หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการย่อยสลายฟางข้าวโดยเติมสารตัวเร่งทางการค้าจากต่างประเทศ ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด พบว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสภาพแวดล้อมของฟางข้าวในโหลหมัก เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 42 วัน มีความแตกต่างกันน้อยมาก และเมื่อพิจารณาอัตราส่วนการ์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าว ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการย่อยสลายฟางข้าว พบว่า อัตราส่วนการ์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมสารตัวเร่งไม่มีความแตกต่างกับโหลหมักที่ไม่เติมสารตัวเร่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.5) นั่นย่อมแสดงให้เห็นว่าการเติมสารตัวเร่งจะไม่ช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายฟางข้าวให้เร็วขึ้น ทั้งนี้ อาจเนื่องจากสารตัวเร่งไม่สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมในประเทศไทย ประกอบกับสารตัวเร่งขาดความสามารถในการเจริญเติบโตแข่งกับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้ได้ผลเช่นเดียวกับนักวิจัยผู้อื่นที่พบว่า การใช้สารตัวเร่งในรูปของเชื้อจุลินทรีย์ (แบคทีเรีย, รา และแอคติโนมัยซีส) ไม่ช่วยทำให้การย่อยสลายฟางข้าวหรือเศษพืชต่าง ๆ เกิดได้เร็วขึ้นกว่าการไม่เติมสารตัวเร่งลงไป แต่การปรับสภาพแวดล้อมในการหมัก เช่น อุณหภูมิภายในกองหมัก, ความชื้นและความเป็นกรดเป็นด่างของวัสดุที่ใช้หมัก จะช่วยทำให้การย่อยสลายเกิดได้เร็วขึ้น (Golueke และคณะ, 1954, Obrist, 1966; Gray และคณะ, 1971) แต่ก็มีผู้วิจัยบางท่านประสบความสำเร็จในการใช้สารตัวเร่งเพื่อย่อยสลายอินทรียสาร ดังนั้น จึงน่าที่จะแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายอินทรียสารภายในประเทศ เพื่อนำมาทำเป็นสารตัวเร่ง และเนื่องจากผู้วิจัยต้องการศึกษาการย่อยสลายฟางข้าว ซึ่งเป็นเศษวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรที่มีมากที่สุดในประเทศ ดังนั้น จึงได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากฟางข้าวในแหล่งต่าง ๆ กัน ได้มีผู้ศึกษาพบว่าฟางข้าวประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (Stanifort,1979) และจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสมีทั้งแบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซีส (Waksman, 1940; Norman และ Fuller, 1942; Siu และ Reese, 1953; Alexander, 1977) แต่ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้ศึกษาเลือกใช้เชื้อราเพื่อทำเป็นสารตัวเร่ง เนื่องจาก

1. เอนไซม์เซลลูเลส์และเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส์ที่เชื้อราผลิตขึ้นมา โดยมากจะเป็นเอนไซม์ที่ปลดปล่อยออกมานอกเซล (extracellular enzyme) ทำให้เตรียมเอนไซม์เพื่อการศึกษาได้โดยง่าย แต่เอนไซม์เซลลูเลส์และเอนไซม์เฮมิเซลลูเลส์ของเชื้อแบคทีเรีย มักจะพบว่าฝังตัวติดอยู่กับเซล (cell bound enzyme) ทำให้การเตรียมเอนไซม์เพื่อการศึกษาทำได้ยากกว่าการเตรียมเอนไซม์โดยเชื้อรา (Norkrans, 1967)

2. รูปร่างของเชื้อรามีเส้นใย (hyphae) มากมาย เส้นใยของเชื้อราสามารถแพร่กระจายเข้าไปในเนื้อเยื่อและวัสดุที่ประกอบด้วยเซลลูโลส์และเฮมิเซลลูโลส์ในกรณีที่เป็นของแข็งได้ ทำให้มีการสัมผัสกับเซลลูโลส์และเฮมิเซลลูโลส์ได้ดีกว่าแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีส์ (Mandels และ Reese, 1963)

3. แบคทีเรียที่พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ได้สูงมาก ส่วนมากจะเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) เช่น *Clostridum thermocellum* (Weimer และ zeikus, 1977; Shinmyo, Martinez และ Demain, 1979; Martinez, Shinmyo Madia และ Demain, 1980; Thomas และ Zeikus, 1981) ดังนั้น การเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์จะต้องเลี้ยงในสภาวะที่ปลอดออกซีเจน และต้องควบคุมให้อยู่ในสภาวะที่ปลอดออกซีเจนตลอดเวลา ซึ่งทำได้ยากมาก

4. การเตรียมอินนอคคูลัมของสปอร์เชื้อราในสภาวะที่เป็นของแข็ง (solid state) ทำได้ง่ายกว่าแบคทีเรีย เนื่องจากใช้ความชื้นน้อยกว่า และลดปัญหาในการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ (Hesseltine, 1972)

5. สามารถนำสปอร์ของเชื้อรามาใช้ได้โดยตรงในการหมักสภาวะที่เป็นของแข็ง แต่สำหรับแบคทีเรียจะต้องมีการเพิ่มปริมาณในถังพัก (seed tank) เสียก่อน ซึ่งค่อนข้างจะยุ่งยากมากและเสียค่าใช้จ่ายสูงมาก (Hesseltine, 1972)

เนื่องจากได้มีผู้ศึกษาพบว่าเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟางข้าวส่วนใหญ่จะอยู่ภายในเยื่อและระหว่างเยื่อของฟางข้าว (Sihanonth และ Furosaka, 1983) ดังนั้น จึงต้องหาวิธีที่จะแยกและกระจายเชื้อราออกมาให้มากที่สุด ซึ่งกระทำโดยวิธีปั่น, วิธีแช่ย่า และวิธีใช้คลื่นเสียง พบว่าการใช้คลื่นเสียงกำลัง 40 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที จะทำให้เชื้อรากระจายออกมาจากฟางข้าวได้มากที่สุด และการที่เชื้อรากระจาย (disperse) ออกจากฟาง

ข้าวได้มากที่สุด อาจเนื่องมาจากคลื่นเสียงสามารถทำให้เกิดการสั่นสะเทือน แล้วมีผลทำให้สปอร์และเส้นใยของเชื้อราที่สัมผัสอยู่กับฟางข้าวหลุดหรือขาดออกมาได้มากกว่าการแช่ย่าและการปั่น ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สนับสนุนการทดลองเกี่ยวกับการแยกแบคทีเรียจากดินโดยใช้คลื่นเสียงและพบว่าการใช้คลื่นเสียงกำลัง 40 วัตต์ เป็นเวลา 2 ถึง 4 นาที สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียออกมาได้มากที่สุดประมาณ 1.0×10^7 โคโลนีต่อกรัมดิน (Stevenson, 1958) และในทำนองเดียวกันได้มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับการแพร่กระจายแบคทีเรียจากฟางข้าวโดยวิธีปั่น, วิธีแช่ย่า และวิธีใช้คลื่นเสียง พบว่าการใช้คลื่นเสียงกำลัง 50 วัตต์ เป็นเวลา 1 นาที จะทำให้แบคทีเรียกระจายออกมาจากฟางข้าวมากที่สุด (Sihanonth และ Furosaka, 1983)

ในการแยกเชื้อราจากฟางข้าวหมักแหล่งต่าง ๆ โดยวิธีใช้คลื่นเสียงที่ 40 วัตต์ เป็นเวลา 3 นาที พบว่าสามารถแยกเชื้อราได้ทั้งสิ้น 208 สายพันธุ์ จึงทำการคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยเปรียบเทียบกับเชื้อรามาตรฐาน *Trichoderma viridae* (QM 9414) พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อราได้ทั้งสิ้น 21 สายพันธุ์ เป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้สูง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จากการจำแนกเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ ตามวิธีของ Raper และ Fennell (1977) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) มีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) มีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา *Aspergillus flavipes* นอกจากนี้ ยังได้ทำการคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส พบว่าสามารถแยกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงกว่าเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius ซึ่งจัดเป็นเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงเป็นจำนวนทั้งสิ้น 18 สายพันธุ์ โดยเป็นเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุด 1 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และจากการจำแนกเชื้อราสายพันธุ์นี้ตามวิธีของ Cooney และ Emerson, (1964) พบว่าเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) มีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา *Humicola lanuginosa*

จากผลการศึกษาระยะเวลาในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อบ่ม

เชื้อราเป็นระยะเวลา 12,12 และ 14 วัน ตามลำดับ การที่เชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อนาน จึงจะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด อาจเนื่องมาจากในช่วงแรกของการเจริญเติบโตเชื้อราสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปที่ย่อยสลายง่ายก่อน ต่อจากนั้นเชื้อราจึงผลิตเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นมาเพื่อใช้ในการย่อยสลายองค์ประกอบที่ย่อยสลายยาก ทำให้ระยะเวลาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดใช้ระยะเวลานาน

จากผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเมื่อวัดการเจริญของเชื้อราจากปริมาณกลูโคซามีนซึ่งเป็นองค์ประกอบย่อยของไคตินและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลเชื้อรา (Van de Loo, 1976, Cochran และ Vercellotti, 1978) และวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อราที่คัดเลือกได้ พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) จะเพิ่มมากขึ้นพร้อม ๆ กับการเจริญของเชื้อรา จนกระทั่งเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 10 วัน เชื้อราจะเจริญเต็มที่ขณะที่การผลิตเอนไซม์ยังคงเพิ่มขึ้นต่อไป และเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 12 วัน การผลิตเอนไซม์จึงสูงสุด นั่นย่อมแสดงว่าขณะที่เชื้อราเจริญลดลงหรือเชื้อรามีอายุมากขึ้น การผลิตเอนไซม์จะยังคงดำเนินต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง แต่หลังจากที่บ่มเชื้อราต่อไป พบว่าการเจริญและการผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญกับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) พบว่าจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรง (growth associate) ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผู้ที่ได้เคยศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius (V_1) ในอาหารเหลว และพบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับการเจริญของเชื้อรา (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับการเจริญของเชื้อรา โดยระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญสูงสุดกับระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดจะเท่ากัน คือ 12 วัน หลังจากนั้นการเจริญและการผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ต้องใช้ระยะเวลานานถึง 14 วัน จึงจะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด ขณะที่การเจริญของเชื้อราใช้ระยะเวลาเท่ากับ 12 วัน จึงจะเจริญสูงสุด ซึ่งลักษณะเช่นนี้เป็นแบบเดียวกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และหลังจากบ่มเชื้อราต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและการเจริญของเชื้อราจะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาถึงชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่เมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมคลอไรด์, ยูเรีย, แอมโมเนียมอะซีเตต และแคลเซียมไซยาไนด์ พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลงตามลำดับ ซึ่งทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) สามารถใช้ไนโตรเจนในรูปของอนุมูลแอมโมเนียมได้ดีกว่าไนโตรเจนในรูปอนุมูลอื่น ๆ สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด แต่การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลงตามลำดับ เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรต, ยูเรีย, แคลเซียมไซยาไนด์, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมอะซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน

จากผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และการผลิตเอนไซม์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิที่บ่มเชื้อราสูงขึ้นซึ่งอาจเนื่องมาจากความไม่คงตัวของเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมาในขณะที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ทำนองเดียวกับเชื้อรามาตรฐาน *Trichoderma viridae* (QM 9414) ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 25 ถึง 28 องศาเซลเซียส แต่ถ้าเพิ่มหรือลดอุณหภูมิในการบ่มเชื้อรา พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลงตามลำดับ (Mandels และ Sternberg, 1976) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด คือ 45 องศาเซลเซียส แต่ถ้าเพิ่มหรือลดอุณหภูมิในการบ่มเชื้อราแล้ว จะทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดเป็น

ด่างเท่ากับ 4.5 แต่เมื่อเพิ่มความเป็นกรดเป็นด่างหรือลดความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลงตามลำดับเช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ศึกษาถึงผลของความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius (V_1) และพบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดน้อยลงเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงกว่าหรือต่ำกว่า 5.0 (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 6.0 แต่เมื่อเพิ่มความเป็นกรดเป็นด่างหรือลดความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลงตามลำดับเช่นเดียวกัน

จากผลการศึกษาจำนวนสปอร์เริ่มต้นที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเมื่อใช้ปริมาณสปอร์เริ่มต้นเท่ากับ 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว แต่เมื่อเพิ่มปริมาณสปอร์เริ่มต้นเป็น 2×10^5, 2×10^6, 2×10^7, 2×10^8 และ 2×10^9 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว พบว่าจะไม่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่มขึ้น แต่กลับมีผลทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสลดลง ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการใช้ปริมาณสปอร์มากเกินไปทำให้ระยะ lag phase ของเชื้อรายาวมากขึ้น คือ เส้นใยของเชื้อรางอกออกจากสปอร์ได้ช้าลง เนื่องจากมีการแก่งแย่งอาหารและความชื้นในการเจริญเติบโตมากขึ้น แต่ถ้าใช้ปริมาณสปอร์เริ่มต้นน้อยกว่า 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลงเช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ทดลองศึกษาผลของปริมาณสปอร์เริ่มต้นที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius (V_1) แล้วพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสปอร์มากขึ้นกว่า 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลง สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าการใช้ปริมาณสปอร์เริ่มต้น 2×10^8 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว จะทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด การที่เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ต้องใช้ปริมาณสปอร์มากกว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) อาจเนื่องจากเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้น การเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อราให้มากขึ้นจะทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่มมากขึ้นด้วย

จากการศึกษาปริมาณความชื้นที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีความชื้นเริ่มต้น 80 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าเพิ่มความชื้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นสูงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลง ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยฟางข้าวจับตัวเป็นก้อน ทำให้การถ่ายเทอากาศไม่ดี เชื้อราจึงเจริญได้น้อยมีผลทำให้ปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตได้ต่ำ และเมื่อใช้ความชื้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลงเช่นเดียวกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องด้วยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความชื้นต่ำ ๆ สปอร์ของเชื้อราจะใช้ระยะเวลาในการงอกของสปอร์นาน จึงทำให้ปริมาณเอนไซม์ที่เชื้อราผลิตได้ต่ำ (Nishio และคณะ, 1981) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีความชื้นเริ่มต้น 77 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าเพิ่มความชื้นให้สูงขึ้นหรือต่ำลงกว่า 77 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ เนื่องมาจากสาเหตุดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

โดยทั่วไปการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อยู่ในสภาพของแข็ง (solid state)นั้น ปริมาณความชื้นที่ใช้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับวัสดุที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ถ้าใช้รำข้าว, รำข้าวเจ้าและรำข้าวสาลี เป็นวัตถุดิบ ความชื้นเริ่มต้นจะอยู่ในช่วงประมาณ 60 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ (Nishio และคณะ, 1981) แต่ถ้าใช้ฟางข้าวเป็นวัตถุดิบความชื้นเริ่มต้นควรอยู่ประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ (อัญชริดา สวารชร, 2524) หรือประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ (Gray และคณะ, 1971)

จากผลการศึกษาขนาดของฟางข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร จะทำให้เชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด แต่เมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 1 มิลลิเมตร พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะลดลง ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากฟางข้าวมีการจับตัวเป็นก้อน ทำให้การถ่ายเทอากาศไม่ดี (Taiganides, 1977) เชื้อราจึงเจริญได้น้อย มีผลทำให้การผลิตเอนไซม์ลดลง และเมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิเมตร แล้วพบว่าการผลิตเอนไซม์เซล-

ลูเลส์จะลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากพื้นที่ผิวของฟางข้าวที่เชื้อราเจริญได้มีน้อยลงไป (อัญชริดา สวารชร, 2524)

จากผลการศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ได้สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีแอมโมเนียมไนเตรต 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก และเมื่อสังเกตการเจริญของเชื้อรา พบว่ามีปริมาณเส้นใยของเชื้อรามากกว่าสปอร์ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเชื้อราส่วนใหญ่จะมีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ได้สูงสุดจากเส้นใยที่มีอายุน้อย และพบว่าในระยะที่เป็นสปอร์จะไม่มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์เลย (Norkrans, 1967) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองเพราะเมื่อใช้ปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตมากกว่าหรือน้อยกว่า 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเส้นใยของเชื้อราที่เกิดขึ้นจะลดน้อยลงซึ่งมีผลทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ลดน้อยลง

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) หลังจากหาสภาพที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ได้แล้ว พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ได้สูงสุดเมื่อใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อนาน 12 วัน สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อนาน 13 วัน และเมื่อบ่มเชื้อราต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง การผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากภายหลังที่เชื้อราผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดแล้ว เชื้อราเริ่มมีอายุมากขึ้น สังเกตจากเส้นใยของเชื้อรามีน้อยลงขณะที่สปอร์เชื้อรามีมากขึ้น ดังนั้น จึงมีผลทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ลดลง (Norkrans, 1967) และเมื่อการผลิตเอนไซม์ลดลง อัตราการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ย่อมลดลงด้วย ซึ่งก็เหมือนกับเป็นการจำกัดการใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตของเชื้อราด้วย ทำให้การเจริญของเชื้อราลดลง เมื่อเทียบกับขณะที่มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์สูง ซึ่งเชื้อราสามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526)

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พอสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 5.1

ในเชื้อราหลายชนิดพบว่าจะมีการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสไปพร้อมกับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เช่น เชื้อรา *Trichoderma viridae* (Toda และคณะ, 1971; Hurst และคณะ, 1978) *Irpex lacteus* (Hurst และคณะ, 1978), *Aspergillus fumigatus* Fresenius 4 - 45 - 1F (อัญชริดา สวารชร, 2524) และเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) นอกจากนี้ ได้มีผู้ศึกษาถึงการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius พบว่าเมื่อใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะสูงกว่าเมื่อใช้แอลฟาเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนถึง 20 เท่า (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากแอลฟาเซลลูโลสเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ไม่มีสารที่จะไปเหนี่ยวนำให้มีการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส แต่ในฟางข้าวมีเซลลูโลสและไซแลนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 30 ถึง 50 และ 20 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ (Stephens และ Heichel, 1975; Lotong และคณะ, 1980) และไซแลนในฟางข้าวนี่เองที่เป็นตัวเหนี่ยวนำให้มีการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสให้สูงขึ้นสำหรับเชื้อราที่คัดเลือกได้ คือ เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่านอกจากจะมีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสแล้ว ยังมีการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสไปพร้อม ๆ กันด้วย

จากผลการศึกษาระยะเวลาในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อนาน 12 วัน และหลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ การที่เชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อนานถึง 12 วัน จึงจะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดนั้น อาจเนื่องมาจากในช่วงแรกของการเจริญเติบโตนั้นเชื้อราใช้คาร์โบไฮเดรตซึ่งอยู่ในรูปที่ย่อยสลายง่ายก่อน และหลังจากนั้นเชื้อราจึงจะมีการใช้ไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้ระยะเวลาในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสสูงสุดใช้ระยะเวลานานขึ้น

จากผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสกับการเจริญของเชื้อรา พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่ม

