หอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T100818

บทคัดย่อ

การทดลองหมักมันสำปะหลัง ให้มีระดับโปรตีนสูงขึ้น โดยการหมักสภาพแข็งในถังหมักทรงสูง (Fermented Cassava in Solid-State-Tower Fermenter) ซึ่งมีขั้นตอนการทดลองดังนี้ คือ ขั้นที่ 1 ศึกษาอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีน โดยใช้อัตราส่วนของเชื้อราทั้งสองชนิด คือ 1:1 1:2 และ 2:1 จากผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนของเชื้อราที่มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงสุด หลังจากสิ้นสุดการหมัก คือ อัตราส่วน 2:1 ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนของมันสำปะหลังเป็น 28.97% และเมื่อนำเอาอัตราส่วนของเชื้อรา 2:1 นี้ไปศึกษาในการทดลองขั้นที่ 2 ซึ่งเป็นการศึกษาถึงอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน คือ Urea และ $(NH_4)_2SO_4$ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนและการควบคุมพีเอชของระบบโดยใช้อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนทั้งสองชนิด คือ 0:0 0:2 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 จากผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงสุด หลังจากสิ้นสุดการหมัก และทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชของระบบน้อยที่สุด คือ อัตราส่วน 1:2 ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนเป็น 24.87%

b12123559

RCH
SB
211
.C3
W485 ฝ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....100818
วัน,เดือน,ปี 21 JUN 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

บทที่ 1

บทนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกถึง 5-6 ล้านตันต่อปี โดยตลาดที่สำคัญของประเทศไทย คือ ประเทศในกลุ่มประชาคมเศรษฐกิจยุโรป (EEC) ซึ่งนิยมนำมันสำปะหลังไปผสมอาหารเลี้ยงสัตว์ แต่ในระยะ 2-3 ปีที่ผ่านมา ประเทศในกลุ่มประชาคมเศรษฐกิจยุโรปได้มีการจำกัดการนำเข้าของมันสำปะหลัง เนื่องจากผลิตมันสำปะหลังได้เองเป็นจำนวนมาก ทำให้ความต้องการในการนำเข้ามันสำปะหลังของประเทศไทยลดลง ประเทศไทยจึงประสบกับปัญหามันสำปะหลังล้นตลาด ดังจะเห็นได้จากข้อมูลในการส่งออก ตารางที่ 1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.1 ปริมาณและมูลค่าผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังส่งออกในปี 2528 และ 2529

ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	ปริมาณ (ตัน)		มูลค่า (ล้านบาท)		เพิ่มขึ้น (+):ลดลง(-)	
	2528	2529	2528	2529	ปริมาณ	มูลค่า
1.ผลิตภัณฑ์มันสำ-ปะหลังเพื่อการเลี้ยงสัตว์						
1.1 มันเส้น (แห้ง)	123,702	35,699	284.91	89.45	-88,003	-195.46
1.2 มันอัดเม็ด(แห้ง)	6,474,502	5,849,509	12,723.48	16,656.81	-624,993	+3,933.33
2.แป้งมันสำปะหลัง	482,334	435,151	1,918.84	2,329.96	-47,183	+411.12
3.สาคู	7,576	5,243	38.76	34.21	-2,333	-4.55
4.กากมัน	5,687	679	28.74	14.28	-5,008	-14.46
5.หัวมันสด	10	42	0.19	0.72	+32	+0.53
รวม	7,093,811	6,326,323	14,994.92	19,125.43	-767,488	+4,130.51

ที่มา : กรมศุลกากร (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเห็นได้ว่าปริมาณ และมูลค่าผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะมันเส้น (แห้ง) นั้นลดลงอย่างมาก ดังนั้นจึงได้มีความพยายามในการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ในประเทศขึ้น โดยมันสำปะหลังเป็นอาหารที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง แต่มีระดับโปรตีน ไขมัน วิตะมิน และเกลือแร่ต่ำ มีระดับเยื่อใยประมาณ 3.2-4% คาร์โบไฮเดรตในมันสำปะหลังย่อยง่าย เหมาะสมที่จะเป็นแหล่งพลังงานของสัตว์กระเพาะเดี่ยว ส่วนระดับโปรตีนเฉลี่ยประมาณ 2.5% เท่านั้น และคุณภาพของโปรตีนก็ต่ำด้วย

วิธีการที่จะประยุกต์ใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ โดยให้โปรตีนในระดับสูงขึ้นด้วยวิธีหนึ่งคือ การนำเอามันสำปะหลังไปหมักในสภาพแห้ง (Solid-Substrate Fermentation) โดยใช้เชื้อราและเชื้อยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์โปรตีน (Single-Cell protein) เชื้อราและเชื้อยีสต์จะสามารถเพิ่มระดับโปรตีนในมันสำปะหลังให้สูงขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตจากมันสำปะหลังได้เป็นอย่างดี และสามารถเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตบางส่วนเหล่านี้ไปเป็นโปรตีนของตัวจุลินทรีย์เองจึงทำให้ระดับโปรตีนของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นด้วย และสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ได้

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. ศึกษาผลของอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในการหมักมันสำปะหลัง
2. ศึกษาผลของอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea และ $(NH_4)_2 SO_4$ ต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของการหมักมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะทั่วไปและองค์ประกอบทางเคมีของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังที่ปลูกกันอยู่ทั่วไปแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ 2 ประเภท ดังนี้คือ

1. ประเภทที่ใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือประเภทหวาน (Sweet Type) เป็นมันสำหลังที่มีรสไม่ขม เนื้อแน่น เหนียว เมื่อต้มหรือนึ่งจะมีรสดี ส่วนมากมีอายุสั้น ต้นเล็ก หัวเล็ก ในประเทศไทยมีพันธุ์ที่เรียกว่า "พันธุ์ห้านาที" บางทีก็เรียกว่า "พันธุ์ยอดแดง" มันสำปะหลังประเภทนี้ใช้เป็นอาหารรับประทานด้วยการต้ม เผาหรือทำให้สุกโดยวิธีอื่น มันสำปะหลังพันธุ์ห้านาทีหัวสดมีน้ำอยู่ประมาณ 66% มันแห้งมีโปรตีนประมาณ 2% มีกรดไฮโดรไซยานิคอยู่ประมาณ 10 ส่วนในล้านส่วน

2. ประเภทที่ใช้ในการอุตสาหกรรมหรือประเภทขม (Bitter Type) เป็นพวกที่มีแป้งมาก และมีรสขมไม่เหมาะต่อนำไปใช้รับประทาน ต้นโต หัวโต ส่วนใหญ่ใช้ทำแป้งและเลี้ยงสัตว์ได้แก่ พันธุ์ยอดขาว พันธุ์สิงคโปร์ พันธุ์ระยอง และพันธุ์พื้นเมือง หัวสดมีน้ำประมาณ 70% มีแป้งประมาณ 23% มันแห้งมีโปรตีน 2.6% มีกรดไฮโดรไซยานิค 80 ส่วนในล้านส่วน (กรมวิชาการเกษตร 2526)

ในหัวมันสำปะหลังเป็นแหล่งที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงแต่ปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำ มันสำปะหลังยังมีแคลเซี่ยมและวิตะมินซีสูงอีกด้วย แต่มีวิตะมินและแร่ธาตุชนิดอื่น ๆ ค่อนข้างต่ำ ในมันสำปะหลังมีคาร์โบไฮเดรตอยู่ 30-35% หรือประมาณ 70-90% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งประกอบด้วยแป้ง น้ำตาล เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส (นิชัย 2528)

Johnson and Raymond (1965) และ Onwume (1978) กล่าวไว้ว่าโปรตีนในมันสำปะหลังนอกจากจะมีปริมาณต่ำแล้วยังมีคุณภาพต่ำอีกด้วย โดยมีอาร์จินีนเป็นกรดอมิโนที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสูงสุด มีเมทไธโอนีน ไลซีน ทริปโตเฟน ฟินิลอาร์ลานีน และไทโรซีนต่ำ สำหรับกรดไขมันที่พบในหัวมันสำปะหลังได้แก่ กรดปาล์มเมติก กรดโอลิอิก กรดลิโนลีนิก สำหรับสเตียรอยไม่พบในหัวมัน

2.2 <u>การหมักในสภาพแห้ง</u> (Solid - Substrate Fermentation)

การหมักในสภาพแห้งหมายถึง ระบบการหมักที่อาศัยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนอาหารแห้งในสภาพที่ไม่มีน้ำอิสระอยู่ในระบบ อย่างไรก็ตามน้ำที่อยู่ในระบบจะอยู่ในสภาพของความชื้นที่ถูกดูดซับอยู่กับวัตถุดิบเท่านั้น (วราวุฒิ และวุ่งนภา 2532)

การหมักในสภาพแห้ง จะเกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากวัสดุที่ไม่ละลายน้ำสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการเปลี่ยนแปลงภายในเซล (metabolism) ซึ่งวัสดุเหล่านั้นโดยปกติ จะแพร่กระจายหนาแน่นในสภาวะที่เป็นส่วนผสมของเหลวกับของแข็งที่ปราศจากหรือแทบไม่มีของเหลวอิสระ การเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาจะยุติลงเมื่อความชื้นต่ำกว่า 12% (Golucke 1977) ข้อกำหนดความชื้นขั้นต่ำที่การหมักสภาพแห้งจะสามารถทำได้และขีดจำกัดขั้นสูงของการดูดซับ และการระเหยความชื้นจะเปลี่ยนแปลงไปกับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้เป็นซับเสตรท (Moo - Yong et al. 1979)

ลักษณะทั่วไปของการหมักในสภาพแห้ง (Hesseltine 1977)

1. วัตถุดิบที่นิยมใช้ในการหมักสภาพแห้งมักเป็นพวกธัญพืช ถั่ว และผลิตภัณฑ์จากพืชหรือสัตว์ ซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูง
2. วัตถุดิบที่ใช้ต้องควบคุมขนาดที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดช่องว่างที่เพียงพอให้อากาศถ่ายเทได้
3. ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ น้ำและอาหารขั้นต้น
4. การปนเปื้อนของแบคทีเรียในระหว่างการหมักในสภาพแห้งลดลง เนื่องจากความชื้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ในการหมักสภาพแห้งมักเกิดปัญหาความร้อนสะสม ซึ่งต้องควบคุมไม่ให้สูงเกินระดับที่เป็นอันตรายต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

