



# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง มั่นสำปะหลังหมักสภาพแห้งในถังหมักทรงสูง  
Fermented Cassava in  
Solid - State - Tower Fermenter

โดย นายสุรินทร์ วัฒนพูล  
นายอนุวัตร เอื้อศิริตระกูล  
ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 16/๙/๓๓. อาจารย์ที่มีปริญญาโทสาขาพิเศษ  
(อาจารย์ พอใจ ลิ้มทันธอุคม )  
..... 16/1/๓๓. กรรมการของภาควิชา  
( อาจารย์ยรรตพร หาเรือนกิจ )  
..... 16/1๐/๓๓. กรรมการของภาควิชา  
( ผศ. เขียวลักษณ์ สุรพันธ์พิษฐ์ )

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....  
( ผศ. เขียวลักษณ์ สุรพันธ์พิษฐ์ )

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 16 เดือน ๑๒ พ.ศ. ๓๓

๒๗.  
๘๖๑.๒  
๕๕๓๒

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในบริบททางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



14093

ปัญหาพิเศษ ( 45499 )

เรื่อง

มันสำปะหลังหมักสภาพแห้งในถังหมักทรงสูง

Fermented Cassava in

Solid - State - Tower Fermenter



T096878

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ.

๒๕๖๑

พ.ศ. 2533

๒๕๓๓

เลขหมู่.....

96878

เลขทะเบียน.....

วันเดือนปี.....

เอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการหมักมันสำปะหลังให้มีระดับโปรตีนสูงขึ้นโดยการหมักสภาพแห้ง ในถังหมักทรงสูง (Fermented Cassava in Solid - State - Tower Fermenter) ซึ่งมีขั้นตอนการทดลองดังนี้ คือ ขั้นที่ 1 ศึกษาอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยใช้อัตราส่วนของเชื้อราทั้งสองชนิด คือ 1 : 1 1 : 2 และ 2 : 1 จากผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนของเชื้อราที่มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงสุด หลังจากสิ้นสุดการหมักคืออัตราส่วน 2 : 1 ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนเป็น 23.97 %

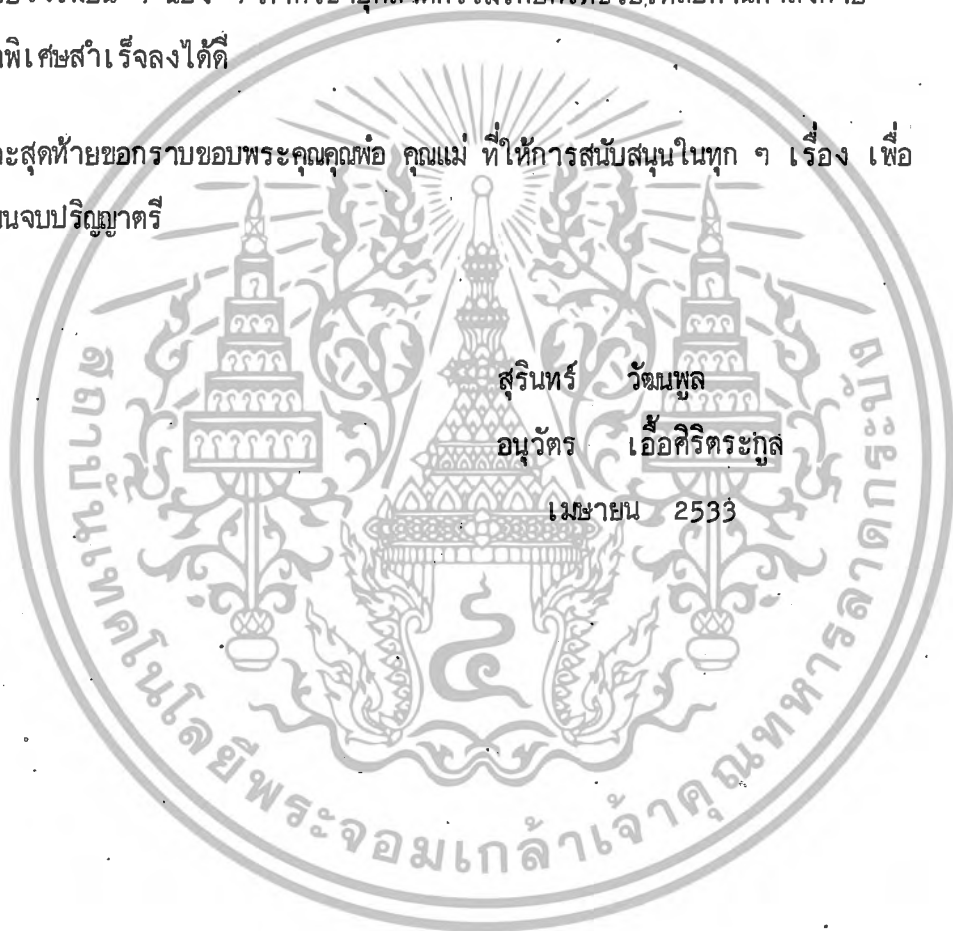
และนำเอาอัตราส่วนของเชื้อรา 2:1 นี้ไปศึกษาในการทดลองขั้นที่ 2 ซึ่งเป็น การศึกษาถึงอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนคือ Urea และ  $(NH_4)_2SO_4$  ที่มีผลต่อการ เพิ่มปริมาณโปรตีนและการควบคุมพีเอชของระบบโดยใช้อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนทั้งสอง ชนิด คือ 0:0 0:2 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 จากผลการทดลองพบว่า อัตราส่วน ของแหล่งไนโตรเจนที่ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงสุดหลังจากสิ้นสุดการหมักและทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชของระบบน้อยที่สุดคืออัตราส่วน 1:2 ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนเป็น 24.87%

คำนิยม

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ พอใจ ลี้มพันธ์อุดม เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำ  
ปรึกษา แนะนำ ในการทำปัญหาพิเศษ ตลอดจนการตรวจแก้ไข เนื้อหา รูปเล่มปัญหาพิเศษ  
ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอใจเพื่อน ๆ น้อง ๆ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรที่ช่วยเหลือด้านกำลังกาย  
กำลังใจจนปัญหาพิเศษสำเร็จลงได้ดี

และสุดท้ายขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง เพื่อ  
ทำให้ผู้เขียนเรียนจบปริญญาตรี



## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....	(ก)
คำนิยม.....	(ข)
สารบัญตาราง.....	(ค)
สารบัญภาพ.....	(ง)
สารบัญตารางภาคผนวก.....	(จ)

บทที่

1 บทนำ.....	1
2 การตรวจเอกสาร.....	3
3 วิธีการทดลอง.....	17
4 ผลการทดลอง.....	26
5 วิเคราะห์ผลการทดลอง.....	29
6 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	32
เอกสารอ้างอิง.....	33

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก .....	36
ภาคผนวก ข .....	39
ภาคผนวก ค .....	40
ภาคผนวก ง .....	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีให้นำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ปริมาณและมูลค่าผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังส่งออกในปี 2528 และ ปี 2529 .....	1
2.1 องค์ประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังอื่น ๆ..	5
2.2 กรดอะมิโนจำเป็นในหัวมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักแห้ง) .....	6
4.1 ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยหลังสิ้นสุดการหมักที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน.....	26
4.2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติปริมาณโปรตีนเฉลี่ยหลังสิ้นสุดการหมักที่ อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน .....	27
4.3 ปริมาณโปรตีนหลังสิ้นสุดการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน..	27
4.4 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน	28

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
3.1 แผนภาพแสดงการเตรียมสปอร์กล้าเชื้อรา <u>A.niger</u> และ <u>Mucor sp.</u>	19
3.2 แผนภาพแสดงวิธีการผลิตสปอร์เชื้อรา <u>A.niger</u> และ <u>Mucor sp.</u>	20
3.3 แผนภาพแสดงการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ <u>Cadida sp.</u> และ <u>Saccha romyces cerivisiae</u> .....	22
3.4 แผนภาพแสดงการหมักมันสำปะหลังเพื่อศึกษาแหล่งไนโตรเจน.....	25
4.1 กราฟแสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยในการหมักที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน....	A
4.2 กราฟแสดงปริมาณโปรตีนในการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน.	B
4.3 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงพีเอชในการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน ต่างกัน.....	C

## สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่	หน้า
ค.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน หลังการหมักเชื้อรา 3 วัน.....	41
ค.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน หลังสิ้นสุดการหมัก.....	42
ง.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน	43
ง.2 การเปลี่ยนแปลงพีเอชที่อัตราส่วนของไนโตรเจนต่างกัน.....	43
ง.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน..	44
ง.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นเฉลี่ยที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน....	44
ง.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน.....	45

บทที่ 1

บทนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกถึง 5-6 ล้านตันต่อปี โดยตลาดที่สำคัญของประเทศไทย คือ ประเทศในกลุ่มประชาคมเศรษฐกิจยุโรป (EEC) ซึ่งนิยมนำมันสำปะหลังไปผสมอาหารเลี้ยงสัตว์ แต่ในระยะ 2-3 ปีที่ผ่านมา ประเทศในกลุ่มประชาคมเศรษฐกิจยุโรปได้มีการจำกัดการนำเข้าของมันสำปะหลัง เนื่องจากผลิตมันสำปะหลังได้เองเป็นจำนวนมากทำให้ความต้องการในการนำเข้มันสำปะหลังของประเทศไทยลดลง ประเทศไทยจึงประสบกับปัญหามันสำปะหลังล้นตลาด ดังจะสังเกตุได้จาก

ตารางที่ 1.1 ปริมาณและมูลค่าผลผลิตมันสำปะหลังส่งออกในปี 2528 และ 2529

ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	ปริมาณ (ตัน)		มูลค่า (ล้านบาท)		เพิ่มขึ้น(+): ลดลง(-)	
	2528	2529	2528	2529	ปริมาณ	มูลค่า
1. ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อการเลี้ยงสัตว์						
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	435,191	1,918.84	2,329.96	47,163	+ 411.12
3. สาagu	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	0.74	32	+ 0.53
<b>รวม</b>	<b>7,093,811</b>	<b>6,326,323</b>	<b>14,994.92</b>	<b>19,125.43</b>	<b>767,488</b>	<b>+4,130.51</b>

