วิจารณ์และสรุปผล

จากผลการศึกษา เปรียบเทียบการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว เมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ กัน ได้แก่ น้ำกากส่า แอมโมเนียมไนเตรท กากมันสำปะหลัง และฟางข้าวหมักซึ่งไม่เติมแหล่งไนโตรเจนใด ๆ ตลอดระยะเวลาการหมัก 128 วัน เมื่อวิเคราะห์อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงการย่อยสลายฟางข้าว พบว่า อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวหมักแต่ละโหลหมักแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่า การเติมแหล่งไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ ดังกล่าวทำให้มีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนได้ไม่เท่ากัน และจากผลการทดลอง (รูปที่ 2) พบว่าฟางข้าวหมักเมื่อใส่น้ำกากส่าจะทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงเร็วที่สุดต่ำกว่า 20 ภายในระยะเวลา 30 วัน และสภาพของฟางข้าวเมื่อสิ้นสุดการหมัก มีลักษณะร่วนซุยเป็นดิน มีสีดำ ไม่มีกลิ่น ความเป็นกรดด่างใกล้เคียงความเป็นกลาง ซึ่งเป็นลักษณะปุ๋ยหมักที่สามารถนำไปใช้ได้ยกเว้นที่ฟางข้าวหมักใส่กากมันสำปะหลังและฟางข้าวหมักที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน สภาพของฟางข้าวยังไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก มีกลิ่นฉุน แสดงว่ากระบวนการย่อยสลายยังคงดำเนินอยู่และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงได้ช้ากว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟางข้าวหมักที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนใด ๆ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนจะลดลงช้าที่สุด ดังนั้นในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าวซึ่งมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนกว้าง จำเป็นต้องเติมแหล่งไนโตรเจนให้กับฟางข้าว และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า น้ำกากส่าน่าจะเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีเพราะให้ผลใกล้เคียงกับการใช้แอมโมเนียมไนเตรท จึงนำน้ำกากส่ามาหมักรวมกับฟางข้าวอีกครั้งหนึ่งโดยใช้น้ำกากส่าปริมาณต่าง ๆ กันพร้อมกับทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากฟางข้าวหมักผสมน้ำกากส่าเพื่อนำมาคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายฟางข้าวผสมน้ำกากส่าต่อไป

จากผลการนำฟางข้าวมาหมักรวมกับน้ำกากส่าในปริมาณต่าง ๆ กันคือ 4,500, 3,000, 1,500 กรัม และไม่ใส่น้ำกากส่า ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนให้ผลสรุปดังนี้คือ พบว่า อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลา 7 วันแรก พร้อมกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 3, 4, 5, 6, 7) ในช่วงแรก และพบว่าการใส่น้ำกากส่า 4,500 กรัม ทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงได้เร็วที่สุด (รูป 3) ซึ่งพบปริมาณเชื้อราสูงสุดด้วย และลดต่ำกว่า 20:1

ภายในระยะเวลาประมาณ 50 วัน ในขณะที่ฟางข้าวเมื่อใส่น้ำกากส่าในปริมาณ 3,000 1,500 กรัม ทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงต่ำกว่า 20:1 ภายในระยะเวลา 70 วัน และมากกว่า 110 วัน ตามลำดับ ส่วนฟางข้าวที่ไม่ใส่น้ำกากส่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงช้ามากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากการใส่น้ำกากส่าในปริมาณมากทำให้เพิ่มปริมาณไนโตรเจนมากขึ้น และจุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีจำนวนมากกว่าการใส่น้ำกากส่าปริมาณที่น้อยกว่า มีผลทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำกว่าฟางข้าวเมื่อเติมน้ำกากส่าปริมาณที่น้อยกว่าด้วย และจากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้น้ำกากส่าปริมาณต่าง ๆ กัน ทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสรุปว่า การใส่น้ำกากส่า 4,500 กรัม ทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนลดลงมากที่สุด แต่ถ้ามีการใส่น้ำกากส่ามากกว่านี้โดยให้มีปริมาณไนโตรเจนเพียงพอที่จะปรับค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนให้เหมาะสมเท่ากับ 26:1 ถึง 35:1 อาจทำให้อัตราการย่อยสลายเร็วขึ้น แต่การทดลองนี้ถ้าใส่น้ำกากส่ามากกว่า 4,500 กรัม จะทำให้ฟางข้าวมีความชื้นสูงมากอาจทำให้เกิดสภาพอากาศถ่ายเทได้น้อย ซึ่งจะทำให้อัตราการย่อยสลายช้าลง (Han, 1978; Sircar, 1938) ดังนั้นในทางปฏิบัติควรมีการระเหยน้ำออกจากน้ำกากส่าบางส่วนก่อนนำมาผสมกับฟางข้าวเพื่อให้มีปริมาณสารไนโตรเจนที่สูง