Cannel (1980) กล่าวว่า การหมักในสภาพแห้งสามารถใช้ถังหมักได้ คือแบบถาด (tray) กองเป็นแถวตามแนวยาว (windrow) ถังหมักทรงสูง (tower fermentor) กะบะสี่เหลี่ยมที่มีการให้อากาศน้อยครั้ง (bed with recycled condition air) ถังหมักทรงกระบอกหมุนได้ (rotating drum) และถังหมักที่มีระบบการกวนอยู่ภายใน (stirred tank)

Brook et al. (1969) กล่าวว่า การหมักในสภาพแห้งเป็นวิธีการเปลี่ยนสภาพของแป้งที่มีคุณภาพต่ำในมันสำปะหลังโดยการเติมพวก mineral salt และแหล่งไนโตรเจนและมีการเติมหัวเชื้อรา และให้ความชื้นในการหมักด้วย วิธีนี้ได้รับแนวคิดมาจากวิธีการหมักแบบพื้นบ้านของทางเอเชียใต้ที่รู้จัก คือ "TEMPEH" ในประเทศอินโดนีเซีย การหมัก sour - dogh bean และ cereal cake

2.3 <u>ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลัง</u>

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลังในสภาพแห้งส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อรา และเชื้อยีสต์ซึ่งมีข้อแตกต่างกันตามที่ Kumnuanta (1976) ได้กล่าวไว้คือ

เชื้อรา เป็นจุลินทรีย์ที่มีโปรตีนค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับเชื้อยีสต์ แต่อาศัยเทคนิคในการคัดเลือกเชื้อราที่เป็น Mutant Strain หลายสายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตได้ดีและมีปริมาณโปรตีนสูงทัดเทียมกับเชื้อยีสต์ เชื้อราจัดได้ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบคาร์บอนที่มีความซับซ้อนสูง ๆ ได้ดีแต่เชื้อราก็มีข้อเสียคือ มีการสร้างสารพิษ (toxin) และเป็นสาเหตุให้เกิดโรค Aspergilosis หรือ Phycomycosis ได้

Charan et al. (1980) ได้กล่าวว่า เส้นใยของ <u>Aspergillus niger</u> สามารถเจริญได้ในทุกส่วนของมันสำปะหลังที่ปราศจากการทำความสะอาดและใช้อุณหภูมิสูงเพราะฉะนั้นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่จุลินทรีย์สามารถจะทนได้จะกว้าง การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การมีความร้อนเกิดขึ้น การใช้ออกซิเจนและน้ำ Aspergillus niger สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิห้องจนถึง 40 องศาเซลเซียส

เนื่องจากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่จะเจริญได้ในมันสำปะหลังจะต้องสร้างเอนไซม์ amylase ได้ซึ่งเอนไซม์นี้เป็น Extracellular enzyme ย่อยสลายโมเลกุลของแป้งได้ (Windish and Mhatre, 1965)

เชื้อราที่สามารถใช้เอนไซม์ amylase ได้มีอยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่น Mucor, Aspergillus และ Penicillium (Rambault et al. 1977)

Hayashida and Hor (1981) กล่าวว่า เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งในมันสำปะหลังนั้นคือ amylase และ glucoamylase แต่เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการยอ่ยแป้งคือเอนไซม์ glucoamylase เท่านั้น

เชื้อยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ดีกว่าเชื้อรา นอกจากนี้เชื้อยีสต์ยังมีวิตะมินบีรวม และโปรตีนสูง ซึ่งสามารถนำไปเป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ได้อย่างปลอดภัย และ Biological Value (BV) ของโปรตีนจากเซลของเชื้อยีสต์จะยิ่งสูงถ้ามีการเสริมด้วยเมทไธโอนีน

เชื้อยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสม และนิยมใช้ผลิตเป็นจุลินทรีย์โปรตีนในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่เลี้ยงง่ายไม่ต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโตมากนัก และมีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารคน และสัตว์โดยที่ Candida utilis เป็นเชื้อยีสต์ชนิดแรกที่นิยมใช้เป็นแหล่งโปรตีนโดยใช้เป็นอาหารเสริมกับคน

เชื้อยีสต์ใน genus Candida นิยมใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์มากเนื่องจากเลี้ยงง่ายมีโปรตีนสูง มีการเจริญเติบโตและสามารถใช้สารหลายชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนได้ (Synder1970)

Looder (1974) กล่าวว่า เชื้อยีสต์ที่สามารถย่อยแป้งได้โดยสร้างเอนไซม์ amylase ได้มีอยู่หลายชนิดเช่น Emdomycopsis, Hancenuk, Pichia sp., Candida sp. Trichospore, Saccharomyces diastaticus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 มันสำปะหลังในฐานะที่ใช้เป็นซับเสตรท

เชื้อราเจริญเติบโตในสภาพที่ใช้อากาศ และจะเจริญอย่างรวดเร็วถ้าซับเสตรทมีความสัมพันธ์ในอัตราส่วนของพื้นที่ผิวกับปริมาตร (Trerelyan 1970)

Charan et al. (1980) ได้กล่าวว่าการย่อยสลายของเอนไซม์จะไม่สมบูรณ์ เมื่อขนาดของมันสำปะหลังใหญ่มาก ๆ โดยที่เชื้อราไม่สามารถจะย่อยสลายภายในของซับเสตรทได้

การ Gelatinization ของมันสำปะหลัง ซึ่งทำได้โดยการใช้ไอน้ำฆ่าเชื้อทำให้เอนไซม์ของเชื้อราสามารถทำงานได้ดีขึ้น (Liang et al. 1970)

2.5 คุณสมบัติการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในการหมัก

1. สารอาหารที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโต

1.1 แหล่งคาร์บอนและพลังงาน

เชื้อราและเชื้อยีสต์ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานในสภาพที่มีออกซิเจน โดยมีการผลิตเอนไซม์ amylase ซึ่งใช้ในการย่อยแป้งเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ และย่อยแป้งเป็นน้ำตาล หรือสังเคราะห์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ (ประวิทย์ 2519)

ส่วนเชื้อยีสต์นั้นส่วนมากจะใช้น้ำตาลที่สามารถหมักได้ เช่น D - glucose, D - fructose และ D - mannose เป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อยีสต์บางชนิดสามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ด้วย (Bautista 1988)

1.2 แหล่งไนโตรเจน

บางครั้งเชื้อราจะไม่สามารถดำรงอยู่ได้ ถ้าขาดธาตุที่จำเป็นใน media ดังนั้น ในการหมักสภาพแห้งสามารถจะเอาธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็นไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนรูปของโปรตีนที่ติดอยู่กับเซลเชื้อรา (mycelial protein) แต่ถ้าในซับเสตรทมีคาร์บอนในรูปที่ถูกดูดซึมได้ง่ายจะมีการเติมไนโตรเจนในรูปเกลือแอมโมเนียม ยูเรีย ไบยูเรตหรืออื่น ๆ ซึ่งราคาถูกเพราะจะผลิตอยู่ในรูปของปุ๋ยหรือสารผสมในอาหารสัตว์ (Bautista 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพของแหล่งไนโตรเจน จะเกี่ยวข้องกับระบบการหมักในสภาพแห้ง โดยสามารถเปลี่ยนอัตราส่วนการผลิตเอนไซม์ pectinase, amylase, hemicellulase และ proteinase จากเชื้อรา Aspergillus awanori โดยการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของรำข้าวสาลีกับ suger beet ในการหมักสภาพแห้งโดยใช้มันสำปะหลังกับเชื้อรา Aspergillus niger จุดวิกฤตของการใช้ไนโตรเจนอยู่ในระดับ 0.75% โดยน้ำหนักแห้ง แต่ถ้าสูงกว่าระดับนี้การเจริญเติบโตของเชื้อราจะค่อย ๆ ลดลง (Bautista 1988)

จากการวิจัยโดยใช้ความแตกต่างของแอมโมเนียมซัลเฟต กับยูเรียสำหรับทำให้เกิดสภาพเป็นกลาง (buffering) ในซับเสตรท ซึ่งผลปรากฏว่า ยูเรียมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช โปรตีนที่ได้ และการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรต การเติมยูเรียจะสามารถเติมได้สูงสุด 50-60% ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Raimbault et al. 1977)

การเติมยูเรียไม่เกิน 1% ของน้ำหนักมันสำปะหลัง ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียและยูเรียจะสามารถถูกดูดซึมได้หมด แต่ถ้ามีการเติมยูเรียมากเกินไปพบว่า เชื้อราจะหยุดการเจริญเติบโตหลังจาก 3 วัน และเมื่อเชื้อราหยุดการเจริญเติบโตก็ยังมีการเปลี่ยนแปลงของแป้งไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และสารที่ให้กลิ่นอื่น ๆ (Trerelyan 1970)

2. สภาพทางกายภาพที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโต

2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิ เป็นปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่สำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อุณหภูมิจะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และรวมถึงการดำรงชีวิตอยู่ของจุลินทรีย์ด้วย โดยจะมีผลกับขนาดของเซล metabolic products เช่น พวก pigments และ toxins ความต้องการสารอาหาร ปฏิกริยาของเอนไซม์และสารประกอบทางเคมีของเซล (Banwart 1979)

ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เซลของเชื้อราจะยังมีชีวิตอยู่ แต่จะไม่ค่อยมีการเจริญเติบโตและถ้าสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่จะเกิดการหยุดการเจริญเติบโตและตายในที่สุด (Devenell 1965) อุณหภูมิตั้งแต่ 10 องศาเซลเซียสขึ้นไป อัตราการเกิดปฏิกริยาของเอนไซม์สูงขึ้น 2-3 เท่าแต่อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 30-60 องศาเซลเซียส ถ้ามากกว่า 60 องศาเซลเซียส จะไม่เกิดปฏิกริยาของเอนไซม์เลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Charan et al. (1980) กล่าวว่าสปอร์ของเชื้อรา Aspergillus niger จะใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่อุณหภูมิห้องจนถึง 40 องศาเซลเซียส

2.2 พีเอช

เชื้อราส่วนใหญ่จะเจริญภายใต้ช่วงพีเอชที่เหมาะสม คือ 4-8 โดยปกติออกซิเจนจะมีความสำคัญต่อการหายใจของเซลซึ่งจะออกซิไดซ์แหล่งพลังงานได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ และจะต้องมีการระบายเอาความร้อนออกเพื่อลดอุณหภูมิ และความกดดันจากคาร์บอนไดอกไซด์

ความร้อนจะระบายออกจากวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก โดยการนำเอาอากาศที่ผ่านไปยังผนังของภาชนะโดยการพาหรือการระเหยเป็นไอน้ำ (Trerelyan 1970)