มากขึ้นพร้อม ๆ กับการเจริญของเชื้อรา จนกระทั่งเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลาประมาณ 10 วัน เชื้อราจะเจริญเต็มที่ ขณะที่การผลิตเอนไซม์ยังคงเพิ่มขึ้นต่อไป จนกระทั่งเมื่อบ่มเชื้อราไว้เป็นระยะเวลา 12 วัน การผลิตเอนไซม์จึงสูงสุด นั่นย่อมแสดงให้เห็นว่าขณะที่เชื้อรามีการเจริญลดลงนั้น การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสยังคงดำเนินการต่อไป แต่หลังจากบ่มเชื้อราต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าการเจริญและการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญกับการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส พบว่ามีความสัมพันธ์กันโดยตรง (growth associate) เช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius ซึ่งพบว่าการเจริญและการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสมีความสัมพันธ์กัน (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะใช้ระยะเวลาในการผลิตเอนไซม์สูงสุดและการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 12 วัน และหลังจากนั้นการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อราจะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) สามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์จะลดลงตามลำดับเมื่อใช้แอมโมเนียมอะซีเตต, แอมโมเนียมซีเตรต, แคลเซียมไซยาไนด์, แอมโมเนียมคลอไรด์, ยูเรีย และแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน การที่เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์สามารถใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีกว่าไนโตรเจนชนิดอื่น อาจเนื่องมาจากเชื้อราสามารถใช้ไนโตรเจนในรูปอนุมูลไนเตรตได้ดีกว่าอนุมูลแอมโมเนียม และอนุมูลไซยาไนด์ เช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ศึกษาถึงชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius และพบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส คือ แอมโมเนียมไนเตรต (อัญชริดา สวารชร, 2524) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรต, แคลเซียมไซยาไนด์, แอมโมเนียมอะซีเตต, แอมโมเนียมคลอไรด์, แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย พบว่า

การผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) สามารถใช้อนุมูลแอมโมเนียม และอนุมูลซิเตรตได้ดีกว่าอนุมูลชนิดอื่น ๆ

จากผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเนื่องมาจากการเจริญของเชื้อราลดลง และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มเชื้อราให้สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงตามลำดับที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อรามีการเจริญลดลง ประกอบกับความไม่คงตัวของเอนไซม์ที่ผลิตขณะที่มีอุณหภูมิสูงจึงทำให้การผลิตเอนไซม์ลดลง สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิในการบ่มเชื้อราสูงกว่าหรือต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลง จนกระทั่งเมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เชื้อราไม่มีการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส การที่เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) สามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้ที่อุณหภูมิสูง อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) เป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic fungi) ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Humicola lanuginosa* และพบว่าเชื้อราสายพันธุ์นี้ จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (Kitpreechavanich และคณะ, 1983)

จากผลการศึกษาความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวที่มีต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.5 แต่เมื่อความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวสูงกว่าหรือต่ำกว่า 4.5 พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลง ซึ่งผลการทดลองที่ได้เป็นเช่นเดียวกับการทดลองศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius แล้วพบว่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส คือ 4.5 (อัญชริดา สวารชร, 2524)

สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 6.0 และจากที่ได้มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของเอนไซม์ไซลาเนสที่ผลิตจากเชื้อรา *Humicola lanuginosa* พบว่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะมีค่าอยู่ในช่วง 4.5 ถึง 5.5 (Kitpreechavanich และคณะ 1983) ซึ่งใกล้เคียงกับความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ศึกษา

จากผลการศึกษาจำนวนสปอร์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว แต่ถ้าใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นต่ำกว่า 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเนื่องจากจำนวนสปอร์เริ่มต้นของเชื้อราน้อยไป และถ้าใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นสูงกว่า 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเช่นเดียวกัน ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากเชื้อรามีการแก่งแย่งอาหารและความชื้นในการงอกออกจากสปอร์ (Nishio และคณะ, 1981) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^8 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว แต่เมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นต่ำกว่า 2×10^8 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเนื่องมาจากเชื้อรามีน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาย่อยสลายไซแลนน้อย (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) แต่ถ้าใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นสูงกว่า 2×10^8 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อรามีการแก่งแย่งน้ำตาลรีดิวซ์และความชื้นในการเจริญ (Nishio และคณะ, 1981)

จากผลการศึกษาความชื้นของฟางข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้น 80 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อความชื้นของฟางข้าวสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเนื่องจากฟางข้าวมีการจับตัวกันเป็นก้อน ทำให้มีการระบายอากาศไม่ดี แต่เมื่อความชื้นเริ่มต้นของฟางข้าวต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงเช่นเดียวกัน

เนื่องจากเชื้อรามี lag phase ที่ยาวกว่า คือ ต้องใช้ระยะเวลาในการงอกของสปอร์นานกว่า จึงทำให้ปริมาณเอนไซม์ไซลาเนสที่เชื้อราผลิตได้ต่ำกว่า (Nishio และคณะ, 1981) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้น 77 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อฟางข้าวมีความชื้นสูงกว่าหรือต่ำกว่า 77 เปอร์เซ็นต์ การผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาขนาดของฟางข้าวที่มีต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร แต่เมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิเมตร พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลง เนื่องจากพื้นที่ผิวของฟางข้าวที่เชื้อราจะเจริญเติบโตได้มีน้อยและเมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 1 มิลลิเมตร พบว่าฟางข้าวจะจับตัวกันแน่นทำให้อากาศถ่ายเทไม่ดี เชื้อราจึงเจริญเติบโตได้ไม่ดีซึ่งมีผลทำให้การผลิตเอนไซม์ไซลาเนสลดลงเช่นเดียวกับการทดลองที่พบว่าเมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตรเป็นแหล่งคาร์บอนแล้วเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุด (อัญชริดา สวารชร และคณะ, 2527)

จากผลการศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อราในฟางข้าวที่มีแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 0.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ พบว่ามีปริมาณเส้นใยมากกว่าสปอร์ของเชื้อรา แต่เมื่อเพิ่มหรือลดปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตให้ต่ำกว่า 0.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลง ตามลำดับ

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) หลังจากศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้แล้ว พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุด เมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 11 วัน และหลังจากบ่มเชื้อราต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจะลดลงตาม

ลำดับ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากเชื้อรามีอายุมากขึ้น โดยสังเกตจากการที่เชื้อรามีสปอร์มากขึ้น

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พอสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 5.2

จากผลการศึกษาความสามารถของเอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ในการใช้ซับสเตรตชนิดต่าง ๆ พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ สามารถใช้แอลฟาเซลลูโลส และกระดาษกรองเป็นซับสเตรตได้น่าจะประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดเช่นเดียวกับเชื้อราชนิดอื่น ๆ เช่น *Trichoderma viridae* (Selby และ Maitland, 1967; Berghem และ Pettersson, 1973, 1974; Pettersson, 1975) *T. koningii* (Wood, 1968; Wood และ Mc Crae, 1972; Wood, 1979) *Pellicularia filamentosa* (Mizukoshi และคณะ, 1977) *Aspergillus niger* (Hurst และคณะ, 1978) *A. niger*, *Lenzites trabea*, *Myrothecium verrucaria*, *T. koningii* และ *T. lignorum* (Hurstและคณะ, 1978) *A. aculeatus* (Murao และคณะ, 1979) *T. reese* (Dwivedi และ Ghose, 1979) *A. aurantiacus* (Tong และคณะ, 1980) *Humicola insolens* (Hayashida และ Yoshioka, 1980) *Taralomyces* sp. (Nishio และคณะ, 1981) *A. terreus*, *Penicillium purpurogenum* (Sasaki และคณะ, 1983) *A. fumigatus* Fresenius (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) เป็นต้น โดยเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตได้จากเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ น่าจะประกอบด้วยเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด มาทำงานร่วมกันเป็นมัลติคอมโพเนนท์เอนไซม์ ซึ่งได้แก่เอกโซกลูคาเนสศึกษาโดยใช้แอลฟาเซลลูโลสเป็นซับสเตรต, เอนโดกลูคาเนส หรือคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส ศึกษาโดยใช้คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสเป็นซับสเตรต และเบตากลูโคซิเดสซึ่งใช้ออร์โธไนโตรเฟนิล - เบตา - ดี - กลูโคไพราโนไซด์เป็นซับสเตรต

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30)พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา

12 วัน หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์จะลดลงตามลำดับ สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ได้สูงสุด เมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อรานาน 14 วัน และหลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์จะลดลงตามลำดับ การที่เชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ได้สูงสุดโดยใช้ระยะเวลานาน อาจเนื่องมาจากในระยะแรก ๆ นั้น เชื้อราสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปย่อยสลายง่ายก่อน ทำให้มีการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ในปริมาณที่ต่ำ แต่หลังจากที่ใช้คาร์บอนในรูปที่ย่อยสลายง่ายหมดแล้ว เชื้อราจะมีการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์มาย่อยสลาย องค์ประกอบของฟางข้าวที่เป็นพวก reactive cellulose หรือ long β 1, 4 anhydroglucose chains (เป็นผลที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส์ component C_1) ได้ cellobiose เกิดขึ้น (Siu และ Reese, 1953; Mandels และ Reese, 1963)

จากผลการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะเจริญเพิ่มขึ้นพร้อม ๆ กับมีการผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น โดยเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ใช้ระยะเวลาในการเจริญสูงสุด 10 วัน แต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์สูงสุด 12 วัน แสดงให้เห็นว่าเมื่อเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) เจริญสูงสุดแล้วยังสามารถผลิตเอนไซม์ต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่งจนถึงวันที่ 12 การผลิตเอนไซม์จึงสูงสุด หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์จะลดลงตามลำดับ สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) พบว่าการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์และการเจริญของเชื้อราจะสูงสุดพร้อมกันในวันที่ 12 และสำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะเจริญได้สูงสุดในวันที่ 12 แต่ผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดในวันที่ 14

จากผลการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25)และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่การผลิตเอนไซม์จะลดลงเมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, ยูเรีย, แคลเซียมไซยาไนด์, แอมโมเนียมคลอไรด์ และแอม-

