การออกแบบถังหมัก TOWER BIOREACTOR เพื่อเพิ่มโปรตีนในการหมักมันสำปะหลังในการหมักสภาพแห้ง

Design on tower bioreactor for protein Euriched cassava in solid state fermentation

โดย

น.ส. รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต

รายงานผลการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปี 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10091

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T100890

คำนำ

ประเทศไทยมีผลผลิตทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของแป้งสูงเช่น มันสำปะหลัง ซึ่งมีมูลค่าการส่งออกต่ำ การพัฒนาคุณภาพเพื่อเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรจึงมีความสำคัญ วิธีหนึ่งที่กำลังเป็นที่สนใจคือ การเพิ่มปริมาณโปรตีนด้วยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์ โดยเชื้อราและยีสต์ และขบวนการที่เหมาะสมที่จะส่งเสริมให้กสิกรนำมันสำปะหลังที่ปลูกได้มาหมัก ควรเป็นขบวนการหมักที่ใช้น้ำน้อย ซึ่งเรียกว่า Solid Substrete Fermentation (SSF)

จรูญและคณะ (2529) ได้ทดลองหมักมันสำปะหลังแบบต่าง ๆ เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังพบว่า แบบที่เหมาะสมสำหรับที่จะนำไปใช้ทางอุตสาหกรรมควรเป็นแบบ Koji-type bioreactor (concrete type) ซึ่งให้ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยถึง 10.3% (จากเดิม 3-4%) แต่ก็มีปัญหาเรื่องระบบการให้ความชื้น, การระบายความร้อน และการกวน หรือการคลุกผสมไม่เหมาะสม

การวิจัยเพื่อพัฒนารูปแบบของเครื่องมือให้เป็นระบบปิด (closed system) โดยออกแบบให้มีระบบควบคุมความชื้นให้เหมาะสม มีการระบายความร้อนที่เกิดขึ้นได้ดี การให้อากาศอย่างทั่วถึง รวมทั้งการถ่ายเทกาซออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดีด้วย จะสามารถช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวเพื่อให้เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ต่อไปดังนั้น วัตถุประสงค์ของโครงการคือ

1. ศึกษาเวลาของการนึ่งมันสำปะหลังสดและมันเส้นแห้งที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนด้วยการหมัก
2. ออกแบบเครื่องหมัก Tower Bioreactor อย่างง่าย ๆ
3. ทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องหมักที่ออกแบบขึ้นต่อการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน

RCH
SB
211
.C3
ส623ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....100890
วัน,เดือน,ปี.....22 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเพิ่มคุณภาพของมันสำปะหลังโดยการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน
2. เครื่องมือดังกล่าวสามารถพัฒนาให้เป็น pilot scale เพื่อนำไปใช้ในระดับหมู่บ้านของเกษตรกรที่เป็นแหล่งปลูกมันสำปะหลัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

การตรวจเอกสาร

ประเทศไทยได้พยายามหลายวิธีการที่จะพัฒนาการใช้ประโยชน์ของมันสำปะหลัง ในลักษณะอุตสาหกรรมต่าง ๆ เพื่อแก้ปัญหาหรือรองรับปัญหาเมื่อผลผลิตมีปริมาณมาก และล้นตลาด (วิเชียร, 2529) การเพิ่มโปรตีนมันสำปะหลัง โดยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์จึงเป็นการพัฒนาคุณภาพมันสำปะหลัง และเป็นการส่งเสริมให้มีการใช้มันสำปะหลังมากยิ่ง ๆ ขึ้น โดยการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรทให้เป็นโปรตีน

ส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรทย่อยง่ายในมันเส้น มีอยู่ประมาณ 86.47% (อุทัยและคณะ, 2529) มันสำปะหลังที่ใช้จะเป็นชนิดขม (Bitter type) หรือที่เรียกว่า "มันแป้ง" หัวมันชนิดนี้มีเปอร์เซนต์แป้งสูง เนื้อหยาบ ไม่เหนียว รสค่อนข้างขมซึ่งเกิดจากปริมาณกรดไฮโดรไซยานิค ที่มีอยู่มักใช้ทำผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังในรูปต่าง ๆ เช่น ทำแป้ง เลี้ยงสัตว์ เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2520)

Hesseltine (1977) ได้นิยาม Solid State Fermentation ว่าเป็นการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหาร (Substrate) ในสภาพของแข็งชื้นที่ไม่ใช่ของเหลว และจำเป็นจะต้องกวน หรือกลับของแข็งชื้นจากด้านล่างขึ้นมาข้างบน

ขบวนการหมักแบบ Solid Substrate Fermentation เป็นขบวนการหมักที่ใช้น้ำน้อยซึ่งเหมาะสมกับสภาพที่มีแหล่งปลูกมันสำปะหลังในประเทศ (จรูญ และจรัญ, 2529) ขบวนการหมักประเภทนี้ขึ้นกับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา การใช้ประโยชน์จากอาหาร (Substrate) การถ่ายเทมวลของออกซิเจนและสารอาหาร และการควบคุมปัจจัยทางกายภาพเช่น อุณหภูมิ ความชื้น และการผสม (Leukevics และคณะ, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

ศุภพงษ์ (2529) ได้กล่าวว่า ปัจจัยทางฟิสิกส์ของระบบเมื่อเริ่มต้นกระบวนการหมัก ความชื้น อุณหภูมิ และคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเฉพาะความเป็นรูพรุน (Porosity) ล้วนมีผลต่อการเจริญของเชื้อรา ส่วนปัจจัยที่ควบคุมได้เช่น ขนาดของวัตถุดิบ ขนาดของถาด ปริมาณความชื้น (Humidity) อัตราการให้อากาศ (Aeration rate) หรือ Spore inoculum นั้นเป็นปัจจัยที่จะต้องควบคุมในระหว่างการหมัก

ความชื้นและการให้อากาศมีความสัมพันธ์ต่อกัน (Cannel และคณะ 1980) จุลินทรีย์จะได้รับอากาศจากช่องว่างภายใน substrate ที่ใช้หมักถ้าชื้นมากเกินไป ช่องว่างของอากาศจะถูกแทนที่ด้วยน้ำ แต่ถ้าความชื้นน้อยเกินไป การเจริญของจุลินทรีย์ก็จะหยุดชะงัก

การกวนจะช่วยระบายความร้อน และช่วยให้การกระจายของสารอาหาร หรือความชื้นทั่วถึง แต่มีข้อเสียคือ จะทำลายเส้นใยของเชื้อรา และบางครั้งอาจจะทำให้ช่องว่างภายในมวล (porosity of mass) ลดลง จึงจำเป็นต้องเลือกระยะเวลาสำหรับการกวนที่เหมาะสมสำหรับการหมักแบบ Solid Substrate Fermentation (Laukevics และคณะ 1984)

ในการหมักแบบ SSF สามารถเลือกใช้ reaction ได้ทั้งแบบ Tray, Windrow, Tower, Bed with recycled conditioned air, Rotating drum stirred tank (Cannel และคณะ 1980)

Laukevics และคณะ (1984) ได้ทดลองเปรียบเทียบผลการหมักแบบ SSF ในเครื่องหมักที่มีการกวนและชั้นที่อยู่นิ่ง (Stationary leyers) พบว่า แบบที่มีชั้นที่อยู่นิ่งจะให้ผลดีที่สุดซึ่งให้ปริมาณโปรตีน 13% เนื่องจากการกวนจะทำให้มวลแน่นขึ้น การถ่ายเทของมวลลดลงและทำลายเส้นใยของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จรูญและจรัญ (2529) ได้ทดลองเปรียบเทียบการหมัก SSF ในแบบต่าง ๆ พบว่าถังหมักแบบที่จะนำไปใช้ทางอุตสาหกรรมควรเป็นแบบ Koji-type bioreactor (concrete tank bioreactor) แต่ต้องมีการพัฒนาระบบการให้ความชื้น และการกวนที่เหมาะสมในขณะที่แบบที่เป็นถังหมักทรงกระบอกหมุนด้วยแรงคนให้เปอร์เซนต์โปรตีนค่อนข้างต่ำ เนื่องจากไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ถึงแม้ว่าจะใช้ลมชื้นเป่าเข้าไป และกลิ้งถังเป็นครั้งคราวแล้วก็ตาม

Boutista (1988) ทำการทดลองหมักมันสำปะหลังกับเชื้อรา Aspergillus niger โดยทำการหมักแบบ Solid Substrate Fermentation เปรียบเทียบระหว่างมันสำปะหลัง มันสำปะหลังซึ่งเติมถั่วเหลือง และมันสำปะหลังซึ่งเติมรำข้าว ปรากฏว่ามันสำปะหลังอย่างเดียวให้โปรตีน 14.5% ใช้เวลาหมัก 40 ชั่วโมง (Harvesting time) ซึ่งเหมาะสมที่สุดสำหรับการเก็บมันหมัก โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจนอัตราส่วน 1:1 ในถังหมักแบบถาดโดยใช้ถาดไนล่อน ความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 95-99% ให้อากาศโดยเป่าลมจากด้านล่างขึ้นด้านบนโดยพัดลม อุณหภูมิเท่ากับ 29-31 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าให้โปรตีนสูงกว่าการหมักในห้องทดลอง โดยการหมักมันสำปะหลังอย่างเดียวให้โปรตีน 23%

ในการออกแบบเครื่องหมัก ตัวแปรที่สำคัญได้แก่ การทำให้ถังหมักเย็นลง การถ่ายเทออกซิเจน และการถ่ายเทมวลระหว่างสารอาหารและจุลินทรีย์ (Chen et. al., 1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และการทดลอง

1. วัสดุและอุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

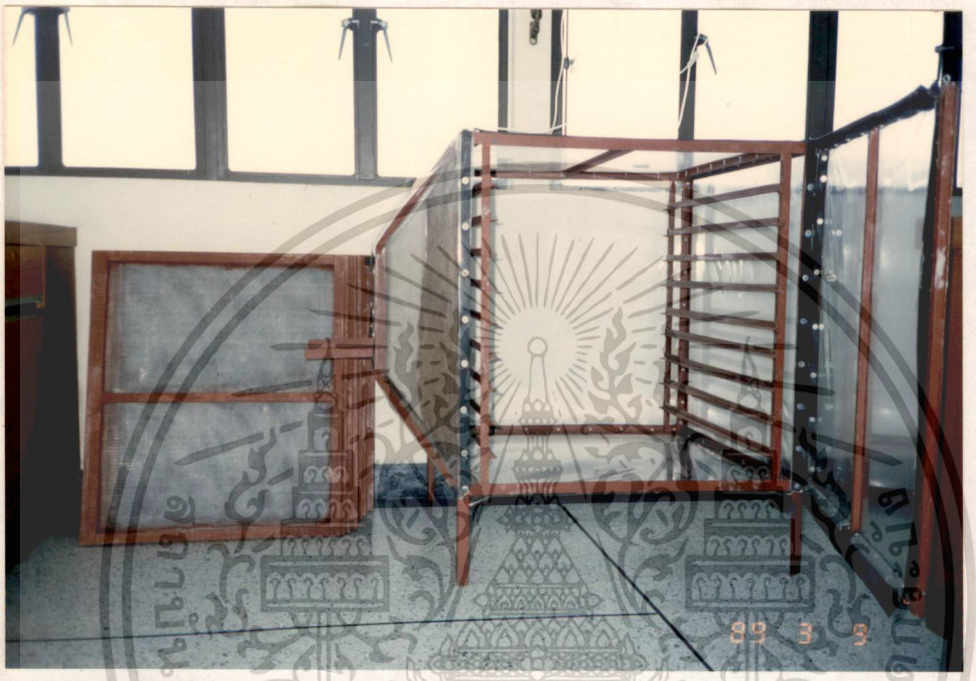
มันสำปะหลังสดที่ใช้ในการทดลอง จะซื้อจากพ่อค้าขายส่งตลาดบางกะปิ โดยใช้ตลอดโครงการ ประมาณ 350 กิโลกรัม และยีสต์ผง

2. อุปกรณ์

1. รังถึง
2. หม้อสแตนเลส
3. ตู้อบแห้งที่มีระบบหมุนเวียนของอากาศร้อน 0-150 องศาเซลเซียส
4. ตะกร้าพลาสติก
5. เทอร์โมมิเตอร์
6. ตัวให้อากาศสำหรับถังหมักขนาดเล็ก
7. เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน
8. เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์
9. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
10. บิเปต
11. กระบอกตวง
12. เดซซิเคเตอร์
13. ถังหมักแบบเทาเวอร์ (tower bioreactor) เพื่อหมักมันสำปะหลังใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาพแห้ง ระบบปิด โครงยึดเป็นเหล็ก หุ้มด้วยแผ่นพลาสติกใส ภายในมีชั้นสำหรับวางถาดเพื่อหมักมันได้ มีช่องสำหรับให้ลมหมุนเวียนอากาศได้มีตัวให้ความชื้นแก่ระบบ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ถังหมักแบบเทาเวอร์ที่สร้างขึ้น

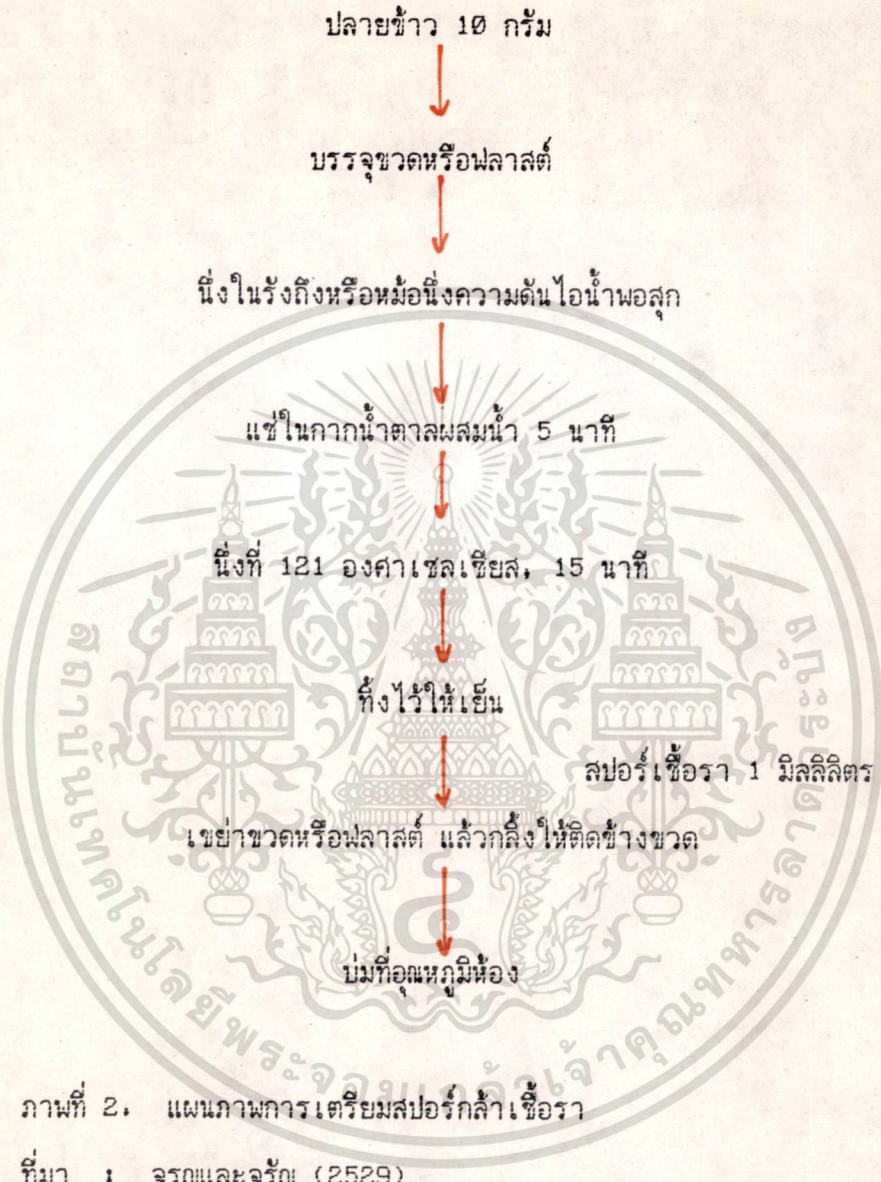
2. <u>การทดลอง</u>

2.1 การเตรียมสปอร์เชื้อรา (จรูญและจรัญ, 2529)

2.1.1 การเตรียมสปอร์กล้าเชื้อ

ชั่งปลายข้าวประมาณ 10-15 กรัม ใส่ฟลาสต์หรือขวดขนาดประมาณ 200-250 มล. เติมน้ำลงไปให้มีความชื้น 30-35 เปอร์เซนต์ นำไปนึ่งให้สุกแล้วนำมาแช่ในกากน้ำตาล ผสมน้ำอัตรา 2 ต่อ 1 เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ นำไปนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ใส่น้ำละลายสปอร์ลงไป 1 มล. (10^{5} เซล) เขย่าให้สปอร์กระจาย แล้วกลิ้งฟลาสต์หรือขวดให้เมล็ดข้าวเกาะติดข้าวฟลาสต์หรือขวดให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิเหมาะสม 4-5 วัน ดังในภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2. แผนภาพการเตรียมสปอร์กล้าเชื้อรา