Senez (1980) ได้ยืนยันว่าการระบายอากาศโดยการเป่าอากาศชื้นเข้าไปในถังหมักโดยวิธีนี้จะช่วยรักษาระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงเอาไว้ได้ ความชื้นสัมพัทธ์ที่เชื้อราส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้คือ 95-100% และการเจริญเติบโตจะลดลงในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 80-85% (Moore - Landecker 1972)

การกวน และการผสมกลับเป็นการควบคุมพารามิเตอร์คือ ทำให้ได้รับการสัมผัสจากอากาศซึ่งทำให้พื้นที่ผิวใหม่ได้รับอากาศ แต่ขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดการฉีกขาดของเส้นใยของเชื้อราด้วย และทำให้การเจริญเติบโตลดลง (Silman 1980) การถ่ายเทอากาศในการหมักสภาพแห้งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความชื้นของซับเสตรทด้วย เพราะว่ามีการเปลี่ยนแปลงอัตราถ่ายเทน้ำในอากาศ

2.6 งานทดลองและวิจัยเกี่ยวกับมันสำปะหลังหมัก

รุ่งโรจน์ (2523) ได้ทำการทดลองหมักสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยเชื้อรา Rhizopus nigrican ร่วมกับเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerivisiae พบว่าปริมาณโปรตีนเพิ่มจาก 0.9% เป็น 12.04% โดยปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นมาจากเชื้อยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิชชุพร (2523) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อรา Rhizopus oryzae NB 67 ร่วมกับ Saccharomyces carevisiae 281 ในมันสำปะหลัง 7% ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5% พบว่าได้โปรตีน 47.9% ของน้ำหนักแห้ง

Brook et al. (1969) ได้ทำการทดลองเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลัง ด้วยวิธีการหมักในสภาพแห้งและในของเหลว (Solid - substrate and liquid fermentation) โดยใช้เชื้อรา Rhizopus sp. ซึ่งวิธีการหมักในสภาพแห้งจะใช้แป้งมันสำปะหลังเติมโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2% ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95-97% พีเอช 4.5-6.7 พบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนได้ 30 เท่าจากเดิม ส่วนการหมักในสภาพของเหลวจะใช้แป้งมันสำปะหลัง 3% แอมโมเนียไนเตรต 0.3% และโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.25% พบว่าโปรตีนอยู่ในช่วง 16.3-23.2%

Strasser et al. (1970) ได้ทำการทดลองเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลัง โดยใช้กรดหรือเอนไซม์ amylase เปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลแล้วนำมาเลี้ยงเชื้อยีสต์พบว่ามันสำปะหลังที่เลี้ยงด้วย Candida utilis มีโปรตีนทั้งหมด 35% ของน้ำหนักแห้ง Rhodotorula gracilis มีโปรตีนทั้งหมด 26.7% เลี้ยงด้วยเชื้อยีสต์ Hansenula saturnus มีโปรตีนทั้งหมด 15.5%

Muindi and Thomke (1981) ได้ทดลองใช้เชื้อรา Cephalosporium eichlorniace มาเลี้ยงในมันสำปะหลังที่ได้จากการหมักจะมีระดับโปรตีน 38.8% ซึ่งประมาณ 74% ของโปรตีนทั้งหมดอยู่ในรูปของกรดอมิโน และส่วนที่เป็นไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนเป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 26% ของไนโตรเจนทั้งหมด

Muindi and Hensen (1981) ได้นำเอาเชื้อรา Trichoderma harzianum มาใช้ในการหมักมันสำปะหลังเป็นเวลานาน 60 ชั่วโมง พบว่าสามารถเพิ่มระดับโปรตีนทั้งหมดให้สูงขึ้นเป็น 38% โดย 60% เป็นส่วนโปรตีนแท้และส่วนที่เหลือจะเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bautista (1988) ได้ทำการทดลองหมักมันสำปะหลัง โดยอาศัยเชื้อรา Aspergillus niger โดยการหมักในสภาพแห้งเปรียบเทียบระหว่างมันสำปะหลังอย่างเดียว มันสำปะหลังเติมถั่วเหลือง และมันสำปะหลังเติมรำข้าว พบว่ามันสำปะหลังอย่างเดียวจะให้โปรตีน 14.5% ในระยะเวลาการหมัก 40 ชั่วโมง สำหรับมันสำปะหลังที่เติมรำข้าวและที่เติมถั่วเหลืองจะให้โปรตีน 18.8% และ 17.7% ตามลำดับในระยะเวลาการหมัก 33 ชั่วโมง และยังได้ศึกษาถึงอัตราส่วนของแอมโมเนียมซัลเฟตกับยูเรีย พบว่าอัตราส่วน 1:1 เป็นอัตราส่วนที่ทำให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดและยังได้ทดลองหมักมันสำปะหลังแบบ Farm Technique

โดยใช้ถาดไนล่อน ควบคุมอุณหภูมิที่ 29-31 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95-99% โดยใช้อากาศเป่าจากด้านล่างขึ้นด้านบนโดยใช้พัดลม พบว่าให้โปรตีนโดยการหมักมันสำปะหลังอย่างเดียว 23% มันสำปะหลังเติมรำข้าวให้โปรตีน 21% และมันสำปะหลังเติมถั่วเหลืองให้โปรตีน 21%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

- มันสำปะหลังชนิดที่ใช้ในอุตสาหกรรม (มันแป้ง) จากวิทยาเขตเกษตรบางพระ ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี
- ปลายข้าว จากตลาดพระโขนง ความชื้น 12-14%
- แกลบ จากโรงสีไฟศรีกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
- กากน้ำตาล จากโรงงานสุราอยุธยา

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

- เชื้อรา Aspergillus niger (TISTR 3013 จาก MERCEN)
- เชื้อรา Mucor sp. (TISTR 3305 จาก MERCEN)
- เชื้อยีสต์ Candida sp. (TISTR 5319 จาก MERCEN)
- เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae (ยีสต์ขนมปัง)

3.1.3 สารเคมี

- ปุ๋ยแอมโมเนีย 21-0-0 จากองค์การตลาดเพื่อการเกษตร
- ปุ๋ยยูเรีย 46-0-0 จากองค์การตลาดเพื่อการเกษตร
- กรดซัลฟูริคเข้มข้น

3.1.4 อุปกรณ์

- รังถึง
- กะละมังแสตนเลส
- ถาดอลูมิเนียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปิเปต
- กระบอกตวง
- เทอร์โมมิเตอร์
- เตชิเคเตอร์
- Erlenmeyer flask
- Aluminium can
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
- เครื่องให้อากาศปลาตู้
- ตู้อบที่มีระบบหมุนเวียนอากาศร้อน 0-150 องศาเซลเซียส
- เครื่องย่อยโปรตีนยี่ห้อ Buchi รุ่น 421
- เครื่องกลั่นโปรตีนยี่ห้อ Buchi รุ่น 325
- เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)
- ถังหมักที่ใช้หมักในสภาพแห้ง ระบบปิด โครงยึดเป็นเหล็กหุ้มด้วยพลาสติกใส ภายในมีชั้นวางถาด มีช่องให้ลมหมุนเวียนอากาศและมีระบบให้ความชื้น

3.2 การเตรียมการดำเนินการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสปอร์กล้าเชื้อรา A.niger และ Mucor sp. (จรูญและจรัญ, 2529)

ซั่งปลายข้าวประมาณ 10-15 กรัมใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติมน้ำลงไปปรับความชื้นเป็น 30-35% (การคำนวณปริมาตรที่เติมในภาคผนวก ข) นำไปนึ่งให้สุกแล้วแช่ถากน้ำตาลผสมน้ำในอัตราส่วน 2:1 เป็นเวลา 5 นาที นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ใส่น้ำละลายสปอร์ลงไป 1 มล. เขย่าให้สปอร์กระจายและกลิ้ง Erlenmeyer flask ให้เมล็ดข้าวติดข้างขวดให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม 4-5 วัน ดังในภาพที่ 3.1

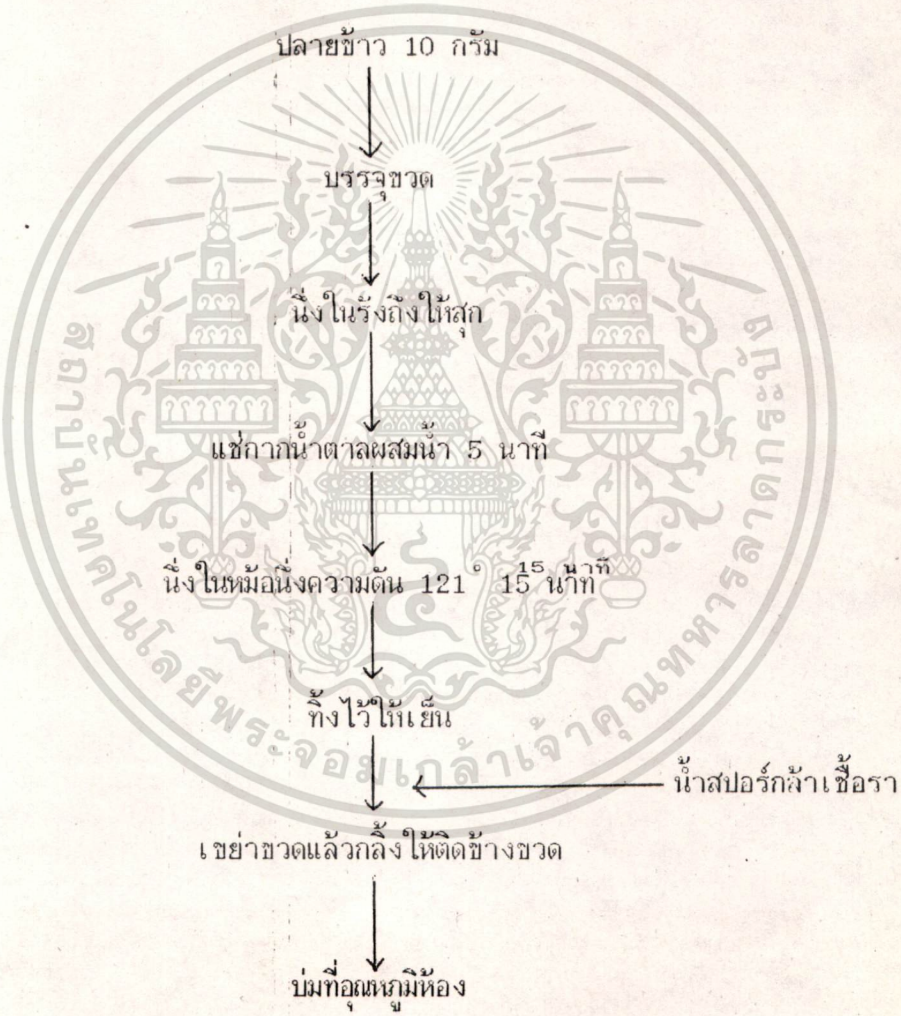
100818

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.2.2 การเตรียมสปอร์เชื้อรา A.niger และ Mucor sp. (จรูญ และจรัญ, 2529)

