังสี ปัจจัยแรกที่ทำการศึกษาตรวจสอบคือ ชนิดของวัสดุพืชนำไปได้นำวัสดุพืชนำใหม่ คือ compost ที่ได้จากการย่อยสลายของวัสดุทางการเกษตร มาทดสอบเปรียบเทียบกับ peat ซึ่งเป็นวัสดุพืชนำที่ใช้โดยทั่วไปในการผลิต แต่เนื่องจาก peat เป็นวัสดุที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ จึงมีโอกาสที่จะหมดไปได้ในอนาคต ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องหาวัสดุชนิดอื่นมาใช้ทดแทน peat โดยบรรจุวัสดุพืชนำในถุงพลาสติก PE และ PP ถุงละ 80 กรัม แล้วนำไปฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ เพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อน ทั้งนี้จากการทดลองพบว่า การฉายรังสีสามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรีย รวมทั้งราและยีสต์ในวัสดุพืชนำทั้งสองชนิด คือ peat และ compost ได้ดี (ตารางที่ 1 และ 2) โดยพบปริมาณเชื้อปนเปื้อนใน compost มากกว่าที่พบใน peat ทั้งนี้พบเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรียใน peat ช่วง 10^4 - 10^7 CFU/g ขณะที่พบ 10^7 - 10^8 CFU/g ใน compost สำหรับเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์พบอยู่ในปริมาณน้อยกว่ากลุ่มแบคทีเรีย โดยพบราและยีสต์ใน peat อยู่ในช่วง 10^4 - 10^5 CFU/g และพบใน compost ในช่วง 10^5 - 10^7 CFU/g ทั้งนี้พบว่าในวัสดุพืชนำทั้งสองชนิด ปริมาณรังสีแกมมา 20 กิโลเกรย์ สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรียได้หมด ในขณะที่ปริมาณรังสีแกมมาเพียง 15 กิโลเกรย์ ก็สามารถกำจัดเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์ได้หมด และเมื่อเปรียบเทียบชนิดของพลาสติก คือ PE และ PP ที่ใช้เป็นถุงบรรจุวัสดุพืชนำในการฉายรังสี พบว่าถุงพลาสติกชนิด PE มีความทนต่อการฉายรังสีแม้ในปริมาณสูงได้ ในขณะที่ถุงพลาสติกชนิด PP จะกรอบและแตกเมื่อฉายในปริมาณรังสีที่สูง ดังนั้นในการทดสอบปัจจัยของขนาดบรรจุ และความชื้นเริ่มต้นของวัสดุพืชนำจึงเลือกใช้ compost บรรจุในถุงพลาสติกชนิด PE ในการทดสอบต่อไป

ปริมาณการใช้ปุ๋ยชีวภาพในการเกษตรขึ้นกับขนาดพื้นที่เพาะปลูกของเกษตรกร รวมทั้งชนิดของพืชที่จะปลูก หัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตในท้องตลาดจึงมีขนาดบรรจุที่แตกต่างกันไป ซึ่งขนาดบรรจุที่แตกต่างกันนี้อาจส่งผลต่อปริมาณรังสีที่ต้องใช้ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพืชนำ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงบรรจุวัสดุพืชนำในถุง PE ขนาด 80, 160 และ 320 กรัม แล้วนำไปฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ จากนั้นตรวจสอบปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่เหลืออยู่ ทั้งนี้จากการทดลองพบว่าเมื่อขนาดบรรจุของวัสดุพืชนำมากขึ้นก็มีแนวโน้มที่จะต้องใส่ปริมาณรังสีสูงขึ้นเพื่อกำจัดเชื้อปนเปื้อน เนื่องจากมีโอกาสที่จะพบปริมาณเชื้อปนเปื้อนเริ่มต้นเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3 และ 4) แต่อย่างไรก็ดีแม้ขนาดบรรจุเพิ่มขึ้นแต่มีปริมาณเชื้อปนเปื้อนเริ่มต้นน้อยก็สามารถใช้รังสีปริมาณต่ำในการกำจัดได้ ดังนั้นปริมาณรังสีที่ใช้จะสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากกว่าขนาดบรรจุ