ที่มา : กรมศุลกากร (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเห็นได้ว่าปริมาณและมูลค่าผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะมันเส้น (แห้ง) นั้นลดลงอย่างมาก ดังนั้นจึงได้มีความพยายามในการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ภายในประเทศขึ้น โดยมันสำปะหลังเป็นอาหารที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตอยู่สูงแต่มีระดับโปรตีน ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ต่ำ คาร์โบไฮเดรตในมันสำปะหลังจะเป็นแป้งและคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้สูงถึง 90-95% และมีระดับเยื่อใยต่ำประมาณ 3.2-4% ทำให้คาร์โบไฮเดรตในมันสำปะหลังย่อยง่าย เหมาะสมที่จะเป็นแหล่งพลังงานของสัตว์กระเพาะเคี้ยวส่วนระดับโปรตีนเฉลี่ยประมาณ 2.5% เท่านั้น และคุณภาพของโปรตีนก็ต่ำด้วย

วิธีการที่จะประยุกต์ใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์โดยให้โปรตีนในระดับสูงขึ้นด้วยวิธีหนึ่งคือ การนำเอามันสำปะหลังไปหมักในสภาพแห้ง (Solid - Substrate Fermentation) โดยใช้เชื้อราและเชื้อยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์โปรตีน (single - cell protein) เชื้อราและเชื้อยีสต์จะสามารถเพิ่มระดับโปรตีนในมันสำปะหลังให้สูงขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตจากมันสำปะหลังได้เป็นอย่างดี และสามารถเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตบางส่วนเหล่านี้ไปเป็นโปรตีนของตัวเองจึงทำให้ระดับโปรตีนของมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นด้วยและสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ได้

#### วัตถุประสงค์ของการทดลอง

- 1) ศึกษาผลของอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในการหมักมันสำปะหลัง
- 2) ศึกษาผลของอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea และ  $(NH_4)_2SO_4$  ต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนและการเปลี่ยนแปลงพีเอชของการหมักมันสำปะหลัง

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 ลักษณะทั่วไปและองค์ประกอบทางเคมีของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (Cassava) ในแถบลาตินอเมริกาที่ใช้ภาษาสเปนจะเรียกว่า "YUCA" และในบราซิลที่มีการใช้ภาษาโปรตุเกสเรียกว่า "MANNDIOCA" และแถบแอฟริกาที่มีการใช้ภาษาฝรั่งเศสจะเรียกว่า "MANIOC"

มันสำปะหลังจัดอยู่ใน

SUBDIVISION : Angiospermae

CLASS : Dicotyledanae

ORDER : Gevairiales

GENUS : Manihot

FAMILY : Euphorbiaceae

และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ Manihot esculenta Grantz

มันสำปะหลังที่ปลูกกันอยู่ทั่วไปแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ 2 ประเภทดังนี้คือ

1) ประเภทที่ใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือประเภทหวาน (Sweet Type) เป็นมันสำปะหลังที่มีรสไม่ขม เนื้อแน่น เหนียว เมื่อต้มหรือึ่งจะมีรสดี ส่วนมากมีอายุสั้น ต้นเล็ก หัวเล็ก ในประเทศไทยมีพันธุ์ที่เรียกว่า "พันธุ์ห่านาฮี" บางทีก็เรียกว่า "พันธุ์ยอดแดง" มันสำปะหลังประเภทนี้ใช้เป็นอาหารรับประทานด้วยต้ม เผาหรือทำให้สุกโดยวิธีอื่น มันสำปะหลังพันธุ์ห่านาฮีหัวสดมีน้ำอยู่ประมาณ 66% มันแห้งมีโปรตีนประมาณ 2% มีกรดไฮโดรไซยานิกอยู่ประมาณ 10 ส่วนในล้านส่วน

2) ประเภทที่ใช้ในการอุตสาหกรรมหรือประเภทขม (Bitter Type) เป็นพวกที่มีแป้งมากและมีรสขมไม่เหมาะจะนำไปใช้รับประทาน ต้นโต หัวโต ใหญ่ใช้ทำแป้ง และเลี้ยงสัตว์ได้แก่ พันธุ์ยอดขาว พันธุ์สิงคโปร์ พันธุ์ระยอง และพันธุ์พื้นเมือง หัวสดมีน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 70% มีแป้งประมาณ 23% มันแห้งมีโปรตีน 2.6% มีกรดไฮโดรไซยานิก 80 ส่วนในล้านส่วน (กรมวิชาการเกษตร 2526)

ในหัวมันสำปะหลังเป็นแหล่งที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง แต่ปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำ มันสำปะหลังยังมีแคลเซียมและวิตามินซีสูงอีกด้วย แต่มีวิตามินและแร่ธาตุชนิดอื่น ๆ ก่อนข้างต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 มันสำปะหลังสดมีคาร์โบไฮเดรตอยู่ 30-35% หรือประมาณ 70-90% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งประกอบด้วยแป้ง น้ำตาล เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส (พิชัย 2528)

Johnsion and Raymond (1965) และ Onwume (1978) กล่าวว่าโปรตีนในมันสำปะหลังนอกจากจะมีปริมาณต่ำแล้วยังมีคุณภาพต่ำอีกด้วย โดยมีอาร์จินีนเป็นกรดอะมิโนที่มีปริมาณสูงสุดมีเมทไธโอนีน ไลซีน ทรีโตนิน ฟีนอลาร์ลามีน และไทโรซีนต่ำ ดังแสดงในตารางที่ 2.2 สำหรับกรดไขมันที่พบในหัวมันสำปะหลังได้แก่ กรดปาล์มเมติก กรดโอเลอิก กรดลิโนลินิก สำหรับสเตอรอยล์ไม่พบในหัวมัน

นอกจากนี้ในหัวมันสำปะหลังยังพบกรดไฮโดรไซยานิกเป็นองค์ประกอบอยู่ 0.2% ซึ่งประกอบด้วย cyanogenic glucosides 2 ชนิดคือ linamarin มีอยู่ 93% และ lotaustralin มีอยู่ 7% ของ cyanogenic glucosides ทั้งหมดและเมื่อ linamarin ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ linamarase ในขณะที่เซลล์ถูกบดจนจะได้กรดไฮโดรไซยานิก กลูโคส และอะซิโตน ส่วน lotaustralin จะได้กรดไฮโดรไซยานิก กลูโคส และเมทิลอะซิโตน กรดไฮโดรไซยานิกชนิดนี้เป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ พิษของกรดไฮโดรไซยานิกสามารถถูกทำลายได้โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 72 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นการทำลายเอนไซม์ linamarase การทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนหรือแสงแดด การหั่นมันสำปะหลังเป็นแผ่นหรือเส้นทิ้งไว้ระยะหนึ่งจะทำให้ cyanogenic glucosides ถูกย่อยสลายได้กรดไฮโดรไซยานิกและทำให้ระเหยออกไป การนำเอามันสำปะหลังไปทำเป็นแป้งหรือการหมักมันสำปะหลังโดยจุลินทรีย์ซึ่งจะย่อยแป้งทำให้เกิดกรดอินทรีย์มากมายจะทำให้พีเอชต่ำลงซึ่งถ้าต่ำกว่า 7 จะเกิดการสลายตัวของ glucoside เกิดเป็นกรดไฮโดรไซยานิก (พิชัย 2528)

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกที่เป็นอันตรายต่อการบริโภค  
ประมาณ 60 ส่วนในล้านส่วน (กรมวิชาการเกษตร 2526)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของหัวมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ

	Cassava tubers	Cassava flour	Cassava macaroni	Gari	Fufu
Moisture (g/100 g)	59.4	9.50	10.60	14.40	15.30
Protein (g/100 g)	0.70	1.60	11.20	0.90	0.60
Fat (g/100 g)	0.20	0.40	1.90	0.10	0.14
Crude fiber (g/100 g)	0.60	0.80	0.70	0.40	0.20
Carbohydrate (g/100 g)	38.10	84.90	73.80	81.80	75.80
Ash (g/100 g)	1.00	1.80	1.80	1.40	0.50
Calcium (mg/100 g)	50.00	60.00	30.00	70.00	160.00
Phosphorus (mg/100 g)	40.00	80.00	140.00	40.00	20.00
Thiamine (mg/100 g)	0.05	0.08	0.22	-	-
Iron mg/100 g)	0.90	3.50	2.90	2.20	6.20
Vitamina C (mg/100 g)	25.20	-	-	-	-
Calories (kcal/100 g)	157.00	338	351	323	393

ที่มา : Balagoplan et al. (1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 กรดอะมิโนจำเป็นในหัวมันสำปะหลัง (โดยน้ำหนักแห้ง)

	Free amino acids		Amino acid in protein	
	Tuber	Leaf	Tuber	Leaf
Arginine	0.29	1.48	7.74	5.21
Histidine	0.27	0.66	1.50	2.47
Isoleucine	0.03	1.67	5.33	4.12
Leucine	0.31	2.72	5.56	10.00
Lysine	0.07	1.87	6.23	7.11
Methionine	0.03	0.36	0.60	1.45
Phenylalanine	0.03	0.92	3.45	3.87
Threonine	0.03	1.35	3.83	4.70
Tryptophan	-	0.24	0.53	1.09
Valine	0.04	0.99	4.51	6.18

ที่มา : Balagoplan et al. (1988)

## 2.2 การหมักในสภาพแห้ง (Solid - Substrate - Fermentation)

การหมักในสภาพแห้งหมายถึง ระบบการหมักที่อาศัยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนอาหารแห้งในสภาพที่ไม่มีน้ำอิสระอยู่ในระบบ อย่างไรก็ตามน้ำที่อยู่ในระบบจะอยู่ในสภาพของความชื้นที่ถูกดูดซับอยู่กับวัตถุดิบเท่านั้น (วรารุณี และ รุ่งนภา 2532)

การหมักในสภาพแห้งจะเกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากวัสดุที่ไม่ละลายน้ำสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ (metabolism) ซึ่งวัสดุเหล่านั้นโดยปกติจะแพร่กระจายหนาแน่นในสภาวะที่เป็นส่วนผสมของเหลวกับของแข็งที่ปราศจากหรือแทบไม่มีของเหลวอิสระ การเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยายิ่งยุดถึงเมื่อความชื้นต่ำกว่า 12 %

(Golueke 1977) ข้อกำหนดความชื้นขั้นต่ำที่การหมักสภาพแห้งจะสามารถทำได้และชี้แจงเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำกัดชั้นสูงของการดูดซับและการระเหยความชื้นจะเปลี่ยนแปลงไปกับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้เป็น  
ซับเสตรท (Moo - Yong et al.1979)

ลักษณะทั่วไปของการหมักในสภาพแห้ง (Hesseltine 1977)

