สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาการผลิต Symba Yeast เบื้องต้นจากแป้งมันสำปะหลัง

นางสาวจารุวรรณ เสริมสัย
นายไพรัชต์ สิทธิรัตนยืนยง
นางสาวสุวรรณี บุญถึง

ปพ.
จ337ก
2536

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน.เดือน.ปี.....

3 1953809 7

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2536

The Preliminary Study of Symba Yeast Production from Cassava Starch

Miss Jaruwan Sermsai

Mr. Phairat Sittirattanayeunyong

Miss Suwannee Boonthong

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1998

โครงงานพิเศษ การศึกษาการผลิต Symba yeast เบื้องต้นจากแป้งมันสำปะหลัง

โดย นางสาวจารุวรรณ เสริมสัย

นายไพรัชต์ สิทธิรัตนขืนยง

นางสาวสุวรรณี บุญถึง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

_____ หัวหน้าภาควิชา

(อาจารย์ อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ

_____ ประธานกรรมการ

(ผศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต)

_____ กรรมการ

(ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี)

_____ กรรมการ

(ผศ.มาลินี ต้นติยาภรณ์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาการผลิต Symba Yeast เบื้องต้นจากแป้งมันสำปะหลัง

นักศึกษา 1. นางสาวจารุวรรณ เสริมสัย
2. นายไพรัชต์ สิทธิรัตนยืนยง
3. นางสาวสุวรรณี บุญถึง

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา 2536

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงปัจจัยพื้นฐานที่จำเป็นในการผลิต Symba yeast จากแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งได้แก่ ความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลัง ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ รวมถึงเวลาที่ใช้ในการเลี้ยง *Endomycopsis fibuligera* ก่อนการถ่ายเชื้อ *Candida utilis* เพื่อให้ได้ปริมาณ Symba yeast สูงสุด

ผลการศึกษาพบว่าอาหารที่เหมาะสมในการผลิต Symba yeast จากแป้งมันสำปะหลังคือ อาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำหลัง 2 เปอร์เซนต์ และ $NH_4H_2PO_4$ 0.2 เปอร์เซนต์ โดยพบว่า ปริมาณน้ำตาลจะสูงขึ้นหลังจากเลี้ยง *E. fibuligera* เป็นเวลา 14 ถึง 40 ชั่วโมง และคาดว่าจะเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายเชื้อ *C.utilis* ซึ่งจากการศึกษาต่อมาพบว่าเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายเชื้อ *C.utilis* คือช่วงเวลาหลังจากการเลี้ยง *E. fibuligera* เป็นเวลา 12 ถึง 18 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่ให้ปริมาณ Symba yeast มากที่สุด

Special Project Title	The Preliminary Study of Symba yeast Production from cassava
Name	Miss Jaruwan Sermsai
	Mr. Phairat Sittirattanayeunyong
	Miss Suwannee Boonthong
Special Project Adviser	Assistant Prof. Dr. Ream Techasophonmani
Department	Applied Biology
Academic Year	1993

Abstract

This is the preliminary study of Symba yeast production from cassava starch such as optimal starch concentration , the appropiate kind and concentration for *Endomycopsis fibuligera* growth. The suitable time for *E.fibuligera* cultivation before *C.utilis* inoculation was also studied in this investigation in order to reach the maximum yield of Symba yeast.

From the studies ,it were found that the suitable media for *E.fibuligera* is that which contain 2 % of cassava starch and 0.2 % $NH_4H_2PO_4$. The sugar concentration increase after *E.fibuligera* was cultivated in that medium for 14 to 40 hours and this time was expected to be the suitable time for *C.utilis* inoculation . The latter study show that the suitable time for *C.utilis* inoculation is the time after *E.fibuligera* was cultivated for 12 to 18 hours because it yields the maximum yield.

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. เรียม เตชะโสภณมณี ผู้ซึ่งได้กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน ตลอดจน ให้คำแนะนำ กำลังใจ จนทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณ ผศ.มาลินี ต้นติยาภรณ์ และผศ.พรรณี ฐิตาภิชิต ที่ได้กรุณาตรวจทานและแก้ไขต้นฉบับของโครงงานพิเศษ ให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณ ผศ.เนาวรัตน์ ปานแย้ม รวมทั้งผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่กรุณาอนุมัติและให้ความสะดวก รวดเร็ว ในการขอใช้สถานที่ (ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์) นอกเวลาราชการ ซึ่งมีความสำคัญต่อโครงงานพิเศษนี้เป็นอันมาก และขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคน รวมทั้งผู้ใกล้ชิด ที่ได้สละทั้งแรงกายและใจ อันทำให้โครงงานพิเศษนี้บรรลุเป้าหมายเป็นอย่างดี

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญตาราง		ง
สารบัญรูป		จ
บทที่ 1	บทนำ	1
	สมมติฐาน	3
	วัตถุประสงค์	3
	ขอบเขตของงานวิจัย	4
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2	ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง	5
	มันสำปะหลัง	5
	ความสำคัญ	6
	ดินฟ้าอากาศที่เหมาะสม	6
	ชนิดและพันธุ์ของมันสำปะหลัง	9
	การปลูกมันสำปะหลัง	10
	การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง	13
	อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง	15
	การแปรรูปหัวมันสำปะหลังสดเป็นผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	18
	แป้งมันสำปะหลัง	19
	การใช้ประโยชน์มันสำปะหลังในระดับอุตสาหกรรม	20
	การผลิตแป้งมันสำปะหลังของไทย	20

		หน้า
	การตลาดและต้นทุนการผลิต	21
	Symba Process	22
	การนำ Symba yeast ไปใช้ประโยชน์	29
	เอนไซม์อะไมเลส	32
	จุลินทรีย์ที่ใช้ใน Symba Process	33
	ปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์	40
บทที่ 3	การดำเนินการทดลอง	43
	อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	43
	วิธีการทดลอง	44
บทที่ 4	ผลการทดลอง	47
	ผลการทดลองที่ 1	47
	ผลการทดลองที่ 2	49
	ผลการทดลองที่ 3	50
	ผลการทดลองที่ 4	51
	ผลการทดลองที่ 5	53
บทที่ 5	สรุปและวิจารณ์	56
ภาคผนวก ก		58
ภาคผนวก ข		61
ภาคผนวก ค		62
ภาคผนวก ง		65
เอกสารอ้างอิง		70

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	การใช้ประโยชน์มันสำปะหลังในระดับอุตสาหกรรมของประเทศไทยและต่างประเทศ	2
ตารางที่ 2	Symba Process	23
ตารางที่ 3	ส่วนประกอบของเชื้อผสมที่ใช้ใน Symba Process	24
ตารางที่ 4	อุตสาหกรรมที่ให้กากและของเสียที่สามารถเข้าสู่ Symba Process ได้	25
ตารางที่ 5	ส่วนประกอบของ Symba Process ที่ได้จากการใช้กากของเสียของ Swedish Sugar Company แห่งประเทศสวีเดน	28
ตารางที่ 6	ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดใน Symba yeast ที่ได้จากการใช้กากของเสียของ Swedish Sugar Company แห่งประเทศสวีเดน	29
ตารางที่ 7	การทดสอบการนำ Symba yeast มาเลี้ยงสัตว์	30
ตารางที่ 8	การทดลองใช้ Symba yeast แทนนมในลูกวัว	31
ตารางที่ 9	ความสามารถในการหมักของ *E.fibuligera* ในสับสเตรทต่าง ๆ	38
ตารางที่ 10	ความสามารถในการย่อยและการดูดซึมสารประเภทคาร์บอนของ *E.fibuligera*	39
ตารางที่ 11	จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ	47
ตารางที่ 12	จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งที่มีแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ	49
ตารางที่ 13	จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งที่มี $NH_4H_2PO_4$ ความเข้มข้นต่าง ๆ	50

ตารางที่ 14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลเมื่อเลี้ยง *E.fibuligera* ใน อาหารแป้งที่มี $NH_4H_2PO_4$ 0.2 % 51

ตารางที่ 15 ปริมาณ Symba yeast เมื่อถ่ายเชื้อ *C.utilis* หลังจากเลี้ยง *E.fibuligera* ที่เวลาต่าง ๆ 53