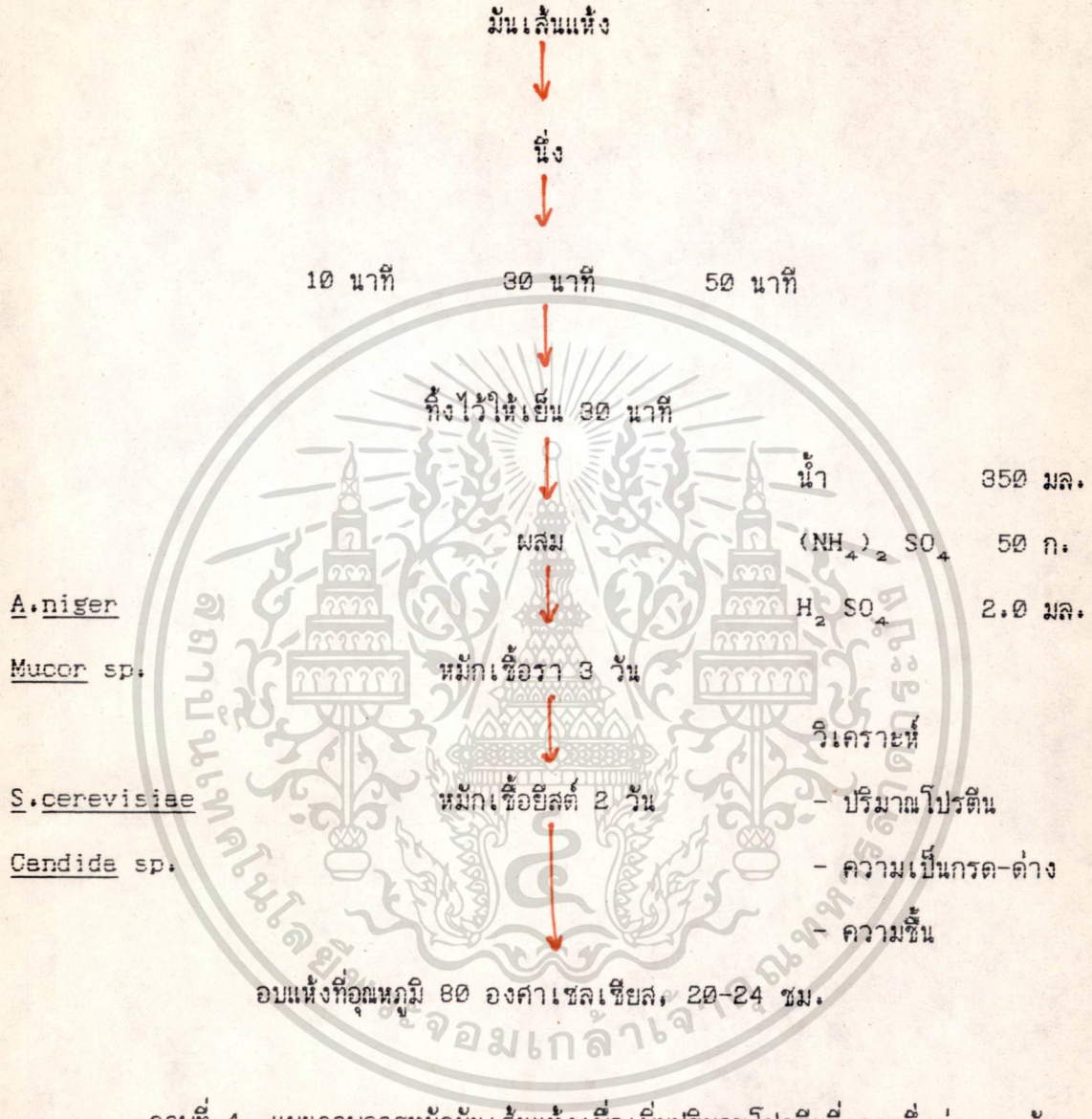
ที่มา : จรูญและจรัญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แผนภาพแสดงวิธีการผลิตสปอร์เชื้อ A.niger และ Mucor sp.

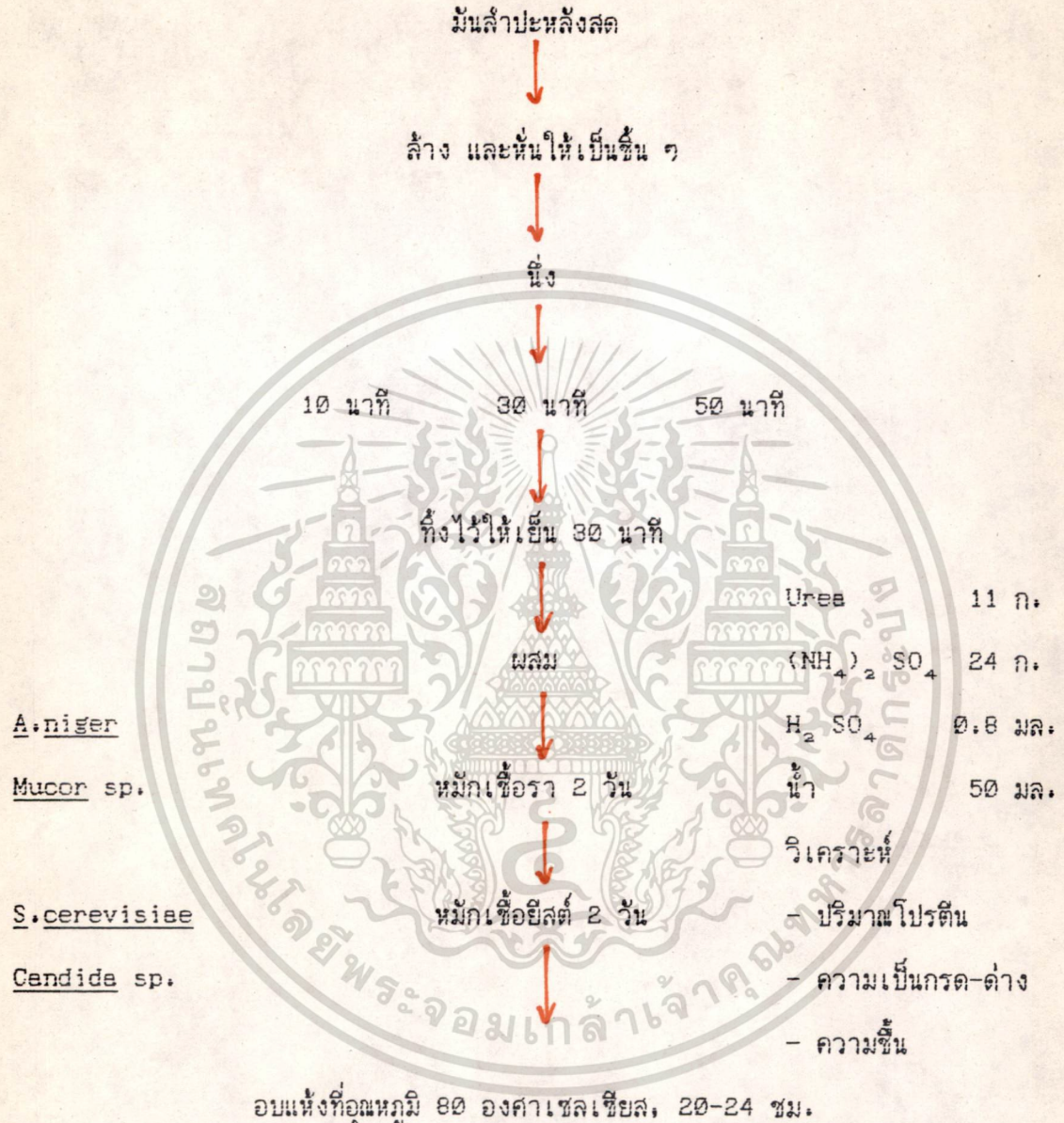
ที่มา : จรูญและจรัญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



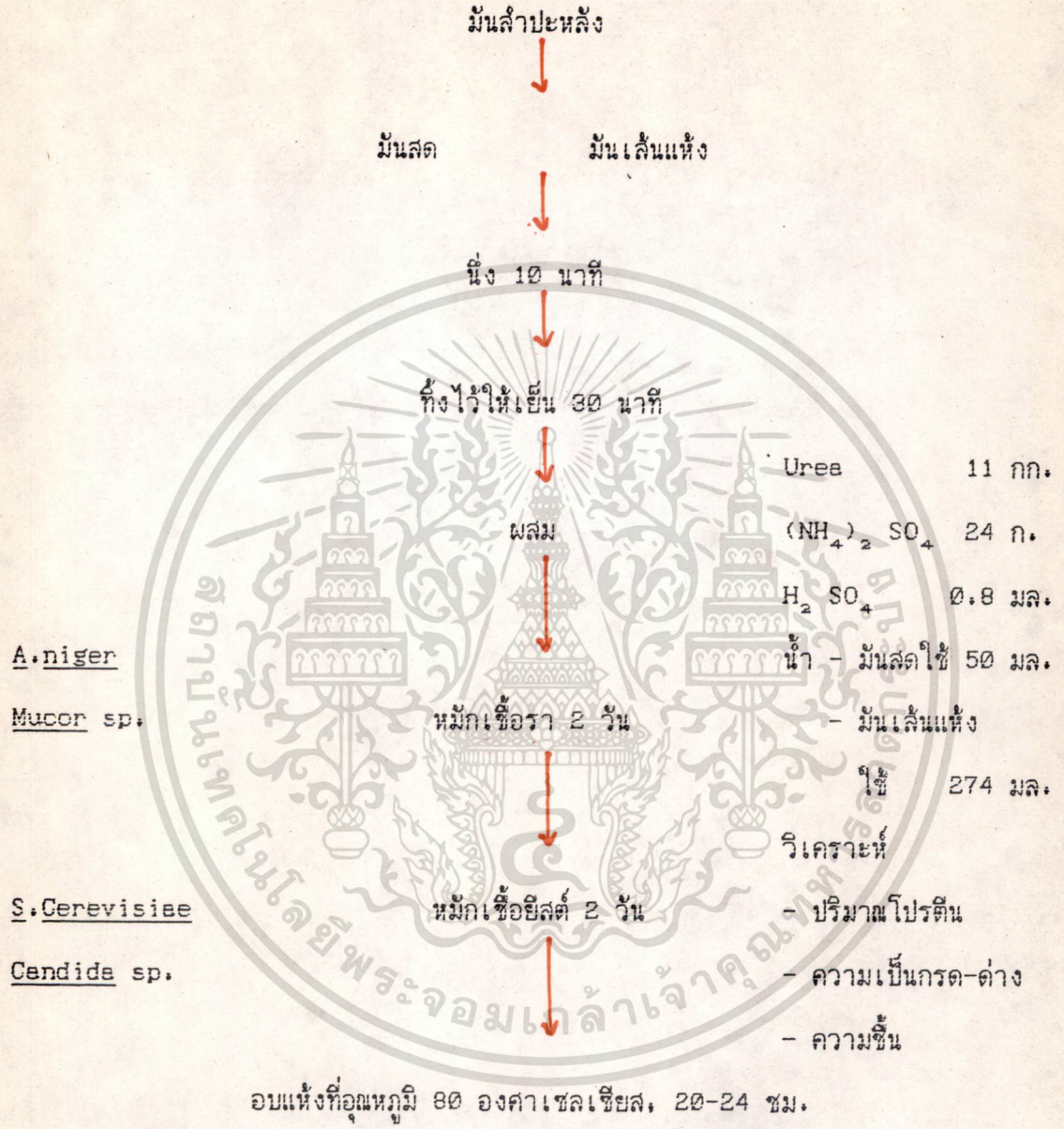
ภาพที่ 4 แผนภาพการหมักมันเส้นแห้งเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนที่เวลานึ่งต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