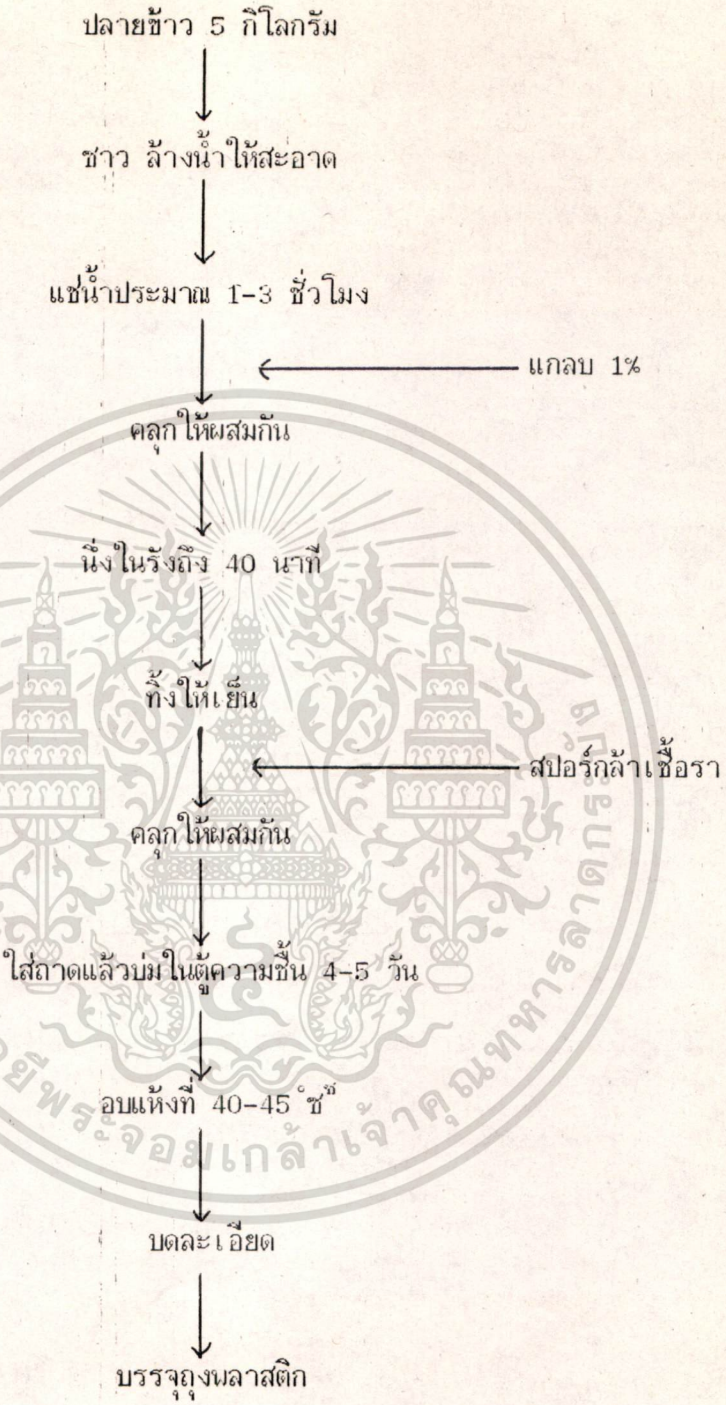
นำปลายข้าวประมาณ 5 กิโลกรัม ซาวน้ำให้สะอาดแล้วแช่ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ห่อด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ นำมาคลุกด้วยแกลบ 1% ใส่ในรังถึง นึ่งให้สุกใช้



ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงการเตรียมสปอร์กล้าเชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

ที่มา : จรูญ และจรัญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 แผนภาพแสดงวิธีการผลิตสปอร์เชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

ที่มา : จรูญ และจรัญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาประมาณ 40 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงคลุมด้วยสปอร์กล้าเชื้อราที่เตรียมไว้ใส่ถาดอลูมิเนียม ขนาด 50x25x2.5 เซนติเมตร นำไปบ่มในตู้ความชื้น 4-5 วัน สปอร์จะเกิดเต็มผิวหน้า นำไปทำให้แห้งในตู้อบ 40-45 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดบรรจุถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิทเพื่อกันความชื้น ดังภาพที่ 3.2 ซึ่งสปอร์เชื้อราที่บดละเอียดนี้จะนำไปใช้ในการทดลองครั้งต่อ ๆ ไป

3.2.3 การเตรียมวัตถุดิบ

ใช้มันสำปะหลังที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม (มันแป้ง) ที่ซื้อจากไร่ที่วิทยาเขตเกษตรบางพระ ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี โดยนำมันสำปะหลังมาล้างทำความสะอาด และตัดส่วนที่ไม่ต้องการออก จากนั้นนำไปผึ่งให้สะเด็ดน้ำ นำเอามาทั่นเป็นชิ้นขนาด 2x3x0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปนึ่งในรังถึงเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปแช่สารละลายที่มีแหล่งไนโตรเจน และนำไปคลุกเชื้อทำการหมักต่อไป

3.2.4 การเตรียมสารละลาย (ดัดแปลงจาก Bautista 1988)

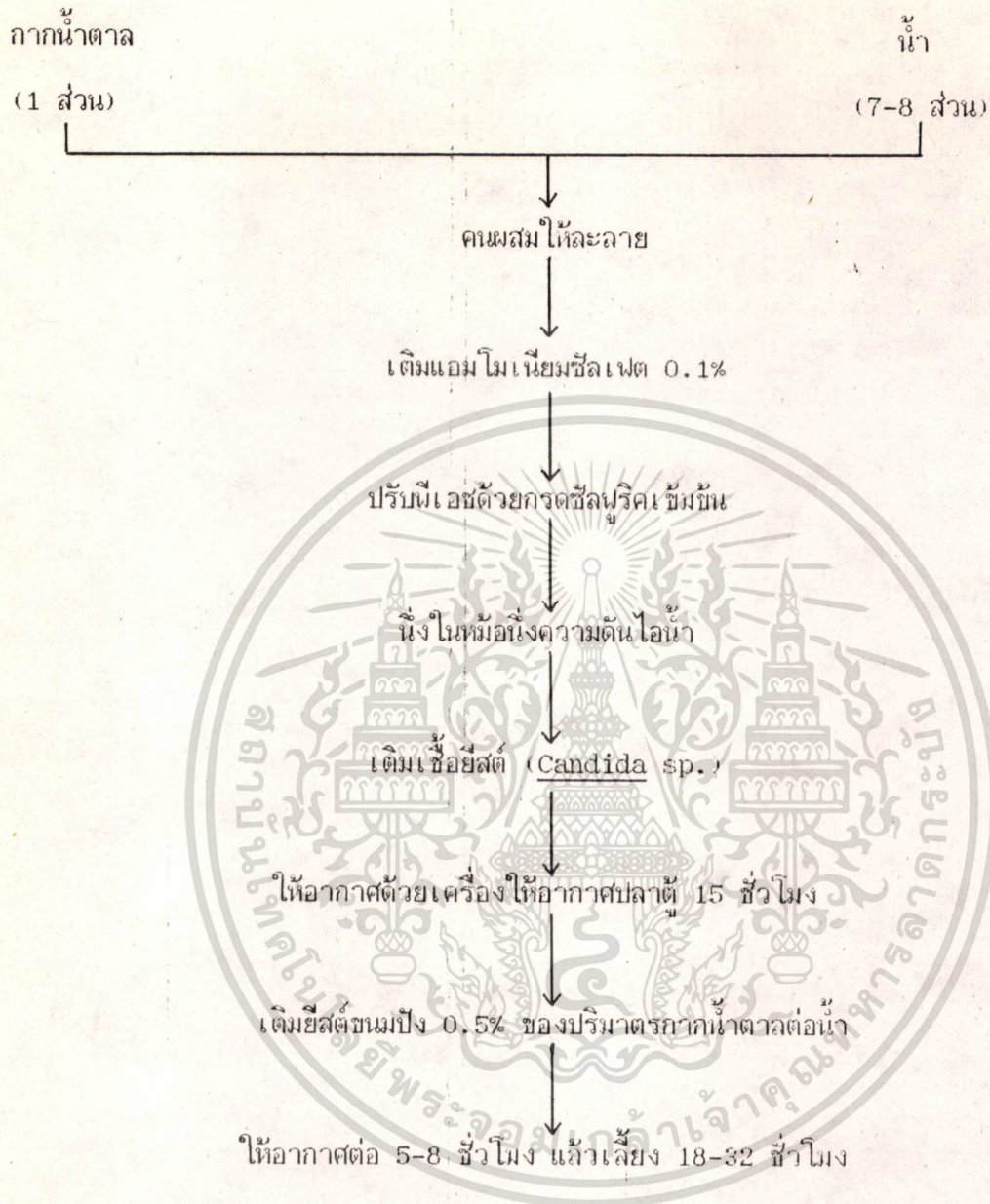
มันสำปะหลังสด	3000 กรัม
ปุ๋ยแอมโมเนีย (21-0-0)	72 กรัม
ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0)	66 กรัม
กรดซัลฟูริคเข้มข้น	45 มล.
น้ำกลั่น	450 มล.