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	การแปรรูปหัวมันสำปะหลังสดเป็นผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	18
รูปที่ 2	ขั้นตอนการผลิต Symba yeast	27
รูปที่ 3	การเกิดแอสโคสปอร์ของ *E.fibuligera*	35
รูปที่ 4	วงจรชีวิตของ *E.fibuligera*	36
รูปที่ 5	*E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในน้ำกลั่นหลังจาก 3 สัปดาห์	38
รูปที่ 6	จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ	48
รูปที่ 7	จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งที่มีแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ	49
รูปที่ 8	จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งที่มี $NH_4H_2PO_4$ ความเข้มข้นต่าง ๆ	50
รูปที่ 9	การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลเมื่อเลี้ยง *E.fibuligera* ในอาหารแป้งที่มี $NH_4H_2PO_4$ 0.2 %	52
รูปที่ 10	ปริมาณ Symba yeast เมื่อถ่ายเชื้อ *C.utilis* หลังจากเลี้ยง *E.fibuligera* ที่เวลาต่าง ๆ	54
รูปที่ 11	รูปเปรียบเทียบลักษณะของ *C.utilis* และ *E.fibuligera*	55
รูปที่ 12	ลักษณะโคโลนีของ *C.utilis* และ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงร่วมกันในอาหาร YM agar 1 = โคโนีของ *E.fibuligera* , 2 = โคโลนีของ *C.utilis*	55

บทที่ 1
บทนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สามารถปลูกได้ง่าย โตเร็ว และไม่ต้องการน้ำมาก จึงทำให้ผลผลิตต่อปีสูง นอกจากจะใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารของมนุษย์อาหารสัตว์แล้วมันสำปะหลังยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 แต่เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกง่ายและให้ผลผลิตสูง เกษตรกรจึงนิยมปลูกกัน ทำให้มันสำปะหลังมีราคาถูก บางปีมันสำปะหลังล้นตลาด ทำให้เกษตรกรต้องประสบปัญหาการขาดทุนและได้รับความเดือดร้อน และถึงแม้จะมีการนำมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์มากมายดังกล่าวแล้วก็ตาม แต่ก็ยังมีมันสำปะหลังเหลืออยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของมันสำปะหลังส่วนที่เกินความต้องการ จึงมีการศึกษาหาวิธีที่จะใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังนี้ให้มากขึ้น ซึ่งการผลิต Symba yeast จากมันสำปะหลังก็เป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจ

ในต่างประเทศได้มีการผลิต Symba yeast จากมันฝรั่งเป็นการค้าแล้ว และนอกจากนี้ยังนำการผลิต Symba yeast ซึ่งเรียกว่า Symba process ไปใช้ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมมันฝรั่ง ซึ่งพบว่าได้ผลดีและยังมี Symba yeast เป็นผลพลอยได้

สำหรับประเทศไทย มีแนวโน้มที่เป็นไปได้ในการนำมันสำปะหลังมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต Symba yeast ได้เช่นเดียวกับมันฝรั่ง แต่การนำเทคโนโลยีการผลิต Symba yeast จากต่างประเทศมาใช้ในบ้านเรา ทำได้ไม่ง่ายนัก เนื่องมาจากปัจจัยบางอย่างที่เหมาะสมในการผลิต Symba yeast จากมันฝรั่ง อาจไม่เหมาะสมกับการผลิตโดยใช้มันสำปะหลัง ประกอบกับได้มีการจดลิขสิทธิ์เทคโนโลยีนี้และมีการเปิดเผยเพียงหลักการบางอย่าง เราจึงจำเป็นต้องสร้างเทคโนโลยีขึ้นเองโดยอาศัยหลักการนั้น ๆ

จากปัญหาและเหตุผลดังกล่าวข้างต้น โครงงานพิเศษเรื่อง " การศึกษาการผลิต

Symba yeast เบื้องต้นจากมันสำปะหลัง " จึงเกิดขึ้นเพื่อเป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงปัจจัยพื้นฐานที่จำเป็นในการผลิต Symba yeast จากแป้งมันสำปะหลัง เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นในการสร้างเทคโนโลยีนี้

Symba yeast ที่ผลิตได้สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำหรับมนุษย์และสัตว์ หรือสามารถนำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าและราคาสูงเช่น ยีสต์สกัด วิตามินบี นิวคลีโอไทด์ เป็นต้น โดยเฉพาะนิวคลีโอไทด์บางตัวเช่น 5'IMP และ GMP ซึ่งเป็นสารเพิ่มรสชาติในอาหาร (flavour enhancer) ในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งในปัจจุบันมีการนำเข้าจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก นอกจากนั้นยังสามารถนำ Symba yeast ที่ได้ไปเป็นส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซอสปรุงรสได้

ตารางที่ 1 การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังในอุตสาหกรรมในประเทศและต่างประเทศ

รูปแบบของการนำไปใช้	ปฏิกิริยาที่ใช้	ผลิตภัณฑ์	ประโยชน์
สับสเตรท	ปฏิกิริยาของอะไมเลสและไอโซเมอเรส	High Fructose Syrup	-ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
วัตถุดิบ	ไฮโดรไลซิส	Modified starch	-เป็น binder ในการผลิตยาเม็ด -เป็นmulsifierใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำพวกซอสพริก
สับสเตรท	การหมัก	กรดอะมิโน	-กรดกลูตามิกใช้ทำผงชูรสและใช้ในทางการแพทย์ -กรดอะมิโนอื่น ๆ ใช้ในทางการแพทย์

รูปแบบของการนำไปใช้	ปฏิกิริยาที่ใช้	ผลิตภัณฑ์	ประโยชน์
สับสเตรท	การหมัก	ยาปฏิชีวนะ เช่น kanamycin	-ใช้ในทางการแพทย์ เป็นยารักษาโรค
สับสเตรท	การหมัก	แอลกอฮอล์	-เป็นเชื้อเพลิงและใช้ในทางการแพทย์

ซึ่งนอกจากการนำไปใช้ดังกล่าวแล้วยังใช้เป็นสารที่ให้ความคงตัวหรืออยู่ตัวในอุตสาหกรรมทอผ้า ด้วยเช่นกัน

สมมุติฐาน

1. การเจริญเติบโตของ *Endomycopsis fibuligera* โดยใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนตามวิธีของ Symba Process นั้น ต้องการความเข้มข้นของแป้งที่เหมาะสม ชนิดและปริมาณ ของสารอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมด้วยจึงจะทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น

2. การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลของ *E.fibuligera* จะต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยในการเจริญเติบโตของเชื้อ

3. ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยง *E.fibuligera* ก่อนการถ่ายเชื้อ *Candida utilis* มีผลต่อปริมาณ Symba yeast ที่ผลิตได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสม สำหรับการเจริญของเชื้อ

E.fibuligera

2.เพื่อหาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E.fibuligera*

3. เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยง *E.fibuligera* ก่อนการถ่ายเชื้อ *C.utilis*

ขอบเขตของงานวิจัย

1.หาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E.fibuligera*

2.ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาล หลังจากเลี้ยง *E.fibuligera* ในอาหารที่เหมาะสม

3.หาเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยง *E.fibuligera* ก่อนการถ่ายเชื้อ *C.utilis* เพื่อให้ได้ปริมาณ Symba yeast สูงสุด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.เพื่อให้เข้าใจถึงประโยชน์ของการนำทรัพยากรในประเทศที่มีราคาถูกมาใช้ให้เกิดประโยชน์

2.เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อนำไปสู่การขยายปริมาณในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

3.เสริมสร้างความคิดริเริ่มในการนำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์สาขาต่าง ๆ มาประยุกต์ ให้เกิดประโยชน์ในเรื่องของการใช้วัตถุดิบและทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพ

4.เพื่อนำสิ่งที่ได้จากการศึกษามาใช้เป็นจุดเริ่มต้นในการพัฒนาไปสู่เทคโนโลยีการผลิต Symba yeast จากมันสำปะหลัง

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ แถวๆประเทศเปรู เมกซิโก กัวเตมาลา และฮอนดูลัส สันนิษฐานว่ามีการปลูกมันสำปะหลัง เมื่อ 2100 ปีมาแล้ว และมีการปลูกในประเทศเปรู เมื่อ 4000 ปีมาแล้วจากถิ่นนี้ได้แพร่ขยายไปทั่วทวีปอเมริการแถบร้อนโดยชาวอินเดียและขยายไปสู่แหล่งอื่นๆ ของโลก โดยชาวปอร์ตุเกสและชาวสเปญ มันสำปะหลังเข้ามาสู่เอเชียโดยนำเข้ามาในประเทศอินเดียศรีลังกา มาเลเซีย อินโดนีเซีย ประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 17 ตามเอกสาร ได้พบว่ามีการนำมันสำปะหลัง เข้ามาในเอเชียดังนี้