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้ผลสรุปดังนี้ พบว่าฟางข้าวเมื่อใส่น้ำกากส่า 4,500, 3,000, 1,500 กรัม และไม่ใส่น้ำกากส่า จะมีเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นดังนี้ คือแบคทีเรียประมาณ 10^7 เชื้อราประมาณ 10^5 โคโลนีต่อกรัมฟางข้าวหมักเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพบว่าแบคทีเรียเริ่มต้นประมาณ 10^6 เชื้อรา 10^4 และแอคติโนมัยซีส์ 10^3 โคโลนีต่อกรัมฟางข้าวหมัก เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และจากผลการทดลองจะไม่พบเชื้อแอคติโนมัยซีส์เลยตลอดระยะเวลาหมักเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการทดลองของ Goleuke, 1954; Chang & Hudson, 1967 ซึ่งไม่พบเชื้อแอคติโนมัยซีส์เลยที่อุณหภูมินี้ หลังจากหมักนาน 7 วัน จำนวนเชื้อแบคทีเรีย รา แต่ละโหลหมักจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่หลังจาก 15 วัน ปริมาณเชื้อจะลดลงและค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาหมัก เมื่อบ่มเชื้อทั้งที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระยะแรกเชื้อจุลินทรีย์ได้สารอาหารต่าง ๆ และสภาวะที่เหมาะสมจึงเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 7 วัน อุณหภูมิจะสูงขึ้นทำให้เชื้อจุลินทรีย์บางกลุ่มลดแอคทิวิตีลงหรืออาจตายได้ แต่จากการทดลองนี้ทำการหมัก