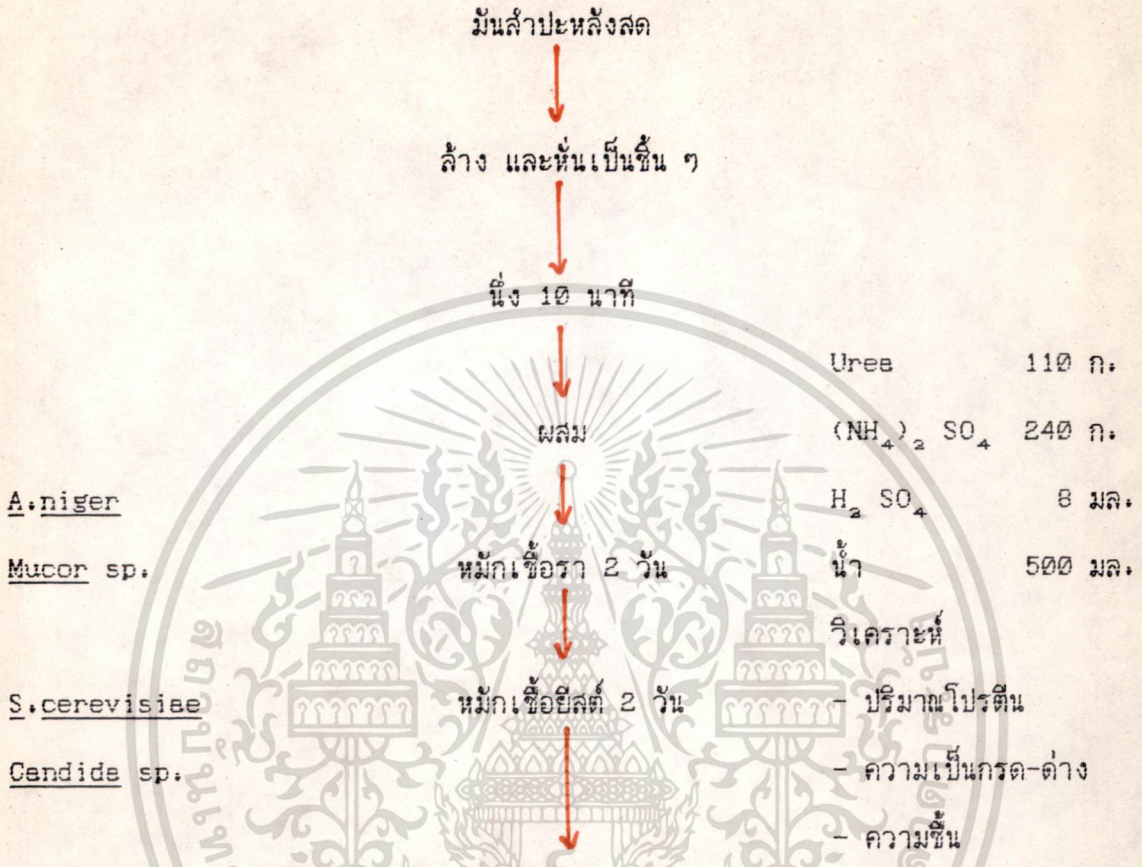
ภาพที่ 5 แผนภาพการหมักมันสำปะหลังสดเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนที่เวลานึ่งต่างๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แผนภาพเปรียบเทียบการหมักมันสดและมันเส้นแห้งเพื่อเพิ่มโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แผนภาพการหมักมันสำปะหลังสดเพื่อเพิ่มโปรตีนในถังหมักขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 ถังหมักขนาดเล็ก

2.1.2 การเตรียมสปอร์

นำปลายข้าวประมาณ 5 กก. มาซาวน้ำให้สะอาด แล้วแช่น้ำทิ้งไว้ 1 ชม. ห่อด้วยผ้าขาวบางแขวนทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ นำมาคลุกด้วยแกลบ 1 เปอร์เซนต์ ใส่ในรังถึงนึ่งให้สุกใช้เวลา ประมาณ 40 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นซึ่งคลุกด้วยสปอร์กล้าเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ถาดอลูมิเนียม ขนาดประมาณ 50x25x2.5 ซม. นำไปบ่มในตู้ความชื้น 4-5 วัน สปอร์จะเกิดขึ้นเต็มผิวหน้านำไปทำแห้งในตู้ 40-45 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งแล้วนำไปบดด้วยเครื่องให้ละเอียดบรรจุถุงพลาสติกปิดปากถุงให้สนิทเพื่อกันความชื้น ดังในภาพที่ 3 ซึ่งจะนำผลที่บดละเอียดนี้ไปใช้ในการทดลองครั้ง ๆ ต่อไป

2.2 ผลของเวลาการนึ่งมันเส้นแห้งต่อปริมาณโปรตีน ที่ได้จากการหมักขั้นตอนการทดลองทั้งหมด ดังแสดงในภาพที่ 4 รายละเอียดดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) ชั่งมันเส้นแห้งมา 3 ชุด ๆ ละ 500 กรัม แล้วนำมานึ่งเป็นเวลา 10, 30 และ 50 นาที ตามลำดับ ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 1/2 ชม.

(2) เตรียมสารอาหาร (medie)โดยละลายแอมโมเนียมซัลเฟต 50 กรัม ในน้ำ 350 มล. ในกะละมังเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 2.0 มล. นำมันสำปะหลังแต่ละชุดในข้อ (1) ผสมกับสารอาหารนี้แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชม. ซึ่งจะทำให้มีความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นก่อนการหมักกับเชื้อรา ประมาณ 3.5-4.0

(3) เติมสปอร์เชื้อรา (Aspergillus niger และ Mucor sp.) ที่เติมจากข้อ 2.1.2 0.5 ก. คลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วใส่มันนี้ลงตะกร้าหมักเกลี่ยให้ผิวหน้าเรียบและมีความสม่ำเสมอ ประมาณ 2 นิ้ว นำไปหมักในถังหมักขนาดเล็ก ดังในภาพที่ 10 เป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ด้วยวิธี Kjeldahl (AOAC, 1984), ความเป็นกรด-ด่าง, ความชื้น (ภาคผนวก ค.) และอ่านค่าอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

(4) เมื่อครบ 3 วันแล้ว เติมกล้าเชื้อยีสต์ (S. cerevisiae และ Candida sp.) ที่เตรียม ดังแสดงในภาคผนวก ก. 25 มล. ต่อมัน 1 ชุด หรือ 500 ก. คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วหมักต่อเป็นเวลา 2 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และอ่านค่าอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

(5) นำมันหมักที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชม.

2.3 ผลของเวลาการนึ่งมันสำปะหลังสดต่อปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมัก (ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการหมักมันสำปะหลังสด)

(1) นำมันสำปะหลังสดมาล้างให้สะอาด นำมาหั่นให้ได้ 2x3 cm^2 หนา 0.5 ซม. แล้วชั่งมันสำปะหลังสดมา 3 ชุด ๆ ละ 500 ก. นำไปนึ่งที่เวลา 10, 30 และ 50 นาที ตามลำดับ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 1/2 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) เตรียมสารอาหาร โดยละลายแอมโมเนียมซัลเฟต 24 ก. และยูเรีย 11 ก. ในน้ำ 50 มล.ต่อมัน 1 ชุด ในกะละมังแล้วเติมกรดซัลฟูริค 0.8 มล. นำมันในข้อ (1) มาผสมกับสารอาหารนี้ แล้วหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชม. ซึ่งความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของมันสำปะหลังนี้จะประมาณ 3.5-4.0

(3) เติมเชื้อรา A.niger และ Mucor sp.) 1 ก. ต่อมันสำปะหลัง 1 ชุด คลุกเคล้าให้ทั่วแล้วเทมันสำปะหลังนี้ใส่ตะกร้าหมัก เกลี่ยให้ผิวหน้าเรียบ ความหนาสม่ำเสมอประมาณ 2 นิ้ว นำไปหมักในถังหมักขนาดเล็กเป็นเวลา 2 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และอ่านค่าอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

(4) เมื่อครบ 2 วัน แล้วกล้ายีสต์ 25 มล. ต่อมันสำปะหลัง 1 ชุด คลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วหมักต่อเป็นเวลา 2 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และอ่านค่าอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

(5) นำมันหมักที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชม.

2.4 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันสำปะหลังสดและมันเส้นแห้ง

จากผลการทดลองที่ได้ในข้อ 2.2 และ 2.3 หาเวลาการนึ่งที่มีผลต่อการเพิ่มโปรตีนได้สูงสุดในมันแต่ละชนิด แล้วเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากมันทั้งสองชนิดนี้ ดังแสดงขั้นตอนการหมักในภาพที่ 6

นำมันสำปะหลังสดมาล้างน้ำให้สะอาด นำไปหั่นให้ได้ขนาด 2x3 cm^2 หนา 0.5 ซม. แล้วชั่งมา 500 ก. พร้อมกับชั่งมันเส้นแห้งมา 226 ก. เพื่อให้น้ำหนักแห้งเท่ากัน นำมันทั้งสองชนิดไปนึ่งเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 1/2 ชม. แล้วนำไปหมักเช่นเดียวกับข้อ 2.3 โดยในสูตรสารอาหารสำหรับมันสำปะหลังสดจะใช้น้ำ 50 มล. ส่วนมันเส้นแห้งจะใช้น้ำ 274 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ทดสอบประสิทธิภาพการหมักของมันสำปะหลังสด เพื่อเพิ่มโปรตีนในถังหมักเทาเวอร์ที่สร้างขึ้น

ภาพที่ 7 แสดงขั้นตอนการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนในถังหมักเทาเวอร์ ดังรายละเอียดต่อไปนี้คือ

(1) ล้างมันสำปะหลังสดให้สะอาด นำมาหั่นเป็นชิ้น ๆ 2x3 cm^2 หนา 0.5 ซม. แล้วชั่งมันสำปะหลังสดมา 9 ชุด ๆ ละ 5 กก. (มันสำปะหลัง 1 ชุด จะใช้หมักบนตะแกรง 1 ชั้น ซึ่งในถังหมักขนาดใหญ่นี้จะมีตะแกรงทั้งหมด 9 ชั้น) นำมันสำปะหลังแต่ละชุดไปนึ่งเป็นเวลา 10 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 1/2 ชม.