พ.ศ. 2283 เริ่มปลูกมันสำปะหลังในมอริเชียส โดยนำไปจากชวา

พ.ศ. 2329 เริ่มปลูกในศรีลังกา โดยนำไปจากมอริเชียส

พ.ศ. 2383 เริ่มปลูกในฟิลิปปินส์ โดยนำมาจากเมกซิโก โดยชาวสเปนและชาวอินเดีย

พ.ศ. 2393 ใช้มันสำปะหลังในอุตสาหกรรมในมาเลเซีย

พ.ศ. 2398 ทำแป้งมันสำปะหลังในสิงคโปร์

สำหรับประเทศไทยยังไม่มีหลักฐานที่แน่นอนว่า มีการนำมันสำปะหลังเข้ามาปลูกเมื่อใด คาดว่าคงจะเข้ามาในระยะเดียวกับที่เข้าสู่ประเทศศรีลังกา ฟิลิปปินส์ คือราว พ.ศ. 2329-2383 เดิมทีเดียวเรียกว่า มันสำโรง มันไม้ ยังไม่พบหลักฐานว่าเพราะเหตุใด และเมื่อใด ได้เปลี่ยนมาเรียกว่า มันสำปะหลัง ดังเช่นทุกวันนี้

ความสำคัญ

มันสำปะหลังจัดเป็นพืชหัวชนิดหนึ่งมีชื่อสามัญหลายชื่อด้วยกัน ตามภาษาต่าง ๆ ที่ได้ยินมากได้แก่ cassava , yuca , mandioca , tapioca เป็นต้น เดิมทีเดียวคนไทยเรียกว่า มันไม้ มันสำโรง ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกมันต้นเตี้ย ทางภาคใต้เรียกมันเทศ ปัจจุบันคนส่วนใหญ่เรียก มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังจัดเป็นอาหารที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 7 ของอาหารมนุษย์ทั่วโลก มีปลูกทั่วไปในเขต tropic ทั่วโลกใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารหลักของมนุษย์กว่า 200 ล้านคน โดยรับประทานโดยตรง เลี้ยงสัตว์ กิจกรรมอุตสาหกรรมประมาณ 95 % ของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังของโลก ใช้เป็นอาหารมนุษย์ทั้งในรูปอาหารหลัก อาหารรอง และอาหารเสริม โดยบริโภคในรูปหัวสด

ดินฟ้าอากาศที่เหมาะสม

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ขึ้นได้ ในสภาพดินฟ้าอากาศแตกต่างกันอย่างกว้างขวาง ในเขตที่มีปริมาณน้ำฝน 500-2500 มิลลิเมตรต่อปี หลังจากต้นมันสำปะหลังตั้งตัวแล้ว แม้จะขาดฝนต้นมันสำปะหลังสามารถทนอยู่ได้ในระยะที่ฝนทิ้งช่วงต้นมันสำปะหลังจะหยุดการเจริญเติบโต และจะเติบโตต่อไปใหม่เมื่อมีฝน ประการสำคัญคือหลังการปลูกควรได้รับน้ำประมาณสองเดือน หลังจากนั้นถึงแม้จะขาดน้ำก็ไม่เป็นไร ต้นมันสำปะหลังเพียงชะงักการเจริญเติบโต มันสำปะหลังขึ้นได้ในเขตที่มีอุณหภูมิ 10-30 องศาเซลเซียส ต่ำหรือสูงกว่านี้จะชะงักการเจริญเติบโต ขึ้นได้ดีในเขตร้อนตั้งแต่เส้นขนาน 30 องศาใต้ ถึง 30 องศาเหนือ และความสูงไม่เกิน 1000 เมตร จากระดับน้ำทะเล มันสำปะหลัง ขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด ชอบดินร่วนปนทราย มีความสมบูรณ์ปานกลาง ไม่มีน้ำขัง พีเอช ระหว่าง 8-5.5 มันสำปะหลังเป็นพืชวันสั้น ผลผลิตจะลดลงถ้าช่วงแสงของวันยาวเกิน 10-12 ชั่วโมง

สำหรับประเทศไทย ปลูกมันสำปะหลังได้ตั้งแต่ใต้สุด จนกระทั่งเหนือสุดใน อาณาบริเวณเส้นรุ้ง 6-20 องศาเหนือเส้นแวง 99-105 องศาตะวันออก ในเขตที่มีการปลูกมันสำปะหลัง มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 1200-1500 มิลลิเมตร อุณหภูมิของเดือนไม่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังมากอยู่ในบริเวณที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล

0-200 เมตร

ต้น

มันสำปะหลังเป็นไม้พุ่มและมีอายุอยู่ได้หลายปี ความสูงของต้นมันสำปะหลังแตกต่างกันตามพันธุ์และสภาพแวดล้อมอาจสูง1-5 เมตร ทุกส่วนของต้นมียางสีขาว การแตกกิ่งแตกต่างกันตามพันธุ์ซึ่งแตกต่างกันมาก

ต้นมันสำปะหลังจัดเป็นไม้เนื้ออ่อน ไส้กลางของต้น (pith) มีขนาดใหญ่เป็นผลให้ต้นเปราะ หักง่าย ส่วนของต้นที่แก่ pith มีขนาดเล็กกว่าส่วนที่ยังอ่อน สีของลำต้นแตกต่างกันตามพันธุ์ ส่วนยอดมักเป็นสีเขียว ส่วนที่ต่ำลงมามีสีแตกต่างกันไป ต้นมีเปลือกบางลอกได้ง่าย ส่วนของต้นที่แก่ใบมักร่วงทำให้เกิดรอยแผลเป็นของก้านใบที่ติดกับต้นเรียก leaf scar ระยะห่างระหว่าง leaf scar เรียก storey length ระยะ storey length แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ และระยะเวลาที่พืชเติบโตในช่วงฤดูฝน การเจริญเติบโตเร็ว storey length ยาวหรือ leaf scar ห่าง ซึ่งจะตรงกันข้ามกับในฤดูร้อนเหนือ leaf scar ขึ้นไป มีตาซึ่งสามารถงอกออกเป็นต้นใหม่ได้ ขนาดของต้นแตกต่างกันตามพันธุ์ สภาพแวดล้อม และตามอายุของต้น โดยเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของต้น ประมาณ 3-6 เซนติเมตร

ใบ

ใบมันสำปะหลัง เป็นแบบ simple leaf แผ่นใบ(lamina) ประกอบด้วย แฉกใบ (lobe) ลึกแบบ palmate ตามปกติใบมี 3-9 lobe ใบที่อยู่ใกล้ช่อดอกมีขนาดเล็ก และมีจำนวน lobe น้อย มักมีเพียง 1-3 lobe เท่านั้น รูปร่างของ lobe แตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ เส้นใบ (midrib) มีสีแตกต่างกันตามพันธุ์ ก้านใบ (petioles) ติดอยู่กับฐานของแผ่นใบเป็นรูปตัววี พยุงให้แผ่นใบอยู่ในแนวราบ ก้านยาวประมาณ 5-30 เซนติเมตร ยาวกว่าแผ่น ใบก้านใบมีสีแตกต่างกัน

ดอก

มันสำปะหลังเป็นพืชชนิด manoecious คือมีทั้งดอกตัวผู้ และดอกตัวเมีย ซึ่งจะอยู่แยกดอกกัน แต่อยู่ในช่อดอกเดียวกัน ช่อดอกเป็นแบบ pericle ช่อดอกเกิดที่จุดที่แตกกิ่งที่ยอดของต้น พันธุ์ที่ไม่แตกกิ่งจึงไม่มีช่อดอก

ดอกตัวผู้เกิดอยู่ที่ส่วนบนของช่อดอก มีกลีบเลี้ยง 5 อัน ไม่มีกลีบดอก แต่ละดอกมี 10 stamen จัดเรียงกันเป็น 2 วง วงในมี 5 stamen และมี filament สั้น วงนอกมี 5

stamen และมี filament ยาวกว่าวงใน filament แยกไม่ติดกัน

ดอกตัวเมียเกิดอยู่ที่ส่วนล่างของช่อดอก โดยทั่วไปมีขนาดใหญ่กว่าดอกตัวผู้ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 5 อัน ไม่มีกลีบดอก รังไข่ประกอบด้วย 3 caple แต่ละ caple มี 1 ovule