ฟางข้าวในโหลหมักขนาดเล็ก และได้มีการกลับกองอยู่สม่ำเสมอ อุณหภูมิจึงไม่สูง การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จึงไม่มากนัก การลดลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์หลังจากการหมัก 15 วัน อาจเนื่องมาจากแบคทีเรีย หรือรา อาจมีการสร้างสารปฏิชีวนะ หรือสารพิษและปลดปล่อยออกมาภายนอก สารเหล่านี้อาจยับยั้งการเจริญของเชื้อบางชนิดได้ หรืออาจเกิดสภาวะไม่เหมาะสม เช่น ความเป็นกรดด่างที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดอาจหยุดชงักการเจริญเติบโต พบว่าในฟางข้าวที่ใส่น้ำกากส่า 4,500 กรัม จะมีจำนวนแบคทีเรียสูงสุด และมีปริมาณแบคทีเรียใกล้เคียงกับเมื่อใส่น้ำกากส่า 3000 กรัม รองลงมาคือฟางข้าวที่ใส่น้ำกากส่า 1500 กรัม ส่วนฟางข้าวที่ไม่ใส่น้ำกากส่าจะมีน้อยที่สุด และพบปริมาณเชื้อราสูงสุดในฟางข้าวที่ใส่น้ำกากส่า 4500 กรัม รองลงมาคือฟางข้าวที่เติมน้ำกากส่า 3000, 1500 กรัม ตามลำดับ และฟางข้าวที่ไม่ใส่น้ำกากส่ามีเชื้อราน้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากฟางข้าวที่ใส่น้ำกากส่าในปริมาณมาก ทำให้เพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจนมากขึ้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ทั้งในฟางข้าวและน้ำกากส่าจึงเพิ่มปริมาณมากขึ้นตามไปด้วย จากการศึกษาปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส์ พบว่าปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส์ในฟางข้าวผสมน้ำกากส่า 4,500 กรัม, 3,000, 1,500 กรัม และไม่ใส่น้ำกากส่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส์จะลดลงตลอดระยะเวลาหมัก พบว่าเมื่อหมักนาน 30 วัน จะไม่พบเชื้อแอคติโนมัยซีส์เลยในปุ๋ยหมักฟางข้าวผสมน้ำกากส่า 4,500, 3,000 กรัม และไม่พบในฟางข้าวผสมน้ำกากส่า 1,500 กรัม เมื่อหมักนาน 110 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากแอคติโนมัยซีส์ที่พบในกองปุ๋ยเป็นพวกชอบอุณหภูมิสูง อุณหภูมิในโหลหมักฟางข้าวขนาดเล็กสูงไม่เพียงพอ ประกอบกับเชื้ออื่น ๆ ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางหรือสูงไม่มากนัก มีจำนวนมากขึ้นแย่งอาหาร ทำให้เชื้อแอคติโนมัยซีส์ลดปริมาณลงเรื่อย ๆ แสดงให้เห็นว่าแอคติโนมัยซีส์ไม่สามารถแก่งแย่งในเรื่องอาหารกับแบคทีเรียหรือราได้ หรืออาจมีการสร้างสารพิษปลดปล่อยจากกองปุ๋ย หรือความเป็นกรดในกองปุ๋ยเพิ่มขึ้นจึงทำให้ยับยั้งการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีส์

นอกจากการเติมแหล่งไนโตรเจนให้พอเพียงจะสามารถช่วยเร่งอัตราการย่อยสลายแล้ว ได้มีผู้ศึกษาถึงการนำเชื้อเร่งที่อาจประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดมาใช้ทำปุ๋ยหมักเพื่อเร่งอัตราการย่อยสลาย เชื้อเร่งเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้สั่งมาจากต่างประเทศ ได้แก่ อะโกรแมกซ์ บี 2 เอฟ ไบโอนิค เป็นต้น ซึ่งมีผู้ได้ทดลองนำเชื้อเร่งเหล่านี้ผสมกับฟางข้าว เปรียบเทียบกับฟางข้าวที่ไม่เติมเชื้อเร่งเลย พบว่าอัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (วิศิษฐ์พร, 2529) ทำให้ผู้วิจัยดังกล่าวได้แนวความคิดว่า เชื้อเร่งเหล่านี้สั่งมา

จากต่างประเทศ อาจไม่เหมาะสมกับสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย จึงควรจะมีการแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในประเทศ (วิศิษฐ์พร, 2529) จากแนวความคิดดังกล่าวจึงได้ทำการแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อจากฟางข้าว ผสมน้ำกากส่า เพื่อจะคัดเลือกเชื้อที่สามารถใช้วัสดุฟางข้าวผสมน้ำกากส่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเมื่อพิจารณาจากผลการทดลองหาปริมาณเชื้อในกองปุ๋ยหมักจากฟางข้าวผสมน้ำกากส่า พบว่าเชื้อราน่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายฟางข้าวผสมน้ำกากส่า จึงได้ทำการแยกเชื้อราจากฟางข้าวผสมน้ำกากส่า และนำเชื้อที่แยกได้มาคัดเลือกหาเชื้อราที่สามารถผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสได้สูง โดยเปรียบเทียบกับเชื้อรามาตรฐาน Trichoderma viridae (QM 9414) ซึ่งสามารถคัดเลือกได้ 1 ชนิด คือเชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 เนื่องจากเอ็นไซม์เซลลูเลสประกอบด้วยเอ็นไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน (Tong และคณะ, 1980) ดังนั้นการนำเชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 มาทดสอบการใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน การเจริญเติบโตสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม จึงศึกษาถึงประสิทธิภาพของเอ็นไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ เอ็กโซกลูคาเนส โดยใช้กระดาษกรองเป็นซับสเตรท เอ็นโดกลูคาร์เนส หรือคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส โดยใช้คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสเป็นซับสเตรท และเบตา-กลูโคซีเดส ซึ่งใช้ออร์โธไนโตรเฟนิล-เบตา-ดี-กลูโคไพราโนไซด์ เป็นซับสเตรท

จากผลการศึกษาการใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 สามารถใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งของคาร์บอนได้ดีกว่าแอลฟา-เซลลูโลส โดยสามารถผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด ได้สูงกว่าการใช้แอลฟา-เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 เป็นเชื้อราที่แยกมาจากฟางข้าวซึ่งเป็นเชื้อที่มีตามธรรมชาติทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม

จากผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส และเบตา-กลูโคซีเดส ของเชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 โดยวัดการเจริญของเชื้อราจากปริมาณกลูโคซามีนซึ่งเป็นองค์ประกอบย่อยของไคติน และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์เชื้อรา (Van de Loo, 1976, Cochran และ Vercellotti, 1978) และวัดแอคทิวิตีของเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด ที่ผลิตจากเชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 พบว่า การผลิตเอ็นไซม์-เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส เบตา-กลูโคซีเดสจะเพิ่มมากขึ้นพร้อม ๆ กับการเจริญของเชื้อรา ซึ่งเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญกับการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสของ

เชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 พบว่าจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรง (growth associate) ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผู้ที่เคยศึกษาการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา Aspergillus fumigatus Fresenius (V1) ในอาหารเหลว และพบว่าการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสจะมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับการเจริญของเชื้อรา (นฤมล, 2526)

จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิล-เซลลูเลส และเบตา-กลูโคซีเดส เมื่อใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 จะผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสสูงสุดภายใน 10 วัน และผลิตเอ็นไซม์คาร์บอกซีเมทธิล-เซลลูเลส เบตา-กลูโคซีเดสสูงสุดภายในเวลา 12 วัน การที่เชื้อราใช้เวลานานในการผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด อาจเนื่องมาจากในช่วงแรกของการเจริญเชื้อราสามารถใช้คาร์โบไฮเดรทในรูปที่ย่อยสลายง่ายก่อน จากนั้นจึงผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสขึ้นมาเพื่อใช้ในการย่อยสลายองค์ประกอบที่ย่อยสลายยาก ซึ่งเอ็นไซม์เซลลูเลส component C1 จะย่อยสลายเซลลูโลสได้ long β-1, 4-anhydroglucose chains ซึ่งจะถูกเอ็นไซม์คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส (Cx) ย่อยสลายได้ Cellobiose เกิดขึ้น และเอ็นไซม์เบตา-กลูโคซีเดสจะทำหน้าที่เปลี่ยนต่อไปเป็นกลูโคส (Siu และ Reese, 1953)

จากผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิล-เซลลูเลส และเบตา-กลูโคซีเดส พบว่าเชื้อราหมายเลข 10 จะผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด ได้สูงสุดเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ถ้าบ่มที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้การผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด จะลดลงเช่นเดียวกับมีผู้ทดลองพบว่า Aspergillus aculeatus ที่แยกได้จากดิน จะผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อราหมายเลข 10 เป็นเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic fungi)

จากผลการศึกษาความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส และเบตา-กลูโคซีเดส พบว่า เชื้อราหมายเลข 10 จะผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิดได้สูงสุดเมื่อความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5 และพบว่า ถ้าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 3 การผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิดจะหายไปเช่นเดียวกับการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสของเชื้อรา Aspergillus fumigatus Fresenius (V1) จะลดน้อยลงเมื่อความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงกว่าหรือต่ำกว่า 5 (นฤมล, 2526) และพบว่าที่ความ