สารละลายที่เตรียมในสูตรนี้จะทำให้มันสำปะหลังมีพีเอชเริ่มต้น 3.5-4.0

3.2.5 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ (จรูญ และจรัญ, 2529)

เตรียมกากน้ำตาลผสมน้ำในอัตราส่วน 1:7-8 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05-0.1% ปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริคเข้มข้นให้ได้พีเอช 3.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาทีทิ้งไว้ให้เย็นเติมเชื้อยีสต์ Candida sp.ที่อยู่ใน agar slant อายุ 24 ชั่วโมง ให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศปลาตู้ 15 ชั่วโมง เติมยีสต์ขนมปัง 0.5% ของปริมาตรกากน้ำตาลให้อากาศต่ออีก 5-8 ชั่วโมง เลี้ยงยีสต์ไว้ 18-32 ชั่วโมง ดังภาพที่ 3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.3 แผนภาพแสดงการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ Candida sp. และ Saccharomyces cerivisiae

ที่มา : จรูญ และจรัญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง แบ่งออกเป็น 2 ตอนคือ

3.3.1 ศึกษาตัวแปรอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger และ Mucor sp. วางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) มีขั้นตอนการทดลองดังนี้ คือ

3.3.1.1 เตรียมวัตถุดิบมันสำปะหลังตามข้อ 3.2.3 แบ่งออกเป็น 3 ชุด ๆ ละ 3 กิโลกรัม

3.3.1.2 นำไปแช่ในสารละลาย ที่มีแหล่งไนโตรเจนอัตราส่วนยูเรียกับแอมโมเนียมซัลเฟต 1:1 ตามข้อ 3.2.4 แช่ทิ้งไว้นาน 3 ชั่วโมง นำขึ้นผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

3.3.1.3 นำไปคลุกด้วยเชื้อรา A.niger ผสม Mucor sp. ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1

3.3.1.4 นำไปใส่ในถาดในอัตราส่วนละ 1 ถาด

3.3.1.5 นำเข้าไปในถังหมักโดยมีสภาวะการทดลองตามข้อ 3.3.4 หมักเป็นเวลา 3 วัน ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้น และวิเคราะห์โปรตีน

3.3.1.6 เติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมตามข้อ 3.2.5 ลงไปชุดละ 150 มล. หมักต่อไปอีก 2 วัน ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้น และวิเคราะห์โปรตีน

3.3.1.7 นำมันสำปะหลังที่ได้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

3.3.2 ศึกษาตัวแปรอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนยูเรีย และแอมโมเนียมซัลเฟต วางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) มีขั้นตอนการทดลองดังนี้คือ

3.3.2.1 เตรียมวัตถุดิบมันสำปะหลังตามข้อ 3.2.3 แบ่งออกเป็น 6 ชุด ๆ ละ 3 กิโลกรัม

3.3.2.2 นำไปแช่ในสารละลายตามข้อ 3.2.4 ในอัตราส่วนยูเรียกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0:0 0:2 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 แล้วแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำขึ้นผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.3 นำไปคลุกเชื้อรา A.niger ผสม Mucor sp. ในอัตราส่วน 2:1

3.3.2.4 นำไปใส่ในถาดอัตราส่วนละ 1 ถาด

3.3.2.5 นำเข้าไปในถังหมักใช้สภาวะการทดลองตามข้อ 3.3.4 หมักเป็นเวลา 3 วัน ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และวิเคราะห์โปรตีน

3.3.2.6 เติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมตามข้อ 3.2.5 ชุดละ 150 มล. หมักต่อไปอีก 2 วัน ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และวิเคราะห์โปรตีน

3.3.2.7 นำเอามันสำปะหลังที่ได้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

3.3.2.8 ขั้นตอนต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 3.4

3.3.3 วิธีการตรวจสอบ

3.3.3.1 ความชื้น ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก

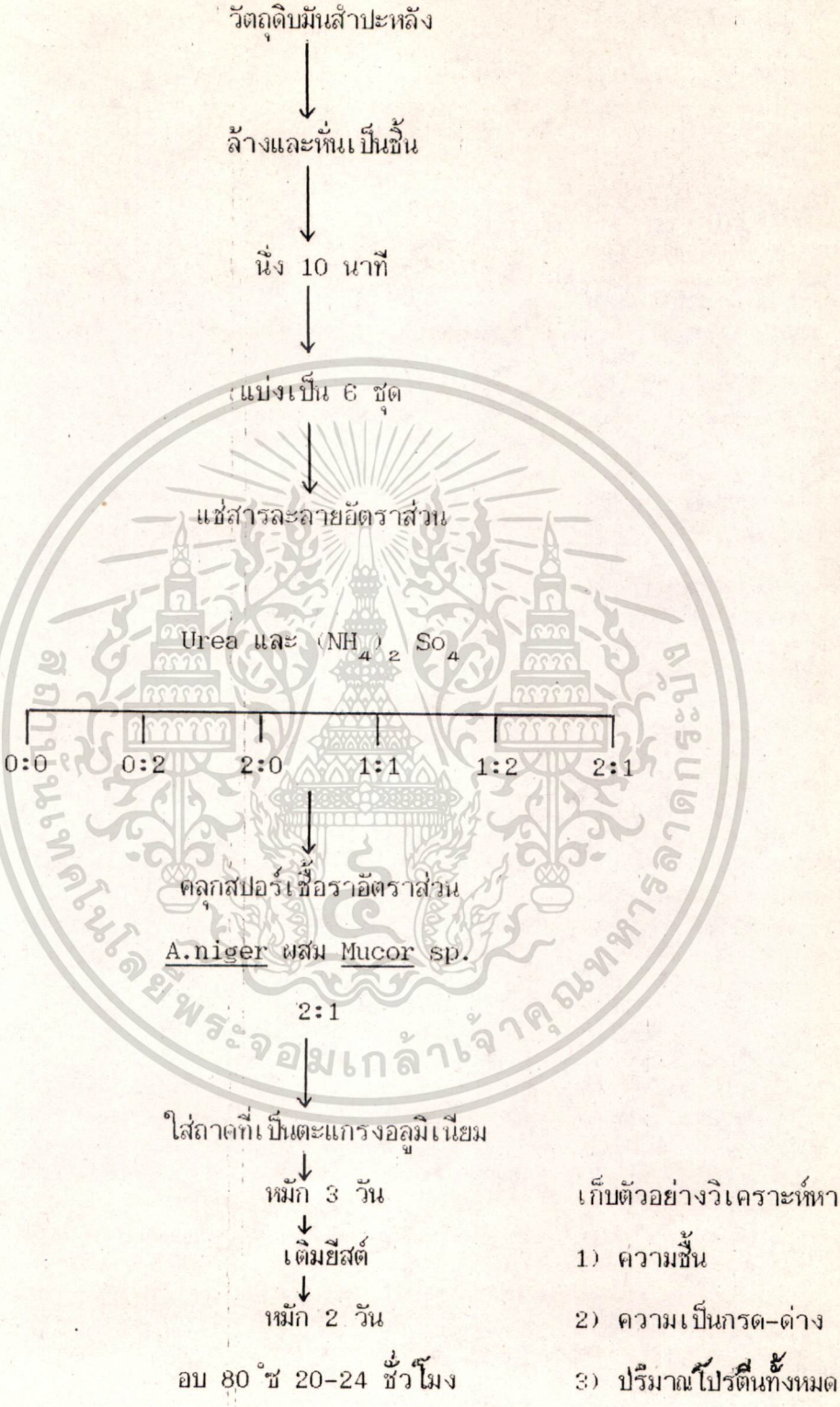
3.3.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก

3.3.3.3 ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก

3.3.4 สภาวะในการทดลอง

อุณหภูมิ	30-35 °ซ
ความชื้นสัมพัทธ์	90-95%
ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น	3.5-4.0
ความชื้นเริ่มต้น	50-55%
ความเร็วลมในระบบ	1.15 ม./วินาที
ความหนาของชั้นมันสำปะหลัง	1-1 1/2 นิ้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.4 แผนภาพแสดงการหมักมันสำปะหลังเพื่อศึกษาแหล่งไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 <u>อัตราส่วนของเชื้อราที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังเมื่อสิ้นสุดการหมัก</u>

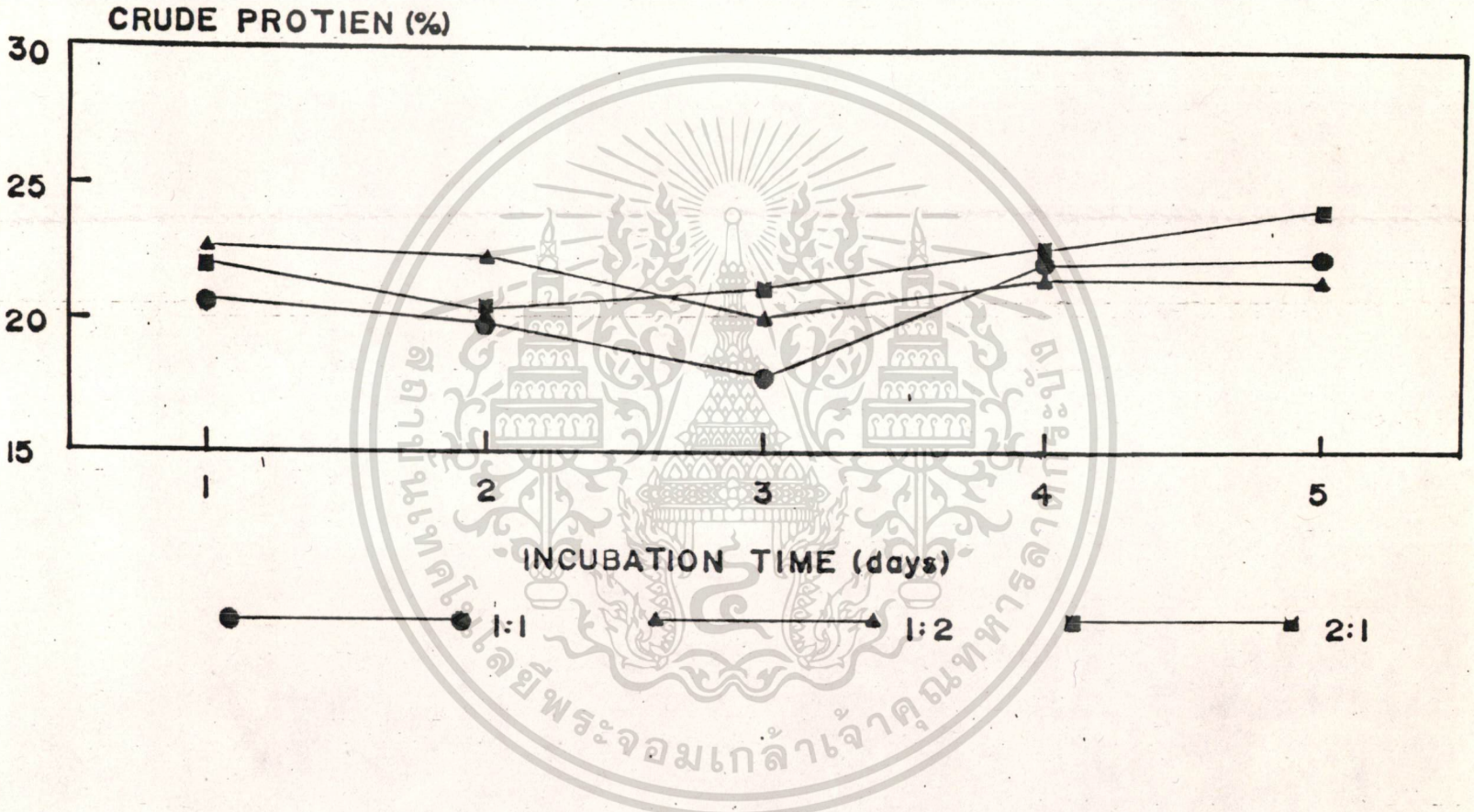
ค่าปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองในอัตราส่วนของเชื้อราที่ต่างๆ กัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า อัตราส่วนของเชื้อรา A.niger ผสม Mucor sp. ทั้ง 3 อัตราส่วนไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และเมื่อนำเอาข้อมูลไปเขียนกราฟ จะเห็นได้ว่าที่อัตราส่วนของเชื้อราทั้ง 3 อัตราส่วน คือ 1:1 1:2 และ 2:1 ไม่แสดงความแตกต่างในปริมาณโปรตีนที่ได้มากนัก แต่อัตราส่วนของเชื้อราที่ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดหลังสิ้นสุดการหมักคือ อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาณโปรตีนที่ได้คือ 23.97% ดังแสดงในภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยหลังสิ้นสุดการหมักที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน

ครั้งที่หมัก	ปริมาณโปรตีน (%) อัตราส่วนของเชื้อรา		
	1:1	1:2	2:1
1	19.589	19.937	24.300
2	25.257	23.345	23.630
ค่าเฉลี่ย	22.423$_a$	21.641$_a$	23.965$_a$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยในการหมักที่อัตราส่วนเชื้อราต่างกัน

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติปริมาณโปรตีนเฉลี่ยหลังสิ้นสุดการหมักที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน

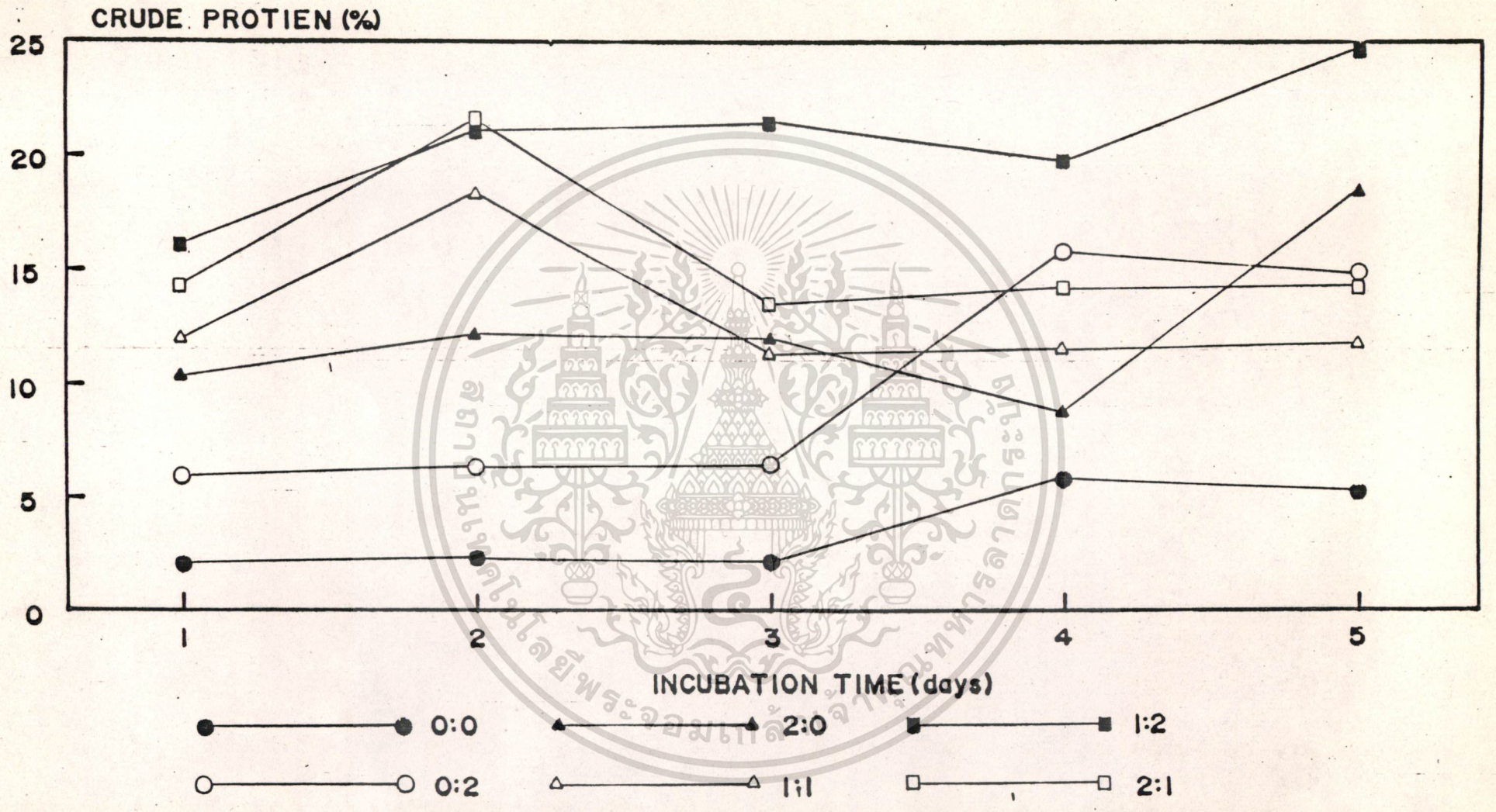
SOV	DF	SS	MS	F-VALUE
treatment	2	5.573	2.79	0.38^{NS}
error	3	22.095	7.37	
total	5	27.688		

หมายเหตุ : ^{NS} ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังเมื่อสิ้นสุดการหมัก

ค่าปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.3 และเมื่อนำเอาข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟจะเห็นได้ชัดเจนว่าอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ให้ปริมาณโปรตีนที่สูงสุดหลังสิ้นสุดการหมัก (วันที่ 5) คืออ ตราส่วน 1:2 ดังแสดงในภาพที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณโปรตีนในการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

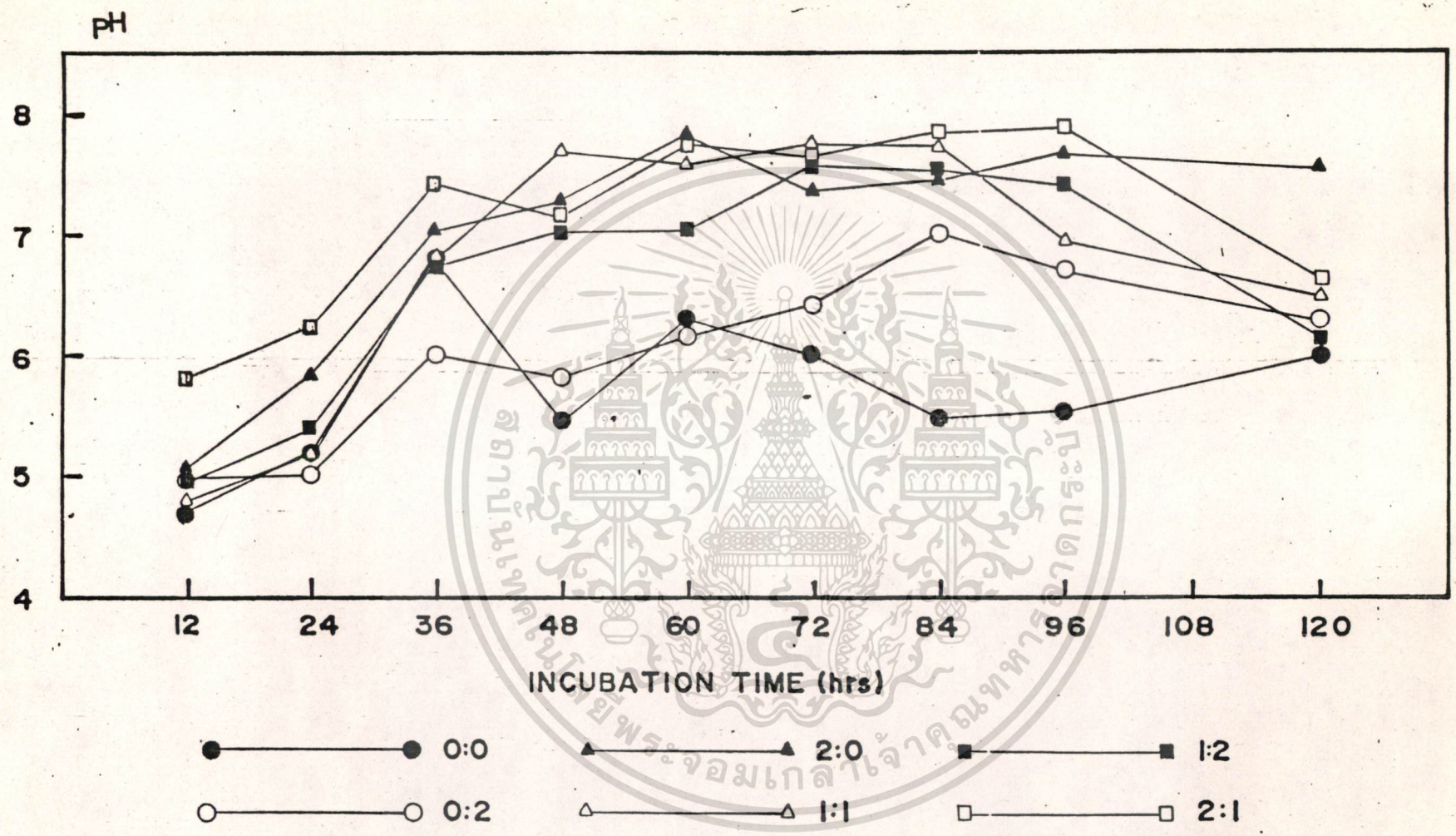
ตารางที่ 4.3 ปริมาณโปรตีนหลังสิ้นสุดการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2SO_4$	ปริมาณโปรตีน (%) ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
	1	2	3	4	5
0:0	2.035	2.678	2.059	5.807	5.277
0:2	5.938	6.269	6.489	15.944	14.958
2:0	10.385	12.223	12.125	8.754	18.269
1:1	12.038	18.421	11.401	11.632	11.961
1:2	16.116	21.085	21.549	19.908	24.867
2:1	14.318	21.525	13.576	14.398	13.400

4.3 อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชในการหมักมันสำปะหลัง

ค่าของการเปลี่ยนแปลงพีเอชที่ได้จากการทดลอง ที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟจะเห็นได้ชัดเจนว่าอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ทำให้การเปลี่ยนแปลงของพีเอชค่อนข้างคงที่ได้แก่ อัตราส่วน 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 ดังแสดงในภาพที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงพีเอช ในการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

