การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการเห็ดนางรมด้วยวัสดุเหลือทิ้งกากกาแฟ

Increasing nutrition of oyster mushrooms using waste coffee grounds

12

นงลักษณ์ บรรยงวิมลณัฐ[1], จิราภรณ์ บุราคร[1*], สุพะไชย์ จินดาวุฒิกุล[1], อภิรัชต์ สมฤทธิ์[2]
Nonglug Bunyovimonnat[1], Jiraporn Burakron [1*], Supachai Jindavutikul[1], Apirusht Somrith[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการเพิ่มค่าโภชนาการเห็ดนางรมด้วยวัสดุเหลือทิ้งกากกาแฟ เนื่องจากกากกาแฟประกอบด้วยธาตุไนโตรเจนปริมาณสูงเป็นส่วนประกอบสำคัญ มีธาตุโพแทสเซียม ธาตุฟอสฟอรัสและสารอย่างอื่นอีกเล็กน้อยที่ช่วยเพิ่มพัฒนาการของเห็ด โดยใช้เป็นวัสดุเพาะปลูกเห็ดนางรมภูฏานซึ่งเป็นเห็ดชนิดสีเทาที่กรมวิชาการเกษตรเป็นผู้ผลิตเชื้อ ทดลองเพาะปลูกเห็ดนางรมภูฏานด้วยวัสดุปลูกจากกากกาแฟผสมขี้เลื่อยไม้ยางพารา อัตราส่วนร้อยละ 50:50, 25:75 และ 0:100 พบว่าวัสดุปลูกอัตราส่วน 50:50 ให้ค่าทางโภชนาการด้านโปรตีนสูงกว่าวัสดุเพาะปลูกขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100% มากกว่า 2 เท่า และการใช้วัสดุเพาะปลูกเห็ดจากกากเมล็ดกาแฟบดผสมขี้เลื่อยไม้ยางพารา อัตราส่วนร้อยละ 25:75 ให้ค่าทางโภชนาการด้านค่าแคลอรีต่ำกว่าวัสดุเพาะปลูกขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100% เท่ากับร้อยละ 51 นอกจากนี้การเพาะเห็ดนางรมภูฏานจากกากกาแฟผสมขี้เลื่อยไม้ยางพาราอัตราส่วนร้อยละ 50:50 ได้ผลผลิตดอกเห็ดที่มีปริมาณมากกว่าวัสดุเพาะปลูกขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100% ถึงร้อยละ 19-110 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากากกาแฟเหมาะสมเป็นวัสดุเพาะปลูกเห็ดนางรมภูฏานทดแทนวัสดุเพาะปลูกขี้เลื่อยไม้ยางพารา เนื่องจากผลิตเห็ดที่มีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น และวัสดุเพาะปลูกเห็ดชนิดใหม่ยังเป็นการเพิ่มมูลค่ากากกาแฟที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งและลดปัญหาการกำจัดขยะกากกาแฟอีกนับหลายพันตันต่อปี

Abstract

This research is aimed to improve the nutritional oyster mushrooms with waste coffee grounds. The coffee grounds contain high nitrogen, a key component of the plant growth, phosphorus, potassium and other substances that enhance the development of mushrooms. The coffee grounds were used to be substrate of a gray oyster mushroom which produced by the Department of Agriculture. Mushroom cultivated materials were combined waste coffee grounds with sawdust as the ratio of 50:50, 25:75 and 0:100 (control). The results showed that the mushroom grown on the material ratio of 50: 50 gave two-folds higher protein content as compare to that of 100% sawdust. Furthermore, the mushrooms grown on material with the ratio of 25:75 gave 51% lower calories than that of sawdust. In addition, oyster mushroom yields were higher than those of sawdust alone, up to 19-110 %. Thus, it is indicated that the waste coffee ground is suitable material for growing a gray oyster mushroom and can be replaced the sawdust because of producing higher nutritive value oyster mushroom, novel substrate of mushroom and high value added of waste coffee ground materials including reduce a problem of refuse many thousands tons of coffee ground waste.

คำสำคัญ : เห็ดนางรม วัสดุเหลือทิ้งกากกาแฟ ขี้เลื่อย
Keywords : Oyster mushrooms, Waste coffee grounds, Sawdust

[1] กรมวิทยาศาสตร์บริการ สำนักเทคโนโลยีชุมชน
[2] กรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
*Corresponding author e-mail address: juntarama@yahoo.com

1. บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันการรักษาสุขภาพด้วยอาหารมีอัตราก้าวกระโดดอย่างชัดเจน และส่วนใหญ่มีพฤติกรรมการบริโภคแบบใส่ใจสุขภาพ (Health conscious) ทำให้เห็ดเป็นอาหารสุขภาพที่ได้รับความนิยมอย่างสูงเพราะสามารถแทนโปรตีนเนื้อสัตว์ได้ดี ดังนั้นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการเห็ดนางรมด้วยวัสดุเหลือทิ้งกากกาแฟจึงเป็นแนวทางให้ได้อาหารสุขภาพที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง พร้อมทั้งกำจัดขยะกากกาแฟช่วยลดโลกร้อนและใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งอย่างคุ้มค่า แม้กากกาแฟจะมีวิธีใช้และกำจัดอย่างมากมายแต่ปริมาณกากกาแฟก็เพิ่มขึ้นทุกปีอย่างเห็นได้ชัด