เป็นกรดต่างต่ำกว่า 3.5 เอ็นไซม์เบตา-กลูโคซิเดสจะเสียสภาพ และที่ความเป็นกรดต่างต่ำกว่า 3 เอ็นไซม์เซลลูเลสจะหายไป (Mendels & Sternberg, 1976)

จากผลการศึกษาปริมาณฟางข้าวเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส และเบตา-กลูโคซิเดส พบว่า เชื้อราหมายเลข 10 จะผลิตเอ็นไซม์ 3 ชนิด ได้สูงสุด เมื่อใช้ฟางข้าว 2.5 กรัม เป็นแหล่งคาร์บอน แสดงว่าฟางข้าวปริมาณดังกล่าวจะมีปริมาณเซลลูโลสที่เหมาะสมที่จะเหนี่ยวนำให้มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ได้สูงสุด

จากผลการศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส และเบตา-กลูโคซิเดส พบว่า เชื้อราหมายเลข 10 จะผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลสได้สูงสุดเมื่อใช้โพลีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยผลิตได้เท่ากับ $4.3x10^1$, $8.4x10^1$ หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และจะผลิตเอ็นไซม์เบตา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดเท่ากับ $23.5x10^1$ หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อใช้น้ำกากส่าเป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อใช้ปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากผลการทดลองนี้จึงได้ทำการเปรียบเทียบการใช้น้ำกากส่าและโพลีเปปโตนในปริมาณต่าง ๆ กันเป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้น้ำกากส่าให้มีปริมาณไนโตรเจน 0.137 กรัม จะผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส และเบตา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดเท่ากับ $4.82x10^1$, $8.7x10^1$ และ $44.2x10^1$ หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสูงกว่าการใช้โพลีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนซึ่งจะผลิตได้สูงสุดเท่ากับ $4.3x10^1$, $8.4x10^1$ และ $4.68x10^1$ หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อใช้โพลีเปปโตนให้มีปริมาณไนโตรเจน 0.05 กรัม ซึ่งถ้าปริมาณไนโตรเจนของน้ำกากส่าสูงหรือต่ำกว่า 0.137 กรัม หรือปริมาณไนโตรเจนของโพลีเปปโตนสูงหรือต่ำกว่า 0.05 กรัม การผลิตเอ็นไซม์ทั้ง 3 ชนิด จะลดลง

จากผลการทดลองดังกล่าวพอสรุปได้ว่า เชื้อราที่คัดเลือกได้หมายเลข 10 สามารถใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนในปริมาณฟางข้าวเท่ากับ 2.5 กรัม และใช้น้ำกากส่าเป็นแหล่งไนโตรเจนในปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.137 กรัม ความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส คาร์บอกซีเมทธิล-เซลลูเลส และเบตา-กลูโคซิเดสได้สูงสุด

และจากผลการจำแนกชนิดพบว่า เชื้อราหมายเลข 10 คือเชื้อ Aspergillus sp. ได้ทำการนำเชื้อรา Aspergillus sp. ที่คัดเลือกได้นี้เติมลงในโหลหมักฟางข้าวผสมน้ำกากส่าปรับสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมกับเชื้อรา Aspergillus sp. ตามผลการทดลองข้างต้น ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจน ปริมาณเชื้อราทั้งหมด และที่เติมลงไป ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