อัตราส่วนของ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (PH)								
แหล่งไนโตรเจน	ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)								
Urea กับ $(NH_4)_2SO_4$	12	24	36	48	60	72	84	96	120
0:0	4.68	5.21	6.80	5.46	6.28	6.01	5.49	5.54	6.02
0:2	4.98	5.01	6.04	5.84	6.17	6.43	7.02	6.71	6.29
2:0	5.06	5.83	7.06	7.27	7.83	7.38	7.46	7.69	7.86
1:1	4.80	5.29	6.80	7.71	7.60	7.78	7.71	6.95	6.50
1:2	4.95	5.38	6.75	7.02	7.03	7.59	7.52	7.41	6.15
2:1	5.80	6.23	7.44	7.22	7.75	7.66	7.85	7.90	6.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาตัวแปร 2 ชนิดคือ อัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ซึ่งมีผลกับปริมาณโปรตีนที่ได้หลังจากสิ้นสุดการหมัก และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea และ $(NH_4)_2SO_4$ ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระบบการหมัก และปริมาณโปรตีนที่ได้หลังจากสิ้นสุดการหมัก

สำหรับตัวแปรที่ 1 คือ อัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ทำการทดลองโดยใช้อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 พบว่า อัตราส่วนของเชื้อราที่ทำให้ปริมาณสูงสุดคือ 2:1 ดังจะเห็นได้จากภาพที่ 4.1 ซึ่งจากอัตราส่วนของเชื้อราที่ได้นั้นพบว่ามีการใช้เชื้อรา A.niger ในอัตราส่วนที่มากกว่า Mucor sp. เนื่องจากเชื้อรา A.niger สามารถที่จะสร้างเอนไซม์ amylase ที่สามารถย่อยแป้งที่มีอยู่ในมันสำปะหลังได้ ประกอบกับเชื้อราชนิดนี้ยังเจริญได้ในทุกส่วนของชิ้นมันสำปะหลังทำให้มีการสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับซับเสตรทมีมากขึ้น การใช้ประโยชน์จากแป้งในมันสำปะหลังจึงอยู่ในอัตราสูง (Charan et. al. 1980) ส่วนเชื้อรา Mucor sp. นั้นถึงแม้จะมีการสร้างเอนไซม์ amylase ออกมาย่อยแป้งเช่นกัน แต่มีการใช้ประโยชน์และเจริญได้ดีไม่เท่ากับเชื้อรา A.niger แต่เชื้อรา Mucor sp.นี้มีคุณสมบัติที่สามารถสร้างกลิ่นที่ดีกับมันสำปะหลังหมักเท่านั้น (Brook et al. 1969) และการใช้ประโยชน์จากแป้งที่มีอยู่ในมันสำปะหลัง เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลหรือเส้นใยซึ่งส่งผลถึงการเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยที่อัตราส่วนของเชื้อรา 2:1 จะให้ปริมาณโปรตีน 23.47%

สำหรับตัวแปรที่ 2 คือ อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea และ $(NH_4)_2SO_4$ ทำการทดลองโดยใช้อัตราส่วน 0:0 0:2 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 พบว่าอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงสุดคือ 1:2 ดังจะเห็นได้จากภาพที่ 4.2 เพราะว่า Urea ที่อยู่ในอัตราส่วนนั้นเป็นแหล่งไนโตรเจนที่จำเป็นในการเพิ่มปริมาณโปรตีน และยังเป็น buffering agent ที่มีผลกับการควบคุมพีเอชที่เหมาะสม และ $(NH_4)_2SO_4$ ในอัตราส่วนนั้นก็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นตัวอย่างที่ให้ inorganic nitrogen สำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลัง (Raimbait et al. 1977) นอกจากนี้จะเห็นได้ชัดเจนว่า ถ้าไม่มีการใช้แหล่งไนโตรเจนเลย คือ ในอัตราส่วน 0:0 ปริมาณโปรตีนที่ได้จะมีระดับต่ำที่สุด เพราะไม่มีแหล่งไนโตรเจนที่จะใช้สังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ จากการทดลองใช้อัตราส่วนของ Urea ในปริมาณที่สูงสุดขึ้น คือ อัตราส่วน 2:0 และ 2:1 พบว่าไม่ให้โปรตีนในระดับสูงสุดหลังจากสิ้นสุดการหมัก เพราะว่าการใช้ Urea ในปริมาณมากเกินไปจะทำให้มีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทางชีววิทยา (Moorer-Lendecher 1972) ถ้ามีการใช้ Urea เพียงอย่างเดียวพบว่ามีโปรตีนในระดับต่ำ และถ้าเปรียบเทียบกับการใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เพียงอย่างเดียวพบว่า การใช้ Urea เพียงอย่างเดียวสามารถให้ปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าการใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เพียงอย่างเดียว เพราะ Urea สามารถทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจน และรักษาสภาพพีเอชในระหว่างการหมักได้ด้วย ในขณะที่ $(NH_4)_2SO_4$ ทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนได้เพียงอย่างเดียว

และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของระบบคืออัตราส่วน 2:0 1:1 และ 2:1 ซึ่งจะพบว่าเป็นอัตราส่วนที่มี Urea เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่มากน้อยแตกต่างกัน เพราะว่า Urea มีคุณสมบัติที่เป็น high buffering capacity จึงทำให้การเปลี่ยนแปลงของพีเอชค่อนข้างน้อย (Bautista 1988) และจากผลการทดลองยังพบว่า ถ้าไม่มีการใช้ Urea ในอัตราส่วนเลยคือ อัตราส่วน 0:0 และ 0:2 พบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชค่อนข้างมาก และความสัมพันธ์ของอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนและการเปลี่ยนแปลงพีเอช จากการทดลองพบว่า อัตราส่วนของไนโตรเจน 1:2 มีผลให้เกิดความสัมพันธ์ของการเพิ่มปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงพีเอชเพราะว่า Urea ในอัตราส่วนเป็นตัวควบคุมพีเอชและเป็นแหล่งไนโตรเจนสำรองในกรณีที่มีการใช้ $(NH_4)_2SO_4$ เพื่อการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ไปเป็น mycelial protein ซึ่งทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นสูงสุด (Bautista 1988) จากการทดลองได้ปริมาณโปรตีน 24.87%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการเพิ่มขึ้นของพีเอชในช่วงแรก ๆ ของการหมักนั้นพบว่า เกิดจากการใช้ ammonium ion โดยเชื้อจุลินทรีย์แล้วปล่อย cation ลงใน medium ทำให้พีเอชเพิ่มขึ้น และก่อนสิ้นสุดการหมักจะมีการลดลงของพีเอช เนื่องด้วยเกิดการสะสมของ organic และ carbonic acid ใน medium โดยการย่อยสลายน้ำตาลเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

สรุปและข้อเสนอแนะ

1) อัตราส่วนของเชื้อรา และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนเป็นตัวแปรที่มีผลต่อคุณสมบัติทั่วไปของมันสำปะหลังหมัก

2) อัตราส่วนของเชื้อราที่ใช้ในการทดลองนี้คือ 1:1 1:2 และ 2:1 ไม่ทำให้ปริมาณโปรตีนที่ได้มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3) อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองนี้คือ 0:0 0:2 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนที่ได้และมีเอชของระบบที่หมัก

4) สภาวะที่เหมาะสมในการหมักมันสำปะหลัง คือ ใช้อัตราส่วนของเชื้อรา A.niger ผสม Mucor sp. 2:1 และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2 SO_4$ 1:2

5) ปริมาณโปรตีนที่ได้ที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน 1:2 คือ 24.87%

ข้อเสนอแนะ

1) ควรมีการนำเอาวัตถุดิบอื่น เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์

2) ควรมีการนำไปทดลองเลี้ยงสัตว์เพื่อหาผลของโปรตีนจากเชื้อจุลินทรีย์และการสร้างสารพิษที่อาจเกิดขึ้นได้

3) ควรมีการทำความสะอาดอุปกรณ์ในการหมักเมื่อเสร็จการทดลองทุกครั้ง เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2526. เอกสารวิชาการเล่มที่ 7 มันสำปะหลัง. สหการการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร. 164 น.

จรัญ จันทลักขณา. 2523. สถิติ วิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช. กรุงเทพมหานคร. 468 น.

จรูญ คำนวณตา และจรัญ เจตนะจิตร. 2529. สัมมนาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์. สถาบันวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2524. อัลฟลาทอกซิน. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพมหานคร. 159 น.

ประวิทย์ เพิ่มสินทวี. 2519. สัมมนาการใช้ยีสต์เพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

พิชัย สราญรมณ์. 2528. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับมันสำปะหลังสำหรับการศึกษาระดับปริญญา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 417น.

รุ่งโรจน์ มธุรพร. 2523. การเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยการหมัก. วิทยาศาสตร์การอาหาร. 12(1) : 22.

วิชชุพร ว่องสุวรรณเลิศ. 2523. จุลินทรีย์โปรตีนจากมันสำปะหลัง วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร. 209 น.

Banwart, G.T. 1979. Basic Food Microbiology. The AVI Publishing Inc.

Bautista, M.B. 1988. Protein Environment of Cassava by Solid Substrate Fermentation. The Degree of Master of Science Thesis. AIT Bangkok, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Brook. E.J. 1969. Fermentation Method for Protein Environment of Cassava. Biotechnology and Bioengineering. 11 : 1271-1282.

Cannel, E. and M. Moo Young. 1980. Solid State Fermentation System Process Biochemistry, June/July, 2-7.

Charan, C and C. Kamnuanta. 1980. Protein Enrichment of Cassava by Fermentation. Kasetsart University.

Charlottle, B., G.W. Rambo and G.A. Bean. 1972. Inhibition of Aspergillus flavas Aflatoxin Production By Aspergillus niger Phytopath. 62 : 668.

Devenell, B.J. 1965. The Physical Environmental of Fungal Growth. The Fungi-An. Advanced Treatise. Academic Press, New York. 1:543-550

Golucke, C.G. 1977. Biological Rechmation of Solid Wastes. Roskle Press. Emmaus, Pennsylvania.

Hayashida, S. and P.Q. Hor. 1981. Raw Starch Digestive Glucoamylose Productivity of Protease-less Mutant from Aspergillus Quamori Var Kawashi. Agri. Biol. Chem. 45(12) : 2675-2681.

Hesseltine, C.W. 1977. Solid State Fermentation. Part 2. Process Biochemistry November, p. 30-32.