<u>ราก หัว</u>

มันสำปะหลังมีระบบราก ชนิด advertitious root system รากเกิดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นได้ คือ จาก cambium จากตา จาก leaf scar และจากโคนของ shoot รากมันสำปะหลังมี 2 ชนิด คือ รากจริง และรากสะสม รากจริงเจริญเติบโตไปทางด้านลึกมากกว่าด้านข้าง เป็นรากยึดเหนี่ยวและหาอาหารให้แก่ต้น ส่วนรากสะสมเจริญเติบโตทางด้านข้างรอบ ๆ ต้นเป็นส่วนมาก เมื่อต้นมันสำปะหลังอายุ 2-3 เดือนหลังจากปลูก รากสะสมก็เริ่มขยายใหญ่ขึ้น อันเกิดจากการสะสมแป้งใน parenchyma cell เรียกรากสะสมนี้ว่า หัว อันเป็นแหล่งสะสมอาหารจำพวกแป้ง หัวมันสำปะหลังส่วนใหญ่เกิดอยู่บริเวณโคนต้นในรัศมีประมาณ 60 เซนติเมตร จำนวนหัว รูปร่าง ขนาด สี น้ำหนัก เปอร์เซนต์แป้ง ปริมาณกรดของหัว แตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ เมื่อตัดหัวตามขวางจะเห็นว่าประกอบด้วย 3 ส่วน

1. ผิวหรือเปลือกชั้นนอก เป็นเยื่อบาง ๆ อยู่ชั้นนอกสุดเป็น cork layer ความหนา ลักษณะเรียบ-ขรุขระ และสี ของผิวนอกของหัวมันสำปะหลังแตกต่างกันออกไป มีสีขาว น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแก่ ชมพู

2. เปลือกชั้นใน อยู่ถัดผิวเข้ามามีความหนาประมาณ0.1-0.3 เซนติเมตร ส่วนมากมีสีขาว ชมพู อาจมีสีน้ำตาล เปลือกประกอบด้วย ชั้นของเซลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ sclerenchyma, cortical-parenchyma และ phloem เปลือกชั้นในนี้เรียกว่า cortex เมื่อรวมกับ periderm เรียกรวมกันว่า เปลือก (peel)

3. เนื้อหรือส่วนแกนกลาง เป็นส่วนที่สะสมแป้งเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ของหัวทั้งหมดเป็นส่วนที่ใช้เป็นอาหารได้ประกอบด้วยเซลชนิดต่างๆคือ cambium , parenchyma ,xylem vessel เนื้อ มีสีต่างๆ เช่น ขาว ครีม เหลือง ชมพู แป้งในหัวมันสำปะหลังสะสมอยู่ในส่วนของ parenchyma cell ซึ่งมีอยู่ทั้งในส่วนของเปลือกและเนื้อ แต่ในเปลือกมีปริมาณน้อยกว่าในเนื้อ

ชนิดและพันธุ์ มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังที่ปลูกกันอยู่ แบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้ 2 ประเภท ได้แก่

ก. ประเภทที่ใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือประเภทหวาน เป็นมันสำปะหลังที่มีรสไม่ขม เนื้อแน่น เหนียว เมื่อต้มหรือนึ่งรสดี ส่วนมากมีอายุสั้นประมาณ 6-8 เดือน ต้นเล็ก หัวเล็ก ในประเทศไทยมีพันธุ์ที่เรียกว่า พันธุ์ห้านาที บางทีก็เรียกพันธุ์ยอดแดง พันธุ์มันญวน มันสำปะหลังพันธุ์ห้านาทีเป็นพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยมานาน ประมาณ 200 ปีแล้ว ใช้เป็นอาหาร ส่วนใหญ่ใช้ทำขนมต่าง ๆ ปริมาณที่ปลูกและใช้จึงไม่มากนัก จัดเป็นมันสำปะหลังประเภทหวาน หรือประเภทใช้หัวสำหรับรับประทาน ด้วยการต้ม เผา หรือทำให้สุกด้วยวิธีอื่น ๆ มีลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 2.5-3.0 เมตร แตกแขนงที่ยอดประมาณ 1-2 แขนง ต้นมีสีน้ำตาลอ่อนปนสีน้ำเงิน รอยแผลเป็นของใบ (leaf scar) นูนใหญ่ห่างกันประมาณ 3-4 เซนติเมตร ใบมีประมาณ 3-9 แฉก แต่ละแฉกมีลักษณะป้อมแฉกกลาง กว้างประมาณ 2.6-4.8 เซนติเมตร ยาวประมาณ 17 เซนติเมตรหรือกว่านั้น ใบอ่อนมีสีเขียวอ่อน ก้านใบสีแดงตลอด หัวยาวเรียว ผิวเรียบ เปลือกสีน้ำตาลเข้ม เนื้อสีขาวจนนวล

มันสำปะหลังพันธุ์ ห้านาทีให้ผลผลิตหัวสดประมาณ 3-5 ตันต่อไร่ หัวสดมีน้ำประมาณ 66 เปอร์เซนต์ มันแห้ง มีโปรตีนประมาณ 2 เปอร์เซนต์ มีกรดไฮโดรไซยานิคประมาณ 80 ส่วนต่อล้านส่วน (ppm)

ข. ประเภทใช้ในการอุตสาหกรรมหรือประเภทขม เป็นพวกที่มีปริมาณแป้งมาก อาจมีรสขม ไม่เหมาะในการรับประทาน พวกนี้ต้นโต หัวโต อายุประมาณ 10-14 เดือน บางพันธุ์ถึง 2 ปี ผลผลิตสูง ส่วนใหญ่ใช้ในการทำแป้ง อุตสาหกรรมอื่น ๆ และใช้ในการเลี้ยงสัตว์ ได้แก่พันธุ์ที่มีชื่อเรียกต่างกัน เช่น พันธุ์ยอดขาว พันธุ์สิงคโปร์ พันธุ์ระยอง และพันธุ์พื้นเมือง สันนิษฐานว่าเป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซียปลูกครั้งแรกทางภาคใต้ของประเทศไทย ในบริเวณที่ปลูกยางพารา

ต่อมาได้มีผู้นำไปปลูกกันอย่างแพร่หลายในจังหวัดชลบุรีและระยองเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมทำแป้ง ในปี 2499 สถานีกสิกรรม (ปัจจุบันสถานีทดลองพืชไร่) ห้วยโป่ง จังหวัดระยอง ได้ทำการรวบรวมพันธุ์จากไร่กสิกรในท้องที่จังหวัดระยอง และทำการคัด

เลือกต้นที่ให้ผลผลิตสูง เป็นพันธุ์ที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของจังหวัดระยองได้ดี มีโรครบกวนน้อยและให้ผลผลิตดีจากการปลูกคัดเลือก และเปรียบเทียบพันธุ์ที่ได้ผลดี คือ พันธุ์ระยอง 1

มันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 1 เป็นมันสำปะหลังประเภทขม หรือประเภทที่ใช้ในการอุตสาหกรรมต่าง ๆ รวมทั้งอาหารสัตว์ ต้นสูงประมาณ 2.5-3.5 เมตร ลำต้นตั้งตรง แตกแขนงน้อย มีสีเทาเงิน รอยแผลเป็นของใบ (leaf scar)ใหญ่นูนห่างกันประมาณ 3-5 เซนติเมตร ใบมี 3,5,7 หรือ 9 แฉก แต่ละแฉกมีลักษณะป้อม กว้าง ประมาณ 2.6-4.8 เซนติเมตร ยาวประมาณ 17 เซนติเมตร ใบอ่อนที่ยอดมีสีม่วง ก้านใบมีสีเขียวเหลือบแดง หัวยาวเรียวผิวเรียบ เปลือกสีมีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีขาวนวล หัวสดมีน้ำประมาณ 70 เปอร์เซนต์ แป้งประมาณ 23 เปอร์เซนต์ ผลผลิตหัวสด (เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 12 เดือน) ประมาณ 2-6 ตันต่อไร่ แตกต่างกันตามสภาพการปลูก

มันสำปะหลังที่ปลูกกันในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นประเภทที่ใช้ในการอุตสาหกรรม และใช้เลี้ยงสัตว์ มันสำปะหลังพวกนี้มีอยู่หลายพันธุ์ สำหรับพันธุ์ที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ขณะนี้ สันนิษฐานว่า เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาปลูกทางภาคใต้ของประเทศไทยเป็นครั้งแรก โดยทดลองปลูกที่สถานีทดลองภาคใต้ (ศูนย์วิจัยการยางปัจจุบัน) แล้วจึงนำไปทดลองปลูกที่ สถานีกสิกรรม (สถานีทดลองพืชไร่ ห้วยโป่ง) จังหวัดระยอง และบริเวณใกล้เคียง จนกระทั่งเมื่อมีความเหมาะสม จึงได้ขยายออกไปทั่วประเทศ เป็นพันธุ์ที่มีความเหมาะสมกับสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศไทยเป็นอย่างดี เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อโรค และแมลงพอควรผลผลิตสูงกว่า 5 ตันต่อไร่ ในดินดีหรือใส่ปุ๋ย เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีการปลูกอยู่ทั่วไปเป็นเวลานานจนเรียกกันว่า พันธุ์พื้นเมือง หรือเรียกชื่อกันตามท้องถิ่นว่าพันธุ์ระยอง