โมเนียมอะซีเตต เป็นแหล่งไนโตรเจนตามลำดับ การที่เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ใช้แอมโมเนียม-ไนเตรตได้ดีกว่าไนโตรเจนชนิดอื่น อาจเนื่องมาจากเชื้อราสามารถใช้ไนโตรเจนในรูปอนุมูล-ไนเตรตได้ดีกว่าไนโตรเจนในรูปอนุมูลแอมโมเนียมอื่น ๆ สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าจะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุด เมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่การผลิตเอนไซม์จะลดลง เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน และการผลิตเอนไซม์จะลดลงมากเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมอะซีเตต, แอมโมเนียมคลอไรด์, แคลเซียมไซยาไนด์ และยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ การที่เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) สามารถใช้แอมโมเนียมซีเตรตได้ดีกว่าไนโตรเจนชนิดอื่นนั้น อาจเนื่องมาจากแอมโมเนียมซีเตรตมีคาร์บอนอยู่ ทำให้เชื้อราเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีคาร์บอนซึ่งอยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ได้ก่อน นอกจากนี้ เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) สามารถใช้อนุมูลซีเตรตได้ดีกว่าอนุมูลชนิดอื่น ทำให้มีการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้มากกว่า เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น

จากผลการศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิที่มีต่อการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส การผลิตเอนไซม์จะลดลงเนื่องจากเชื้อราเจริญลดลง และเมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ได้ดีในอุณหภูมิที่สูง ๆ แต่โดยทั่วไปเชื้อรา *Aspergillus* sp. ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส มักจะเป็นเชื้อราที่ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ (thermotolulant fungi) ดังนั้น จึงสามารถผลิตเอนไซม์ได้ดีทั้งในช่วงอุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูง (Kane และ Mullins, 1973; Limtong และคณะ, 1981; Chavanich และคณะ, 1981) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แต่เมื่อบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลงเนื่องจากเชื้อรา *Humicola* sp. เป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic fungi) (Chavanich

และคณะ, 1981) และเมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลง และจะไม่มีการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสเลยเมื่อบ่มเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

จากผลการศึกษาความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.5 แต่เมื่อความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวสูงกว่าหรือต่ำกว่า 4.5 พบว่าการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสจะลดลง สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 6.0 แต่ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงกว่าหรือต่ำกว่า 6.0 พบว่าการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสจะลดลง

จากผลการศึกษาความชื้นของฟางข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้นประมาณ 80 เปอร์เซนต์ แต่เมื่อเพิ่มความชื้นของฟางข้าวให้สูงขึ้น พบว่าฟางข้าวจะมีการจับตัวเป็นก้อน ทำให้มีการระบายอากาศไม่ดี เชื้อราจึงผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้ลดลงเช่นเดียวกัน ถ้าฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้นต่ำ เชื้อราจะใช้ระยะเวลาในการงอกของสปอร์นานกว่า (lag phase ยาว) มีผลทำให้การผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสลดลง (Nishio และคณะ, 1981) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้น 77 เปอร์เซนต์ แต่เมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้นสูงกว่าหรือต่ำกว่า 77 เปอร์เซนต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสจะลดลง

จากผลการศึกษาจำนวนสปอร์ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุด เมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว แต่ถ้าใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^5, 2×10^6, 2×10^7, 2×10^8 และ 2×10^9 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว การผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสจะลดลงตามลำดับ ซึ่งอาจเนื่องมาจากการแก่งแย่งอาหารและความชื้นในการงอกของสปอร์ ถ้าใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^2 และ 2×10^3 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว การผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสจะลดลง เนื่องจากจำนวนสปอร์เริ่มต้นของเชื้อราน้อยเกินไป

จากผลการศึกษาขนาดของฟางข้าวที่มีต่อการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีแมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร แต่ถ้าใช้ฟางข้าวขนาดยาว 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิเมตร พบว่าการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสจะลดลง เนื่องจากพื้นที่ผิวของฟางข้าวจะสัมผัสกับเชื้อรามีน้อย ทำให้เชื้อรามีการเจริญและการผลิตเอนไซม์ลดลง และถ้าใช้ฟางข้าวขนาดยาว 1 มิลลิเมตร พบว่าฟางข้าวจะจับตัวเป็นก้อน ไม่มีการระบายอากาศ ทำให้มีการผลิตเอนไซม์ลดลง ตามลำดับ

จากผลการศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุด เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรต 0.8 เปอร์เซนต์ และเมื่อสังเกตดูการเจริญของเชื้อรา พบว่ามีเส้นใยมากกว่าปริมาณสปอร์แต่เมื่อใช้ปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตมากกว่า 0.8 เปอร์เซนต์ พบว่าการเจริญของเส้นใยมีน้อยกว่าปริมาณของสปอร์ โดยทั่วไปแล้วเชื้อราส่วนใหญ่จะมีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดจากไมซีเลียม (mycelium) ที่มีอายุน้อย โดยเฉพาะบริเวณส่วนของเส้นใย (hyphae) แต่ในระยะที่เป็นสปอร์จะไม่มีการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสเลย (Norkrans, 1967) แต่เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตน้อยกว่า 0.8 เปอร์เซนต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์ คาร์บอกซี-

เมทธิลเซลลูเลส์จะลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่ใช้น้อยเกินไป มีผลทำให้เชื้อราเจริญช้าและมีการผลิตเอนไซม์ลดลง

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) หลังจากศึกษาสภาพที่เหมาะสมได้แล้ว พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์เมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 12 วัน หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์จะลดลงตามลำดับ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อรามีอายุมากขึ้น สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 10 วัน และหลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์จะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พอสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 5.3

จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่า เอนไซม์เซลลูเลส์ประกอบด้วยเอนไซม์หลายคอมโพเนนท์ ทำงานร่วมกัน (multicomponent complex) เอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์ก็เป็นเอนไซม์คอมโพเนนท์หนึ่งที่ทำหน้าที่เปลี่ยนเซลโลไบโอส์ให้เป็นกลูโคส์ (Siu และ Reese, 1953; Nisizawa, 1973; Halliwell, 1979) ดังนั้น จึงทำการศึกษาสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมที่จะทำให้เชื้อราผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์ได้มากที่สุด

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์ได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราไว้เป็นระยะเวลา 12 วัน หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์จะลดลงตามลำดับ สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์ได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 10 วัน หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซีเดส์จะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) จะมีการเจริญและการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์เพิ่มขึ้นพร้อม ๆ กัน โดยใช้ระยะเวลาเจริญสูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 10 วัน ขณะที่การผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์สูงสุดจะต้องใช้ระยะเวลา 12 วัน แสดงให้เห็นว่า เมื่อเชื้อราเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว การผลิตเอนไซม์ยังคงดำเนินต่อไปและจะลดลงหลังจาก 12 วันไปแล้ว สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะใช้ระยะเวลาในการเจริญและการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์สูงสุด 12 วัน ขณะที่เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ใช้ระยะเวลาในการเจริญสูงสุด 12 วัน แต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์สูงสุด 10 วัน เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์กับการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ พบว่ามีความสัมพันธ์กันโดยตรง (Aiba และคณะ, 1973)

จากผลการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตา กลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุด เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนแต่เมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรต, แคลเซียมไซยาไนด์, ยูเรีย, แอมโมเนียมอะซีเตต, แอมโมเนียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลงตามลำดับ การที่เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนดีที่สุดนั้น อาจเนื่องมาจากเชื้อราสายพันธุ์นี้สามารถใช้อนุมูลไนเตรตได้ดีกว่าอนุมูลแอมโมเนียม และอนุมูลอื่น ๆ สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรต, แคลเซียมไซยาไนด์, ยูเรีย, แอมโมเนียมคลอไรด์, แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมอะซีเตตเป็นแหล่งไนโตรเจนการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลงตามลำดับ การที่เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ใช้แอมโมเนียมซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนดีกว่าไนโตรเจนชนิดอื่น อาจเป็นเพราะว่าแอมโมเนียมซีเตรตมีคาร์บอนอยู่ ประกอบกับเชื้อราใช้อนุมูลซีเตรตได้

ดีทำให้เชื้อราเจริญได้อย่างรวดเร็ว และมีการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้มากกว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น

จากผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่เมื่อบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิสูงกว่าหรือต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ลดลง การที่เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่ระดับนี้เหมาะสมกับการเจริญและการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ ดังเช่นที่ได้มีผู้ศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius แล้วพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อราอยู่ในช่วง 40 ถึง 43 องศาเซลเซียส (Wood และ Cowly, 1972) และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์คือ 45 องศาเซลเซียส (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) ดังนั้น จะเห็นได้ว่าเมื่อบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียสแล้ว เชื้อราจะเจริญและผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูง

จากผลการศึกษาความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้น 4.5 และเมื่อเพิ่มหรือลดความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลง การที่เชื้อรา *Aspergillus* sp. สามารถผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงในฟางข้าวที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง 4.5 ที่เป็นเช่นนี้ อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Aspergillus* sp. ชอบสภาพความเป็นกรดมากกว่าสภาพที่เป็นด่าง ดังเช่นที่ได้มีผู้ศึกษาถึงการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* Fresenius แล้วพบว่าเชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดเป็นด่าง 5.0 (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าจะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความ

เป็นกรดเป็นด่าง 6.0 แต่เมื่อเพิ่มหรือลดความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาจำนวนสปอร์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว แต่เมื่อเพิ่มจำนวนสปอร์ให้มากกว่า 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลง เนื่องจากเชื้อราต้องใช้ระยะเวลางอกของสปอร์นานขึ้น และเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นน้อยกว่า 2×10^4 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลง อาจเนื่องมาจากอาหารเลี้ยงเชื้อบางส่วนยังไม่ถูกใช้ไป สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้น 2×10^8 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว และเมื่อใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นมากกว่าหรือน้อยกว่า 2×10^8 สปอร์ต่อกรัมฟางข้าว พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์จะลดลง การที่เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ใช้จำนวนสปอร์เริ่มต้นมากกว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. ทั้งสองสายพันธุ์ อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ใช้ระยะเวลาในการงอกของสปอร์นานกว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25)