Johnson. R.M. and W.D. Raymond. 1965. The Chemical Composition of Some Tropical Food Plants 4. Manioc. Tropical Science. 7(3) : 109-115

Kumnuanta, J. 1976. Choice of Microorganism for Single Cell Protein. Regional/UNESCO/IDRC, Training Course Bangkok, Thailand

Liang, Y.T., Morill, J.L. Anstactt, F.R. Dayton, A.D. and M.B. Plost. 1970. Effect of Pressure, Moisture and Coding Time on Susceptibility of Corn or Sorghum Grain Starch to Enzymatic Attack. Dairy Science. 53 : 336-341.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Looder, J. 1974. The Yeast, a Taxonomy Study. North Holland Publishing Co., Amsterdam, p. 1385.

Moore-Lendecker, E. 1972. Fundamental of Fungi. Prentice Hall Inc Eaglewood Cliffs, New Jersey.

Moo-Young, M. Moreira, A.R. and R.P. Tengerdy. 1979. Principle of Solid-Substrate Fermentation.

Muindi, P.J. and J.F. Hanssen. 1981. Nutritive Value of Cassava Root Meal Enriched by Trichoderma harzianum for Chickens.J.Sci. Food. Agri. 32 : 647-654.

Muindi. P.J. and S. Thomke. 1981. Protein Quality Studies on Rats Fed on Cassava Root Meal Enriched with Cephalosporium cichhorniac 152 or with Conventional Plant Protein Supplements. Anim. Feed. Sci. Technol. 6 : 197-208.

Onwueme, I.C. 1978. The Tropical Tuber Crops. John Wiley & Sons, New York. 571 p.

Raimbaitt, M.A. Deschamps. F.Meyer,. F. and J.C. Senez. 1977. Direct Protein Enrichment of Starchy Products by Fungal Solid Fementation. Proc Giam V. Marseille, France.

Senez, J.C. 1980. Solid State Fermentaion of Starchy Substrate Biooconversion of Organic Residues for Rural Communities. The United States University.

Silman, R.U. 1980. Ezyme Formation During Solid Substrate Frmentation on rotating Vessels. Biotech Bioeng. 22 : 422-420.

Strasser, J., J.A. Abbott and R.F. Battery. 1970. Process Enriched Cassava with Protein. Food Eng. 42(5) : 112-116.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Synder, E.E. 1970. icrobial Source of Protein. Adv. Food. Res. 18 : 85-140.

Trerelyan, W.E. 1970. The Enrichment of Cassava with Protein by Moist Solids Fermentation. Tropical Science. 16(4) : 179-194.

Windish, W.W. and N.S. Mhatre. 1965. Microbial Amylase. Adv. in Appl Microbial. 7 : 273-304.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการตรวจสอบและวิเคราะห์

ก.1 ความชื้น (Moisture content)

อุปกรณ์ - ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

- aluminium can

- เดซิเคเตอร์ (dessicator)

วิธีการ - ชั่งตัวอย่างประมาณ 3-5 กรัม (ชั่งละเอียด) ใส่ใน aluminium can ซึ่งอบแห้งและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่แล้วคำนวณหาความชื้นของตัวอย่างจากสมการ

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

ก.2 ความเป็นกรด - ด่าง (pH)

อุปกรณ์ - เครื่องมือวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH- meter)

งมือวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH - meter)

- บีกเกอร์

- แท่งแก้ว

วิธีการ - ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่น 10 มล. บดตัวอย่างให้ละเอียดในน้ำกลั่น ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที นำไปวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัด (pH - meter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.3 โปรตีนทั้งหมด (Crude protein) โดยวิธี Macro - kjeldahl method (ดัดแปลงจาก AOAC 2.055,1982)

อุปกรณ์ - Digestion flask

- Erlenmeyer flask 250 ml.
- Burette 50 มล.
- ชุดย่อยโปรตีนพร้อมเครื่องดูดควัน
- ชุดกลั่นโปรตีน

สารเคมี - กรดซัลฟูริคเข้มข้น

- คะตะลิสผสม (mixed catalyst)

ผสม 7 ส่วนของคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSo_4$) และ 100 ส่วนของโปตัสเซียมซัลเฟต ($K_2 SO_4$)

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 45%
- สารละลายกรดบอริค 4%
- สารละลายมาตรฐาน 0.1 N กรดซัลฟูริค
- อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator)

ผสม 100 มล. 0.1% methyl red และ 200 มล. 0.2% bromocresol green ในสารละลาย 95%

วิธีการ - ชั่งตัวอย่าง 1-2 กรัม (ชั่งละเอียด) ห่อด้วยกระดาษกรองที่ปราศจาก N_2 ใส่ลงใน digestion flask เติมคะตะลิสผสมประมาณ 10 กรัม และเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 20 มล.

- นำไปย่อยในชุดย่อยโปรตีนที่เปิดเครื่องดูดควันไว้เรียบร้อยแล้ว โดยใช้ความร้อนต่ำในช่วงแรก แล้วค่อย ๆ เพิ่มความร้อน หลังจากที่ย่อยไปได้ประมาณ 30-45 นาที จนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใสแล้วย่อยต่อไปอีกประมาณ 1 ชั่วโมง ปิดเตาย่อยทิ้งไว้ให้เย็นและหมดควัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปิเปตกรดบอริค 4% 50 มล. ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. หยดอินดิเคเตอร์ผสม 3-4 หยดจะได้สารละลายสีชมพู นำไปวางไว้ใต้เครื่องกลั่นเอาปลายหลอดนำก๊าซจุ่มให้อยู่ในสารละลาย
- นำหลอด digestion flask ที่เย็นและหมดควันแล้วต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นกดปุ่มเพื่อปรับหรือเติมน้ำกลั่น 100 มล. และโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ 45. 100 มล. กดสวิทช์เริ่มการกลั่น
- การกลั่นจะกลั่นเป็นเวลา 3 นาที สารละลายกรดบอริคจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวใส ยกออกแล้วใช้น้ำกลั่นล้างที่หลอดนำก๊าซเล็กน้อย
- นำสารละลายกรดบอริคที่ได้มาไตเตรทกับกรดซัลฟูริค0.1 Nอ่านปริมาตร (V_1) จะให้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน
- ทำ Blank โดยทำเช่นเดิมแต่ไม่มีการใส่ตัวอย่าง ไตเตรทอ่านปริมาตรเป็น (V_2)

การคำนวณ - ปริมาณแอมโมเนีย (V) = $V_2 - V_1$

- ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริค = N
- น้ำหนักตัวอย่าง (ละเอียด) = W_s

$$\text{crude protein (\%)} = \frac{1.4VN}{W_s} \times (6.25)$$

<u>หมายเหตุ</u> V_2 ปกติจะน้อยมากจึงไม่นิยมนำมาคิดแต่จะใช้ค่าเป็นศูนย์ (0)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การคำนวณปริมาตรน้ำที่ต้องเติมเพื่อปรับความชื้นปลายข้าว

ตัวอย่าง ปลายข้าว 1 กรัม ความชื้น 12% ต้องการปรับให้มีความชื้น 30% จะต้องเติมน้ำปริมาตรเท่าใด

$$\text{น้ำหนักภายหลังปรับความชื้น} = \frac{(\text{นน.ก่อนปรับความชื้น})\ (\%\ \text{นน.แห้งก่อนปรับความชื้น})}{(\%\ \text{นน.แห้งหลังปรับความชื้น})}$$

น้ำหนักก่อนปรับความชื้น = 10 กรัม

% น้ำหนักแห้งก่อนปรับความชื้น = 88 กรัม

% น้ำหนักแห้งหลังปรับความชื้น = 70 กรัม

แทนค่าในสูตร

$$\text{น้ำหนักรวมหลังปรับความชื้น} = \frac{10(88)}{70}$$

$$= 12.57 \text{ กรัม}$$

ดังนั้น ปริมาตรน้ำที่ต้องเติม = น้ำหนักรวมหลังปรับความชื้น - น้ำหนักก่อนปรับความชื้น

= 12.57 - 10

= 2.57 กรัม

= 2.57 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตาราง ค.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2 SO_4$	ปริมาณความชื้น ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
	1	2	3	4	5
0:0	56.792	59.008	45.716	57.986	61.318
0:2	64.576	51.388	46.213	55.411	49.494
2:0	47.342	54.662	53.427	58.848	49.095
1:1	50.432	55.644	50.789	54.113	42.693
1:2	56.872	56.569	46.338	50.368	58.814
2:1	55.427	51.695	58.045	51.771	44.919

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค.2 การเปลี่ยนแปลงพีเอชที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2 SO_4$	ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)								
	12	24	36	48	60	72	84	96	120
0:0	4.68	5.21	6.80	5.46	6.28	6.01	5.49	5.54	6.02
0:2	4.98	5.01	6.04	5.84	6.17	6.43	7.02	6.71	6.29
2:0	5.06	5.83	7.06	7.27	7.83	7.38	7.46	7.69	7.86
1:1	4.80	5.29	6.80	7.71	7.60	7.78	7.71	6.95	6.50
1:2	4.95	5.38	6.75	7.02	7.03	7.59	7.52	7.41	6.15
2:1	5.80	6.23	7.44	7.22	7.75	7.66	7.85	7.90	6.65

ตาราง ค.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ $(NH_4)_2 SO_4$	ปริมาณโปรตีน (%) ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
	1	2	3	4	5
0:0	2.305	2.687	2.059	5.807	5.277
0:2	5.938	6.269	6.489	15.489	14.958
2:0	10.385	12.223	12.125	8.754	18.269
1:1	12.038	18.421	11.401	11.401	11.961
1:2	16.116	21.085	21.549	19.908	24.867
2:1	14.318	21.525	13.576	14.398	13.400

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นเฉลี่ยที่อัตราส่วนของเชื้อราต่าง ๆ

อัตราส่วนของเชื้อรา	ปริมาณความชื้นเฉลี่ย (%)				
A.niger ผสม Mucor sp.	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
	1	2	3	4	5
1:1	57.474	52.207	50.671	54.626	47.532
1:2	58.269	54.454	42.210	50.469	43.717
2:1	54.938	53.646	46.098	54.578	49.060

ตาราง ค.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยที่อัตราส่วนของเชื้อราต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของเชื้อรา	ปริมาณโปรตีนเฉลี่ย (%)				
A.niger ผสม Mucor sp.	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
	1	2	3	4	5
1:1	20.884	19.963	17.983	22.196	22.423
1:2	22.606	22.451	20.105	21.767	21.641
2:1	22.141	20.439	21.191	22.678	23.965

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้