- 1) วัตถุดิบที่นิยมใช้ในการหมักสภาพแห้งมักเป็นพวกธัญพืช ถั่ว และผลิตภัณฑ์จาก  
พืชหรือสัตว์ ซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนสูง
- 2) วัตถุดิบที่ใช้ต้องควบคุมขนาดที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดช่องว่างที่เพียงพอให้  
อากาศถ่ายเทได้
- 3) ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ น้ำและอาหารขั้นต้น
- 4) การปนเปื้อนของแบคทีเรียในระหว่างการหมักในสภาพแห้งลดลง เนื่องจาก  
ความชื้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย
- 5) ในการหมักสภาพแห้งมักเกิดปัญหาความร้อนสะสมซึ่งต้องควบคุมไม่ให้สูงเกิน  
ระดับที่เป็นอันตรายต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

Cannel (1980) กล่าวว่า การหมักในสภาพแห้งสามารถใช้ถึงหมักได้ คือ  
แบบถาด (tray) กองเป็นแถวตามแนวยาว (windrow) ถังหมักทรงสูง (tower  
fermentor) กระบะสี่เหลี่ยมที่มีการให้อากาศน้อยครั้ง (bed with recycled condition  
air) ถังหมักทรงกระบอกหมุนได้ (rotating drum) และถังหมักที่มีระบบการกวนอยู่  
ภายใน (stirred tank)

Brook et al. (1969) กล่าวว่า การหมักในสภาพแห้งเป็นวิธีการเปลี่ยน  
สภาพของแป้งที่มีคุณภาพต่ำในมันสำปะหลังโดยการเติมพวก mineral salt และแหล่ง  
ไนโตรเจนและมีการเติมหัวเชื้อราและให้ความชื้นในการหมักด้วย วิธีนี้ได้รับแนวคิดมาจากวิธี  
การหมักแบบพื้นบ้านของทางเอเชียใต้ที่รู้จัก คือ "TEMPEH" ในประเทศอินโดนีเซีย การ  
หมัก sour - dogh bean และ cereal cake

Stanton and Wellbridge (1968) กล่าวว่า ความสำเร็จของการหมัก  
ถูกควบคุมหรือขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ ปริมาณหัวเชื้อ การควบคุมสารที่เติมและสภาพแวดล้อมต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อได้เปรียบของการหมักในสภาพแห้ง (Hesseltine 1977)

- 1) อาหารเลี้ยงเชื้อเตรียมได้ง่าย
- 2) ต้องการเนื้อที่ในการติดตั้งเครื่องมือที่ใช้ในการหมักไม่มาก
- 3) เครื่องมือที่ใช้ในอุตสาหกรรมไม่ยุ่งยากและไม่แตกต่างจากที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

การ

- 4) หัวเชื้อที่ใช้อยู่ในรูปของสปอร์จึงไม่จำเป็นต้องใช้ถึงหมักสำหรับการเตรียม

หัวเชื้อ

- 5) สภาพการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์คือ เชื้อราต้องการ lag phase สั้น

การหมักจึงเกิดได้ดี

- 6) ลดปัญหาการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นเนื่องจากความชื้นต่ำ
- 7) ผลผลิตที่ได้อาจสามารถสกัดออกได้โดยตรง และใช้วิธีการทั่วไป
- 8) ผลผลิตที่ได้อาจมีความเข้มข้นจึงสามารถทำให้แห้งแล้วนำไปใช้ทำอาหาร

สัตว์ได้เลย

ข้อเสียเปรียบของการหมักในสภาพแห้ง

- 1) มีความจำกัดต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้คือ ต้องสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพ

ที่มีความชื้นต่ำ

- 2) ปัญหาความร้อนสะสมเกิดขึ้นเมื่อหมักอยู่ในระดับที่ใหญ่ ๆ
- 3) การติดตามผลการหมักทำได้ยาก
- 4) สปอร์หัวเชื้อจำเป็นต้องใช้ในปริมาณสูง
- 5) วัตถุดิบต้องทำการแปรสภาพ (pretreated) โดยการหั่นหรือหุบให้แตก

เป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อน

- 6) การหาค่ามวลของเส้นใย (mycelial mass) ทำได้ยาก

### 2.3 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลัง

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลังในสภาพแห้งส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อรา และเชื้อยีสต์ซึ่งมีข้อแตกต่างกันตามที่ Kumnuanta (1976) ได้กล่าวไว้คือ

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

เชื้อราที่สำคัญในการหมักสภาพแห้งได้แก่

- 1) Phycomycetes เช่น genera Mucor และ Rhizopus
- 2) Ascomycetes ประกอบด้วย genera Aspergillus และ Penicillium
- 3) Basidiomycetes โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวก white rot fungi

โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวก Mucor, Rhizopus และ Aspergillus พบว่าเป็นกลุ่มที่ใช้แฉ่งในการผลิตเอนไซม์ (Raimbault et al. 1977)

Charan et al. (1980) ได้กล่าวว่าเส้นใยของ Aspergillus niger สามารถเจริญได้ในทุกส่วนของมันสำปะหลังที่ปราศจากการทำความสะอาดและใช้อุณหภูมิสูง เพราะฉะนั้นเงื่อนไขที่เหมาะสมที่จุลินทรีย์สามารถจะทนได้จะกว้าง การเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมคือ การมีความร้อนเกิดขึ้น การใช้ออกซิเจนและน้ำ Aspergillus niger สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิห้องจนถึง 40 องศาเซลเซียส และสามารถทนต่อสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 14.

เนื่องจากมันสำปะหลังมีแฉ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่จะเจริญได้ในมันสำปะหลังจะต้องสร้างเอนไซม์ -amylase ได้ซึ่งเอนไซม์นี้เป็น Extracellular enzyme ย่อยสลายโมเลกุลของแป้งได้ (windish and Mhatre, 1965)

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

Hayashida and Flor (1981) กล่าวว่า เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งในมันสำปะหลังนั้นคือ  $\alpha$ -amylase และ glucoamylase แต่เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการย่อยแป้งคือเอนไซม์ glucoamylase เท่านั้น

เชื้อยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ดีกว่าเชื้อรา นอกจากนี้เชื้อยีสต์ยังมีวิตามินบีรวมและโปรตีนสูง ซึ่งสามารถนำไปเป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ได้อย่างปลอดภัย และ biological value ของโปรตีนจากเซลล์ของเชื้อยีสต์จะยิ่งสูงถ้ามีการเสริมด้วยเมทไธโอนีน

Humphrey (1968) กล่าวว่า เชื้อยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสมและนิยมใช้ผลิตเป็นจุลินทรีย์โปรตีนในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่เลี้ยงง่ายไม่ต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโตมากนัก และมีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารคนและสัตว์โดยที่ Candida utilis เป็นเชื้อยีสต์ชนิดแรกที่นิยมใช้เป็นแหล่งโปรตีนโดยใช้เป็นอาหารเสริมกับคน

เชื้อยีสต์ใน genus Candida นิยมใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์มากเนื่องจากเลี้ยงง่าย มีโปรตีนสูง มีการเจริญเติบโตและสามารถใช้สารหลายชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนได้ (Synder 1970)

Loder (1974) กล่าวว่า เชื้อยีสต์ที่สามารถย่อยแป้งได้โดยสร้างเอนไซม์  $\alpha$ -amylase ได้มีอยู่หลายชนิดเช่น Endomycopsis, Hancenuk, Pichia sp., Candida sp. Trichospore, Saccharomyces diastaticus

#### 2.4 มันสำปะหลังในฐานะที่ใช้เป็นขั้วเสศรท์

เชื้อราเจริญเติบโตในสภาพที่ใช้อากาศและจะเจริญอย่างรวดเร็วถ้าขั้วเสศรท์มีความสัมพันธ์ในอัตราส่วนของพื้นที่ผิวกับปริมาตร (Trerelyan 1970)

Charan et al. (1980) ได้กล่าวว่า การย่อยสลายของเอนไซม์จะไม่สมบูรณ์เมื่อขนาดของมันสำปะหลังใหญ่มาก ๆ โดยที่เชื้อราไม่สามารถจะย่อยสลายภายในของขั้วเสศรท์ได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การ Gelatinization ของมันสำปะหลังซึ่งทำได้โดยการใช้ไอน้ำฆ่าเชื้อทำให้เอนไซม์ของเชื้อราสามารถทำงานได้ดีขึ้น (Liang et al. 1970)

## 2.5 คุณสมบัติการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในการหมัก

### 2.5.1 สารอาหารที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโต

#### 2.5.1.1 แหล่งคาร์บอนและพลังงาน

เชื้อราและเชื้อยีสต์ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในสภาพที่มีออกซิเจน โดยมีการผลิตเอนไซม์ amylase ซึ่งใช้ในการย่อยแป้งเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้และย่อยแป้งเป็นน้ำตาลหรือสังเคราะห์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ (ประวิทย์ 2519, ส่วนเชื้อยีสต์นั้นส่วนมากจะใช้น้ำตาลที่สามารถหมักได้ เช่น D-glucose D-fructose และ D-mannose เป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อยีสต์บางชนิดสามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ด้วย (Bautista 1988)

#### 2.5.1.2 แหล่งไนโตรเจน

บางครั้งเชื้อราจะไม่สามารถดำรงอยู่ได้ถ้าขาดธาตุที่จำเป็นใน media ดังนั้นในการหมักสภาพแห้งสามารถจะเอาธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็นไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนรูปของโปรตีนที่ติดอยู่กับเซลล์ของเชื้อรา (mycelial protein) แต่ถ้าในชั้นเสตรหมีคาร์บอนในรูปที่ถูกดูดซึมได้ง่ายจะมีการเติมไนโตรเจนในรูปเกลือแอมโมเนียม ยีเรีย ไบยูเรตหรืออื่น ๆ ซึ่งราคาถูกเพราะจะผลิตอยู่ในรูปของปุ๋ยหรือสารผสมในอาหารสัตว์ (Bautista 1988)

คุณภาพของแหล่งไนโตรเจนจะเกี่ยวข้องกับระบบการหมักในสภาพแห้ง โดยสามารถเปลี่ยนอัตราส่วนการผลิตเอนไซม์ pectinase, amylase, hemicellulase และ proteinase จากเชื้อรา Aspergillus awamori โดยการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของรำข้าวสาลีกับ sugar beet ในการหมักสภาพแห้งโดยให้มันสำปะหลังกับเชื้อรา Aspergillus niger จุดวิกฤตของการใช้ในโตรเจนอยู่ในระดับ 0.75% โดยน้ำหนักแห้ง แต่ถ้าสูงกว่าระดับนี้การเจริญเติบโตของเชื้อราจะค่อย ๆ ลดลง (Bautista 1988)