(2) ในมันแต่ละชุดเตรียมสารอาหาร โดยละลายแอมโมเนียมซัลเฟต 240 ก. และยูเรีย 110 ก. ในกะละมังซึ่งมีน้ำอยู่ 500 มล. แล้วเติมกรดซัลฟูริค 8 มล. นำมันสำปะหลังในข้อ (1) ผสมกับสารอาหารนี้แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชม. จะทำให้มันสำปะหลังมีความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นประมาณ 3.5-4.0

(3) เติมเชื้อรา (A.niger และ Mucor sp.) 10 ก. ต่อมันสำปะหลัง 1 ชุด คลุกเคล้าให้ทั่วแล้วเทมันสำปะหลังนี้ใส่ตะแกรง เกลี่ยผิวหน้าให้เรียบ ให้มีความสม่ำเสมอประมาณ 1 นิ้ว นำไปหมักในถังหมักขนาดใหญ่เป็นเวลา 2 วัน โดยเปิดพัดลมเพื่อถ่ายเทอากาศและระบายความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักที่ความเร็วลมเบอร์ 1 (1.5 m/s) เก็บตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี biuret (ภาคผนวก ง.) ความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และอ่านค่าอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

(4) เมื่อครบ 2 วัน แล้วเติมกล้ายีสต์ 250 มล. ต่อมันสำปะหลัง 1 ชุด คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วหมักต่อเป็นเวลา 2 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ความเป็นกรด-ด่าง ความชื้น และอ่านค่าอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ทุกวัน

(5) นำมันหมักที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(6) ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนอัตราเร็วลมจากเบอร์ 1 (1.15 m/s) เป็นเบอร์ 2 (1.3 m/s) เพื่อทดสอบว่าการระบายอากาศและความร้อนมากขึ้น จะมีผลต่อการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังหมักอย่างไร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100890

ผลการทดลอง

1. ผลของเวลาการนึ่งมันเส้นแห้งต่อปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมัก

ตารางที่ 1. ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันเส้นแห้งที่ผ่านการนึ่งในระยะเวลาต่าง ๆ กัน*

เวลาของการนึ่ง (นาที)	ปริมาณโปรตีน** (%db)
10	5.9 a
30	1.5 b
50	1.9 b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** วิเคราะห์ด้วย Kjeldahl Method ภายหลังการหมักสิ้นสุดลงในระยะเวลา 115 ชม.

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าโปรตีนที่ได้จากมันเส้นแห้งที่ผ่านการนึ่ง 10 นาที จะมีปริมาณสูงสุด ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับมันหมักที่นึ่ง 30 และ 50 นาที

ภาพที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณโปรตีนในการหมักมันเส้นแห้งที่เวลา 10, 30 และ 50 นาที พบว่า ที่เวลาการหมักผ่านไป 115 ชม. จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด ส่วนความชื้น และอุณหภูมิของมันในถังหมักพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลของเวลาการนึ่งมันสำปะหลังสดต่อปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมัก

จากตารางที่ 2 พบว่า โปรตีนได้จากการหมักมันสำปะหลังสดที่ผ่านการนึ่ง 10 นาที จะให้ปริมาณสูงสุดคือ 24.55% (crude protein) และในทำนองเดียวกันการหมักเพิ่มโปรตีนในมันเส้นแห้ง ความชื้นของมัน และอุณหภูมิ มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยดังแสดงในภาพที่ 10

ตารางที่ 2. ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันสำปะหลังสดที่ผ่านการนึ่งที่ระยะเวลาต่างๆ กัน*

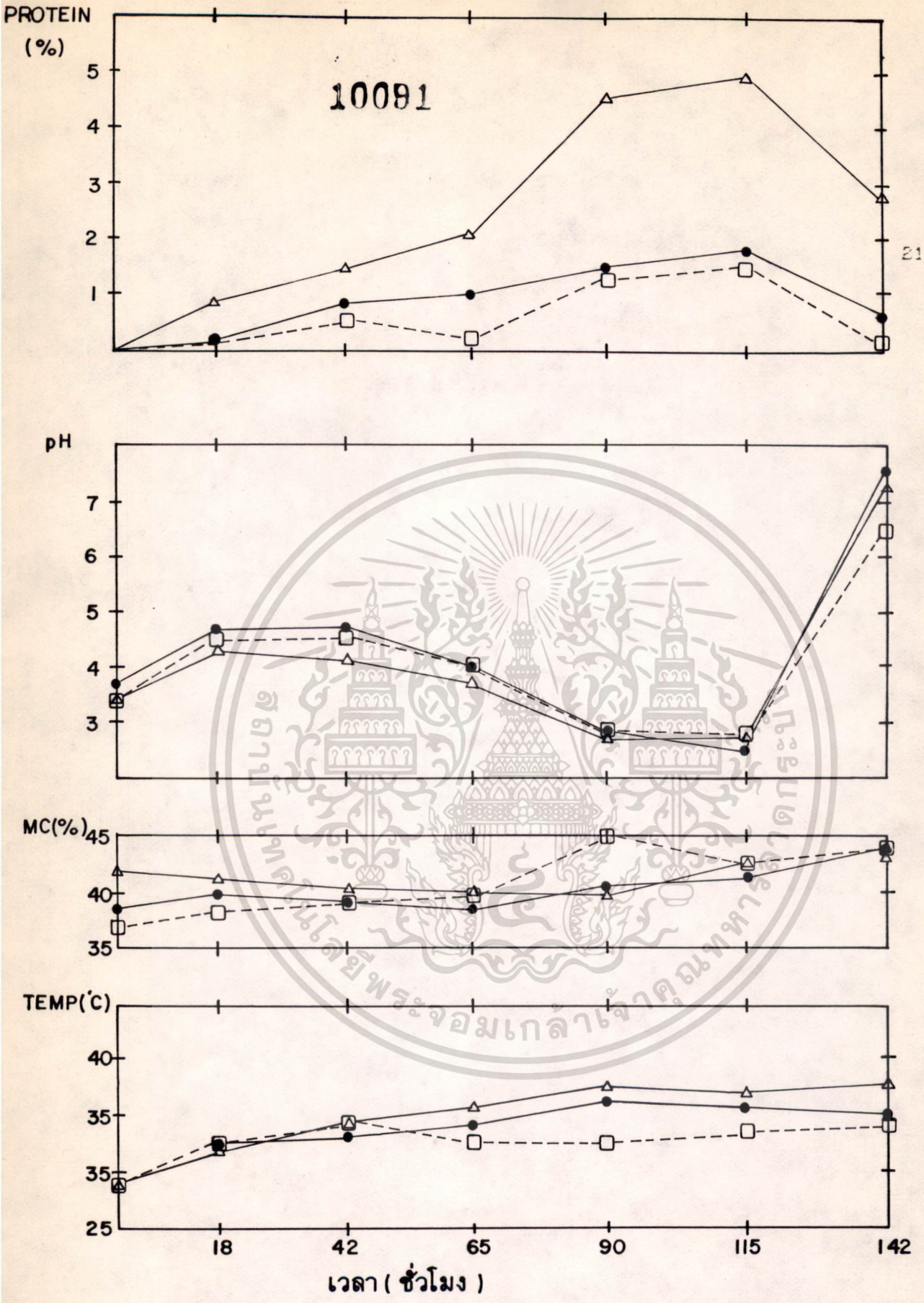
เวลาของการนึ่ง (นาที)	ปริมาณโปรตีน** (%db)
10	24.55 a
30	17.39 b
50	23.30 b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** วิเคราะห์ด้วย Kjeldahl Method ภายหลังการหมักสิ้นสุดลงในระยะเวลา 115 ชม.