เห็ดนางรม (Oyster mushroom) เป็นเห็ดที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายมี 2 ชนิด คือ ชนิดสีขาว และชนิดสีเทา สวยงาม และสะอาด โดยเฉพาะเห็ดนางรมภูฏานเป็นชนิดสีเทาเกษตรกรนิยมเพาะปลูกเพื่อการบริโภค มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่อีกหลายชนิด รวมทั้งมีสรรพคุณทางยา คือ กรดโฟลิก มีคุณสมบัติช่วยป้องกันโรคโลหิตจาง โรคความดันโลหิตสูง อีกทั้งเห็ดนางรมยังเหมาะสำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน และผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก เนื่องจากมีปริมาณไขมันน้อยและแคลเซียมต่ำ [1] ในการเพาะเห็ดนางรมเกษตรกรส่วนใหญ่จะใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเป็นวัสดุสำหรับเพาะเห็ดนางรม ซึ่งส่วนมากจะหาซื้อได้ในเขตพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย จากสภาพเศรษฐกิจและราคาของน้ำมันในปัจจุบัน เกษตรกรต้องเสียค่าใช้จ่ายในการขนส่งสูง ทำให้ราคาขี้เลื่อยไม้ยางพารามีราคาแพงขึ้นมากส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นตามไปด้วย ดังนั้น ถ้าต้องการลดต้นทุนการผลิตจึงจำเป็นต้องหาวัสดุอื่น ๆ ที่สามารถนำมาใช้เพาะเห็ดทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพารา นอกจากนี้ ยังพบว่าปัญหาการเพาะเห็ดนางรมในถุงพลาสติกแบบถุงก้อน ขี้เลื่อยไม้ยางพาราจะมีการแพร่กระจายของเส้นใยเห็ดเป็นไปได้ช้าและไม่เต็มถุงก้อนเชื้อจึงทำให้การออกดอกของเห็ดนางรมต้องใช้เวลานาน เพราะขี้เลื่อยไม้ยางพาราประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเห็ดนางรมต้องใช้เวลาในการย่อยสลายสารประกอบเหล่านี้ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ๆ เช่น กลูโคส ฟรุกโตส เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของเส้นใยและการเจริญเป็นดอกเห็ดต่อไป

กาแฟเป็นอุตสาหกรรมหนึ่งที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ โดยเฉพาะเกษตรกรในจังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี กระบี่ และเชียงราย ซึ่งเป็นจังหวัดที่มีการเพาะปลูกกาแฟเป็นจำนวนมาก มีพื้นที่ปลูกกาแฟที่ให้ผลผลิตได้แล้วจำนวน 388,662 ไร่ ผลผลิต 50,442 ตัน ส่วนใหญ่เป็นกาแฟพันธุ์โรบัสต้าร้อยละ 95 [2] อุตสาหกรรมกาแฟของประเทศไทยเป็นอุตสาหกรรมแปรสภาพขั้นต้นที่นำเอากาแฟสดมาแปรสภาพให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมและสะดวกในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์กาแฟ [3] และโรงงานผลิตกาแฟมีความต้องการใช้เมล็ดกาแฟปริมาณสูงและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ การผลิตกาแฟมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปีทั้งในตลาดโลกและในประเทศไทย เนื่องจากการใช้เมล็ดกาแฟในการผลิตกาแฟชนิดต่าง ๆ นั้น จะมีกากกาแฟเหลือปริมาณร้อยละ 40-60 ดังนั้น กากกาแฟก็ย่อมมีปริมาณมากและเพิ่มขึ้นทุกปีสอดคล้องกับปริมาณการผลิตกาแฟ ทำให้ต้องมีระบบกำจัดกากกาแฟที่ถือเป็นของเสียที่มีความต้องการเพิ่มขึ้นทุกปีของการใช้เมล็ดกาแฟของโรงงาน จากข้อมูลส่วนวิชาการและการกำกับข้อมูลกากอุตสาหกรรม สำนักบริหารจัดการกากอุตสาหกรรม กรมโรงงานอุตสาหกรรม สรุปปริมาณกากกาแฟจากอุตสาหกรรมแปรสภาพกาแฟ ซึ่งกากกาแฟเป็นสิ่งปฏิกูลหรือวัสดุที่ไม่ใช้แล้วที่อนุญาตให้ออกนอกบริเวณโรงงาน (รหัสของเสีย 02 07 04) และเป็นวัสดุที่ไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภคหรือแปรสภาพต่อไป ซึ่งพบว่ากากกาแฟมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น แต่ละปีมีการกำจัดกากกาแฟ เช่น การนำไปใช้ประโยชน์โดยกลับมาใช้ใหม่ การทำเป็นเชื้อเพลิงผสม การหมักเป็นปุ๋ยและการทำอาหารสัตว์ เป็นต้น และการกำจัดแบบไร้ประโยชน์ ได้แก่ การฝังกลบ การเผาทำลายทิ้ง ฯลฯ จากปัญหากากกาแฟมีปริมาณมากและมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์ให้คุ้มค่าและยังต้องเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัด แต่กากกาแฟมีสารสำคัญที่มีประโยชน์ ได้แก่ ค่า Organic material 70% และ Total nitrogen 1.96 ซึ่งไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบสำคัญของพืชจะต้องใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังมีโพแทสเซียม ฟอสฟอรัส และสารอย่างอื่นอีกเล็กน้อยที่ช่วยเพิ่มพัฒนาการของพืช ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดในการนำกากกาแฟมาเพิ่มมูลค่าโดยนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในวัสดุเพาะเห็ด ซึ่งปัจจุบันการเพาะเห็ดในประเทศไทยได้มีการพัฒนามาอย่างรวดเร็ว โดยรัฐบาลพยายามส่งเสริมให้เกษตรกรทำการเพาะเห็ดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากใช้พื้นที่ในการเพาะไม่มากแต่ให้ผลผลิตสูงและตลาดกำลังให้ความนิยมบริโภคเห็ดเพื่อสุขภาพมากขึ้น ทำให้เกษตรขยายการเพาะเห็ดอย่างแพร่หลาย ครอบคลุมพื้นที่ทั่วประเทศไทย จึงเป็นสาเหตุให้วัสดุปลูกและวัตถุดิบต่าง ๆ ที่นำมาทำการเพาะเห็ดมีราคาแพงขึ้น ซึ่งทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น

กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี สำนักเทคโนโลยีชุมชน มีการดำเนินงานวิจัยด้านวัสดุศาสตร์ได้บูรณาการงานวิจัยกับกรมวิชาการเกษตรซึ่งมีความเชี่ยวชาญด้านการเพาะปลูกเห็ด โดยจะพัฒนาวัสดุเพาะปลูกเห็ดจากกากกาแฟ ทำให้การเพาะเห็ดนางรมสามารถผลิตดอกเห็ดได้เร็ว และปริมาณมากกว่าวัสดุปลูกทั่วไปที่ใช้ คือ ขี้เลื่อยจากไม้ยางพารา ซึ่งนอกจากจะได้วัสดุเพาะปลูกเห็ดซึ่งเป็นทางเลือกใหม่สำหรับเกษตรกรแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่ากากกาแฟที่เป็นวัสดุเหลือทิ้ง และลดปัญหาการกำจัดขยะกากกาแฟอีกนับหลายพันตันต่อปี

2. วิธีการวิจัย (Experimental methods)

2.1 วัตถุดิบที่ใช้

2.1.1 เชื้อเห็ดนางรมภูฏาน (Mushroom spawn) หมายถึงเชื้อเห็ดที่เจริญเป็นเส้นใยบนวัสดุที่ใช้เลี้ยงเชื้อเห็ด เช่น เมล็ดธัญพืช

เพื่อเพิ่มปริมาณเส้นใยเห็ด

2.1.2 กากกาแฟ เป็นกาแฟพันธุ์โรบัสต้าผสมอราบิก้า

2.1.2.1 เปลือกกาแฟที่ได้จากการผลิตเมล็ดกาแฟจากโรงสีกาแฟจังหวัดชุมพร

2.1.2.2 เมล็ดกากกาแฟบดที่ได้จากการชงกาแฟจากร้านกาแฟสดทั่วไปในกรุงเทพมหานคร

2.1.3 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา

2.1.4 รำละเอียด

2.1.5 ปูนขาว

2.1.6 ดีเกลือ

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.1 โรงเรือนเพาะเห็ด มีระบบควบคุมอุณหภูมิและความชื้นด้วยสปริงเกอร์ให้น้ำอัตโนมัติ ในเวลา 6.00 น. 12.00 น. และ 18.00 น. พ่นครั้งละ15 นาที หัวพ่นน้ำเป็นหมอกฝอยเพื่อรักษาความชื้นในเวลากลางวันที่มีอุณหภูมิสูง ทำให้ความชื้น 80-85 % ส่วนเวลากลางคืน อุณหภูมิไม่สูง โรงเรือนก็สามารถเก็บความชื้นและความเย็นได้

2.2.2 ตะกร้า

2.2.3 ตะแกรง

2.2.4 ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 ¾ x 12 ½ หรือ 8 x 12 นิ้ว

2.2.5 คอขวดพลาสติกเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ½ นิ้ว

2.2.6 สำลี

2.2.7 ยางรัด

2.3 การดำเนินการศึกษาวิจัย

2.3.1 ขั้นตอนการทดลองเบื้องต้น

การทดลองเพาะเห็ดนางรมภูฏานเป็นเห็ดชนิดสีเทาที่กรมวิชาการเกษตรเป็นผู้ผลิตเชื้อ โดยใช้วัสดุเพาะเห็ดคือกากกาแฟและขี้เลื่อยไม้ยางพารา ในอัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้

2.3.1.1 สูตร Control ทดลอง 1 สูตร คือ ขี้เลื่อยยางพารา 100% กับอาหารเสริม

2.3.1.2 กากเปลือกกาแฟ : ขี้เลื่อย ทดลอง 3 สูตร คือ 75% 50% 25% กับอาหารเสริม

2.3.1.3 กากเมล็ดกาแฟบด : ขี้เลื่อย ทดลอง 3 สูตร คือ 75% 50% 25% กับอาหารเสริม

ตารางที่ 1 อาหารเสริม สูตรของกรมวิชาการเกษตร สำหรับก้อนเห็ดปริมาณ 50 ก้อน/สูตร

อาหารเสริม สูตรของกรมวิชาการเกษตร	จำนวน
รำละเอียด	1.25 กิโลกรัม
น้ำตาล	1.25 กิโลกรัม
ปูนขาว	0.25 กิโลกรัม
ดีเกลือ	150 กรัม