จากการวิจัยโดยใช้ความแตกต่างของแอมโมเนียมซัลเฟตกับยูเรียสำหรับทำให้เกิดสภาพเป็นกลาง (buffering) ในชั้นเสตรทซึ่งผลปรากฏว่ายูเรียมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช โพรตีนที่ได้ และการใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรต การเติมยูเรียจะสามารถเติมได้สูงสุด 50-60% ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Raimbault et al.1977)

การเติมยูเรีย ไม่เกิน 1% ของน้ำหนักมันสำปะหลัง ในโตรเจนในรูปของแอมโมเนียและยูเรียจะสามารถถูกดูดซึมได้หมด แต่ถ้ามีการเติมยูเรียมากเกินไปพบว่าเชื้อราจะหยุดการเจริญเติบโตหลังจาก 3 วันและเมื่อเชื้อราหยุดการเจริญเติบโตก็ยังมีเปลี่ยนแปลงของแป้งไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และสารที่ให้กลิ่นอื่น ๆ (Trerelyan 1970)

## 2.5.2 สภาพทางกายภาพที่ต้องการสำหรับการเจริญเติบโต

### 2.5.2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่สำคัญอย่างหนึ่งซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อุณหภูมิจะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และรวมถึงการดำรงชีวิตอยู่ของจุลินทรีย์ด้วย โดยจะมีผลกับขนาดของเซลล์ metabolic products เช่น พวก pigments และ toxins ความต้องการสารอาหารปฏิกิริยาของเอนไซม์และสารประกอบทางเคมีของเซลล์ (Banwart 1979)

ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เซลล์ของเชื้อราจะยังมีชีวิตอยู่ แต่จะไม่ค่อยมีการเจริญเติบโตและถ้าสูงกว่า 40 องศาเซลเซียสส่วนใหญ่จะเกิดการหยุดการเจริญเติบโตและตายในที่สุด (Deven11 1965) อุณหภูมิตั้งแต่ 10 องศาเซลเซียสขึ้นไป อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์สูงขึ้น 2-3 เท่าแต่อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 30-60 องศาเซลเซียสถ้ามากกว่า 60 องศาเซลเซียสจะไม่เกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เลย

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

### 2.5.2.2 ผลของพีเอช

เชื้อราส่วนใหญ่จะเจริญภายใต้ช่วงพีเอชที่เหมาะสมคือ 4-8 โดยปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงพีเอชของ medium ทำให้เกิดผล 2 อย่างกับ metabolic activity

- 1) เกิดการผลิกรดอินทรีย์หรือมีการปล่อยแอมโมเนีย
- 2) เกิดความไม่สมดุลของการใช้ประโยชน์หรือการเปลี่ยน cations

และ anions (Bautista 1988)

San SenSenez (1980) กล่าวว่าในหมักมันสำปะหลังในสภาพแห้งพีเอชเริ่มต้นควรจะเป็น 3.5 เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

เชื้อยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีความเป็นกรดมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ปกติพีเอชที่เหมาะสมของเชื้อยีสต์โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 4.5-5.5 (Imrie 1976)

#### 2.5.2.3 ความชื้น

น้ำเป็นสิ่งจำเป็นของการเจริญเติบโตของเซลล์มีชีวิตทั้งหลาย เชื้อราต้องการความชื้นในระดับที่ค่อนข้างสูงแต่ก็มีเชื้อราจำนวนมากที่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่ปราศจากน้ำอิสระ น้ำเป็นตัวที่ใช้ในการนำเอาสารอาหารเข้าไปในเซลล์และมีผลต่อปฏิกิริยาเคมีที่จะสลายซับซ้อนให้เป็นโมเลกุลที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ ปฏิกิริยานี้ประกอบด้วยการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ในโปรตีน พันธะเอสเทอร์ในไขมัน และการเปลี่ยนโพลีแซคคาไรด์ไปเป็นโมโนแซคคาไรด์ (Banwart 1979)

Raimbault et al. (1977) ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของความชื้นเริ่มต้นต่อปริมาณโปรตีนพบว่าจุดที่เหมาะสมคือเมื่อผลิตภัณฑ์มีน้ำอยู่ 55% และไม่แสดงความแตกต่างที่ 50% และ 60% ถ้าความชื้นสูงกว้างนี้จะทำให้ช่องว่างซึ่งมีน้ำและความต้องการอากาศสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราถูกขัดขวาง เนื่องจากช่องว่างถูกน้ำเข้าไปแทนที่หมดและถ้าความชื้นต่ำกว่านี้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะถูกยับยั้ง ความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราคือ 50-60% ส่วนเชื้อยีสต์เจริญเติบโตได้ดีที่ความชื้น 70%

#### 2.5.2.4 การถ่ายเทอากาศ

การเจริญเติบโตของเชื้อราเป็นกระบวนการใช้อาหารและการเจริญเติบโตจะถูกยับยั้งในสภาพของอากาศที่มีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูง ซึ่งปริมาณเอกซสเปนเป็นเอกซสที่สวางไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจนจะมีความสำคัญต่อการหายใจของเซลล์ซึ่งจะออกซิไดซ์แหล่งพลังงานได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ และจะต้องมีการระบายเอาความร้อนออกเพื่อลดอุณหภูมิและความกดดันจากคาร์บอนไดออกไซด์ ( Bajracharya et al. 1980)

ความร้อนจะระบายออกจากวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักโดยการนำเอาอากาศที่ผ่านไปยังผนังของภาชนะโดยการพาหรือการระเหยเป็นไอน้ำ (Trerelyan 1970)

Senez (1980) ได้ยืนยันว่าการระบายอากาศโดยการเป่าอากาศขึ้นเข้าไปในถังหมักโดยวิธีนี้จะช่วยรักษาระดับความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงเอาไว้ได้ ความชื้นสัมพัทธ์ที่เชื้อราส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้คือ 95-100% และการเจริญเติบโตจะลดลงในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 80-85% ( Moore - Landecher 1972)

การกวนและการพลิกกลับเป็นการควบคุมพารามิเตอร์คือ ทำให้ได้รับการสัมผัสจากอากาศซึ่งทำให้พื้นที่ผิวใหม่ได้รับอากาศแต่ละขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดการฉีกขาดของเส้นใยของเชื้อราด้วยและทำให้การเจริญเติบโตลดลง ( Silman 1980) การถ่ายเทอากาศในการหมักสภาพแห้งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความชื้นของซบเซตรด้วย เพราะว่ามี การเปลี่ยนแปลงอัตราถ่ายเทน้ำในอากาศ

## 2.6 สารพิษ

ในหัวและใบของมันสำปะหลังจะประกอบด้วย cyanoginic glucosides คือ linamarin และ lotaustralin และในเนื้อเยื่อจะมีการผลิตเอนไซม์ linamase เมื่อเซลล์ของมันสำปะหลังถูกรบกวนหรือทำให้แตกจะทำให้เกิดการสัมผัสของเอนไซม์กับซบเซตรทซึ่งเป็นการเริ่มต้นการปล่อยกรดไฮโดรไซยานิกและสารนี้สามารถทำลายได้ด้วยความร้อน (Bautista 1988)

Charan et al. (1980) ใช้การหมักมันสำปะหลังที่เป็นขึ้นหมว่ามีกรดไฮโดรไซยานิกอยู่ 4.71 ส่วนในล้านส่วนซึ่งเทียบกับ 13-60 ส่วนในล้านส่วนในมันสำปะหลังแห้งที่ไม่ผ่านการหมัก การยับยั้งการเจริญเติบโตของแมคทีเรียหรือเชื้อราที่อาจสร้างแอลฟาทอกซินสามารถทำได้โดยการลดพีเอชเริ่มต้น และความเข้มข้นของแอลฟาทอกซินที่ไม่เป็นอันตรายและ

เป็นพืชต่อสัตรอยู่ในช่วง 0.17 ส่วนในล้านส่วน

สารพิษแอลฟาทอกซินในมันสำปะหลังหมักพบในปริมาณต่ำเพียง 0-0.21 ส่วนในล้านส่วนซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อสัตร และระดับที่ทำอันตรายต่อสัตรได้อยู่ในระดับ 10-100 ส่วนในล้านส่วน (ธีระยุทธ 2524)

การที่ปริมาณแอลฟาทอกซินมีน้อยแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่สร้างแอลฟาทอกซินเจริญได้ไม่ดีในมันสำปะหลังหมักหรือถ้าเจริญได้ก็ไม่สามารถสร้างสารพิษได้โดยเชื้อราที่ใช้ในการหมัก (Charlotte et al. 1972)

## 2.7 งานทดลองและวิจัยเกี่ยวกับมันสำปะหลังหมัก

รุ่งโรจน์ (2523) ได้ทำการทดลองหมักมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารสัตรโดยเชื้อรา Rhizopus nigricans ร่วมกับเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae พบว่าปริมาณโปรตีนเพิ่มจาก 0.9% เป็น 12.04% โดยปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นมาจากเชื้อยีสต์

วิษุพร (2523) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อรา Rhizopus oryzae MB 67 ร่วมกับ Saccharomyces cerevisiae 281 ในมันสำปะหลังบด 7% ผสมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5% พบว่าได้โปรตีน 47.9% ของน้ำหนักแห้ง

Brook et al. (1969) ได้ทำการทดลองเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักในสภาพแห้งและในของเหลว (Solid-substrate and liquid fermentation) โดยใช้เชื้อรา Rhizopus sp. ซึ่งวิธีการหมักในสภาพแห้งจะใช้แป้งมันสำปะหลังเติมโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2% คอบคุมอุณหภูมิที่ 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) ได้ทำการทดลองเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้กรดหรือเอนไซม์ amylase เปลี่ยนแป้งในมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลแล้วนำมาเลี้ยงเชื้อยีสต์ พบว่ามันสำปะหลังที่เลี้ยงด้วย Candida utilis มีโปรตีนทั้งหมด 35% ของน้ำหนักแห้ง เลี้ยงด้วยเชื้อยีสต์ Rhodotorula gracilis มีโปรตีนทั้งหมด 26.7%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงด้วยเชื้อยีสต์ Hansenula saturnus มีโปรตีนทั้งหมด 15.5%