การปลูกมันสำปะหลัง

1. <u>ฤดูปลูกมันสำปะหลัง</u>

มันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี เขตที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากคือจังหวัดระยอง ชลบุรี และนครราชสีมา ซึ่งจะปลูกมากในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายน ส่วนจังหวัดอื่น ๆ 50 เปอร์เซนต์ ปลูกมากในเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม

การทดลองเกี่ยวกับการหาฤดูปลูกมันสำปะหลังที่เหมาะสมได้เริ่มดำเนินการตั้งแต่ปี 2510 เป็นต้นมา เพื่อที่จะทราบว่าในท้องที่ใดควรปลูกมันสำปะหลังเมื่อใดจึงจะให้ผลผลิตสูงสุด พบว่า

เขตจังหวัดสุโขทัย กำแพงเพชร การปลูกต้นฤดูฝน พฤษภาคมถึงกรกฎาคม ให้ผลผลิตสูงกว่าการปลูกกลางและปลายฤดูฝน

เขตจังหวัดสุพรรณบุรี กาญจนบุรี การปลูกต้นฤดูฝน เมษายนถึงกรกฎาคมได้ผลผลิตสูงกว่าปลายฤดูฝน เปอร์เซนต์แป้งไม่แตกต่างกันมากนักจากการปลูกเดือนต่าง ๆ ระหว่างเดือนเมษายนถึงตุลาคม

เขตจังหวัดขอนแก่นและนครราชสีมา การปลูกต้นฤดูฝน พฤษภาคมถึงมิถุนายน ให้ผลผลิตสูงสุด

เขตจังหวัดระยองก็ได้ผลเช่นเดียวกับภาคเหนือตอนล่างและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การปลูกมันสำปะหลังสามารถกระทำได้ทุกๆเดือน ตลอดทั้งปี แต่จากการทดลองในปี 2508-2512 พบว่า การปลูกในช่วงฤดูฝนจะมีผลทำให้ผลผลิตหัวสดสูงกว่าการปลูกในฤดูแล้งไม่ว่าจะเก็บเกี่ยวอายุเท่าใดระหว่าง 8-18 เดือน

2. <u>การเตรียมดิน</u>

การเตรียมดินสำหรับปลูกมันสำปะหลัง ควรไถพรวนให้ลึก 8-12 นิ้ว โดยไถกลบเศษเหลือของพืชเช่น ลำต้น เหง้า ใบและยอดของมันสำปะหลังที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวไม่ควรจะเผาหรือเคลื่อนย้ายออกจากพื้นที่เพาะปลูก เพราะว่าการเผาทิ้งหรือขนย้ายไปทิ้งจะทำให้ธาตุอาหารสูญหายไปเป็นจำนวนมาก

การไถควรทำ 1-2 ครั้ง ด้วยผาน 3 และผาน 7 หรือ พรวน ถ้าปลูกในพื้นที่ลาดเท การไถควรไถขวางทิศทางของความลาดเทนั้นเพื่อลดการสูญเสียหน้าดิน และถ้าพื้นที่เพาะปลูกเป็นที่มีน้ำขังควรทำร่องระบายน้ำและยกร่องปลูก สำหรับพื้นที่ที่น้ำไม่ขัง การเตรียมดินโดยการยกร่อง ไม่ยกร่องกับการพูนโคนหลังจากกำจัดวัชพืชครั้งแรก ผลผลิตไม่แตกต่างกัน เพื่อการประหยัดจึงไม่จำเป็นต้องยกร่องและไม่ต้องพูนโคนนอกจากพูนโคนเพื่อกำจัดวัชพืชเท่านั้น

3. การคัดเลือกท่อนพันธุ์ปลูก

3.1 อายุของท่อนพันธุ์ที่ใช้ปลูก

ท่อนพันธุ์ที่ใช้ปลูก ควรจะได้จากต้นที่มีอายุตั้งแต่ 8 เดือนขึ้นไปและไม่ควรเกิน 18 เดือน จากการทดลองที่สถานีทดลองพืชไร่ห้วยโป่ง ต้นที่ใช้ทำพันธุ์มันสำปะหลัง อายุ 8-12 เดือน จะมีการอยู่รอด 90-94 เปอร์เซนต์ ดังนั้นการคัดเลือกต้นพันธุ์ที่ใช้ปลูกจึงไม่ควรมีอายุต่ำกว่า 8 เดือน ถ้าพิจารณาขนาดของลำต้นตัดขวาง ถ้าไส้กลางของลำต้นมีขนาดใหญ่ แสดงว่าต้นพันธุ์ยังอ่อนหรือถ้าไส้กลางเล็กเกินไป เล็กกว่าครึ่งหนึ่งของเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น แสดงว่าต้นพันธุ์นั้นแก่เกินไป หรืออีกนัยหนึ่งคือการใช้ท่อนพันธุ์จากส่วนกลางของต้นปลูกจะมีการอยู่รอด 69-84 เปอร์เซนต์ แต่ถ้าใช้ท่อนพันธุ์จากส่วนยอดของต้นซึ่งยังอ่อนอยู่จะรอดเพียง 34.7 เปอร์เซนต์ เท่านั้น

3.2 ขนาดของท่อนพันธุ์

ท่อนพันธุ์ที่ใช้ปลูกควรมีความยาวไม่ต่ำกว่า 15 เซนติเมตร จากการทดลองการใช้ท่อนพันธุ์ยาว 15-20 เซนติเมตร มีการอยู่รอด 88 เปอร์เซนต์ ถ้าท่อนพันธุ์สั้น 10 หรือ 5 เซนติเมตร จะรอดเพียง 70 และ 29 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ นอกจากจะต้องคำนึงถึงความยาวของต้นพันธุ์แล้ว จำนวนตาในแต่ละท่อนพันธุ์ยังมีความสำคัญด้วย จำนวนตาที่เหมาะสมเมื่อใช้ท่อนพันธุ์ยาว 20 เซนติเมตร ควรมีตาตั้งแต่ 5-7 ตา ถ้าท่อนพันธุ์มีตาเพียง 1-3 ตา จะทำให้เปอร์เซนต์การอยู่รอดลดลงได้มาก เนื่องมาจากความเสียหายจากการแห้งหรือจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคในดินได้รวดเร็ว ถ้าใช้ท่อนพันธุ์มีขนาดยาวเกินความจำเป็นก็จะทำให้สิ้นเปลือง และมีผลทำให้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้ท่อนพันธุ์สั้นด้วย เมื่อเตรียมท่อนพันธุ์เรียบร้อยแล้วควรชุบท่อนพันธุ์ด้วยสารป้องกันกำจัดโรคและแมลงเพื่อให้ได้ท่อนพันธุ์ที่แข็งแรง เจริญเติบโตดี

วิธีการปลูก

การปลูกมีหลายวิธี เช่น การปลูกแบบวางนอน (ฝัง) ในปัจจุบันปลูกกันน้อยมาก และการปลูกแบบปักกำลังเป็นที่นิยมในปัจจุบันโดยเกษตรกรบางรายปลูกตามแนวสัตว์ไถคือปลูกบนสันร่องที่ใช้แรงงานสัตว์ไถไว้แล้ว วิธีนี้เกษตรกรปลูกกันมากนอกจากนี้ วิธีปลูก

บนพื้นราบโดยใช้เชือกที่ทำเครื่องหมายบอกระยะมาวางเป็นแนวในการปลูก วิธีการนี้จะทำให้ระยะปลูกถูกต้องสม่ำเสมอใกล้เคียงกับวิธีปลูกที่ทางการแนะนำ ซึ่งวิธีการนี้กำลัง แพร่หลายในปัจจุบัน

ระยะปลูกมันสำปะหลัง

กสิกรปลูกมันสำปะหลังใช้ระยะแตกต่างกันระยะแถว 70-100 เซนติเมตร ระยะหลุม 50-100 เซนติเมตร ส่วนใหญ่ใช้ระยะปลูกประมาณ 80x100,100x100 เซนติเมตร แต่ระยะ 100x100 เซนติเมตรมีแนวโน้มว่าจะได้ผลผลิตสูงกว่าระยะอื่น ๆ

การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง

ปัจจุบันมันสำปะหลังมีบทบาทสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก กสิกรได้หันมาปลูกแทนพืชไร่อื่น ๆ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปรากฏว่ามันสำปะหลังได้ปลูกแทนที่ปอเกือบหมด ที่เป็นเช่นนี้เพราะมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกดูแลรักษาง่าย และทำรายได้ดีกว่าพืชไร่อื่น ๆ

ประโยชน์ของมันสำปะหลังแยกตามลักษณะต่าง ๆ

หัวสด

1. ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ รับประทานสด ต้ม นึ่ง อบ ปิ้งเป็นอาหารประจำวัน ตลอดถึงการปั่นตลุกมะพร้าว น้ำมัน ถั่วลิสง ผัก เครื่องเทศ หรือตากแห้ง ขูดและหมักหรือหั่นตากเป็นชิ้นบาง ๆ แล้วทอด

2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยใช้การที่เหลือจากการทำแป้ง การหั่นหัวสดเป็นชิ้นๆ ใช้เปลือกของหัว ใช้หัวที่หักเป็นเศษเล็กเศษน้อย

3. ส่งโรงงานอุตสาหกรรม ทำแป้ง มันเส้น มันอัดเม็ด แอลกอฮอล์

ใบ

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ รับประทานเป็นผัก ปรุงเป็นซุป

2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ ในรูปใบสด หมัก ตากแห้งป่น ผสมอาหารเข้มข้นเลี้ยงสัตว์ และเป็นอาหารผสม

ต้น

1. ใช้ทำพันธุ์ ลำต้นตัดเป็นท่อนใช้ปลูกต่อ

2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ ต้นส่วนยอดผสมกับใบสดใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ตากแห้งเป็นอาหารหยาบเลี้ยงสัตว์

มันเส้น

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ หมักแล้วเติมเนื้อ น้ำมัน ผัก เครื่องเทศและน้ำ

2. ใช้เลี้ยงสัตว์

3. ส่งโรงงานอุตสาหกรรม ทำมันอัดเม็ด แอลกอฮอล์

แป้งผง

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ ทำขนมปังอบ ใช้เป็นส่วนประกอบในการทำอาหารและขนมหลายชนิด ผสมทำเป็นแป้งที่มีโปรตีนสูง ผสมทำแป้งที่มีกรดอะมิโนสูง

2. ส่งโรงงานอุตสาหกรรม ทำผงชูรส ทำกาว ทำสารที่คล้ายกาว เพื่อใช้ทำไม้อัด กระดาษอัด

แป้ง

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ อาหารทารก เป็นเครื่องปรุงอาหารหลายชนิด ทำวุ้นเส้น ทำเบียร์

2. ส่งโรงงานอุตสาหกรรม เป็นตัวทำให้สารต่าง ๆ ติดแน่น เป็นตัวทำให้สารคง-

รูป เป็นตัวทำให้เป็นผงฝุ่น ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ทำให้สิ่งของอยู่ตัว ใช้ในการซักรีด ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ ทำกาว แป้งเปียก ทำแอลกอฮอล์ ทำอะซิโตน ทำกลูโคส ใช้ในอุตสาหกรรมเจาะน้ำมัน นอกจากนี้ยังใช้ในรูปแป้งอื่น ๆ อีก

อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง

ประวัติของอุตสาหกรรมการแปรรูปมันสำปะหลัง

อุตสาหกรรมมันสำปะหลังได้รับการส่งเสริมอย่างจริงจัง เป็นครั้งแรกในสมัยหลังสงครามโลกครั้งที่สอง เมื่อประเทศญี่ปุ่นซึ่งขาดวัตถุดิบพื้นฐานแทบทุกประเภท ได้เริ่มสั่งซื้อแป้งและผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังจากประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ.2491 ประกอบกับภูมิประเทศริมฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย จากจังหวัดชลบุรีถึงระยอง ซึ่งมีเนื้อที่ประมาณ 1,233,180 ไร่ ซึ่งมีลักษณะเป็นเนินเขา ดินตามไหล่เขาเป็นดินทรายไม่มีแม่น้ำลำธารน้ำจืดไหลผ่าน จึงเป็นทำเลที่ไม่เหมาะแก่การทำนาหรือปลูกพืชเศรษฐกิจอย่างอื่นซึ่งต้องอาศัยน้ำจืด ด้วยเหตุนี้ชาวไร่จึงเริ่มปลูกมันสำปะหลังเพราะพืชชนิดนี้ไม่ต้องอาศัยน้ำมากเหมือนพืชอื่น ปรากฏว่าการปลูกมันสำปะหลังได้ผลดีจนกลายเป็นอาชีพ ที่แพร่หลายอย่างรวดเร็ว นอกจากญี่ปุ่นซึ่งเป็นลูกค้าประจำแล้ว ในเวลาต่อมาอเมริกาและประเทศเพื่อนบ้านของไทย ได้มีส่วนช่วยส่งเสริมให้ผลิตแป้งมันสำปะหลังในประเทศไทยสามารถปรับปรุงโรงงานของตนให้ทันสมัยยิ่งขึ้น ส่วนชาวไร่ก็เริ่มขยายพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังตามไปด้วย

เมื่อมาถึงสมัยของการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อการเลี้ยงสัตว์ซึ่งเริ่มเมื่อ พ.ศ. 2498 ความต้องการหัวมันได้เพิ่มทวีขึ้นอย่างมากมายจนกระทั่งชาวไร่จังหวัดริมทะเลภาคตะวันออกปลูกส่งโรงงานไม่ทัน การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ เป็นเครื่องกำเนิดอุตสาหกรรมมันเส้นและมันเม็ด ซึ่งไม่จำเป็นต้องลงทุนและใช้ความรู้มากเท่าการผลิตแป้ง เพื่อจะให้หัวมันมีปริมาณเพียงพอกับการใช้ผลิตมันเส้นและมันเม็ดซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ที่ดินที่ใช้ในการเพาะปลูกมาแต่เดิมในจังหวัดริมทะเลทั้งสองก็ขยายตัวออกไปทุกที จนในที่สุดการปลูกมันสำปะหลังได้แพร่หลายไปยังส่วนอื่นของประเทศ รวมทั้งภาคตะวัน ออก

เฉียงเหนือ ภาคใต้และภาคตะวันตก ในบริเวณซึ่งที่ดินไม่เหมาะกับการทำนาและปลูกพืชชนิดอื่น ประเทศไทยสามารถผลิตข้าวได้เพียงพอ ทั้งบริโภคภายในประเทศและส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารภายในประเทศจึงน้อยมาก เมื่อเป็นเช่นนี้จึงสามารถส่งผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังส่วนใหญ่ออกไปจำหน่ายในต่างประเทศ