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรียในวัสดุพาหะ peat และ compost ที่บรรจุ 80 กรัมในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) และ polypropylene (PP)

วัสดุพาหะ	ชนิดพลาสติก	ปริมาณแบคทีเรียในวัสดุพาหะ (CFU/g)							
		ก่อนการฉายรังสี	หลังการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ (kGy)						
			5	10	15	20	25	30	40
Peat	PE	1.0×10^7	1.0×10^6	2.3×10^5	5.2×10^5	0	0	0	0
	PP	1.6×10^4	0	0	0	0	0	0	0
Compost	PE	4.9×10^7	1.5×10^4	0	0	0	0	0	0
	PP	8.1×10^8	3.3×10^6	2.0×10^4	0	0	0	0	0

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์ในวัสดุพาหะ peat และ compost ที่บรรจุ 80 กรัมในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) และ polypropylene (PP)

วัสดุพาหะ	ชนิดพลาสติก	ปริมาณแบคทีเรียในวัสดุพาหะ (CFU/g)							
		ก่อนการฉายรังสี	หลังการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ (kGy)						
			5	10	15	20	25	30	40
Peat	PE	1.0×10^5	6.5×10^3	0	0	0	0	0	0
	PP	5.2×10^4	0	0	0	0	0	0	0
Compost	PE	5.7×10^5	5.4×10^3	25	0	0	0	0	0
	PP	1.0×10^7	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรียในวัสดุพาหะ compost ที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) ในขนาดบรรจุที่แตกต่างกัน

วัสดุพาหะ	ขนาดบรรจุ	ปริมาณแบคทีเรียในวัสดุพาหะ (CFU/g)							
		ก่อนการฉายรังสี	หลังการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ (kGy)						
			5	10	15	20	25	30	40
Compost	80	8.1×10^8	3.3×10^6	2.0×10^4	0	0	0	0	0
	160	3.6×10^7	5.2×10^5	0	0	0	0	0	0
	320	1.0×10^8	3.3×10^5	1.8×10^5	0	0	0	0	0

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์ในวัสดุพาหะ compost ที่บรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE) ในขนาดบรรจุที่แตกต่างกัน

วัสดุพาหะ	ขนาดบรรจุ (กรัม)	ปริมาณแบคทีเรียในวัสดุพาหะ (CFU/g)							
		ก่อนการฉายรังสี	หลังการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ (kGy)						
			5	10	15	20	25	30	40
Compost	80	1.0×10^7	0	0	0	0	0	0	0
	160	1.0×10^6	1.0×10^4	0	0	0	0	0	0
	320	1.0×10^8	3.0×10^5	3.0×10^4	0	0	0	0	0