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

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

Bautista (1988) ได้ทำการทดลองหมักมันสำปะหลังโดยอาศัยเชื้อรา 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 โดยใช้ถาดไนลอน ควบคุมอุณหภูมิที่ 29-31 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95-99% โดยใช้อากาศเป่าจากด้านล่างขึ้นด้านบนโดยใช้พัดลม พบว่าให้โปรตีนโดยการหมักมันสำปะหลังอย่างเดียว 23% มันสำปะหลังเติมรำข้าวให้โปรตีน 21% และมันสำปะหลังเติมถั่วเหลืองให้โปรตีน 21%

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และ สารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

- มันสำปะหลังชนิดที่ใช้ในอุตสาหกรรม (มันแป้ง) จากวิทยาเขตเกษตร บางพระ ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี
- ปลาขี้ขาว 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

- บัญแอมโมเนีย 21-0-0 จากองค์การตลาดเพื่อการเกษตร
- บัญยูเรีย 46-0-0 จากองค์การตลาดเพื่อการเกษตร
- กรดซันฟูริกเข้มข้น

3.1.4 อุปกรณ์

- รางถิ่ง
- กระละมั่งแสตนเลส
- ถาดอลูมิเนียม
- ปีเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กระจกทวง
- เทอร์โมมิเตอร์
- เดซิเคเตอร์
- Erlenmeyer flask
- Aluminium can
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
- เครื่องให้อากาศปลาตู้
- ตู้บ่มที่มีระบบหมุน เวียนอากาศร้อน 0-150 องศาเซลเซียส
- เครื่องย่อยโปรตีนยี่ห้อ Buchi รุ่น 421
- เครื่องกลั่นโปรตีนยี่ห้อ Buchi รุ่น 325
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (PH-meter)
- ถังหมักที่ใช้หมักในสภาพแห้ง ระบบปิด โคร่งยึดเป็นเหล็กหุ้มด้วยพลาสติกใส ภายในมีชั้นวางถาด มีช่องให้ลมหมุนเวียนอากาศและมีระบบให้ความชื้น

### 3.2 การเตรียมการดำเนินการทดลอง

#### 3.2.1 การเตรียมสปอร์กล้าเชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

(จรรยา และ จรรย์, 2529)

ซึ่งปลายข้าวประมาณ 10-15 กรัมใส่ใน Erlenmeyer flask

ขนาด 250 มล. เติมน้ำลงไปปรับความชื้นเป็น 30-35% (การคำนวณปริมาตรที่เติมในภาคผนวก ข) นำไปนึ่งให้สุกแล้วแช่กากน้ำตาลผสมน้ำในอัตราส่วน 2:1 เป็นเวลา 5 นาทีนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ใส่ น้ำละลายสปอร์ลงไป 1 มล. เขย่าให้สปอร์กระจายและกลิ้ง Erlenmeyer flask ให้เมล็ดข้าวติดข้างขวดให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้นำไปบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม 4-5 วันในภาพที่ 3.1

#### 3.2.2 การเตรียมสปอร์เชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

(จรรยา และ จรรย์, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำปลายข้าวประมาณ 5 กิโลกรัมขาวน้ำให้สะอาดแล้วแช่ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง  
ห่อด้วยผ้าขาวบางแขวนทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ นำมาคลุกด้วยเกลบ 1% ใส่ในรังถึง

ปลายข้าว 10 กรัม

บรรจุขวด



บ่มที่อุณหภูมิห้อง

ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงการเตรียมสปอร์กล้าเชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

ที่มา : จรุง และ สรัญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลายข้าว 5 กิโลกรัม

ข้าว ล้างน้ำให้สะอาด

แช่น้ำประมาณ 1-3 ชั่วโมง

แกลบ 1%

คลุกให้ผสมกัน

นึ่งในรังถึง 40 นาที

ทิ้งให้เย็น

สปอร์กล้าเชื้อรา

คลุกให้ผสมกัน

ใส่ถาดแล้วบ่มในตู้ความชื้น 4-5 วัน

อบแห้งที่ 40-45 °C

บดละเอียด

บรรจุถุงพลาสติก

ภาพที่ 3.2 แผนภาพแสดงวิธีการผลิตสปอร์เชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

ที่มา : จรุงญ และ จรุงญ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



นี้ให้สุกใช้เวลาประมาณ 40 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงคลุกด้วยสปอร์กล้าเชื้อราที่เตรียมไว้ในสภาวะ  
 อลูมิเนียมขนาด 50×25×2.5 เซนติเมตร นำไปบ่มในตู้ความชื้น 4-5 วัน สปอร์จะเกิดเต็มผิว  
 หน้า นำไปทำให้แห้งในตู้อบ 40-45 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดบรรจุลง  
 พลาสติกปิดปากถุงให้สนิทเพื่อกันความชื้น ดังภาพที่ 3.2 ซึ่งสปอร์เชื้อราที่บดละเอียดนี้จะนำไป  
 ใช้ในการทดลองครั้งต่อ ๆ ไป

3.2.3 การเตรียมวัตถุดิบ

ใช้มันสำปะหลังที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม (มันแป้ง) ที่ซื้อจากไร่ที่วิทยาเขต  
 เกษตรบางพระ ต.บางพระ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี โดยนำมันสำปะหลังมาล้างทำความสะอาด  
 สะอาดและตัดส่วนที่ไม่ต้องการออก จากนั้นนำไปผึ่งให้สะเด็ดน้ำนำเอามาหั่นเป็นชิ้นขนาด  
 2×3×0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปนึ่งในรังถึงเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปแช่  
 สารละลายที่มีแหล่งไนโตรเจน และนำไปคลุกเชื้อทำการหมักต่อไป

3.2.4 การเตรียมสารละลาย (ดัดแปลงจาก Bautista 1988)

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

สารละลายที่เตรียมในสูตรนี้จะทำให้มันสำปะหลังมีพีเอชเริ่มต้น 3.5-4.0

3.2.5 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ (จรรยา และ จรรย์, 2529)

เตรียมกากน้ำตาลผสมน้ำในอัตราส่วน 1:7-8 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05-  
 0.1% ปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้นให้ได้พีเอช 3.5 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อหนึ่งความดันที่  
 121 องศาเซลเซียส 15 นาทีทิ้งไว้ให้เย็นเติมเชื้อยีสต์ *Candida* sp ที่อยู่ใน agar slant  
 อายุ 24 ชั่วโมง ให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศปลาตู้ 15 ชั่วโมงเติมยีสต์ขนมปัง  
 0.5% ของปริมาตรกากน้ำตาลให้อากาศต่ออีก 5-8 ชั่วโมงเลี้ยงยีสต์ไว้ 18-32 ชั่วโมง  
 ดังภาพที่ 3.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่วากรณใดๆ ทั้งสิ้น อีก

**ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร**  
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง**

กากน้ำตาล  
(1 ส่วน)

น้ำ  
(7-8 ส่วน)

คนผสมให้ละลาย

เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1%

ปรับพีเอชด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น

นึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ

เติมเชื้อยีสต์ (*Candida* sp.)

ให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศปลาทู 15 ชั่วโมง

เติมยีสต์ขนมปัง 0.5% ของปริมาตรกากน้ำตาลต่อน้ำ

ให้อากาศต่อ 5-8 ชั่วโมงแล้วเลี้ยง 18-32 ชั่วโมง

ภาพที่ 3.3 แผนภาพแสดงการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *Candida* sp. และ *Saccharomyces cerivisiae*

ที่มา : จรุง และ จริญญา (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 วิธีดำเนินการทดลอง แบ่งออกเป็น 2 ตอนคือ

#### 3.3.1 ศึกษาตัวแปรอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger และ Mucor sp.

วางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) มีขั้นตอนการทดลองดังนี้คือ

3.3.1.1 เตรียมวัตถุดิบมันสำปะหลังตามข้อ 3.2.3 แบ่งออกเป็น 3 ชุด ๆ ละ 3 กิโลกรัม

3.3.1.2 นำไปแช่ในสารละลายที่มีแหล่งไนโตรเจนอัตราส่วนยูเรียกับแอมโมเนียมซัลเฟต 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 นำไปใส่ในภาชนะอัตราส่วนละ 1 ภาชนะ

3.3.1.5 นำเข้าไปในถังหมักโดยมีสภาวะการทดลองตามข้อ 3.3.4 หมักเป็นเวลา 3 วันระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้น และวิเคราะห์โปรตีน

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

3.3.1.7 นำมันสำปะหลังหมักที่ได้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

3.3.2 ศึกษาตัวแปรอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนยูเรียและแอมโมเนียมซัลเฟต 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

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

3.3.2.4 นำไปใส่ในภาควัสดุอัตราส่วนละ 1 ถาด

3.3.2.5 นำเข้าไปในถังหมักใช้สภาวะการทดลองตามข้อ 3.3.4 หมักเป็นเวลา 3 วัน ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และวิเคราะห์โปรตีน

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

3.3.2.7 นำเอามันสำปะหลังหมักที่ได้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

3.3.2.8 ขึ้นตอนต่าง ๆ แสดงในภาพที่ 3.4

3.3.3 วิธีการตรวจสอบ

3.3.3.1 ความชื้น ตั้งรายละเอียดในภาคผนวก ก

3.3.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง ตั้งรายละเอียดในภาคผนวก ก

3.3.3.3 ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ตั้งรายละเอียดในภาคผนวก ก

3.3.4 สภาวะในการทดลอง

อุณหภูมิ 30-35 °C

ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95%

ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 3.5-4.0

ความชื้นเริ่มต้น 50-55%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเร็วลมในระบบ

1.15 ม./วินาที

ความหนาของชั้นมันสำปะหลัง

1-1  $\frac{1}{2}$  นิ้ว

วัตถุดิบมันสำปะหลัง

ล้างและหั่นเป็นชิ้น

นิ่ง 10 นาที

แบ่งเป็น 6 ชุด

แอสสารละลายอัตราส่วน

Urea และ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

0:0

0:2

2:0

1:1

1:2

2:1

คลอกสปอร์เชื้อราอัตราส่วน

A.niger ผสม Mucor sp.