จากการนำเชื้อรา Aspergillus sp. ที่แยกและคัดเลือกได้มาประยุกต์ใช้ในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าวโดยมีน้ำกากส่าเป็นแหล่งไนโตรเจน และได้ปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับเชื้อตามที่ทดลองมาเบื้องต้น ศึกษาหาอัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวหมัก พบว่า ฟางข้าวผสมน้ำกากส่าใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ฟางข้าวผสมน้ำกากส่าอย่างเดียว ฟางข้าวผสมแอมโมเนียมไนเตรทใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ฟางข้าวผสมแอมโมเนียม-ไนเตรทเพียงอย่างเดียว ฟางข้าวใส่เชื้อรา Aspergillus sp. เพียงอย่างเดียว และฟางข้าวไม่ได้ใส่ทั้งเชื้อรา Aspergillus sp. และแหล่งไนโตรเจน มีอัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนลดลงตลอดระยะเวลาหมัก (ตารางที่ 9) เนื่องมาจากปริมาณการรับอนที่ลดลง และไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น และเมื่อนำข้อมูลของอัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนตลอดระยะเวลาหมัก 40 วัน มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ (ตารางที่ 10) สรุปได้ว่า ในช่วง 25 วันแรก การใส่เชื้อ Aspergillus sp. ลงในฟางข้าวผสมน้ำกากส่ามีผลทำให้อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนต่ำกว่าการไม่ใส่เชื้อรา Aspergillus sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อหมักฟางข้าวนาน 40 วัน อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนของฟางข้าวผสมน้ำกากส่าใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ไม่แตกต่างจากฟางข้าวผสมน้ำกากส่าไม่ใส่เชื้อรา Aspergillus sp. เมื่อทดสอบโดยทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระยะแรกเชื้อรา Aspergillus sp. ที่ใส่ลงไปสามารถใช้น้ำกากส่าเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญได้ดีกว่าเชื้ออื่น ๆ ดังจะเห็นได้จากปริมาณเชื้อรา Aspergillus sp. ที่ใส่ลงไปในฟางข้าวผสมน้ำกากส่าเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 5 วันแรก (รูปที่ 30) เห็นเป็นเส้นใยสีขาวเต็มโหลหมัก (รูปที่ 31) และเป็น dominant species (รูปที่ 29) จึงทำให้อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนลดต่ำกว่าฟางข้าวผสมน้ำกากส่าโดยไม่ใส่เชื้อรา Aspergillus sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ต่อมาสภาวะแวดล้อมภายในโหลหมักเปลี่ยนแปลงไป เช่น ปริมาณอาหารเริ่มลดลงหรือของเสียที่เป็นพิษเกิดขึ้น หรืออาจเนื่องมาจากเชื้อราบางชนิดที่เจริญขึ้นมาใหม่มีการสร้างสาร

ปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราด้วยกันเอง (เสียงแจ่วและคณะ, 2527) จึงทำให้ปริมาณเชื้อ Aspergillus sp. ลดลง และไม่พบเชื้อรา Aspergillus sp. เมื่อหมักนาน 25 วัน ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติชนิดอื่นเจริญขึ้นมาแข่งขันได้ดีกว่า ในที่สุดจึงพบว่าระยะสุดท้ายของการหมัก 40 วัน อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่การใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ลงในฟางข้าวผสมแอมโมเนียม-ไนเตรทไม่ทำให้อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนแตกต่างจากฟางข้าวผสมแอมโมเนียมไนเตรทไม่ใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ทดลองโดยสถิติ ตลอดระยะเวลาหมัก 40 วัน และปริมาณเชื้อรา Aspergillus sp. ที่ใส่ลงไปในฟางข้าวผสมแอมโมเนียมไนเตรทจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยใน 5 วันแรก หลังจากนั้นจะลดลงตลอดระยะเวลาหมักในขณะที่เชื้อราอื่นเจริญขึ้นมาแทนที่ แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา Aspergillus sp. ไม่สามารถแก่งแย่งหรือ dominate เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่มีอยู่ในสภาพธรรมชาติเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ประกอบกับเชื้อราอื่นที่เจริญขึ้นมาในฟางข้าวผสมแอมโมเนียมไนเตรทใส่เชื้อรา Aspergillus sp. และฟางข้าวผสมแอมโมเนียมไนเตรทโดยไม่ใส่เชื้อรา Aspergillus sp. มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายใกล้เคียงกัน จึงทำให้อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนไม่แตกต่างกันโดยสถิติ ส่วนการใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ลงในฟางข้าวที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน พบว่าในช่วงระยะเวลา 20 วัน อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนจะแตกต่างจากฟางข้าวที่ไม่ใส่ทั้งแหล่งไนโตรเจนและเชื้อรา Aspergillus sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่หลังจากนั้นอัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าเชื้อรา Aspergillus sp. ที่ใส่ลงไปในฟางข้าวที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน ยังคงมีอยู่ในฟางข้าวตลอดการทดลอง 40 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนให้กับฟางข้าว ทำให้เชื้ออื่น ๆ เจริญขึ้นมาไม่มากนัก ประกอบกับเชื้อรา Aspergillus sp. เป็นเชื้อราที่คัดเลือกได้จากฟางข้าว จึงน่าจะเป็น indigenous species ของฟางข้าว ดังนั้นการใส่เชื้อรา Aspergillus sp. ลงไปให้กับฟางข้าวเท่ากับเพิ่มปริมาณเชื้อราในการย่อยสลายฟางข้าวให้มากขึ้น จึงทำให้อัตราส่วนการรับอนต่อไนโตรเจนลดลงต่ำกว่าฟางข้าวที่ไม่ใส่เชื้อราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ต่อมาสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนแปลง เช่น เกิดสารพิษขึ้น หรืออาหารเริ่มลดลง ทำให้ปริมาณเชื้อรา Aspergillus sp. ลดจำนวนลงหลังจากหมักนาน 20 วัน ประกอบกับอาจมีเชื้ออื่นที่แก่งกว่าเจริญขึ้นมาในโหลหมักฟางข้าวที่ไม่ใส่ทั้งแหล่งไนโตรเจนและไม่ใส่เชื้อรา