2.3.2 การเตรียมกากกาแฟเป็นวัสดุเพาะเห็ดนางรม

เตรียมกากกาแฟโดยนำกากกาแฟตากแดด (Sun drying) บนแผ่นพลาสติกหรือถาด และพลิกกลับด้านเป็นระยะ ๆ เพื่อป้องกันการหมัก ตากแห้งจนกว่ากากกาแฟเหลือความชื้นไม่เกินร้อยละ 10-12 เพื่อป้องกันการเสื่อมสภาพ

2.3.3 การผลิตก้อนเพาะเห็ดนางรม ตามอัตราส่วนต่าง ๆ

2.3.3.1 นำส่วนผสมต่าง ๆ มาคลุกเคล้าให้เข้ากัน

2.3.3.2 เติมน้ำลงไปผสม ควรผสมให้ความชื้นกระจายให้ทั่วสม่ำเสมอ ทดสอบให้ได้ความชื้นประมาณ 65 - 75 % โดยใช้มือกำส่วนผสมขึ้นมาแล้วบีบดู ถ้ามีน้ำซึมออกมาแสดงว่าชื้นเกินไปให้เติมขี้เลื่อยเพิ่ม หากไม่มีน้ำซึมออกมาให้แบมือออก ส่วนผสมจะจับกันเป็นก้อนและแตกออก 2-3 ส่วนแสดงว่าใช้ได้

2.3.3.3 บรรจุใส่ถุงพลาสติกทนร้อนที่ใช้สำหรับเพาะเห็ด ถุงละ 500 กรัม อัดให้แน่นพอประมาณใส่คอขวดพลาสติก หุ้มด้วยสำลีและกระดาษ

รูปที่ 1 กากเปลือกกาแฟตากแห้ง (ซ้าย) และกากเมล็ดกาแฟบดตากแห้ง (ขวา)

2.3.3.4 นำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งลูกทุ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง

2.3.3.5 หลังจากนึ่งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วใส่เชื้อลงไป นำก้อนเชื้อไปบ่มในที่มืด และอุณหภูมิสูงประมาณ 28 - 35 องศาเซลเซียส เพื่อเร่งการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด จะเจริญเต็มถุงประมาณ 3 - 4 สัปดาห์

2.3.3.6 เมื่อเส้นใยเดินเต็มถุงแล้วให้พักก้อนเชื้อระยะหนึ่ง เพื่อให้เส้นใยสะสมอาหารและพร้อมจะเจริญเป็นดอกเห็ดแล้วนำไปเปิดดอกในโรงเรือนต่อไป

2.3.4 การทดสอบปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟตและโพแทสเซียม

การทดสอบปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟส และโพแทสเซียม ใช้วิธีทดสอบอ้างอิงตาม AOAC (2012) 993.13, 958.01 [4] และ Official Method of Analysis Fertilizers JAPAN (1987) [5] ตามลำดับ

2.3.5 การทดสอบอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

การทดสอบอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน ใช้วิธีทดสอบอ้างอิงตาม Manual on Organic Fertilizer Analysis, APSRDO, DOA:4/2551 [6] และ AOAC (2012) 993.13 [4]

2.3.6 การทดสอบโภชนาการของเห็ดนางรม

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดนางรม โดยวิธี AOAC (2012) 920.153, 981.10, 996.06, 985.29, 942.23, 984.27, 999.10 [7], โดยการหา โปรตีน ไขมันทั้งหมด เถ้า ใยอาหาร น้ำตาลทั้งหมด แคลเซียม พลังงานทั้งหมด เหล็ก วิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และโซเดียม

3. ผลและวิจารณ์ (Results and discussions)

3.1 ธาตุอาหารที่จำเป็นในการเติบโตของเห็ด

การทดสอบปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟตและโพแทสเซียมของกากกาแฟแสดงให้เห็นว่ากากเปลือกกาแฟมีค่าไนโตรเจนอยู่ร้อยละ 1.26 ไม่พบฟอสเฟส และมีค่าโพแทสเซียม ร้อยละ 2.48 และกากเมล็ดกาแฟบดมีค่าไนโตรเจน ร้อยละ 2.4 ฟอสเฟสร้อยละ <0.5 และโพแทสเซียม ร้อยละ 0.62 ซึ่งค่าไนโตรเจนที่มีค่าสูงกว่าร้อยละ 1 มีผลให้เกิดการย่อยสลายได้เร็วทำให้เห็ดสามารถนำสารอาหารไปใช้ได้ง่าย ดังแสดงในตารางที่ 2

3.2 ผลการศึกษาการหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของการใช้วัสดุปลูกเพาะเห็ด