จากผลการศึกษาความชื้นของฟางข้าวที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้น 80 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้นสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าฟางข้าวจะจับตัวเป็นก้อน ทำให้การถ่ายเทอากาศไม่ดี มีผลทำให้การผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ลดลง และเมื่อใช้ฟางข้าวที่มีความชื้นเริ่มต้นต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อราต้องใช้ระยะเวลาในการงอกของสปอร์นานขึ้น ทำให้การผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ลดลง สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าจะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส์ได้สูงสุดเมื่อฟางข้าวมีความชื้นเริ่มต้น 77 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มความชื้นของฟางข้าวให้สูงขึ้น พบว่า

การผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่จะลดลงเช่นเดียวกับเมื่อใช้ฟางข้าวที่มีความชื้นต่ำ ๆ

จากผลการศึกษาขนาดของฟางข้าวที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ได้สูงสุด เมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร แต่เมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิเมตร พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่จะลดลงตามลำดับ เนื่องจากเมื่อฟางข้าวมีขนาดใหญ่ขึ้นพื้นที่ผิวของฟางข้าวที่จะสัมผัสกับเชื้อรามีน้อยลง ทำให้การผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ลดลง และเมื่อใช้ฟางข้าวขนาดยาว 1 มิลลิเมตร พบว่าฟางข้าวจะจับตัวเป็นก้อน ทำให้ไม่มีการถ่ายเทอากาศเพียงพอ เชื้อราจึงผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ลดลงเช่นกัน

จากผลการศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ของเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะแตกต่างกันโดยเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรต 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรต 1.5, 2.0 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ได้สูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 2.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ การที่เชื้อราทั้งสามสายพันธุ์ใช้ปริมาณไนโตรเจนในการผลิต เอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่มากกว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส่, คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส่ และเอนไซม์ไซลาเนส่ อาจเนื่องมาจากการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ไม่ถูกยับยั้งโดยผลผลิต (product) ที่เกิดขึ้นขณะที่ใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 0.5 ถึง 3.0 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าใช้แอมโมเนียมไนเตรตมากกว่า 3.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส่ของเชื้อราทั้งสามสายพันธุ์จะถูกยับยั้งโดยผลผลิตที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยส่ลาย

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) หลังจากศึกษาสภาพที่เหมาะสมได้แล้ว พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราไว้เป็นระยะเวลา 12 วัน หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสจะลดลงตามลำดับ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อรามีอายุมากขึ้น สำหรับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) จะผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสได้สูงสุดเมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 10 วัน หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสจะลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พอสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 5.4

เมื่อสรุปเปรียบเทียบปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมซึ่งมีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส (ตารางที่ 5.1), เอนไซม์ไซลาเนส (ตารางที่ 5.2), เอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส (ตารางที่ 5.3) และเอนไซม์เบตากลูโคซิเดส (ตารางที่ 5.4) ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) พบว่าส่วนใหญ่ได้ผลคล้ายคลึงกัน แสดงว่าปัจจัยและสภาวะเหล่านี้เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด แต่ที่แตกต่างกันคือ ปริมาณของแอมโมเนียมไนเตรต ซึ่งพบว่าการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสจำเป็นต้องอาศัยปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตสูงกว่าการผลิตเอนไซม์ชนิดอื่น และจากผลการเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส, ไซลาเนส, คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส และเบตากลูโคซิเดสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) เมื่อบ่มไว้เป็นระยะเวลา 12 วัน พอสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 5.5 พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุด ขณะที่เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสได้สูงสุด และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูงสุด

จากผลการศึกษาการเตรียมอินนอคคูลัมของสปอร์เชื้อราที่คัดเลือกได้ เพื่อใช้เป็นตัวเร่งในการย่อยสลายฟางข้าว พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะสร้างสปอร์ได้มากที่สุด เท่ากับ 4.98×10^{12} และ 2.02×10^{11} สปอร์ต่อกรัมอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเชื้อราในอาหารซึ่งประกอบด้วยฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร ผสมกับรำข้าวละเอียดในอัตราส่วน 5 : 5 แต่ถ้าเพิ่มปริมาณฟางข้าวในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบด้วยฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร ผสมกับรำข้าวละเอียดในอัตราส่วน 6 : 4, 7 : 3 และ 8 : 2 พบว่าการสร้างสปอร์ของเชื้อราจะลดลงตามลำดับ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเมื่อมีฟางข้าวมากขึ้น การเจริญของเชื้อราจะลดลงเพราะเชื้อราต้องมีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และเอนไซม์ไซลาเนส มาย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ทำให้ใช้ระยะเวลานานขึ้น ในทำนองเดียวกันถ้าลดปริมาณฟางข้าวในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งประกอบด้วยฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร ผสมกับรำข้าวละเอียดในอัตราส่วน 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8 และ 1 : 9 พบว่าการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* sp. ทั้งสองสายพันธุ์จะลดลงตามลำดับ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเมื่อปริมาณรำข้าวละเอียดมากขึ้น จะทำให้การถ่ายเทอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ดีพอ เชื้อราเจริญได้ช้า และมีการสร้างสปอร์ลดลงในทำนองเดียวกัน พบว่าเมื่อใช้รำข้าวหยาบผสมกับรำข้าวละเอียดในอัตราส่วน 5 : 5 เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะสร้างสปอร์ได้มากที่สุดเท่ากับ 4.51×10^{12} และ 1.56×10^{11} สปอร์ต่อกรัมอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งน้อยกว่าปริมาณสปอร์ที่สร้างได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยฟางข้าวขนาดยาว 5 มิลลิเมตร ผสมกับรำข้าวละเอียดในอัตราส่วน 5 ต่อ 5 สำหรับเชื้อ *Humicola* sp. (H-30) จะสร้างสปอร์ได้มากที่สุดเท่ากับ 1.55×10^{11} สปอร์ต่อกรัมอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยฟางข้าวขนาด 5 มิลลิเมตร ผสมกับรำข้าวละเอียดในอัตราส่วน 1 : 9 และเมื่อเพิ่มฟางข้าวในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 2 : 8, 3 : 7, 4 : 6, 5 : 5, 6 : 4, 7 : 3 และ 8 : 2 พบว่าการสร้างสปอร์ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงตามลำดับ เนื่องมาจากเมื่อฟางข้าวมีมากขึ้น เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) ซึ่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ต่ำ แต่ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้สูง ต้องใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานนานขึ้น มีผลทำให้การสร้างสปอร์ของเชื้อราลดลงตามลำดับ

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน อุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไป มีการย่อยสลายสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตของฟางข้าวที่อยู่ในรูปที่ไม่สลับซับซ้อน ทำให้มีการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินในรูปความร้อนออกมา (Eastwood, 1952; Gray และคณะ, 1971, Dayi และ Iyengar, 1971; Finstein และ Morris, 1975) และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวจะลดลง เนื่องมาจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของฟางข้าวอยู่ในรูปที่สลับซับซ้อน ทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายฟางข้าวลดลง มีผลให้พลังงานส่วนเกินในรูปความร้อนปลดปล่อยออกมาน้อย เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปมีการย่อยสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปที่ไม่สลับซับซ้อน ทำให้ได้กรดอินทรีย์ (organic acid) หลายชนิดเกิดขึ้น (Gray และคณะ, 1971) หรืออาจเกิดจากกระบวนการไนตริฟี-

เคชั่น (nitrification) เนื่องจากมีการเติมแอมโมเนียมไนเตรตทำให้มีกรดไนไตรต์และกรดไนตริกเกิดขึ้น (Alexander, 1977) และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของการหมักเป็นกรดที่ระเหยง่าย ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถใช้กรดอินทรีย์เหล่านี้เป็นแหล่งอาหารและแหล่งพลังงานได้ ทำให้มีการปลดปล่อยไนโตรเจนที่มีอยู่มากเกินพอออกมาในรูปแอมโมเนีย จึงมีผลให้ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวเพิ่มขึ้นตามลำดับ (Dayi และ Iyengar, 1971; Hays, 1973) และเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ความชื้นของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าความชื้นของฟางข้าวจะลดลง ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากฟางข้าวมีการสูญเสียความชื้นโดยการระเหย เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะ 30 วัน พบว่าความชื้นของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นของฟางข้าวเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณการรับอนของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา

Humicola sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปที่ย่อยสลายได้ง่ายก่อน หลังจากนั้นจึงมีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสขึ้นมาย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ย่อยสลายได้ยาก (สมศักดิ์ วังใน, 2528) และเมื่อหมักฟางข้าวไว้เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคาร์บอนของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะเพิ่มขึ้นซึ่งอาจเนื่องมาจากฟางข้าวหมักมีจุลินทรีย์พวกที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปสามารถนำเอาอินทรีย์ไนโตรเจนไปใช้ในการสังเคราะห์เซล (Reuszer, 1957; Gray และคณะ, 1971) และจุลินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะสัมผัสอยู่กับฟางข้าว ดังนั้น เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าว พบว่าจะมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) เชื้อรา

Aspergillus sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากฟางข้าวมีปริมาณคาร์บอนลดลงขณะที่ไนโตรเจนมีปริมาณเพิ่มขึ้น และเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อเข้าไปทำให้การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงเร็วกว่าไม่ได้เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25)ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน ปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปมีการใช้ธาตุโปตัสเซียมในกระบวนการเจริญเติบโต และกระบวนการอื่น ๆ (พิทยากร ลิ่มทองและปรีดี ดีรักษา, 2521) และเมื่อพิจารณาปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่มีการเติม

เชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน ปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเนื่องมาจากการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ให้มาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น โดยอัตราการปลดปล่อยมีมากกว่าอัตราการนำไปใช้สร้างส่วนประกอบของเซลจุลินทรีย์ (พิทยากร ลิ่มทอง และปรีดี ดีรักษา, 2521) และเมื่อพิจารณาประมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา

ผลของการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสภาวะแวดล้อมในการย่อยสลายฟางข้าวในโหลหมัก เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่เติมเชื้อรา ได้สรุปไว้ในตารางที่ 5.6 จากผลการศึกษาการย่อยสลายฟางข้าวโดยแปรฝันชนิดของเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรต 0.8 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการย่อยสลายฟางข้าวซึ่งวัดได้จากอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในแต่ละโหลหมักจะลดลงโดยโหลหมักที่เติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และโหลหมักที่เติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงมากกว่าโหลหมักที่เติมเชื้อราชนิดอื่นและไม่เติมเชื้อรา แต่ถึงอย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในแต่ละโหลหมัก พบว่ามีค่าสูงกว่า 20 ต่อ 1 แสดงว่าฟางข้าวที่หมักได้ยังไม่สามารถไปใช้เป็นปุ๋ยหมักได้ ซึ่งโดยทั่วไปปุ๋ยหมักที่ใช้ได้จะต้องมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำกว่า 20 ต่อ 1 การที่ฟางข้าวมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงกว่า 20 ต่อ 1 อาจเนื่องมาจากมีการเติมแหล่งไนโตรเจนไม่เพียงพอ โดยทั่วไปการย่อยสลายเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ซึ่งมีปริมาณไนโตรเจนค่อนข้างต่ำ จะต้องมีการเติมปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มเข้าไป ทั้งนี้ เนื่องจากในกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุนั้นจุลินทรีย์จะนำเอาคาร์บอนส่วนหนึ่งไปใช้ในการสร้างเซล และอีกส่วนหนึ่งไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน แต่ในการ

สร้างเซลจุลินทรีย์ต้องใช้ธาตุไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหาร ดังนั้น ถ้าต้องการจะให้กระบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จะต้องมีการเติมไนโตรเจนเพิ่มเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสม (Reuszer, 1957; Gray และคณะ, 1971; Hays, 1973; Taigamides, 1977) เช่น เติมแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2 SO_4$ 0.67 เปอร์เซ็นต์ หรือแอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_4) 0.72 เปอร์เซ็นต์ หรือยูเรีย (N_2H_4CO) 0.64 เปอร์เซ็นต์ หรือแคลเซียม-ไซยาไนด์ ($CaCN_2$) 1.11 เปอร์เซ็นต์ (Reuszer, 1957), แอมโมเนียมไนเตรต 2.2 ถึง 4.4 เปอร์เซ็นต์ (Toth, 1973) แอมโมเนียมซัลเฟต 2 เปอร์เซ็นต์ (สมศักดิ์ วังใน, 2528), ยูเรีย 1.0 ถึง 1.5 เปอร์เซ็นต์ (ปรัชญา ธัญญาดี, 2523), แคลเซียมไซยาไนด์ 5 เปอร์เซ็นต์ (Nishio และ Kusano, 1980) และแอมโมเนียมซัลเฟต 1 เปอร์เซ็นต์ (สุพจน์ เรืองฤทธินนท์ และคณะ, 2525) และนอกจากนี้ พบว่าในการย่อยสลายเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง ๆ เช่น ฟางข้าวซึ่งมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 90 หรือซานอ้อยซึ่งมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 146 จะต้องมีการเติมไนโตรเจนเพิ่มเข้าไปเพื่อทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเริ่มต้นเท่ากับ 40 ต่อ 1 ซึ่งมีผลทำให้กระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว (Daji และ Iyengar, 1971) ดังนั้น ในการศึกษาการย่อยสลายฟางข้าวในการทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกใช้เชื้อรา 2 สายพันธุ์ คือ เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน อุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน จะเพิ่มสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปมีการย่อยสลายสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรตเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ทำให้การปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินซึ่งอยู่ในรูปความร้อนออกมา (Gray และคณะ, 1971) และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีก พบว่าอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวจะเปลี่ยนไปไม่มากนัก ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจาก

เชื้อจุลินทรีย์มีการใช้องค์ประกอบที่ย่อยสลายของฟางข้าวหมดแล้ว คงเหลือแต่องค์ประกอบที่ย่อยสลายยาก ดังนั้น เชื้อจุลินทรีย์จึงต้องมีการผลิตเอนไซม์ขึ้นมาย่อยสลายองค์ประกอบเหล่านี้ (สมศักดิ์ วังใน, 2528) ทำให้กิจกรรมในการย่อยสลายฟางข้าวลดลง มีผลให้มีการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินในรูปความร้อนออกมาน้อย เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะเห็นได้ว่าการเติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในโหลหมักฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียม-ไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ จะลดลง ซึ่งอาจเนื่องมาจากในช่วงแรกของหมักนี้เชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวและเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมเข้าไปมีการใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ทำให้เกิดกรดอินทรีย์ (organic acid) หลายชนิด ซึ่งอาจเป็นกรดที่ระเหยง่าย หรือกรดที่ระเหยยากรวมกัน แล้วมีผลทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวลดลง (Gray และคณะ, 1971) หรืออาจเกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชั่น (nitrification) เนื่องจากมีการเติมแอมโมเนียมไนเตรต ทำให้มีกรดไนไตรต์และกรดไนตริกเกิดขึ้น (Alexander, 1977) และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากกรดที่ระเหยง่ายระเหยไปหมดแล้ว ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถใช้กรดอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารได้ จึงทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวสูงขึ้นตามลำดับ เมื่อหมักฟางข้าวไว้เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียม-ไนเตรต 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน มีผลต่อการเปลี่ยน

แปลงความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ความชื้นของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน จะเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้ อาจเนื่องด้วยในกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุ ผลผลัพธ์สุดท้ายจะได้น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นตัวการสำคัญให้เกิดความชื้น (Kershaw, 1968; Cardenas และ Varro, 1973) และเมื่อหมักฟางข้าวต่ออีกระยะเวลาหนึ่งจะมีการสูญเสียความชื้นโดยการระเหย เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าความชื้นของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นของฟางข้าวเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กันจะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวและเชื้อราที่เติมเข้าไปมีการย่อยสลายองค์ประกอบของฟางข้าวซึ่งอยู่ในรูปที่ย่อยสลายง่ายก่อน และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวจะลดลงอย่างช้า ๆ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ต้องมีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสมาย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบของฟางข้าวที่ย่อยสลายยาก (สมศักดิ์ วังใน, 2528) เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคารับอนของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กันจะเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากในฟางข้าวมักมีจุลินทรีย์พวกที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวและเชื้อราที่เติมเข้าไป สามารถนำเอาอนินทรีย์ไนโตรเจนไปใช้ในการสังเคราะห์เซล (Reuszer, 1957; Gray และคณะ, 1971) และจุลินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะสัมผัสอยู่กับฟางข้าว ดังนั้น เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวจะพบว่าสูงขึ้น เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตต่างกัน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคารับอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน อัตราส่วนคารับอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน จะลดลง อาจเนื่องมาจากฟางข้าวมีปริมาณคารับอนลดลง ขณะที่ไนโตรเจนมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าอัตราส่วนคารับอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ

ต่างกัน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน ปริมาณโปตัสเซียม-ออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไน-เตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน จะลดลง อาจเนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวและเชื้อราที่เติมเข้าไป มีการใช้ธาตุโปตัสเซียมในการเจริญเติบโตและกระบวนการอื่น ๆ (พิทยากร ลิ่มทอง และปรีดี ดีรักษา, 2521) และเมื่อพิจารณาปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา แต่เติมโปตัสเซียมออกไซด์ในปริมาณต่างกัน

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 30 วัน ปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ จะเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ ให้มาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น โดยอัตราการปลดปล่อยมีมากกว่าอัตราการนำไปใช้ในการสร้างส่วนประกอบของเซลจุลินทรีย์ (พิทยากร ลิ่มทอง และปรีดี ดีรักษา, 2521) และเมื่อพิจารณาปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ

ฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อราแต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน

ผลของการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสภาวะแวดล้อมในการย่อยสลายฟางข้าวในโหลหมัก เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 5.7 พบว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) เป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้สูง เนื่องจากเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์สามารถทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงมากกว่าโหลหมักที่ไม่เติมเชื้อรา และเมื่อพิจารณาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมที่จะทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงเหลือ 20 ต่อ 1 พบว่าการเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และโหลหมักที่เติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ลดลงเหลือประมาณ 20 ต่อ 1 ขณะที่โหลหมักที่ไม่เติมเชื้อรามีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงกว่า 20 ต่อ 1 เมื่อพิจารณาการเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าผลการทดลองเป็นเช่นเดียวกับการใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 5.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในโหลหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราลดลงต่ำกว่า 20 ต่อ 1 แสดงให้เห็นว่าการใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ก็เป็นการเพียงพอที่จะทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงเหลือประมาณ 20 ต่อ 1

ในการวัดอัตราการย่อยสลายของอินทรียคาร์บอนในเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร อาจทำได้โดยวัดจากปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น (Grossbard, 1979) โดยทั่วไปการย่อยสลายเศษวัสดุที่เป็นสารอินทรีย์ซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบนั้น ปริมาณคาร์บอนของเซลลูโลส 50 ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ จะถูกปลดปล่อยออกมาในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และอีก 25 ถึง 35 เปอร์เซ็นต์ ของคาร์บอนจะถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ในการสังเคราะห์เซลล์ส่วนประมาณคาร์บอนที่เหลืออีก 5 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูป intermediate product (Waksman, 1926) และผลสุดท้ายของการย่อยสลายสารอินทรีย์