Aspergillus sp. จึงทำให้ในช่วงระยะเวลา 25 วัน อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่แตกต่างกันโดยทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า ตลอดการทดลอง 40 วัน การใส่แหล่งไนโตรเจนให้กับฟางข้าวทำให้อัตราการย่อยสลายดีกว่าการไม่ใส่แหล่งไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 (ตารางที่ 10) ทั้งนี้เนื่องมาจากในการย่อยสลายฟางข้าวนั้นจุลินทรีย์จะใช้ธาตุคาร์บอนในฟางข้าวเป็นแหล่งพลังงาน และในขณะเดียวกันเชื้อจุลินทรีย์จะมีการใช้ธาตุไนโตรเจนในการเจริญเติบโตด้วย ผลการทดลองได้ผลเช่นเดียวกับ Obrist (1966) ศึกษาเปรียบเทียบอัตราการย่อยสลายฟางข้าว โดยการเพิ่มธาตุอาหารบางชนิดกับการใส่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟางข้าว พบว่า การเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์เข้าไปในกองปุ๋ยไม่มีความจำเป็นมากนัก แต่การใส่ธาตุอาหารบางชนิด เช่น แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย จะมีความจำเป็นต่อยบวนการย่อยสลายฟางข้าวอย่างมาก จากผลการทดลองยังพบว่า แอมโมเนียมไนเตรทให้ผลดีกว่าน้ำกากส่าในช่วง 5 วันแรก หลังจากนั้นเมื่อหมักเป็นระยะเวลานาน 25 วัน น้ำกากส่าให้ผลดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแอมโมเนียมไนเตรทอยู่ในรูปที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ทันที ในขณะที่น้ำกากส่าเป็นอินทรีย์ไนโตรเจนต้องใช้เวลาในการเปลี่ยนให้เป็นอนินทรีย์ไนโตรเจนก่อนจึงทำให้ระยะเวลาในการย่อยสลายนานขึ้น แต่เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 40 วัน การใช้แอมโมเนียมไนเตรท หรือน้ำกากส่าเป็นแหล่งไนโตรเจนให้ผลไม่แตกต่างกันโดยสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ดังได้กล่าวไว้ข้างต้น แต่ก็แสดงให้เห็นว่าน้ำกากส่าซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนแทนแอมโมเนียมไนเตรทซึ่งมีราคาแพงได้เป็นอย่างดี