ปัจจัยต่อมาที่อาจส่งผลต่อการกำจัดเชื้อปนเปื้อนโดยใช้รังสีแกมมา คือ ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุพาหะ ทั้งนี้เนื่องจากความชื้นของวัสดุจะสัมพันธ์กับชนิด การเจริญ และการอยู่รอดของจุลินทรีย์ปนเปื้อนในวัสดุพาหะนั้น ๆ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ทำการปรับความชื้นของวัสดุพาหะให้มีความชื้นที่แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปฉายรังสีและตรวจสอบปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่เหลืออยู่หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 และ 2 เดือน ผลการทดลองพบว่าความชื้นที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับปริมาณรังสีที่ต้องใช้ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรีย โดยเมื่อความชื้นของวัสดุพาหะถูกปรับเป็น 10 หรือ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถใช้ปริมาณรังสีเพียง 10 กิโลเกรย์ ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรีย ในขณะที่เมื่อความชื้นของวัสดุพาหะถูกปรับให้สูงขึ้นเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ จะต้องใช้ปริมาณรังสีสูงถึง 25 กิโลเกรย์ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อน (ตารางที่ 5) แต่อย่างไรก็ดีพบว่าความชื้นในวัสดุพาหะไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณรังสีที่ต้องใช้ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์ (ตารางที่ 6) หลังจากนั้นได้เก็บวัสดุพาหะที่ผ่านการฉายรังสีแล้วไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการตรวจสอบอายุการเก็บรักษา โดยพบว่าหลังจากเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ได้ตรวจพบเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะที่ผ่านการฉายรังสีแล้ว โดยพบเชื้อปนเปื้อนทั้งกลุ่มแบคทีเรีย รวมทั้งราและยีสต์ในช่วง 10^2 - 10^3 CFU/g ทั้งนี้พบว่าจำนวนเชื้อปนเปื้อนที่พบจะลดลงในวัสดุพาหะที่ผ่านการฉายรังสีในปริมาณที่สูงขึ้น ทั้งนี้เชื้อปนเปื้อนที่เกิดขึ้นไม่น่าจะเกิดจาก re-contamination เพราะถุงวัสดุพาหะที่เปิดตรวจสอบแล้วจะไม่นำกลับมาใช้อีก ดังนั้นอาจมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อปนเปื้อนที่พบหลังการฉายรังสีน่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสปอร์ และทนต่อรังสีแกมมาได้ ทั้งนี้เพราะมีงานวิจัยบางชิ้นกล่าวถึงความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการทนต่อการฉายรังสี โดยพบว่าเซลล์ปกติของจุลินทรีย์ (vegetative cell) จะทนต่อรังสีได้น้อยที่สุด แต่เมื่อจุลินทรีย์นั้นอยู่ในสภาพสปอร์ (spore) จะทำให้เชื้อจุลินทรีย์นั้นทนต่อรังสีได้สูงมากกว่าเซลล์ของราและยีสต์^{4,5} โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งสามารถสร้างสปอร์และทนต่อรังสีได้⁶

ดังนั้นเชื้อในกลุ่มที่สร้างสปอร์นี้อาจถูก inactivate ไปด้วยรังสี แต่เมื่อเก็บวัสดุพาหะไว้ ณ อุณหภูมิห้อง รวมทั้งในวัสดุพาหะที่มีความชื้นพอเหมาะก็อาจจะไปกระตุ้นหรือ re-activate สปอร์ให้ งอกมาอยู่ในรูปของเซลล์ปกติ (vegetative cell) ได้ต่อไป

ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อปนเปื้อนกลุ่มแบคทีเรียในวัสดุพาหะ compost ที่มีความชื้นแตกต่างกัน (บรรจุ 80 กรัม ในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE))

ความชื้นเริ่มต้น	เดือนที่	ปริมาณแบคทีเรียในวัสดุพาหะ (CFU/g)							
		ก่อนการฉายรังสี	หลังการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ (kGy)						
			5	10	15	20	25	30	40
10%	1	2.0×10^8	2.1×10^3	0	0	0	0	0	0
	2	2.0×10^8	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$	$>10^2$	$>10^2$	$>10^2$	$>10^2$
20%	1	4.9×10^7	1.5×10^4	0	0	0	0	0	0
	2	1.3×10^8	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$	$>10^2$
30%	1	4.0×10^8	4.1×10^6	7.2×10^4	9.0×10^3	5.0×10^3	0	0	0
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd = ไม่ได้ทำการตรวจสอบ

ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อปนเปื้อนกลุ่มราและยีสต์ในวัสดุพาหะ compost ที่มีความชื้นแตกต่างกัน (บรรจุ 80 กรัม ในถุงพลาสติกชนิด polyethylene (PE))