2:1

ใส่ถาดที่เปื้อนตะแกรงอลูมิเนียม

หมัก 3 วัน

เก็บตัวอย่างวิเคราะห์หา

1) ความชื้น

2) ความเป็นกรด-ด่าง

3) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด

เติมยีสต์

หมัก 2 วัน

อบ 80 °ซ 20-24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ภาพที่ 3.4 แผนภาพแสดงการหมักมันสำปะหลังเพื่อศึกษาแหล่งไนโตรเจน  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 อัตราส่วนของเชื้อราที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังเมื่อสิ้นสุดการหมัก

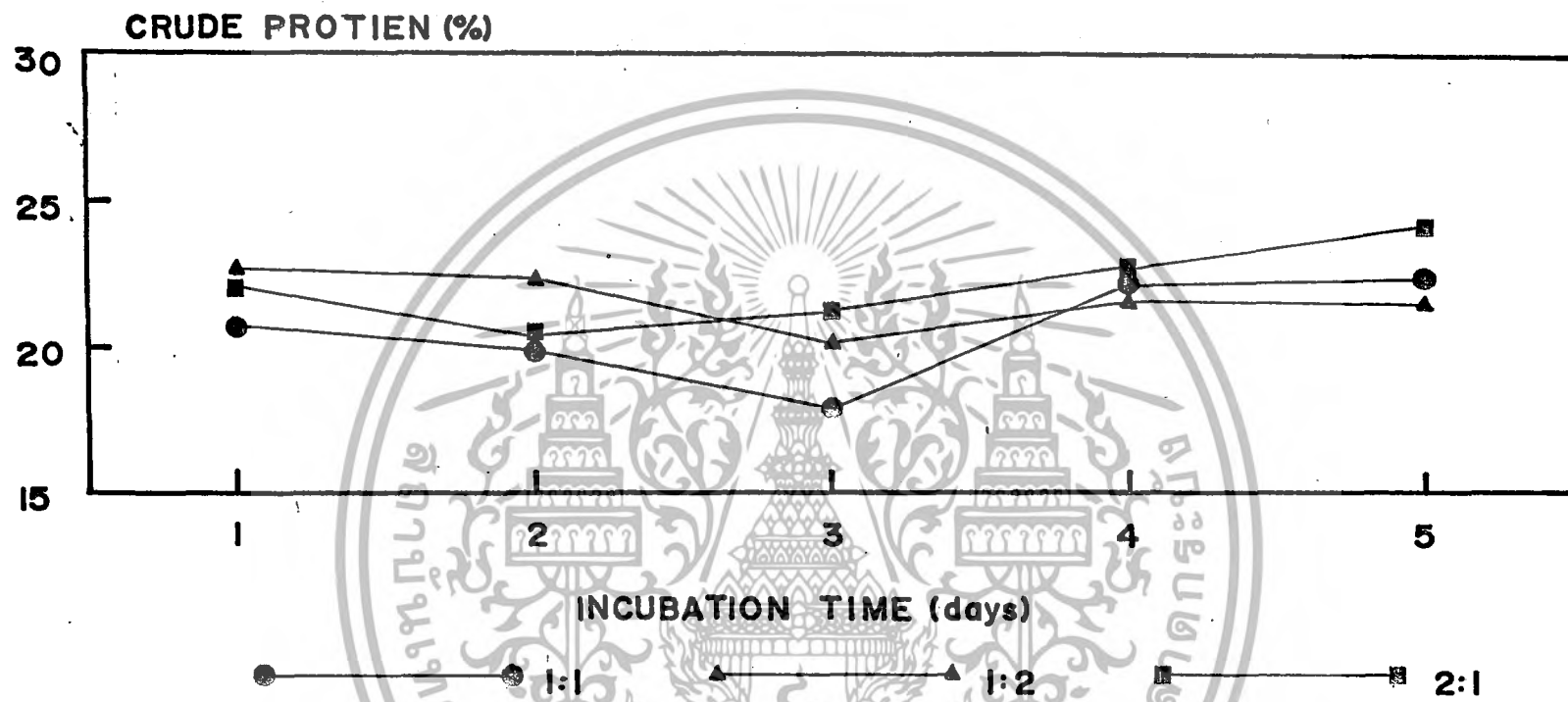
ค่าปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองในอัตราส่วนของเชื้อราที่ต่าง ๆ กัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าอัตราส่วนของเชื้อรา A.niger ผสม Mucor sp. ทั้ง 3 อัตราส่วนไม่มีผลทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และเมื่อนำเอาข้อมูลไปเขียนกราฟจะเห็นได้ว่าอัตราส่วนของเชื้อราทั้ง 3 อัตราส่วน คือ 1:1 1:2 และ 2:1 ไม่แสดงความแตกต่างในปริมาณโปรตีนที่ได้มากนัก แต่อัตราส่วนของเชื้อราที่ให้ปริมาณโปรตีนที่ได้มากที่สุด แต่อัตราส่วนของเชื้อราที่ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดหลังสิ้นสุดการหมักคือ อัตราส่วน 2:1 โดยมีปริมาณโปรตีนที่ได้คือ 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

ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยในการหมักที่อัตราส่วนเชื้อราต่างกัน

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติปริมาณโปรตีนเฉลี่ยหลังสิ้นสุดการหมักที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน

SOV	DF	SS	MS	F-VALUE
treatment	2	5.573	2.79	0.38 <sup>NS</sup>
error	3	22.095	7.37	
total	5	27.688		

NS ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

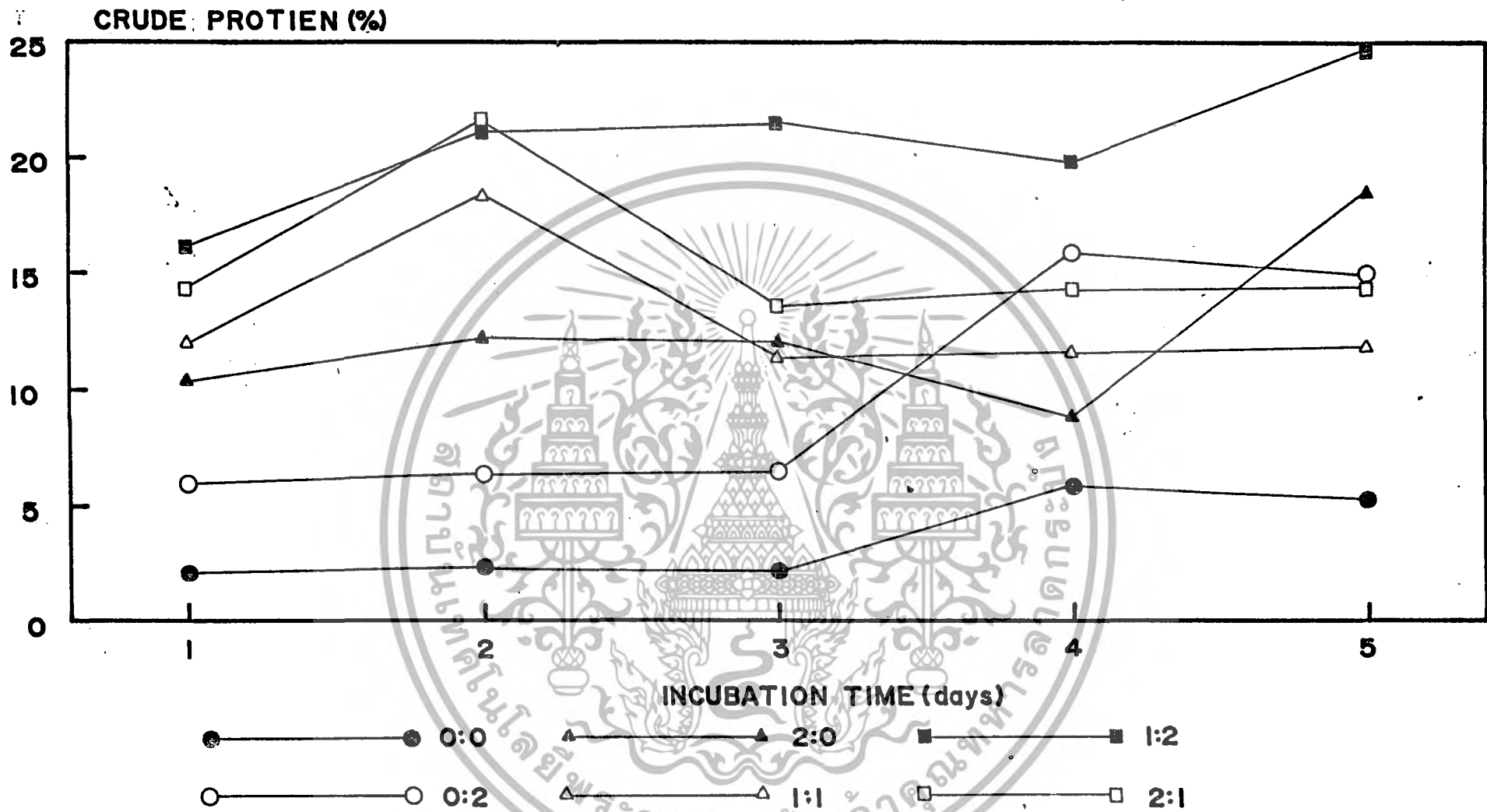
4.2 อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังเมื่อสิ้นสุดการหมัก

ค่าปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.3 และเมื่อนำเอาข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟจะเห็นได้ชัดเจนว่า อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ  $(NH_4)_2SO_4$  ที่ให้ปริมาณโปรตีนที่สูงสุดหลังสิ้นสุดการหมัก (วันที่ 5) คืออัตราส่วน 1:2 ดังแสดงในภาพที่ 4.2