จากผลการทดลองพบว่า การเพิ่มโปรตีนของมันสำปะหลังทั้งสองชนิดที่ผ่านการนึ่งที่เวลา 10 นาที จะให้ค่าสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

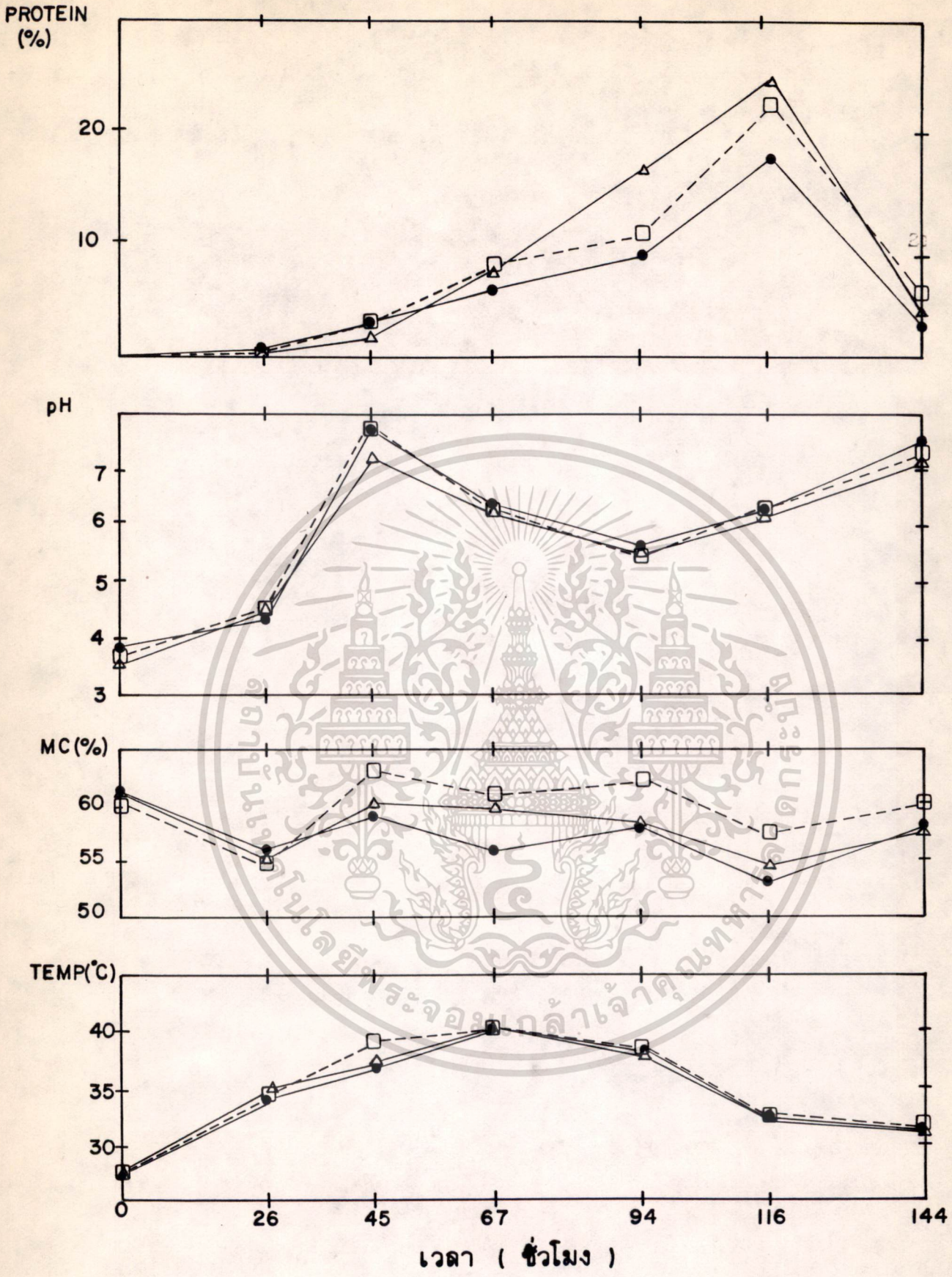


ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น pH และปริมาณโปรตีนในการหมักมัน

เส้นแท้งที่เวลานึ่ง 10 นาที 30 นาที และ 50 นาที

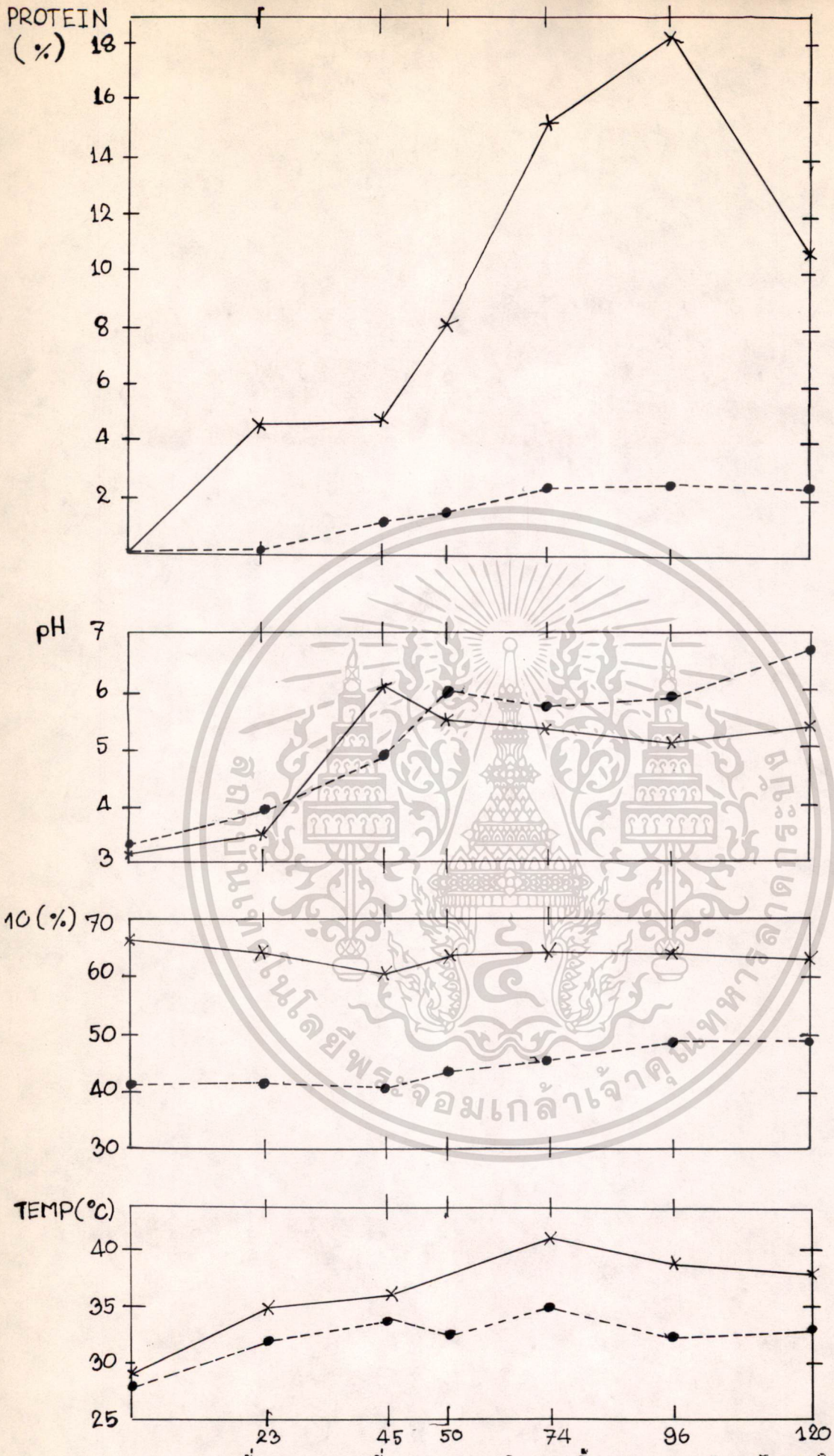
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง



ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความชื้น pH และปริมาณโปรตีนในการหมักมันสดที่เวลานึ่ง 10 นาที 30 นาที และ 50 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น pH และปริมาณโปรตีนในการหมักมันเส้นแห้ง และมันสด ที่สภาวะเดียวกันโดยใช้เวลานึ่ง 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันสำปะหลังสดและเส้นแห้ง

จากการทดลองพบว่า ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันสำปะหลังสดจะให้ปริมาณสูงกว่าจากการหมักมันเส้นแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ภาพที่ 11 ยังแสดงให้เห็นว่า ปริมาณความชื้นของมันเส้นแห้งนั้นน้อยกว่าของมันสด และอุณหภูมิซึ่งแสดงถึงกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ก็ต่ำกว่าด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ว่า ปริมาณโปรตีนของมันเส้นแห้งมีค่าน้อยกว่าของมันสดนั่นเอง

ตารางที่ 3. ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันสำปะหลังสด และมันเส้นแห้งที่ผ่านการนึ่ง 10 นาที*

ชนิดของมันสำปะหลัง	ปริมาณโปรตีน** (%db)
มันสด	17.15 a
มันเส้นแห้ง	3.53 b

* ตัวอักษรต่างกันแสดงว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** เปอร์เซนต์โปรตีนโดยน้ำหนักหลังจากการหมักสิ้นสุดลงในระยะเวลา 96 ชม.วิเคราะห์ด้วย Kjeldahl Method

ดังนั้นจากผลการทดลองที่ผ่านมาจึงสรุปได้ว่า ควรจะใช้มันสำปะหลังสดที่ผ่านการนึ่ง 10 นาที เนื่องจากให้ปริมาณโปรตีนหลังการหมักสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