ค่าสัดส่วนของคาร์บอนกับไนโตรเจน (C/N ratio) สามารถบอกคุณภาพของวัสดุอินทรีย์ที่นำมาใช้ทำก้อนเพาะเห็ดซึ่งเป็นปัจจัยควบคุมความเป็นประโยชน์ของไนโตรเจน ควรมีค่า C/N ratio ไม่สูงมาก เพื่อให้เกิดการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ที่เป็นส่วนผสมได้ง่าย เช่น สูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) มีค่า C/N เท่ากับ 125.5:1 เกิดการย่อยสลายได้ยากกว่าสูตรอื่น ๆ ที่มีค่า C/N ratio ต่ำกว่า ดังนั้น การย่อยสลายของก้อนเพาะเห็ดเพื่อให้เห็ดสามารถดูดซึมไปใช้ได้ง่ายเรียงลำดับจากการย่อยสลายยากไปง่าย ดังนี้ สูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%), กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75%, กากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75%, กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50%, กากเปลือกกาแฟ 100%, กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% และสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 100% ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟส และโพแทสเซียมของกากกาแฟ

ลำดับ	รายละเอียด	ผลการทดสอบ		
		ไนโตรเจน	ฟอสเฟส	โพแทสเซียม
1.	กากเปลือกกาแฟจังหวัดชุมพร	1.26%	Not Detected	2.48%
2.	กากเมล็ดกาแฟบดจากร้านค้าทั่วไป	2.4%	<0.5%	0.62%

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

รายการ	Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%)	กากเปลือกกาแฟ 100%	กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75%	กากเมล็ดกาแฟบด 100%	กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 75%
C/N	125.5 : 1	40.5 : 1	45.2 : 1	59 : 1	20 : 1	31.5 : 1	47.8 : 1
Moisture (After)	29.0%	118%	24.0%	18.1%	18.2%	25.6%	14.9%
Moisture (Before)	66.2%	33.1%	55.2%	60.0%	65.5%	62.6%	64.9%
Total Nitrogen (Total N)	<0.5%	0.8%	0.6%	<0.5%	1.0%	0.8%	<0.5%
Total Organic Carbon (TOC)	25.1%	32.4%	27.1%	23.6%	20.0%	25.2%	19.1%

การเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมแต่ละสูตร พบว่า สูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) มีการเจริญของเส้นใยได้ดีหนาแน่นทั่วทั้งก้อน ส่วนสูตรกากเปลือกกาแฟ 100% มีการเจริญของเส้นใยได้ช้าไม่หนาแน่นประมาณครึ่งก้อน สูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% มีการเจริญของเส้นใยได้เร็วหนาแน่นเกือบเต็มก้อน และสูตรกากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีการเจริญของเส้นใยได้เร็วหนาแน่นเกือบเต็มก้อน และสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 100% มีการเจริญของเส้นใยได้ไม่หนาแน่นเกือบเต็มก้อน สูตรกากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% มีการเจริญของเส้นใยเจริญได้หนาแน่นเกือบเต็มก้อน และสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีการเจริญของเส้นใยเจริญได้หนาแน่นเกือบเต็มก้อน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

รายการ	รูปภาพ	การเจริญของเส้นใย	ความหนาแน่นของเส้นใย
ก. สูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%)		++++++++	++++++++
ข. สูตรอัตราส่วนกากเปลือกกาแฟผสมขี้เลื่อยสูตรต่าง ๆ กัน			
กากเปลือกกาแฟ 100%		+	+
กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50 %		+++++	+++
กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75%		+++++++	++++++
ค. สูตรอัตราส่วนกากเมล็ดกาแฟบดผสมขี้เลื่อยสูตรต่าง ๆ			
กากเมล็ดกาแฟบด 100%		+++	+++
กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50%		+++++	++++
กากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75%		++++++	+++++++

ผลการเจริญเติบโตของดอกเห็ดนางรมแต่ละสูตร พบว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตปกติ สูตรกากเปลือกกาแฟ 100% มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตได้ช้า ดอกเห็ดมีสีเทา ก้านและดอกมีขนาดเล็ก สูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตดี ดอกเห็ดมีสีเทา ก้านและดอกใหญ่มาก สูตรกากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตดี ดอกเห็ดมีสีเทา ก้านและดอกใหญ่มาก สูตรกากเมล็ดกาแฟบด 100% มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตช้า ก้านและดอกมีขนาดเล็ก สูตรกากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตดี ก้านและดอกมีขนาดเล็ก สูตรกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีการเจริญเติบโตของดอกเห็ดเจริญเติบโตดี ดอกเห็ดมีสีเทา ก้านและดอกใหญ่มาก ดังแสดงในรูปที่ 2, 3 และ 4

รูปที่ 2 การเจริญเติบโตของดอกเห็ด สูตร Control

ก ข ค

รูปที่ 3 การเจริญเติบโตของดอกเห็ดสูตรอัตราส่วนกากเปลือกกาแฟผสมขี้เลื่อยสูตรต่าง ๆ กัน คือ กาก เปลือกกาแฟ 100% (ก) กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% (ข) และกากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75% (ค)

ก ข ค

รูปที่ 4 การเจริญเติบโตของดอกเห็ด สูตรกากเมล็ดกาแฟบดผสมขี้เลื่อยสูตรต่าง ๆ กัน คือ กากเมล็ดกาแฟบด 100% (ก) กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% (ข) และกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% (ค)

สำหรับค่าโภชนาการของเห็ดนางรมของอัตราส่วนต่าง ๆ ทดสอบ 3 ซ้ำ ดังแสดงในตารางที่ 5 ดังนี้

สูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% (3.07g/100g) มีโปรตีนปริมาณสูงกว่าสูตร Control (1.43g/100g) มากกว่า 2 เท่า และค่าแคลอรี่ของสูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% (30.26 Kcal) ต่ำกว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (41.32 Kcal) ลดลง 11.06 Kcal)

สูตรกากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีปริมาณโปรตีน (2.86g/100g) สูงกว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (1.43g/100g) เป็น 2 เท่า และมีค่าแคลอรี่ (29.83 Kcal) ต่ำกว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (41.32 Kcal) ลดลง 11.49 Kcal

สูตรกากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% มีปริมาณโปรตีน (3.14g/100g) สูงกว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (1.43g/100g) มากกว่า 2 เท่า และค่าแคลอรี่ (41.96 Kcal) ใกล้กับสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (41.32 Kcal)

ส่วนสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีปริมาณโปรตีน (1.78/100g) สูงกว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (1.43g/100g) เพิ่มขึ้นร้อยละ 0.35 และมีค่าแคลอรี่ (20.22 Kcal) ต่ำกว่าสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) (41.32 Kcal) ลดลง 21.11 Kcal

ดังนั้น เห็ดนางรมที่เกิดจากการใช้กากกาแฟมาทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราในการเพาะปลูกจะให้โปรตีนสูง และมีค่าแคลอรี่ต่ำกว่าเห็ดนางรมที่ใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเพียงอย่างเดียว

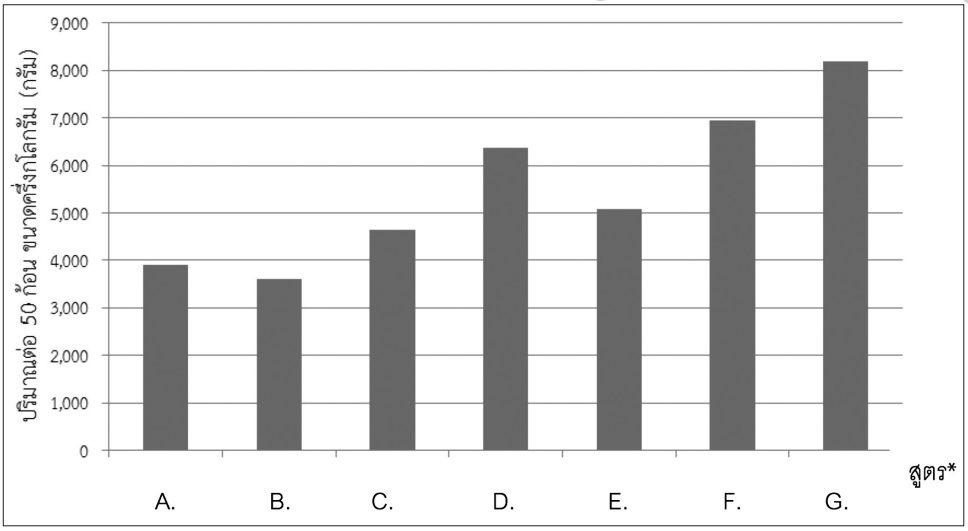
ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบค่าโภชนาการของเห็ดนางรมของการทดลองอัตราส่วนต่าง ๆ

รายการทดสอบ	ค่าเฉลี่ยผลการทดสอบ±SD				
	Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%)	กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75%	กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	กากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75%
Ash* (g/100g)	0.50±0.02	0.76±0.02	0.77±0.09	0.76±0.13	0.59±0.01
Calories (Kcal/100g)	41.32±0.01	30.26±0.12	29.83±0.12	41.96±0.08	20.22±0.13
Protein (%Nx6.25)* (g/100g)	1.43±0.13	3.07±0.01	2.86±0.02	3.14±0.01	1.78±0.02
Saturated fat (g/100g)	0.08±0.01	0.03±0.09	0.02±0.09	0.14±0.02	0.02±0.07
Sugar (g/100g)	1.05±0.14	Not Detected	Not Detected	2.29±0.07	1.61±0.02
Dietary Fiber (g/100g)	4.57±0.09	2.53±0.02	1.81±0.07	4.03±0.01	1.44±0.09
Vitamin A	Not Detected	Not Detected	Not Detected	Not Detected	Not Detected
Vitamin B1 (mg/100g)	<0.030±0.02	<0.030±0.13	<0.030±0.08	<0.030±0.08	<0.030±0.10
Vitamin B2 (mg/100g)	0.085±0.13	0.176±0.07	0.167±0.14	0.204±0.02	0.082±0.02
Calcium(Ca)* (mg/100g)	6.66±0.17	6.05±0.05	12.41±0.19	5.04±0.06	3.94±0.08
Iron (Fe)* (mg/100g)	0.52±0.08	0.89±0.10	1.02±0.02	0.85±0.02	0.72±0.05
Sodium (Na)* (mg/100g)	4.33±0.04	3.68±0.02	5.07±0.09	3.98±0.11	3.02±0.01

การคำนวณค่าเฉลี่ยผลผลิตเห็ดนางรมจำนวน 3 ซ้ำ โดยเห็ดนางรมต่อก้อนของสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100% ปริมาณ 3,900 กรัม) ได้ผลผลิตสูงกว่าสูตรเปลือกกากกาแฟ 100% (ปริมาณ 3,611 กรัม) คิดเป็น 7.41 % ส่วนสูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50%(ปริมาณ 4,647 กรัม) และกากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75% (ปริมาณ 6,364 กรัม) มีปริมาณผลผลิตมากกว่าสูตร Control และสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 100% (ปริมาณ 5,080 กรัม) สูตรกากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% (ปริมาณ 6,950 กรัม) และกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% (ปริมาณ 8,181 กรัม) มีปริมาณผลผลิตมากกว่ากับสูตร Control ทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 5