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



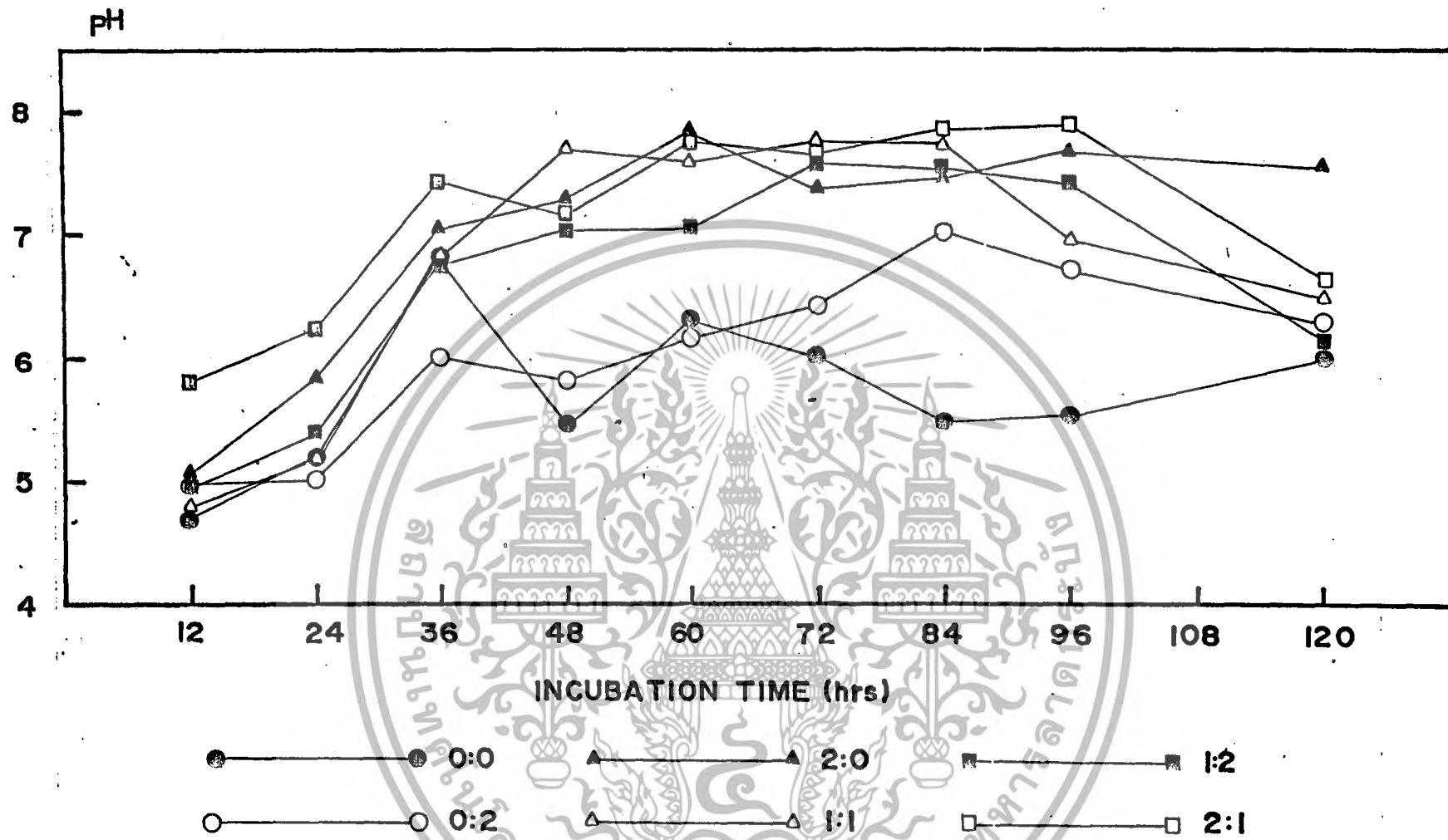
ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณโปรตีนในการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

#### 4.3 อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชในการหมักมันสำปะหลัง

ค่าของการเปลี่ยนแปลงพีเอชที่ได้จากการทดลองที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟจะเห็นได้ชัดเจนว่าอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ที่ทำให้การเปลี่ยนแปลงของพีเอชค่อยข้างคงที่ได้แก่ อัตราส่วน 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 ดังแสดงในภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

อัตราส่วนของ แหล่งไนโตรเจน	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (PH)									
	ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)									
Urea กับ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	12	24	36	48	60	72	84	96	108	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



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงพีเอช ในการหมักที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาตัวแปร 2 ชนิด คือ อัตราส่วนของเชื้อรา A.niger กับ Mucor sp. ซึ่งมีผลกับปริมาณโปรตีนที่ได้หลังจากสิ้นสุดการหมัก และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea และ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ซึ่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระบบการหมักและปริมาณโปรตีนที่ได้หลังจากสิ้นสุดการหมัก

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 ประกอบกับเชื้อราชนิดนี้ยังเจริญได้ในทุกส่วนของชั้นมันสำปะหลังทำให้มีการสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับแป้งมีมากขึ้น การใช้ประโยชน์จากแป้งในมันสำปะหลังจึงอยู่ในอัตราสูง (Charan et al.1980) ส่วนเชื้อรา Mucor sp. นั้นถึงแม้จะมีการสร้างเอนไซม์ amylase ออกมาย่อยแป้งเช่นกัน แต่มีการใช้ประโยชน์และเจริญได้ดีไม่เท่ากับเชื้อรา A.niger แต่เชื้อรา Mucor sp. นี้มีคุณสมบัติที่สามารถสร้างกลิ่นที่ดีกับมันสำปะหลังหมักเท่านั้น (Brook et al. 1969) และ การใช้ประโยชน์จากแป้งที่มีอยู่ในมันสำปะหลังเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์หรือเส้นใยซึ่งส่งผลถึงการเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยที่อัตราส่วนของเชื้อรา 2:1 จะให้ปริมาณโปรตีน 23.47%

สำหรับตัวแปรที่ 2 คือ อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea และ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  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 ที่มีผลกับการควบคุมพีเอชที่เหมาะสมและ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

ในอัตราส่วนนั้นก็เป็นตัวอย่งที่ให้ inorganic nitrogen สำหรับการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลัง (Raimbait et al. 1977) นอกจากนี้จะเห็นได้ ชัดเจนว่าถ้าไม่มีการใช้แหล่งไนโตรเจนเลยคือในอัตราส่วน 0:0 ปริมาณโปรตีนที่ได้จะมี ระดับต่ำที่สุด เพราะไม่มีแหล่งไนโตรเจนที่จะใช้สังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ จากการ ทดลองใช้อัตราส่วนของ Urea ในปริมาณที่สูงสุดขึ้นคืออัตราส่วน 2:0 และ 2:1 พบว่าไม่ ให้โปรตีนในระดับสูงที่สุดหลังจากสิ้นสุดการหมัก เพราะว่าการใช้ Urea ในปริมาณมากเกินไป จะทำให้มีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนทางชีววิทยา (Moorer-Lendecher 1972) และถ้ามีการใช้ Urea เพียงอย่างเดียวพบว่ามีโปรตีนในระดับต่ำ และถ้าเปรียบเทียบกับ การใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  เพียงอย่างเดียวพบว่าการใช้ Urea เพียงอย่างเดียวสามารถให้ ปริมาณโปรตีนที่สูงกว่าการใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  เพียงอย่างเดียว เพราะ Urea สามารถทำ หน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนและรักษาสภาพพีเอชในระหว่างการหมักได้ด้วย ในขณะที่  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตรเจนได้เพียงอย่างเดียว

และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของระบบ คือ อัตราส่วน 2:0 1:1 1:2 และ 2:1 ซึ่งจะพบว่าเป็นอัตราส่วนที่มี Urea เป็นองค์ประ ประกอบในปริมาณที่มากน้อยแตกต่างกัน เพราะว่า Urea มีคุณสมบัติที่เป็น high buffering capacity จึงทำให้การเปลี่ยนแปลงของพีเอชค่อนข้างน้อย (Bautista 1988) และจากผลการทดลองยังพบว่าถ้าไม่มีการใช้ Urea ในอัตราส่วนเลยคือ อัตราส่วน 0:0 และ 0:2 พบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชค่อนข้างมาก และความสัมพันธ์ของอัตรา ส่วนของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนและการเปลี่ยนแปลงพีเอช จากการ ทดลองพบว่า อัตราส่วนของไนโตรเจน 1:2 มีผลให้เกิดความสัมพันธ์ของการเพิ่มปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงพีเอช เพราะว่า Urea ในอัตราส่วนเป็นตัวควบคุมพีเอชและเป็นแหล่ง ไนโตรเจนสำรองในกรณีที่มีการใช้  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  เพื่อการสังเคราะห์โปรตีนของจุลินทรีย์ไป เป็น mycelial protein ซึ่งทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นสูงสุด (Bautista 1988) จาก การทดลองได้ปริมาณโปรตีน 24.87%

และการเพิ่มขึ้นของพีเอชในช่วงแรก ๆ ของการหมักนั้นพบว่าเป็นผลจากการใช้ ammonium ion โดยเชื้อจุลินทรีย์แล้วปล่อย cation ลงใน medium ทำให้พีเอชเพิ่มขึ้น และก่อนสิ้นสุดการหมักจะมีการลดลงของพีเอชเนื่องด้วยเกิดการสะสมของ organic และ carbonic acid ใน medium โดยการย่อยสลายน้ำตาลเป็น คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 6

### สรุปและข้อเสนอแนะ

- 1) อัตราส่วนของเชื้อราและอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนเป็นตัวแปรที่มีผลต่อคุณสมบัติทั่วไปของมันสำปะหลังหมัก
- 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 มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนที่ได้และพีเอชของระบบที่หมัก
- 4) สภาวะที่เหมาะสมในการหมักมันสำปะหลังคือ ใช้อัตราส่วนของเชื้อรา A.niger ผสม Mucor sp. 2:1 และอัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน Urea กับ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1:2
- 5) ปริมาณโปรตีนที่ได้ที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจน 1:2 คือ 24.87%

### ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรมีการนำเอาวัตถุดิบอื่น เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์
- 2) ควรมีการนำไปทดลองเลี้ยงสัตว์เพื่อหาผลของโปรตีนจากเชื้อจุลินทรีย์และการสร้างสารพิษที่อาจขึ้นได้
- 3) ควรมีการทำความสะอาดอุปกรณ์ในการหมักเมื่อเสร็จการทดลองทุกครั้งเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

### เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2526. เอกสารวิชาการเล่มที่ 7 มันสำปะหลัง. สหการการพิมพ์.  
กรุงเทพมหานคร. 164 น.
- จรัญ จันทลักขณา. 2523. สถิติ วิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. สำนักพิมพ์ไทย  
วัฒนาพานิช. กรุงเทพมหานคร. 468 น.
- จรรยา คำนวนตา และจรัญ เจตนะจิตร. 2529. สัมมนาการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง  
โดยการหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์. สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
- ธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2524. อัลฟลาทอกซิน. ภาควิชา  
สรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพมหานคร. 159 น.
- ประวิทย์ เพิ่มสินทวี. 2519. สัมมนาการใช้สัตว์เพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง. ภาควิชา  
วิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร
- พิชัย สราญรมณ์. 2528. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับมันสำปะหลังสำหรับการศึกษาระดับปริญญา.  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 417 น.
- รุ่งโรจน์ มธูพร. 2523. การเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยการหมัก. วิทยาศาสตร์  
การอาหาร 12(1) : -22
- วิษุพร ว่องสุวรรณเลิศ. 2523. จุลินทรีย์โปรตีนจากมันสำปะหลังโดย  
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- รวราวดี ครุสง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.  
สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร. 209 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Banwart, G.T. 1979. Basic Food Microbiology. The AVI Publishing Inc.
- Bactista, M.B. 1988. Protein Environment of Cassava by Solid substrate Fermentation. The Degree of Master of Science Thesis. AIT Bangkok, Thailand.
- 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, 0. 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 flavus 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 Reclamation of Solid Wastes. Roskle Press. Emmaus, Pennysyvania
- Hayashida, S. and P.Q. Hor. 1981. Raw Starch Digestive Glucomylose 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, Mouisture and Codeing Time on Susceptibility of Corn or Sorghum Grain Starh to Enzymatic Attack. Dairy Science. 53 : 336-341
- Looder, J. 1974. The Yeast, a Taxonomy Study. North Holland Publishing Co., Amsterdam, p. 1385