เหล่านี้จะได้น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น (Kershaw, 1968; Gray และคณะ, 1971; Cardenas และ Varro, 1973) และจากการศึกษาปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นทุก ๆ 5 วัน ของการหมัก พบว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในโหลหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกัน คือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นระหว่างโหลหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อรากับโหลหมักฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อรา พบว่าโหลหมักที่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นมากกว่าโหลหมักที่ไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการเติมเชื้อราเข้าไปจะช่วยทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสของฟางข้าวเกิดได้เร็วขึ้น จึงมีผลทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ศึกษาการเติมเชื้อรา *Trichoderma* sp. ลงในดินแล้วมีผลทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสในดินเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งยังผลให้มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นเป็นจำนวนมากด้วย (Waksman, 1926) และเมื่อพิจารณาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรตที่เหมาะสมในการทำให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากที่สุด พบว่าการเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 5.0 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นมากกว่าการเติมแอมโมเนียมไนเตรต 2.5 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลของการใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่สูงนี้สอดคล้องกับการใช้แอมโมเนียมไนเตรตในการทำปุ๋ยหมัก เพราะว่าถ้าใช้แอมโมเนียมไนเตรต 5.0 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวจะลดลงมากกว่าการใช้แอมโมเนียมไนเตรต 2.5 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการใช้แอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้การย่อยสลายฟางข้าวเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับที่ได้มีผู้ศึกษาการย่อยสลายฟางข้าว โดยการเติมแคลเซียมไซยาไนด์ หรือแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วมีผลทำให้การสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (รติยา จันทรเทียร, 2526)

จากผลการศึกษาการย่อยสลายฟางข้าวในโหลหมักโดยเติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราพร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณต่างกัน พบว่าการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลง

เหลือประมาณ 20 ต่อ 1 ขณะที่โหลหมักที่ไม่เติมเชื้อรา แต่เติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงเหลือมากกว่า 20 ต่อ 1 ดังนั้น จึงนำผลการทดลองที่ได้มาใช้ในการศึกษาการย่อยสลายฟางข้าวในถังหมักซีเมนต์ ซึ่งเป็นการศึกษาดูความสามารถของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ในการย่อยสลายฟางข้าวที่มีปริมาณมาก

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในถังหมักฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา จะมีอุณหภูมิสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องมาจากจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปมีการใช้องค์ประกอบที่ย่อยสลายง่ายของฟางข้าว เช่น คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งอาหารและแหล่งพลังงาน ทำให้มีการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินในรูปของความร้อนออกมา (Gray และคณะ, 1971; Daji และ Iyengar, 1971) ทำให้อุณหภูมิในถังหมักฟางข้าวสูงขึ้น และหลังจากหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าอุณหภูมิภายในถังหมักฟางข้าวจะลดลง เนื่องมาจากมีการกลับกองปุ๋ยทุก ๆ 5 วัน ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์มีการปรับตัวเพื่อที่จะใช้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ทำให้มีการปลดปล่อยพลังงานส่วนเกินในรูปความร้อนออกมาน้อย (Eastwood, 1952; Gray และคณะ, 1971; Daji Iyengar, 1971; Finstein และ Morris, 1975) เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าอุณหภูมิภายในถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรา ทำให้อุณหภูมิภายในถังหมักฟางข้าวเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไปสามารถใช้กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ประกอบกับกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นเป็นกรดระเหยง่าย ทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวสูงขึ้นตามลำดับ (Daji และ Iyengar, 1971; Hays, 1973) และเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน

พบว่าความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าวเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรามีความชื้นของฟางข้าวสูงขึ้น เนื่องมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ซึ่งผลสุดท้ายจะได้น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น (Gray และคณะ, 1971; Cardenas และ Verro, 1973) แต่หลังจากหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าความชื้นของฟางข้าวจะลดลงเล็กน้อย เนื่องมาจากมีการกลับฟางข้าวในถังหมักทุก ๆ 5 วัน ประกอบกับมีการสูญเสียความชื้นของฟางข้าวทางท่อระบายอากาศ เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าความชื้นของฟางข้าวในถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความชื้นของฟางข้าวในถังหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในระหว่างการหมักเมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อรา และไม่เติมเชื้อราจะลดลง เนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวที่เติมเข้าไปมีการใช้องค์ประกอบของฟางข้าวที่ย่อยสลายง่ายก่อน หลังจากนั้นเชื้อจุลินทรีย์จะมีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสมาย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบของฟางข้าวที่ย่อยสลายยาก (สมศักดิ์ วังใน, 2528) เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่า ปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลทำให้ปริมาณคาร์บอนของฟางข้าวในถังหมักลดลงมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อ *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากในฟางข้าวที่กำลังหมักมีจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในฟางข้าวกับเชื้อราที่เติมเข้าไป สามารถนำเอาอินทรีย์ไนโตรเจนมาใช้ในการสังเคราะห์เซล (Reuszer, 1957; Gray และคณะ, 1971) และจุลินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตอยู่ในฟางข้าว ดังนั้นเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าว จะพบว่ามีปริมาณสูงขึ้น และเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะ 25 วัน พบว่าปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนของฟางข้าวเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะลดลง เนื่องมาจากฟางข้าวมีปริมาณคาร์บอนลดลง ขณะที่ไนโตรเจนมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อทำการหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรามีผลทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวลดลงมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะลดลง เนื่องมาจากจุลินทรีย์ในฟางข้าวและเชื้อราที่เติมเข้าไปมีการใช้ธาตุโปตัสเซียมในกระบวนการเจริญเติบโต และกระบวนการอื่น ๆ (พิทยากร ลิ่มทอง และปรีดี ดีรักษา, 2521) เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ของฟางข้าวในถังหมักที่เติม

เชื้อราและไม่เติมเชื้อรา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อรา ทำให้ปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ลดลงมากกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในระหว่างการหมัก เมื่อมีการเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน ปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อราจะเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากรูปที่ไม่มีประโยชน์ ให้มาอยู่ในรูปที่มีประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น โดยอัตราการปลดปล่อยมีมากกว่าอัตราการนำไปใช้สร้างเซลของจุลินทรีย์ (พิทยากร ลิ่มทอง และปรีดี ดีรักษา, 2521) เมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 25 วัน พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อราและไม่เติมเชื้อรา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อราไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ของฟางข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติมเชื้อรา

ผลของการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและสภาวะแวดล้อมในการย่อยสลายฟางข้าวในถังหมักซีเมนต์ เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ได้สรุปไว้ในตารางที่ 5.8 พบว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวและสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในถังหมักซีเมนต์ไม่แตกต่างกับการเปลี่ยนแปลงในโหลหมักฟางข้าวมากนัก แสดงให้เห็นว่าเชื้อราที่เติมเข้าไปมีความสามารถในการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีทั้งในสภาพที่ใช้ฟางข้าวจำนวนมากและฟางข้าวจำนวนน้อย

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อราในถังหมักฟางข้าว พบว่าเมื่อหมักฟางข้าวเป็นระยะเวลา 5 วัน จำนวนเชื้อราในถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) มีจำนวนเพิ่มขึ้นมากกว่าจำนวนเชื้อราในถังหมักฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อรา และเมื่อหมักฟางข้าวต่อไปอีกระยะเวลาหนึ่ง พบว่าจำนวนเชื้อราในถังหมักฟางข้าวจะเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ การที่จำนวนเชื้อราในถังหมักฟางข้าวที่เติมเชื้อรามีมากกว่าจำนวนเชื้อราในถังหมักฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อรา อาจเนื่องมาจากเชื้อราที่เติมเข้าไปมีความสามารถในการย่อยสลายฟางข้าว เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ดีกว่า และเพื่อที่จะยืนยันว่าการเติมเชื้อราที่คัดเลือกได้ มีผลทำให้การย่อยสลาย

ฟางข้าวเกิดขึ้นได้ดีกว่าการไม่เติมเชื้อราจริง จึงได้ทำการแยกชนิดของเชื้อราในระหว่างการหมัก และนำไปศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ พบว่าสามารถตรวจพบเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ตลอดระยะเวลาหมักซึ่งเป็นการแสดงว่าเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์สามารถมีชีวิตรอดได้และแก่งแย่งกับเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติได้ แต่สำหรับถังหมักฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อราจะตรวจพบเชื้อราทั้งสองสายพันธุ์ได้บ้างบางช่วงของการหมัก ซึ่งอาจเป็นผลจากการปนเปื้อน (contaminate) ของสปอร์เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) หรือเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และจากการพิจารณาความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิ-เซลลูโลสของเชื้อราที่เติมเข้าไป พบว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวในถังหมักที่เติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) จะลดลงมากกว่าถังหมักที่ไม่เติมเชื้อรา แสดงว่าการเติมเชื้อราที่คัดเลือกได้จะช่วยทำให้ฟางข้าวถูกย่อยสลายได้ดีกว่าการไม่เติมเชื้อรา

จากการทดลองสรุปได้ว่าเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), และเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) น่าจะเป็นเชื้อราที่สามารถนำมาผลิตเป็นสารตัวเร่ง เพื่อย่อยสลายฟางข้าวในการทำปุ๋ยหมักก็ได้ แต่การปลดปล่อยแร่ธาตุที่จำเป็นกับพืชหลังจากผ่านกระบวนการย่อยสลายและผลของเชื้อราที่จะก่อให้เกิดโรคต่อสิ่งมีชีวิต ยังเป็นเรื่องที่จำเป็นต้องศึกษาต่อไป

ตารางที่ 5.1 สรุปปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30)

สภาวะที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด	*Aspergillus* sp. (A-8)	*Aspergillus* sp. (B-25)	*Humicola* sp. (H-30)
ระยะเวลาในการบ่มเชื้อรา (วัน)	12	12	13
ชนิดของแหล่งไนโตรเจน	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมซีเตรต
อุณหภูมิในการบ่มเชื้อรา (องศาเซลเซียส)	40	40	45
ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าว	4.5	4.5	6.0
ปริมาณสปอร์ (สปอร์/กรัมอาหาร)	2×10^4	2×10^4	2×10^8
ความชื้นของฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)	80	80	77
ขนาดของฟางข้าว (มิลลิเมตร)	5	5	5
ปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต (เปอร์เซ็นต์)	0.8	0.8	0.8
เซลลูเลสแอคติวิตีสูงสุด ($\times 10^5$ หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	12.16	7.84	1.72

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5.2 สรุปปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสสูงสุดของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30)