ความชื้นเริ่มต้น	เดือนที่	ปริมาณแบคทีเรียในวัสดุพาหะ (CFU/g)							
		ก่อนการฉายรังสี	หลังการฉายรังสีที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ (kGy)						
			5	10	15	20	25	30	40
10%	1	8.3×10^6	2.4×10^3	10	0	0	0	0	0
	2	3.6×10^6	$>10^3$	$>10^3$	$>10^3$	$>10^2$	$>10^2$	$>10^2$	$>10^2$
20%	1	5.7×10^5	5.4×10^3	25	0	0	0	0	0
	2	1.1×10^6	3.0×10^3	$>10^3$	$>10^3$	$>10^2$	$>10^2$	$>10^2$	$>10^2$
30%	1	2.2×10^8	0	0	0	0	0	0	0
	2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd = ไม่ได้ทำการตรวจสอบ

4. สรุป

วิธีฉายรังสีแกมมาเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนทั้งกลุ่มแบคทีเรีย รวมทั้งราและยีสต์ในวัสดุพาหะทั้ง peat และ compost ได้ดี โดยพบว่าถุงพลาสติกชนิด PE จะทนต่อการฉายรังสีในปริมาณสูง ๆ ได้ และเมื่อนาควาบรรจุของวัสดุพาหะใหญ่ขึ้นก็จะต้องเพิ่มปริมาณรังสีให้สูงขึ้นเพื่อทำการกำจัดเชื้อปนเปื้อน เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นน่าจะมีมากขึ้น แต่อย่างไรก็ดีขึ้นกับปริมาณเชื้อเริ่มต้นในวัสดุพาหะซึ่งส่งผลโดยตรงต่อปริมาณรังสีที่ใช้ในการกำจัดเชื้อปนเปื้อน นอกจากนี้ความชื้นของวัสดุพาหะมีผลต่อการกำจัดเชื้อปนเปื้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อในกลุ่มแบคทีเรีย พบว่าเมื่อวัสดุพาหะมีความชื้นสูงขึ้นก็ต้องใช้ปริมาณรังสีเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนหลังจากเก็บวัสดุพาหะที่ผ่านการฉายรังสีแล้วที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ทั้งนี้อาจเป็นเชื้อจุลินทรีย์ในรูปสปอร์ที่สามารถทนต่อรังสีได้ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจะใช้สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อปนเปื้อนในวัสดุพาหะ compost (รังสีที่ใช้ปริมาณ 20 กิโลเกรย์ ขนาดบรรจุ 80 กรัม ในถุงพลาสติกชนิด PE และความชื้นวัสดุพาหะ 20 เปอร์เซ็นต์) แล้วนำวัสดุพาหะที่ผ่านการกำจัดเชื้อปนเปื้อนแล้วนี้มาทดสอบการผลิตเป็นหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนการฉายรังสีแกมมา และตรวจสอบปริมาณรังสีในวัสดุพาหะที่ใช้ทดสอบ รวมทั้งกรมวิชาการเกษตรที่สนับสนุนวัสดุพาหะ peat และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนวัสดุพาหะ compost รวมทั้งสารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือในการตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์

6. เอกสารอ้างอิง

1. Olsen, P. E., Rice, W. A., Collins, M. M., 1995. Biological contaminants in North American legume inoculants. Soil Biol. Biochem. 27, 699-701.
2. Olsen, P. E., Rice, W. A., Bordeleau, L. M., Demidoff, A. H., Collins, M. M., 1996. Levels and identities of nonrhizobial microorganisms found in commercial legume inoculant made with nonsterilised peat carrier. Can. J. Microbiol. 42, 72-75.
3. Strijdom, B. W., van Rensburg, H. J., 1981. Effect of steam sterilization and gamma irradiation of peat on quality of *Rhizobium* inoculants. Appl. Environ. Microbiol. 41, 1344-1347.

4. Monk, J. D., Beuchat, L. R., Doyle, M. P., 1995. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. *J. Food Protect.* 58, 197-208.
5. Van Gerwen, S. J. C., Rombouts, F. M., van Riet, K., Zwietering, M. H., 1999. A data analysis of the irradiation parameter D_{10} for bacteria and spores under various conditions. *J. Food Protect.* 62, 1024-1032.
6. De Lara, J., Fernandez, P. S., Periago, P. M., Palop, A., 2002. Irradiation of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* with electron beams. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.* 3, 379-384.