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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. Agric. 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
- Onwveme, I.C. 1978. The Tropical Tuber Crops. John Wistey and 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 Fermentation. Proc Giam V. Marseille, France.
- Senez, J.C. 1980. Solid State Fermentaion of Starchy Substrate Bioconversion of Organic Residues for Rural Communities. The United States University.
- Silman, R.U. 1980. Enzyme Formation During Solid Substrate Fermentation 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
- Synder, E.E. 1970. Microbial Source of Protein. Adv. Food. Res. 18 : 85-140
- Treerelyan, 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. Nicrobial Amylese. Adv. in Appl Microbial. 7 : 273-304.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### วิธีการตรวจสอบและวิเคราะห์

#### ก.1 ความชื้น (Moisture content)

อุปกรณ์ - ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

- aluminium can

- เดซิเคเตอร์ (dessicator)

วิธีการ - ชั่งตัวอย่างประมาณ 3-5 กรัม (ซึ่งละเอียด) ใส่ใน aluminium can ซึ่งอบแห้งและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่แล้วคำนวณหาความชื้นของตัวอย่างจากสมการ

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

#### ก.2 ความเป็นกรด-ด่าง (PH )

อุปกรณ์ - เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (PH - meter)

- บีกเกอร์

- แท่งแก้ว

วิธีการ - ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมใส่ในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่น 10 มล. บดตัวอย่างให้ละเอียดในน้ำกลั่น ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีนำไปวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัด (PH - meter)

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

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

- สารเคมี - กรดซัลฟูริกเข้มข้น  
- คะตะลิสต์ผสม (mixed catalyst)  
ผสม 7 ส่วนของคอปเปอร์ซัลเฟต ( $\text{CuSO}_4$ ) และ 100 ส่วนของ  
โพตัสเซียมซัลเฟต ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ )  
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 45%  
- สารละลายกรดบอริก 4%  
- สารละลายมาตรฐาน 0.1 กรดซัลฟูริก  
- อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator.)  
ผสม 100 มล. 0.1% methyl red และ 200 มล. 0.2%  
bromocresol green ในสารละลาย 95%

- วิธีการ - ชั่งตัวอย่าง 1-2 กรัม (ซึ่งละเอียด) ห่อด้วยกระดาษกรองที่  
ปราศจาก  $\text{N}_2$  ใส่ลงใน digestion flask เติมกะตะลิสต์ผสม  
ประมาณ 10 กรัมและเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มล.  
- นำไปย่อยในชุดย่อยโปรตีนที่เปิดเครื่องดูดควันไว้เรียบร้อยแล้ว โดย  
ใช้ความร้อนต่ำในช่วงแรก (เบอร์ 4) แล้วค่อย ๆ เพิ่มความร้อน  
เป็น (เบอร์ ๖-8) หลังจากที่ย่อยไปได้แล้วประมาณ 30-45 นาที  
จนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใสแล้วย่อยต่อไปอีกประมาณ 1 ชั่วโมง  
ปิดเตาย่อยทิ้งไว้ให้เย็นและหมดควัน

- ปิเปตกรดบอริก 4% 50 มล. ใส่ลงในขนาด 250 มล. หยดอินดิเคเตอร์ผสม 3-4 หยดจะได้สารละลายสีชมพูนำไปวางไว้ใต้เครื่องกลั่นเอาปลายหลอดน้ำก๊าซจุ่มให้อยู่ในสารละลาย
- นำหลอด digestion flask ที่เย็นและหมดควันแล้วต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นกดปุ่มเพื่อปรับหรือเติมน้ำกลั่น 100 มล. และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 45. 100 มล. กลสวิตช์เริ่มการกลั่น
- การกลั่นจะกลั่นเป็นเวลา 3 นาทีสารละลายกรดบอริกจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวใส ยกออกแล้วใช้น้ำกลั่นล้างที่หลอดน้ำก๊าซเล็กน้อย
- นำสารละลายกรดบอริกที่ได้มาไตเตรทกับกรดซัลฟูริก 0.1 อ่านปริมาตร ( $V_1$ ) จะให้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน
- ทำ Blank โดยทำเช่นเดิมแต่ไม่มีการใส่ตัวอย่าง ไตเตรทอ่านปริมาตรเป็น ( $V_2$ )

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

- ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก =  $N$

- น้ำหนักตัวอย่าง (ละเอียด) =  $W_s$

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


หมายเหตุ  $V_2$  ปกติจะน้อยมากจึงไม่นิยมนำมาคิดแต่จะใช้ค่าเป็นศูนย์ (0)

ภาคผนวก ข

การคำนวณปริมาณน้ำที่ต้องเติมเพื่อปรับความชื้นปลายข้าว

ตัวอย่าง ปลายข้าว 1๓ กรัม ความชื้น 12% ต้องการปรับให้มีความชื้น 30% จะต้อง  
เติมน้ำปริมาตรเท่าใด

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



แทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักก่อนปรับความชื้น} &= 10 \text{ กรัม} \\ \% \text{ น้ำหนักแห้งก่อนปรับความชื้น} &= 88 \text{ กรัม} \\ \% \text{ น้ำหนักแห้งหลังปรับความชื้น} &= 70 \text{ กรัม} \\ \text{น้ำหนักรวมหลังปรับความชื้น} &= \frac{10(88)}{70} \\ &= 12.57 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณน้ำที่ต้องเติม} &= \text{น้ำหนักรวมหลังปรับความชื้น} - \text{น้ำหนักก่อนปรับความชื้น} \\ &= 12.57 - 10 \\ &= 2.57 \text{ กรัม} \\ &= 2.57 \text{ มล.} \end{aligned}$$

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

สัญลักษณ์ที่ใช้ในการคำนวณและตาราง ANOVA มีดังนี้คือ

C.T. = correction term

SOV = source of variation

df = degree of freedom

SS = sum of square

MS = mean square

ก.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนของเชื้อราต่อปริมาณโปรตีน หลังจากหมักด้วยเชื้อรา 3 วัน (แผนการทดลองแบบ Completely Random Desing)

ครั้งที่หมัก	ปริมาณโปรตีน (%)			รวม
	อัตราส่วนของเชื้อรา			
	1:1	1:2	2:1	
1	17.010	20.069	24.750	
2	18.956	20.141	19.631	
$\Sigma x$	35.966	40.210	44.381	120.557
$\Sigma(x)^2$	648.670	808.425	997.937	2455.034
$\bar{x}$	17.983	20.105	22.191	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณ

$$C.T. = \frac{(120.557)^2}{6} = 2422.332$$

$$SS_{total} = \sum(x)^2 - C.T. = 32.702$$

$$SS_{treatment} = \frac{(35.966^2 + 40.210^2 + 44.381^2)}{2} - C.T. = 17.703$$

$$Error = SS_{total} - SS_{treatment} = 35.702 - 17.203 = 14.999$$

ตาราง ค.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วน เชื้อราต่างกันหลังจากหมักเชื้อรา 3 วัน

SOV	df	SS	MS	F.value	F.table
treatment	2	17.703	8.85	1.78	9.55
error	3	14.999	4.99		
total	5	32.702			

จากตาราง ค.1 สรุปได้ว่ามันสำปะหลังหมักที่อัตราส่วนของเชื้อรา 1:1 1:2 และ 2:1 หลังจากหมักเชื้อรา 3 วัน ไม่มีความแตกต่างกันในปริมาณโปรตีนเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อศึกษาผลของอัตราส่วน เชื้อราต่อปริมาณโปรตีนหลังสิ้นสุดการหมัก (แผนการทดลองแบบ Completely Random Design)

ครั้งที่หมัก	ปริมาณโปรตีน (%)			รวม
	อัตราส่วนของเชื้อรา			
	1:1	1:2	2:1	
1	19.589	19.937	24.300	
2	25.257	23.345	23.630	
$\Sigma x$	44.846	43.282	47.930	136.058
$\Sigma(x)^2$	1021.645	942.473	1148.867	3112.985
$\bar{x}$	22.423	21.641	23.965	
C.T.	= 3085.297			
SS <sub>total</sub>	= 27.688			
SS <sub>treatment</sub>	= 5.593			
Error	= 22.095			

ตาราง ค.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วนของเชื้อราต่างกัน เมื่อสิ้นสุดการหมัก

SOV	df	SS	MS	F.value	F-table
treatment	2	5.593	2.79	0.38	9.55
error	3	22.095	7.37		
total	5	27.688			

จากตาราง ค.2 สรุปได้ว่ามันสำปะหลังหมักที่อัตราส่วนของเชื้อรา 1:1 1:2 และ 2:1 หลังสิ้นสุดการหมัก ไม่มีความแตกต่างกันในปริมาณโปรตีนเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตาราง ง.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของแหล่ง ไนโตรเจน	ปริมาณความชื้น (%)				
	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
Urea กับ $(NH_4)_2SO_4$	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

ตาราง ง.2 การเปลี่ยนแปลงพีเอชที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของ แหล่งไนโตรเจน	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (PH)									
	ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)									
Urea กับ $(NH_4)_2SO_4$	24	36	48	60	72	84	96	108	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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ง.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่อัตราส่วนของแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของแหล่ง ไนโตรเจน	ปริมาณโปรตีน (%)				
	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)				
Urea กับ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	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

ตาราง ง.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นเฉลี่ยที่อัตราส่วนของเชื้อราต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของเชื้อรา <i>A.niger</i> ผสม <i>Mucor</i> sp.	ปริมาณความชื้นเฉลี่ย (%)				
	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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ง.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนเฉลี่ยที่อัตราส่วนของเชื้อราต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของเชื้อรา <i>A.niger</i> ผสม <i>Mucor</i> Sp.	ปริมาณโปรตีนเฉลี่ย (%)				
	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  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้