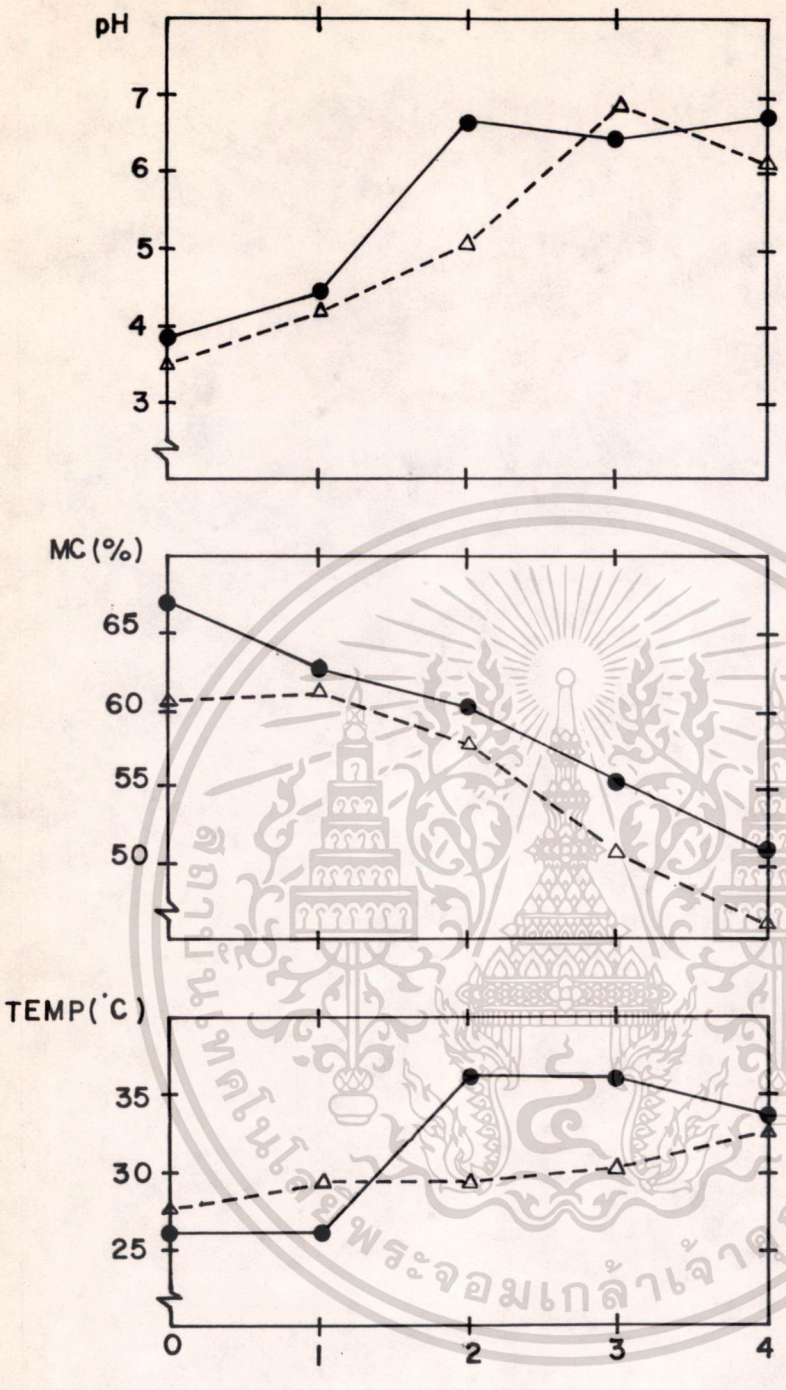
4. ประสิทธิภาพของถังหมักมันสำปะหลังเพื่อเพิ่มโปรตีน

จากการทดลอง (ตารางที่ 4) พบว่า ปริมาณโปรตีนที่ได้ในแต่ละชั้นหมักนั้นแตกต่างกันค่อนข้างมากที่ระดับความเร็วลม 1.15 m/s ชั้นบน ๆ จะให้ปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง ขณะที่ชั้นล่าง ๆ อากาศ และความร้อนระบายได้ไม่ดีนัก ทำให้การหมักของเชื้อจุลินทรีย์ต่ำไปด้วย ขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบความเร็วลมระดับความเร็ว 1.3 m/s ที่มีผลต่อการหมักก็พบว่า ปริมาณโปรตีนในชั้น 3 และ 4 ค่อนข้างต่ำกว่าชั้นอื่น ทั้งนี้เนื่องจากตำแหน่งของมันที่อยู่บนถาดทั้งสองนี้อาจจะได้รับปริมาณลมมากทำให้ผิวหน้าของมันแห้งเกินไป จนไม่อยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามความชื้นสัมพัทธ์ของถังหมักนี้ซึ่งอยู่ในระบบปิดวัดได้ 95-98% และหลังจากหมักไปแล้วเป็นเวลา 115 ชม. ปริมาณโปรตีนจะลดลง ในขณะที่ pH จะสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเกิด Deamination เกิดการย่อยสลายโปรตีนได้เป็นแอมโมเนีย อันเนื่องจากกิจกรรมของเชื้อในการหมักตามธรรมชาติ ซึ่งเราจะได้กลิ่นแอมโมเนียในช่วงสุดท้ายของการหมัก แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะมีผลทำให้ค่า pH ในช่วงนี้สูงขึ้นด้วย

ภาพที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะเห็นว่า อุณหภูมิจะสูงขึ้นเมื่อวันที่ 2 เป็นต้นไป ซึ่งแสดงว่ากิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นสูง อย่างไรก็ตามปริมาณความชื้นของมันสดก็ลดลงเรื่อย ๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากการพัดลมผ่านชั้นมันนั่นเอง

จากผลการทดลองกล่าวได้ว่า ถังหมักที่ออกแบบขึ้นมานี้นับว่า ให้ผลการหมักเป็นที่พอใจในระดับหนึ่งคือ ปริมาณโปรตีนสูงถึง 22-25% แม้ว่าการหมุนเวียนของอากาศภายในถังหมักยังไม่ดีพอก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความชื้น pH ในแต่ละวันตลอดช่วงการหมักมันสดของถังหมักขนาดใหญ่ ที่ความเร็วลม 1.15 m/s ( ) และที่ความเร็วลม 1.3 m/s ( ) .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการนึ่งมันสำปะหลังทั้งมันสดและมันเส้นแห้ง เพื่อเพิ่มโปรตีนด้วยการหมักควรใช้ 10 นาที

2. เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากการหมักมันสำปะหลังพบว่า มันสำปะหลังสดมีความเหมาะสมที่จะใช้ในการหมัก เพื่อเพิ่มโปรตีนมากกว่ามันเส้นแห้ง เนื่องจากการหมักมันสำปะหลังสดจะให้ปริมาณโปรตีนมากกว่า

3. ในขบวนการหมักเพิ่มโปรตีนนี้ เชื้อรา และยีสต์ที่เจริญบนมันสำปะหลังจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคือ ในช่วงแรกของการหมักด้วยรา A.niger และ Mucor. W252 ปริมาณโปรตีนจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นพร้อม ๆ กับการเพิ่มขึ้นของ pH และอุณหภูมิ และหลังจากเติมยีสต์แล้วปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว พร้อมกับการลดลงของ pH และอุณหภูมิ

4. ประสิทธิภาพของถังหมักที่ออกแบบขึ้น สามารถเพิ่มโปรตีนในมันหมักได้เฉลี่ยถึง 22-25% แม้ว่าการหมุนเวียนของอากาศ หรือความร้อนภายในถังหมักจะไม่ดีเท่าที่ควรก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2520. การปลูกมันสำปะหลัง. เอกสารทางวิชาการที่ 15.

จรูญ คำนวนตา และจรัญ เจตนะจิตร. 2529. การเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยการหมัก. ใน การสัมมนาการเพิ่มโปรตีนมันสำปะหลังโดยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์ ณ. โรงแรมอิมพีเรียล, 13-14 พฤศจิกายน 2529, กรุงเทพฯ.

วิเชียร วนิชจักร์วงศ์.2529. ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง. ใน การสัมมนาการเพิ่มโปรตีนมันสำปะหลังโดยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์ ณ. โรงแรมอิมพีเรียล, 13-14 พฤศจิกายน 2529, กรุงเทพฯ.

อุทัย คันโธ, อโนชา เลาศรีรัตนชัย และรณชัย ลิทธิไกรพงษ์. 2529. การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงเป็นอาหารสุกรระยะเติบโต และอาหารไก่กระทง. ใน การเพิ่มโปรตีนมันสำปะหลังโดยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์ ณ. โรงแรมอิมพีเรียบ, 13-14 พฤศจิกายน 2529, กรุงเทพฯ.

Cennel, E. and M. Moo-Young. 1980. Solid-State Fermentation Systems. Process Biochemistry. August/September. p. 24-28.

Chen. N.V.; E.F. Kondis and S.Srinivasan. 1987. Low Pressure Airlift Fermenter for Single Cell Protein Production : 1 Design and Oxygen Transfer Studies. Biotechnology and Bioengineering, 29 : 414-420.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hesseltine, C.W. 1977. Solid State Fermentation. Part I. Process Biochemistry. July/August. p. 24-27.

Laukevics, J.J.; A.F. Apsite; U.E. Viesturs and R.P. Tengerdy. 1984. Solid Substrate Fermentation of Wheat Straw to Fungal Protein. Biotechnology and Bioengineering. 26 : 1465-1474.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ปริมาณโปรตีน (% BSA)ในแต่ละวันของการหมักมันสำปะหลังสดในถังหมักขนาดใหญ่ที่ระดับความเร็วลมต่างกัน

ความเร็วลม (เมตร/วินาที)	ชั้นที่	ปริมาณโปรตีน ** (%db) วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4
1.5	1	15.0	17.3	20.4	20.1
	2	15.5	18.1	20.6	19.8
	3	13.0	18.0	24.0	22.5
	4	13.2	17.1	22.8	21.1
	5	16.2	18.1	23.6	22.0
	6	15.0	18.5	22.9	20.3
	7	17.5	17.0	20.5	19.5
	8	15.0	17.0	21.4	19.6
	9	15.2	17.0	20.1	18.9
	ค่าเฉลี่ย	14.5a	17.6c	21.8e	20.4f
1.3	1	7.5	7.8	18.8	16.5
	2	6.5	7.4	19.2	19.1
	3	8.0	7.2	21.1	20.4
	4	8.1	12.0	20.5	19.9
	5	7.0	7.0	21.3	20.8
	6	7.5	14.0	22.6	21.3
	7	4.5	6.0	19.9	18.5
	8	5.7	8.5	20.4	19.8
	9	4.5	6.5	18.5	16.9
	ค่าเฉลี่ย	6.6b	8.5d	20.3e	19.2f

* ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** ปริมาณโปรตีนคิดเป็นเปอร์เซนต์ของ BSA (Bovin Serum Albumin) เมื่อวิเคราะห์ด้วย Biuret Method ดังแสดงในภาคผนวก ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

ใช้กากน้ำตาลผสมน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 7-8 เติมเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1% แล้วปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริคให้ได้ พีเอช 3.5 นำไปต้มในหม้อความดันเพื่อฆ่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมเชื้อยีสต์ Candide sp. อายุ 24 ชั่วโมง ซึ่งเลี้ยงไว้บน Poteto dextose eger ให้อากาศด้วยเครื่องปั๊มให้อากาศปลาตู้ 15 ชั่วโมง แล้วเติมยีสต์ขนมปัง 0.5% ให้อากาศต่อ 5-8 ชั่วโมง และเลี้ยงยีสต์ไว้ 18-32 ชั่วโมง

กากน้ำตาล (1 ส่วน) + น้ำ (7-8 ส่วน)

↓

คนผสมให้ละลาย

↓

เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1%

↓

ปรับ พีเอชด้วย H_2SO_4 (เข้มข้น)

พีเอชประมาณ 3.5

↓

เติมเชื้อยีสต์ Candide sp.