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยผลผลิตของเห็ดนางรม

สูตร	ค่าเฉลี่ยผลผลิต ± SD (กรัม)	คิดเป็น %	หมายเหตุ
Control	3,900±0.27	100	-
กากเปลือกกาแฟ 100%	3,611±0.51	92.59	น้อยกว่า control 7.41%
กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50 %	4,647±0.43	119.15	มากกว่า control 19.15%
กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75%	6,364±0.21	163.18	มากกว่า control 63.18%
กากเมล็ดกาแฟบด 100%	5,080±0.35	130.26	มากกว่า control 30.26%
กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	6,950±0.62	178.20	มากกว่า control 78.02%
กากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75%	8,181±0.37	209.77	มากกว่า control 109.77%



หมายเหตุ *

A. Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%)
B. กากเปลือกกาแฟ 100%
C. กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อยฯ 50%
D. กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อยฯ 75%
E. กากเมล็ดกาแฟบด 100%
F. กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อยฯ 50%
G. กากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อยฯ 75%

รูปที่ 5 แผนภูมิแสดงปริมาณผลผลิตของเห็ดนางรมของสูตรต่าง ๆ

งานวิจัยการใช้กากกาแฟเป็นวัสดุทดแทนขี้เลื่อยยางพารา สามารถช่วยเกษตรกรลดต้นทุนในการซื้อขี้เลื่อยยางพารา ปกติราคาขี้เลื่อยต่อก้อนเพาะเห็ดน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ราคา 3 บาท ในท้องตลาดขายก้อนเพาะเห็ดสูตร Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%) หนัก 1 กิโลกรัม ราคา 8 บาท ดังนั้น การผลิตก้อนเพาะเห็ดที่ผสมกากกาแฟ 50 ก้อนต่อสูตร ทำให้ลดต้นทุนดังปรากฏในตารางที่ 7 อีกทั้งยังเป็นการกำจัดกากกาแฟได้อย่างคุ้มค่าและมีประโยชน์สูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิตก้อนเพาะเห็ด

สูตร	วัสดุปลูกราคาต่อก้อน ขนาด 1 กิโลกรัม(บาท)	ลดต้นทุน ต่อก้อน (บาท)	ผลิตก้อนเพาะเห็ด 50 ก้อน ลดต้นทุน (บาท)	ลดต้นทุน 50 ก้อน คิดเป็นร้อยละ
Control (ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100%)	8.00	-	-	-
กากเปลือกกาแฟ 100%	5.00	3.00	150.00	37.50
กากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	6.50	1.50	75.00	17.75
กากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75%	7.25	0.75	37.50	9.38
กากเมล็ดกาแฟบด 100%	5.00	3.00	150.00	37.50
กากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50%	6.50	1.50	75.00	17.75
กากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75%	7.25	0.75	37.50	9.38

4. สรุป (Conclusion)

เนื่องจากกากเปลือกกาแฟมีค่าไนโตรเจน 1.26 % และกากเมล็ดกาแฟบดมีค่าไนโตรเจน 2.4% รวมถึงค่าสัดส่วนของคาร์บอนกับไนโตรเจน (C/N ratio) สามารถบอกคุณภาพของวัสดุอินทรีย์ที่นำมาใช้ทำก้อนเพาะเห็ด อันเป็นปัจจัยควบคุมการย่อยสลายทำให้ใช้ประโยชน์ไนโตรเจนได้ พบว่าสูตร control จะย่อยสลายได้ยากกว่าสูตรที่ใช้กากเปลือกกาแฟหรือกากเมล็ดกาแฟบดมากกว่า 3 เท่าตัว ส่วนการเจริญของเส้นใยเห็ด พบว่าผลการที่ใช้ขี้เลื่อยยางพารา 100% (สูตร control) พบการเจริญของเส้นใยและการเดินของเส้นใยทั่วทั้งก้อนได้ดี น่าจะมาจากการถ่ายเทออกซิเจนของก้อนวัสดุที่ทำจากขี้เลื่อยยางพาราดีกว่าวัสดุที่ทำจากกากกาแฟ ลักษณะทางกายภาพของขี้เลื่อยค่อนข้างกระด้างแข็งทำให้ก้อนวัสดุเพาะเห็ดมีลักษณะโปร่งไม่อัดแน่นมีอากาศหรือออกซิเจนถ่ายเทได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกากกาแฟซึ่งออกซิเจนเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ด ดังนั้นการที่มีค่าไนโตรเจนสูงพอดีช่วยการเจริญเติบโตของเห็ดด้านปริมาณและคุณภาพได้ดี ดังนี้

ด้านปริมาณจากปริมาณผลผลิตสูตรกากเมล็ดกาแฟบดให้ผลผลิตเห็ดนางรมได้มากกว่าสูตรกากเปลือกกาแฟ และสูตรกากเปลือกกาแฟให้ผลผลิตเห็ดนางรมได้มากกว่าสูตร control ยกเว้นสูตรกากเปลือกกาแฟ 100 % ที่มีผลผลิตต่ำกว่า 7.41 %