สภาวะที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสสูงสุด	*Aspergillus* sp. (A-8)	*Aspergillus* sp. (B-25)	*Humicola* sp. (H-30)
ระยะเวลาในการบ่มเชื้อรา (วัน)	12	12	12
ชนิดของแหล่งไนโตรเจน	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมซีเตรต
อุณหภูมิในการบ่มเชื้อรา (องศาเซลเซียส)	40	40	40
ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าว	4.5	4.5	6.0
ปริมาณสปอร์ (สปอร์/กรัมอาหาร)	2×10^4	2×10^4	2×10^4
ความชื้นของฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)	80	80	77
ขนาดของฟางข้าว (มิลลิเมตร)	5	5	5
ปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต (เปอร์เซ็นต์)	0.8	0.8	0.8
ไซลาเนสแอคติวิตีสูงสุด ($\times 10^6$ หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	3.02	3.66	19.92

ตารางที่ 5.3 สรุปปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสสูงสุดของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30)

สภาวะที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสสูงสุด	*Aspergillus* sp. (A-8)	*Aspergillus* sp. (B-25)	*Humicola* sp. (H-30)
ระยะเวลาในการบ่มเชื้อรา (วัน)	12	12	12
ชนิดของแหล่งไนโตรเจน	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมซีเตรต
อุณหภูมิในการบ่มเชื้อรา (องศาเซลเซียส)	40	40	45
ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าว	4.5	4.5	6.0
ปริมาณสปอร์ (สปอร์/กรัมอาหาร)	2×10^4	2×10^4	2×10^8
ความชื้นของฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)	80	80	77
ขนาดของฟางข้าว (ม.ม.)	5	5	5
ปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต (เปอร์เซ็นต์)	0.8	0.8	0.8 , 1.0
คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสแอคติวิตีสูงสุด ($\times 10^5$ หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	18.78	13.82	4.48

ตารางที่ 5.4 สรุปปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสสูงสุดของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30)

สภาวะที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เบตากลูโคซิเดสสูงสุด	*Aspergillus* sp. (A-8)	*Aspergillus* sp. (B-25)	*Humicola* sp. (H-30)
ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (วัน)	12	12	10
ชนิดของแหล่งไนโตรเจน	แอมโมเนียมไนเตรต	แอมโมเนียมซีเตรต	แอมโมเนียมซีเตรต
อุณหภูมิในการบ่มเชื้อรา (องศาเซลเซียส)	40	40	45
ความเป็นกรดเป็นด่างของฟางข้าว	4.5	4.5	6.0
ปริมาณสปอร์ (สปอร์/กรัมอาหาร)	2×10^4	2×10^4	2×10^8
ความชื้นของฟางข้าว (เปอร์เซ็นต์)	80	80	77
ขนาดของฟางข้าว (ม.ม.)	5	5	5
ปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต (เปอร์เซ็นต์)	2.0, 2.5	2.0	2.5, 3.0
เบตากลูโคซิเดสแอคติวิตีสูงสุด ($\times 10^3$ หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	7.30	30.80	12.62

ตารางที่ 5.5 สรุปความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสของเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) เมื่อบ่มเชื้อราเป็นระยะเวลา 12 วัน

ชนิดของเชื้อราที่คัดเลือกได้	เซลลูโลสแอคติวิตี [1] (x 10^5 หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	ไซลาเนสแอคติวิตี [2] (x 10^6 หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	คาร์บอกซีเมทริลเซลลูเลสแอคติวิตี [3] (x 10^5 หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)	เบตากลูโคซิเดสแอคติวิตี (x 10^3 หน่วยต่อกรัมฟางข้าว)
Aspergillus sp. (A-8)	12.16	3.02	18.78	7.30
Aspergillus sp. (B-25)	7.84	3.66	13.82	30.80
Humicola sp. (H-30)	1.08	19.92	3.26	11.14

[1] หน่วยของเซลลูเลสแอคติวิตี คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 1 ไมโครกรัมสมมูลย์ของกลูโคส (glucose equivalent) ในเวลา 1 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดลอง

[2] หน่วยของไซลาเนสแอคติวิตี คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 1 ไมโครกรัมสมมูลย์ไซโลส (xylose equivalent) ใน 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดลอง

[3] หน่วยของคาร์บอกซีเมทริลเซลลูเลสแอคติวิตี คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 20 ไมโครกรัมสมมูลย์ของกลูโคส (glucose equivalent) ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดลอง

[4] หน่วยของเบตากลูโคซิเดสแอคติวิตี คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 25 ไมโครกรัมของออร์โธไนโตรฟีนอล ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดลอง

ตารางที่ 5.6 สรุปผลการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวและสภาวะแวดล้อมภายในโหลหมักที่เปลี่ยนแปลงไปในระยะเวลา 30 วัน เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) ร่วมกับเชื้อรา *Humicola* sp. (H-30) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรต 0.8 เปอร์เซ็นต์

ชนิดของเชื้อรา	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็นกรดเป็นด่าง	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณคาร์บอน (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	ปริมาณโปตัสเซียมออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)
Aspergillus sp. (A-8)	33.56 bc	6.81 a	77.42 a	37.14 f	1.32 a	28.16 e	0.77 d	0.16 a
Aspergillus sp. (B-25)	34.17 ab	6.64 a	76.02 a	38.06 e	1.27 ab	30.01 de	0.79 cd	0.14 a
Humicola sp. (H-30)	34.90 a	6.38 c	75.81 a	38.14 e	1.08 e	35.44 b	0.88 a	0.13 a
Aspergillus sp. (A-8) ร่วมกับ *Aspergillus* sp. (B-25)	32.97 c	6.42 b	77.50 a	38.81 c	1.24 bc	31.36 cd	0.84 abc	0.14 a
Aspergillus sp. (A-8) ร่วมกับ *Humicola* sp. (H-30)	32.80 c	5.99 d	77.37 a	39.06 b	1.19 cd	32.90 c	0.86 ab	0.13 a
Aspergillus sp. (B-25) ร่วมกับ *Humicola* sp. (H-30)	31.20 d	5.76 e	76.10 a	38.42 d	1.14 d	33.73 bc	0.81 bcd	0.12 a
ไม่เติมเชื้อรา	33.10 c	6.14 d	76.17 a	39.64 a	1.06 e	38.52 a	0.82 bcd	0.12 a
Significant difference	*	*	NS	*	*	*	*	NS
C.V. (%)	3.52	5.86	0.99	2.08	7.56	10.53	4.88	7.69

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5.7 สรุปผลการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าว และสภาวะแวดล้อมภายในโหลหมักที่เปลี่ยนแปลงไปในระยะเวลา 25 วัน เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรตในปริมาณที่ต่างกันคือ 1.5, 2.5 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ชนิดของเชื้อราและปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็นกรดเป็นด่าง	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณคาร์บอน (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	ปริมาณโปแตสเซียมออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)
Aspergillus sp. (A-8) + NH_4NO_3 1.5 %	36.10 a	6.55 bc	77.19 a	32.18 i	1.62 e	19.88 cd	0.87 a	0.20 b
Aspergillus sp. (A-8) + NH_4NO_3 2.5 %	38.87 a	6.56 bc	76.24 a	33.88 g	1.87 c	18.13 e	0.83 ab	0.31 a
Aspergillus sp. (A-8) + NH_4NO_3 5.0 %	38.70 a	6.64 ab	78.18 a	38.99 b	2.43 a	16.05 f	0.53 g	0.18 bc
Aspergillus sp. (B-25) + NH_4NO_3 1.5 %	37.27 a	6.78 a	75.42 a	33.14 h	1.58 e	21.00 c	0.74 d	0.17 bc
Aspergillus sp. (B-25) + NH_4NO_3 2.5 %	36.43 a	6.54 bc	76.84 a	35.13 f	1.67 d	21.05 c	0.78 cd	0.13 c
Aspergillus sp. (B-25) + NH_4NO_3 5.0 %	37.20 a	6.48 bc	76.12 a	38.72 c	2.39 a	16.21 f	0.62 f	0.18 bc
ไม่เติมเชื้อรา + NH_4NO_3 1.5 %	36.27 a	6.64 ab	77.06 a	37.15 e	1.24 g	29.99 a	0.82 bc	0.13 c
ไม่เติมเชื้อรา + NH_4NO_3 2.5 %	36.77 a	6.41 c	77.22 a	37.98 d	1.40 f	27.15 b	0.78 cd	0.16 bc
ไม่เติมเชื้อรา + NH_4NO_3 5.0 %	37.83 a	6.38 c	75.31 a	40.88 a	2.20 b	18.59 de	0.67 e	0.14 c
Significant difference	NS	*	NS	*	*	*	*	*
C.V. (%)	4.99	2.29	2.26	8.20	23.62	22.79	14.86	33.33

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5.8 สรุปผลการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวและสภาวะแวดล้อมภายในถังหมักที่เปลี่ยนแปลงไปในระยะเวลา 25 วัน เมื่อเติมเชื้อรา *Aspergillus* sp. (A-8), เชื้อรา *Aspergillus* sp. (B-25) และไม่เติมเชื้อรา พร้อมกับเติมแอมโมเนียมไนเตรต 1.5 เปอร์เซ็นต์

ชนิดของเชื้อรา	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็นกรด เป็นด่าง	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณคาร์บอน (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	ปริมาณโปแตสเซียมออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณฟอสฟอรัสเพนตาออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)
Aspergillus sp. (A-8)	35.40 ab	6.88 a	79.69 a	32.84 c	1.69 a	19.43 b	0.72 a	0.20 a
Aspergillus sp. (B-25)	36.87 a	6.75 a	78.38 a	33.73 b	1.62 b	20.83 b	0.62 b	0.18 a
ไม่เติมเชื้อรา	33.67 b	6.43 b	78.19 a	38.33 a	1.30 c	29.07 a	0.77 a	0.15 a
Significant difference	*	*	NS	*	*	*	*	NS
C.V. (%)	5.69	3.59	1.76	7.29	13.63	19.65	10.00	14.12

NS ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์