↓

ให้อากาศร้อนด้วยเครื่องปั๊มอากาศปลาตู้ 15 ช.ม.

↓

ใส่เชื้อยีสต์ขนมปัง 0.5% ของปริมาตรอาหารเลี้ยงยีสต์

↓

ให้อากาศต่อ 5-8 ช.ม. แล้วเลี้ยงไว้ 18-32 ช.ม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีของ Kjeldahl Method (ดัดแปลงจาก AOAC 2,055, 1984) และวิธี Biuret Method (กฤษณาและคณะ, 2524)

KJELDAHL MEHOD

1. อุปกรณ์
   1) Kjeldahl flask
   2) Erlenmeyer flask, 500 ml
   3) บิวเรต
   4) บีกเกอร์, 250 ml
   5) เตาสำหรับย่อยพร้อมด้วยเครื่องดูดควัน
   6) เตาสำหรับกลั่นพร้อมด้วยหลอดกลั่น
2. สารเคมี
   1) กรดซัลฟูริคเข้มข้น (H_2SO_4)
   2) คะตะลิสผสม

      ผสม 7 ส่วนของคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) และ 100 ส่วนของโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)
   3) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 45%
   4) สารละลายกรดบอริก (HBO_3) 4%
   5) สารละลายมาตรฐาน 0.1 N กรดซัลฟูริค
   6) อินดิเคเตอร์ผสม

      ผสม 100 ml ของ 0.1% methyl red และ 200 ml ของ 0.2% bromcresol green ในสารละลาย 95% ethenol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีการทดลอง

1) ชั่งตัวอย่าง 2-3 กรัม (โดยละเอียด) ห่อด้วยกระดาษกรองที่ปราศจาก N_2 ใส่ลงใน Kjeldhl flesk เติมคะตะลิสผสมประมาณ 10 กรัม และเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 25 ml.

2) นำไปย่อยบนเตาย่อยที่เปิดเครื่องดูดควันไว้เรียบร้อยแล้ว ใช้ความร้อนต่ำในตอนแรก แล้วค่อยๆ เพิ่มความร้อนหลังย่อยไปแล้วประมาณ 5 นาที จนกระทั่งได้สารละลายเป็นสีฟ้าใสไม่มีตะกอน ปิดเตาย่อยและทิ้งให้เย็นและหมดควัน

3) ปิเปตกรดบอริก 4% 100 ml. ใส่ใน Erlenmeyer flesk ขนาด 500 ml. หยดอินดิเคเตอร์ผสมลงไป 2-3 หยด ได้สารละลายสีชมพู นำไปวางใต้เครื่องกลั่น เอาปลายหลอดนำกาซจุ่มใกล้อยู่ในสารละลาย

4) เติมน้ำกลั่น 100 ml ใน Kjeldahl flesk ที่เย็นและหมดควันแล้ว ค่อยรินสารละลาย NaOH 45% จำนวน 100 ml. ให้ไหลไปตามข้างของ flesk ใส่ชิ้นสังกะสี ประมาณ 2-3 ชิ้นเพื่อเร่งปฏิกิริยา รีบนำ flesk ต่อเข้าเครื่องกลั่นทันที

5) กลั่นประมาณ 15 นาที หรือนานกว่านี้จนแน่ใจว่า N_2 ออกมาหมด สารละลายบอริกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวใส (อาจทดสอบโดยใช้กระดาษลิสมัส ถ้าเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงินแสดงว่าแอมโมเนียออกมาไม่หมด) ยก flesk ที่ใส่บอริกออก เอา flesk ใหม่ที่ใส่น้ำกลั่น 100 ml ไปวางแทน แล้วปิดเตา ทิ้งให้เย็นจะเกิดดูดกลับเอง

6) นำกรดบอกริกสีเขียวที่ได้ไปไตเตรตกับ H_2SO_4 0.1 N อ่านปริมาตร (V_1) จะให้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

7) ทำ Blank โดยทำการทดสอบเช่นเดิมโดยไม่ใส่ตัวอย่าง ไตเตรตกับ H_2SO_4 ได้ปริมาตรเป็น (V_2)

4. การคำนวณ

ปริมาณแอมโมเนีย (V) = $V_2 - V_1$

ความเข้มข้นกรดซัลฟูริค = N

น้ำหนักตัวอย่าง (ละเอียด), g = W

% Crude Protein = $\frac{1.4(6.25VN)}{W}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

วิธีการวิเคราะห์

(1) การวิเคราะห์หาความชื้น (Mc)

นำตัวอย่างมาประมาณ 3-5 g (ชั่งละเอียด) ใส่ใน aluminium can ซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาทิ้งไว้ให้เย็นในประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักสุดท้ายเพื่อคำนวณหาความชื้นเป็นเปอร์เซ็นต์

(2) การวิเคราะห์หาความเป็นกรดด่าง

ชั่งตัวอย่างมันหมัก 10 g ใส่บีกเกอร์เติมน้ำกลั่น 10 ml. บดตัวอย่างให้ละเอียดในน้ำกลั่นทิ้งไว้ประมาณครึ่งชั่วโมง นำไปวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัด (pH-meter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

BIURET METHOD

1. อุปกรณ์

   1) Volumetric flask, 25 ml.

   2) Test tube

   3) Pipette

   4) Water bath

   5) Spectophotometer

   6) Erlenmeyer flask

2. สารเคมี

   1) สารละลายโปรตีนมีมาตรฐาน (10 mg/ml) โดยใช้ Bovin Serum Albumin

   2) สารละลายโปรตีนสำหรับใช้ทดสอบ

   3) Biuret reagent

   ละลาย $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ 1.5 กรัม และ Rochelle Salt (Sodium potassium tertrate, $NaKC_4H_4O_6$) 6.0 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ml ค่อย ๆ เติมสารละลาย 10% NaOH 300 ml ลงไปในขณะที่คนอยู่เรื่อย ๆ ทำให้ได้ปริมาณเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. วิธีการทดลอง

   1) บรรจุสารละลายโปรตีนมาตรฐาน 0.1 กรัม ลงใน Volumetric flask 25 ml. ทำเป็น stock ของโปรตีนมาตรฐาน

   2) บรรจุสารละลายโปรตีนมาตรฐาน 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.70, 0.80, 1.00 ml. ลงในหลอดทดลอง แต่ละปริมาตรควรทำซ้ำ เติมน้ำลงไปปรับปริมาตรให้แน่นอนในแต่ละหลอดทดลองเท่ากับ 1 ml. ดังตารางต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดที่	ปริมาตรโปรตีน (ml.)	ความเข้มข้นโปรตีน (mg/ml.)	ปริมาตรน้ำ (ml.)
1	0	0	1.0
2	0.05	0.5	9.5
3	0.10	1.0	9.0
4	0.15	1.5	8.5
5	0.20	2.0	8.0
6	0.25	2.5	7.5
7	0.30	3.0	7.0
8	0.40	4.0	6.0
9	0.50	5.0	5.0
10	0.60	6.0	4.0
11	0.70	7.0	3.0
12	0.80	8.0	2.0
13	1.00	10.0	0.0

ในขณะเดียวกันสำหรับโปรตีนที่ต้องการทดสอบ แต่ละตัวอย่างเตรียมอีกสองหลอด แต่ละหลอดบรรจุด้วยสารละลายโปรตีน 1 ml. สำหรับ elkeli ใช้ 2 ml.

3) ทำ Blank ของโปรตีนมาตรฐานโดยใช้โปรตีนมาตรฐาน 1 ml. ผสมน้ำกลั่น 4 ml. สำหรับตัวอย่าง ใช้ตัวอย่าง 1 ml. ผสมน้ำกลั่น 4 ml. เช่นกัน

4) เติมสารละลาย Biuret 4.0 ml. ลงไปในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 570 nm. ถ้าการดูดกลืนแสงที่ได้จากสารที่ต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบสูงกว่า 0.8 ควรทำซ้ำ โดยใช้ปริมาตรสารละลายโปรตีนน้อยลงหรือเจือจางก่อนใช้ และถ้าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า 0.05 ควรทำซ้ำโดยใช้ปริมาตรโปรตีนเพิ่มมากขึ้น หรือเตรียมสารละลายที่ทดสอบเข้มข้นกว่านี้

4. วิธีแสดงผลการทดลอง

เขียนกราฟมาตรฐาน (Stenderd curve) ระหว่างการดูดกลืนแสง และปริมาณโปรตีนในตัวอย่างดังแสดงในภาพที่

* การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 0.5 กรัม เติมสารละลาย NaOH 0.1 N 25 ml. นำไปแช่ใน water bath นาน 60 นาที กรองแล้วปิเปตตัวอย่างมา 1 ml. เติมสารละลาย Biuret 4 ml. เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นย 570 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้