ด้านคุณภาพจากค่าโภชนาการทุกสูตรที่ได้ผลผลิต ปริมาณโปรตีนของสูตรกากเปลือกกาแฟ หรือกากเมล็ดกาแฟบด มีค่าโปรตีนมากกว่า 2 เท่า ยกเว้นสูตรกาแฟเมล็ดบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% ที่มีค่าโปรตีนมากกว่า 1.25 เท่า ส่วนค่าแคลอรีทุกสูตรจะต่ำกว่าสูตร control ยกเว้นสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% ที่มีค่าสูงกว่าเล็กน้อยประมาณ 1.5% และปริมาณแคลอรี่ของสูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% และสูตรกากเปลือกกาแฟ 25% ผสมขี้เลื่อย 75% มีค่าแคลอรีต่ำกว่าสูตร control เกือบ 30 % โดยเฉพาะสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% ค่าแคลอรีต่ำกว่าสูตร control เท่ากับ 51 %

ดังนั้นกรณีที่ต้องการเห็ดนางรมที่มีค่าโภชนาการของโปรตีนสูง สูตรที่เหมาะสมคือสูตรกากเปลือกกาแฟ 50% ผสมขี้เลื่อย 50% และกากเมล็ดกาแฟบด 50% ผสมขี้เลื่อย 50% ส่วนสูตรที่ต้องการเห็ดนางรมที่มีค่าโภชนาการของแคลอรีต่ำ สูตรที่เหมาะสมคือสูตรกากเมล็ดกาแฟบด 25% ผสมขี้เลื่อย 75% จะดีที่สุด

สูตรที่ใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100% (control) เป็นสูตรที่นิยมเป็นวัสดุเพาะปลูกเห็ดนางรมในท้องตลาดทั่วไป ดังนั้น เมื่อใช้กากกาแฟที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งเป็นวัสดุเพาะปลูกเห็ดนางรมปรากฏว่าสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตมากขึ้นและคุณภาพของคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้นมากกว่าสูตร control ที่ใช้ในท้องตลาดได้อย่างชัดเจน ซึ่งเป็นไปตามสมมุติฐานของนักวิทยาศาสตร์ที่ว่ากากกาแฟที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงจะสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของเห็ดนางรมเพิ่มขึ้นเหมาะแก่การผลิตเป็นอาหารสุขภาพที่มีโปรตีนสูงและแคลอรีต่ำได้อย่างเหมาะสม

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการเห็ดนางรมด้วยวัสดุเหลือทิ้งกากกาแฟสามารถดำเนินการได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาและได้ความช่วยเหลือจากคุณอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และเจ้าหน้าที่จากกรมวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร ที่ให้ความร่วมมือ ร่วมแรง และร่วมใจในงานวิจัยการเพาะปลูกเห็ดนางรมเป็นอย่างดี ตั้งแต่การผสมกากกาแฟกับขี้เลื่อยในอัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อทำเป็นก้อนเชื้อจนได้ผลผลิตที่ดี จึงขอขอบพระคุณอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ สำนักเทคโนโลยีชุมชนทุกท่านที่ให้ความสะดวกกับการทำงาน และลูกจ้างเหมาของโครงการฯ ทุกท่านที่ให้ความร่วมมืออย่างดีในการทำงาน

หวังว่าโครงการนี้จะเป็นประโยชน์ในการเพิ่มมูลค่ากากกาแฟซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้ง ลดปัญหาการกำจัดกากกาแฟ และสามารถช่วยลดภาวะโลกร้อน ลดมลพิษในสิ่งแวดล้อมได้อย่างคุ้มค่าดีที่สุด

6. เอกสารอ้างอิง (References)

[1] ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา และรัตนะ ยศเมธากุล. *การเพิ่มผลผลิตของเห็ดนางรมที่เพาะเลี้ยงจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (EM)*. นครสวรรค์ : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์, 2553.

[2] สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. *ยุทธศาสตร์กาแฟ ปี 2552-2556* [ออนไลน์]. [อ้างถึง วันที่ 29 มีนาคม 2555]. เข้าถึงจาก: http://www.agriman.doae.go.th/home/agri1/agri1.3/ strategics_2554/05_coffee.pdf.

[3] สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์กรมหาชน). *อุตสาหกรรมการแปรภาพกาแฟ* [ออนไลน์]. [อ้างถึงวันที่ 22 เมษายน 2555]. เข้าถึงจาก: http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/coffee/used/index.php.

[4] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. AOAC. 993.13, 958.01. Arlington, Virginia : Association of Official Analytical Chemists International, 2012.

[5] SUISANSHO, NORIN, NOGYO KANKYO and GIJUTSU KENKYUJO. *Official methods of analysis of fertilizers*. Tsukuba-shi, Ibaraki-ken, Japan : National Institute of Agro-Environmental Sciences, Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, Official Method of Analysis Fertilizers JAPAN, 1987.

[6] HORWITZ, W. and GEORGE W. LATIMER. *Manual on Organic Fertilizer Analysis*, APSRDO, DOA:4/2551, 2551.
[7] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. AOAC. 920.153, 981.10, 996.06, 985.29, 942.23, 984.27, 999.10. Arlington, Virginia : Association of Official Analytical Chemists International, 2012.