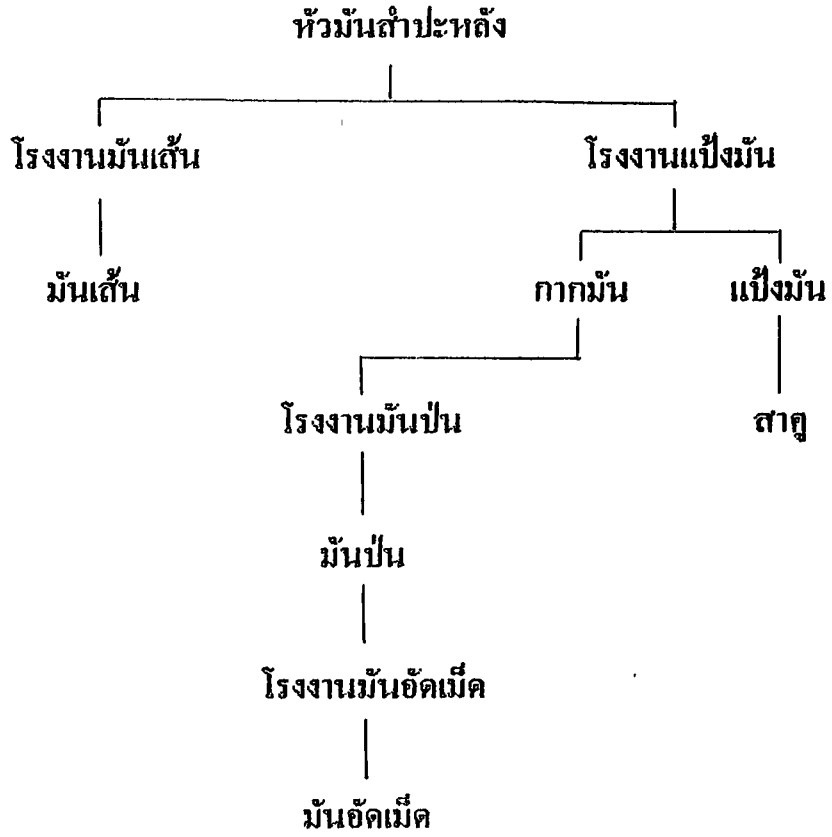
การแปรรูปผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังชนิดแรกได้แก่ แป้งมัน และได้ส่งออกไปขายยังประเทศใกล้เคียง เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้าและทำกระดาษต่อมาคุณภาพของแป้งมันสำปะหลังของไทยได้รับการปรับปรุงจนกลายเป็นแป้งที่นิยมบริโภค การค้าผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ ซึ่งมีประวัติสืบเนื่องมาจากการทำแป้งมันสำปะหลัง คือ ประมาณปี 2499 ได้มีชาวเยอรมันได้นำชี้แป้ง ซึ่งเป็นผลพลอยได้ของแป้งมันสำปะหลังส่งไปยังประเทศเยอรมันเพื่อทดลองใช้เลี้ยงสัตว์ ปรากฏว่าได้ผลดีเป็นที่พอใจ และต้องการซื้อชี้แป้งเป็นปริมาณที่มากขึ้น แต่ชี้แป้งในขณะนั้นมีจำนวนจำกัดเพราะเนื่องจากการผลิตแป้งซึ่งทำกันทั้งปีนั้น จะสามารถขุดเอาชี้แป้งมาตากแห้งได้ก็เฉพาะในฤดูแล้งเท่านั้น และมีปริมาณไม่มากนัก จึงมีผู้ริเริ่มเอาหัวมันสำปะหลังสดมาหั่นเป็นชิ้นๆ นำไปตากแห้งแล้วบดด้วยหินบดข้าว ปรากฏว่ามันป่นที่ได้จากการบดนี้เป็นที่นิยมของโรงงานอาหารสัตว์ในยุโรปมาก จึงมีผู้นำเอาเครื่องบดแบบแฮมเมอร์มิลล์ (hammer mill) มาผลิตมันป่นเพื่อส่งไปขายยังประเทศเยอรมันตะวันตก สำหรับใช้ในการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะสุกร ต่อมาประมาณปี 2500 ได้มีผู้นำเอากากมันสำปะหลังที่ทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมาป่นรวมกันไปด้วย ซึ่งเรียกว่า กากมันป่น (waste meal)

ในราวปี 2503-2504 ปรากฏว่ามีการปลอมป่นมันสำปะหลังป่นกันมากโดยนำเอาดินทราย และวัตถุอื่น เช่น แกลบ ขี้เลื่อย มาบดป่นลงไป ผู้ซื้อในยุโรปจึงหันมาซื้อมันสำปะหลังแห้ง (มันเส้น) แทน ซึ่งขณะนั้นชาวชลบุรีได้คิดทำเครื่องหั่นมันขึ้นแล้ว ต่อมาในปี 2508 บริษัทปีเตอร์ เครเมอร์ จำกัด ร่วมกับผู้ส่งออกประเทศไทยคือ บริษัท ไทยวา จำกัด สั่งเครื่องอัดมันเม็ดจากต่างประเทศเข้ามาทำมันอัดเม็ดเพื่อแก้ปัญหาในการส่งออกมันสำปะหลังแห้งในขณะนั้น เพราะมันสำปะหลังแห้งมีน้ำหนักเบา แต่กินพื้นที่ในระวางเรือมาก ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการขนส่งสูง และการขนถ่ายเมื่อถึงเมืองท่าปลายทาง ก็ต้องเสียเวลาและค่าใช้จ่ายมาก เนื่องจากไม่สามารถใช้เครื่องดูดออกจากระวางเรือใหญ่ได้ การใช้เครื่องอัดเม็ดได้รับความนิยมและแพร่หลายอย่างรวดเร็ว ในที่สุดวิศวกรไทยได้เลียน

แบบเครื่องอัดมันเม็ดและผลิตขึ้นขายในประเทศ แต่ขายในราคาถูกกว่าที่สั่งซื้อเข้ามาจากต่างประเทศ โรงงานมันเส้นต่าง ๆ ได้ซื้อเครื่องอัดเม็ดนี้ไปผลิตมันอัดเม็ดใช้กันอย่างแพร่หลายตลอดมาจนกระทั่งทุกวันนี้

หัวมันสำปะหลังสดเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์อื่น ๆ อีก 6 ประเภท ทั้งที่เป็นวัตถุดิบโดยตรงและโดยอ้อมได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง มันสำปะหลังเส้น มันสำปะหลังป่น มันสำปะหลังอัดเม็ด กากมันสำปะหลังและสาคู

การแปรรูปหัวมันสำปะหลังสดเป็นผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง



รูปที่ 1 การแปรรูปหัวมันสำปะหลังสดเป็นผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง

อัตราการแปรรูป

1. หัวมันสด 1 กก. ได้แป้งมันสำปะหลัง เฉลี่ย 0.20 กก.
2. หัวมันสด 1 กก. ได้มันเส้น เฉลี่ย 0.40 กก.
3. หัวมันสด 1 กก. ได้มันอัดเม็ด เฉลี่ย 0.37 กก.
4. มันเส้น 1 กก. ได้มันอัดเม็ด เฉลี่ย 0.93 กก.

แป้งมันสำปะหลัง (Tapioca Flour)

แป้งมันสำปะหลังซึ่งผลิตโดยการนำหัวมันสดมาผ่านเครื่องร่อนให้ดินและทรายหลุดและผ่านเข้าเครื่องล้าง เครื่องสับและขูดหัวมัน และบดหัวมันโดยใช้น้ำผสมตามลำดับ ซึ่งจะได้น้ำแป้ง แล้วนำผ่านเครื่องกรองแยกกากและน้ำแป้ง กากมันที่ได้จะนำไปตากแห้งเพื่อจำหน่ายต่อไป ส่วนน้ำแป้งจะถูกนำผ่านเครื่องฟอกและขจัดยางโดยใช้ไอกำมะถัน ทำให้ได้น้ำแป้งขาวบริสุทธิ์ นำผ่านเข้าเครื่องสลัดให้ข้นและสลัดให้แห้ง และท้ายสุดผ่านเข้าเครื่องอบจะได้แป้งผงตามต้องการ ซึ่งแป้งมันสำปะหลังนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง โดยเฉพาะการผลิตน้ำเชื่อมและหัวน้ำตาล ผลิตผงชูรส ผลิตแป้งแปรรูป และอย่างอื่นเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ กระดาษกาว และทำขนม

<u>คุณสมบัติทางกายภาพของแป้ง</u>

ขึ้นอยู่กับโครงสร้างขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้ง โดยทั่วไปเมื่อต้มแป้ง เมล็ดแป้งเหล่านี้จะแตกเมื่ออุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส แล้วเกิดเป็นสารเหนียวๆ แป้งมักมีความหนาแน่น อยู่ระหว่าง 1.50-1.53 และไม่ละลายน้ำ

<u>ประเภทต่าง ๆ ของแป้ง</u>

อาจแบ่งแป้งออกไปได้ 4 ประเภท ตามรูปร่างของเม็ดแป้ง

1. แป้งเม็ดกลม (Round Starches) ได้แก่ แป้งข้าวสาลี แป้งข้าวบาเลย์ แป้งข้าวไรย์

2. แป้งเม็ดเหลี่ยม (Angerlar Starches) ได้แก่ แป้งข้าวสาร แป้งข้าวโอ๊ต แป้งข้าวโพด

3. แป้งเม็ดรูปไข่ (Oval Starches) ได้แก่ แป้งมันฝรั่ง แป้งมันเทศ

4. แป้งอื่น ๆ (Other Starches) ได้แก่ แป้งที่มีรูปร่างเม็ดไม่แน่นอน เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งสาคู และแป้งจากถั่วต่าง ๆ

การใช้ประโยชน์จากแป้งมันสำปะหลังในระดับอุตสาหกรรม

สามารถแบ่งเป็นประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่

1. ใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมและหัวเชื้อน้ำตาล เช่น เดกซ์โตส เพื่อผลิตขนมชนิดต่าง ๆ ในอุตสาหกรรม อาหารกระป๋อง หมากฝรั่ง และเคลือบยาต่าง ๆ

2. ใช้ในการผลิตอาหารอื่นๆ หรือสารเคมีบางชนิด เช่น ผงชูรส หรือผลิตเป็นอาหารโดยตรงเช่น ทำขนมต่าง ๆ

3. ใช้ผลิตแป้งแปรรูป หรือผลิตภัณฑ์จากแป้ง ที่ใช้ทำประโยชน์อื่นๆ เช่น ผลิตแป้งที่ละลายน้ำได้เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ใช้ผลิตยาเม็ด และใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ

4. ใช้ผลิตกาว เพื่อใช้ในการทำไม้อัดหรือเครื่องใช้ในสำนักงานต่าง ๆ

การผลิตแป้งมันสำปะหลังของไทย

วัตถุดิบที่ใช้คือ หัวมันสำปะหลังสด แป้งมันสำปะหลังในปัจจุบันผลิตจากโรงงานที่ค่อนข้างทันสมัยทั้งสิ้น กรรมวิธีในการผลิตโดยทั่วไปคือ

1. นำหัวมันสดมาแยกเอาดินออก

2. นำไปล้างด้วยเครื่องล้าง

3. นำหัวมันไปสับเป็นชิ้น ๆ ด้วยเครื่องสับหัวมัน (Root Cutter)

4. นำมันสำปะหลังชิ้นเล็ก ๆ ที่ได้เข้าเครื่องขุดหัวมัน (Rasper)

5. นำเข้าเครื่องแยกกากครั้งแรก นำส่วนที่เป็นแป้งแช่น้ำในบ่อน้ำแป้ง

6. นำน้ำแป้งแยกกากครั้งที่สองเป็นกากแป้ง(Tapioca meal) ด้วยตะแกรงโยก (บางครั้งใช้ Sieves 160)

7. นำน้ำแป้งเข้าเครื่องทำความสะอาด ซึ่งฟอกสีด้วยไอกำมะถัน

8. ให้น้ำแป้งผ่านตะแกรงโยกอีก 2-3 ตะแกรง ซึ่งอาจใช้ Sieves 250 และ Sieves 350

9. นำน้ำแป้งผ่านเครื่องทำข้น (Concentration)

10. ผ่านน้ำแป้งที่ข้นมากไปยังเครื่องสลัดแห้ง แบบ Centrifuge

11. นำแป้งที่ได้ผ่านเข้าเครื่องอบ แห้ง

12. นำแป้งที่ได้ผ่านตะแกรงร่อนเพื่อแยกคุณภาพ

13. บรรจุถุง

การตลาดและต้นทุนการผลิต

<u>ต้นทุนการผลิต</u>

แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ซึ่งประกอบด้วยค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ดังนี้

1. <u>ต้นทุนผันแปร</u> ได้แก่ค่าใช้จ่ายต่างๆ สำหรับการผลิตทางการเกษตร ซึ่งจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับผลผลิตที่จะได้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง และค่าใช้จ่ายส่วนนี้จะไม่เกิดขึ้นเมื่อยังไม่มีการทำกิจกรรมการผลิตขึ้น ต้นทุนผันแปรมีค่าใช้จ่ายต่างๆ ที่เกี่ยวข้องประกอบด้วย

1.1 ค่าใช้จ่ายเรื่องแรงงานในกิจกรรมการผลิต ซึ่งจะมีทั้งแรงงานภายในครัวเรือน แรงงานที่ต้องจ้างเพิ่มเติม และแรงงานแลกเปลี่ยนกันในระหว่างการผลิตของเกษตรกร สามารถแยกตามประเภทของการใช้แรงงาน ได้แก่ คน สัตว์ และเครื่องจักร หรือเครื่องมือทุ่นแรง

1.2 ค่าใช้จ่ายในการใช้ปัจจัยการผลิต ซึ่งจำเป็นต้องซื้อ หรือเป็นของตนเองหรือได้ฟรีๆ ได้แก่พันธุ์ปลูก ปุ๋ยต่าง ๆ ยาปราบวัชพืช อุปกรณ์การเกษตร น้ำมันเชื้อเพลิงและน้ำมันหล่อลื่น เป็นต้น

1.3 ค่าซ่อมแซมอุปกรณ์การเกษตร ที่มีค่าใช้จ่ายไม่สูงและไม่มีผลถึงการขยายอายุการใช้งานเพิ่มขึ้นจากกำหนด โดยพิจารณาส่วนของค่าซ่อมแซมตามเนื้อที่เพาะปลูกของพืชต่าง ๆ ต่อเนื้อที่เพาะปลูกรวม

1.4 ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุน คำนวณตามอัตราดอกเบี้ยของเงินฝากประจำเฉพาะส่วนของต้นทุนผันแปรทั้งหมด ติดตามระยะเวลาการปลูกพืช

2. <u>ต้นทุนคงที่</u> ได้แก่ค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการผลิต ซึ่งได้เกิดขึ้นแล้ว ถึงแม้จะไม่ได้

ทำการผลิตแต่อย่างใด

2.1 ค่าใช้ที่ดิน คิดจากอัตราค่าเช่าที่ดินในท้องถิ่นตามระยะเวลาการปลูกพืช ทั้งนี้จะรวมทั้งค่าภาษีที่ดินของเกษตรกรที่มีที่ดินเพาะปลูกเป็นของตนเองอยู่ด้วยในส่วนของค่าเช่าที่ดิน นอกจากนี้ยังคำนวณจากส่วนหนึ่งของการเช่าแบบจ่ายเป็นผลผลิต โดยการประเมินผลจากราคาผลิตผลที่เกษตรกรขายได้ในท้องถิ่นด้วย

2.2 ค่าเสื่อมอุปกรณ์การเกษตร อันเนื่องมาจากการใช้เครื่องมือทุ่นแรงต่างๆ ในกิจกรรมการผลิต โดยคำนวณเป็นค่าเสื่อมประจำปีของข้อมูล ค่าอุปกรณ์การเกษตรนั้น ๆ ตามเนื้อที่เพาะปลูกของแต่ละครัวเรือน

Symba process

ในอุตสาหกรรมที่ใช้มันฝรั่งเป็นวัตถุดิบ จะให้น้ำทิ้งที่มีปริมาณของแข็ง (dry solids) สูงถึง 3 เปอร์เซนต์ ซึ่งมีค่า BOD สูงถึง 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งส่วนใหญ่เป็นแป้งซึ่งกำจัดโดยวิธีธรรมดาได้ยากเสียค่าใช้จ่ายสูงและตะกอนที่ได้ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

Symba process เป็นกระบวนการหนึ่งที่นำมาใช้บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมมันฝรั่ง ซึ่งพบว่าสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งได้มากกว่า 90 เปอร์เซนต์ และในขณะเดียวกันก็ลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงได้มากกว่า 50 เปอร์เซนต์ ในสภาวะที่การเจริญเหมาะสม จะใช้เวลาในการบำบัดน้ำทิ้งนี้ 10 ชั่วโมง และสามารถลดค่า BOD ได้ 85 - 90 เปอร์เซนต์ ได้เซลยีสต์ 45 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนักแห้ง

Symba process เป็นกระบวนการเลี้ยงยีสต์สองชนิดร่วมกัน คือ *Endomycopsis fiburigera* และ *Candida utilis* ซึ่งอยู่กันแบบเกื้อกูลกัน (symbiosis)โดยใช้กากของเสียที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบโดย *E.fiburigera* สามารถใช้แป้งได้เนื่องจากมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ซึ่งจะเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล ในขณะที่ *C. utilis* ซึ่งมีอัตราการเจริญสูงกว่ามาก แต่ไม่สามารถใช้แป้งได้ จะนำน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งนั้น มาใช้

เป็นอาหาร ซึ่งจากหลักการดังกล่าวทำให้สามารถใช้แป้งได้ในขั้นตอนเดียว โดยไม่ต้องทำการ hydrolysis ก่อน ผลผลิตสุดท้ายของการผลิตจะได้เชื้อผสมที่เรียกว่า Symba yeast ซึ่งประกอบด้วย *C. utilis* เป็นหลัก (98 เปอร์เซนต์ โดยน้ำหนัก) และมี *E.fibuligera* ปริมาณเล็กน้อย

Symba yeast เป็นโปรตีนเซลเดียวชนิดหนึ่ง มีโปรตีน 45 เปอร์เซนต์ ปริมาณกรดนิวคลีอิคต่ำและอุดมด้วยวิตามินบี แต่มีกรดอะมิโนเมธิโอนีน (methionine) อยู่น้อย ซึ่งถ้ามีการเติมกรดอะมิโนชนิดนี้เพิ่มเติม โปรตีนที่ได้จะมีคุณภาพเทียบเท่ากับเคซีน ซึ่งเป็นโปรตีนในนม

ตารางที่ 2 และ 3 แสดงลักษณะของการอยู่ร่วมกันแบบ symbiosis ระหว่างยีสต์สองชนิด ใน Symba process ในอาหารแป้ง ซึ่ง *E. fibuligera* สามารถเจริญได้ดี แต่ *C. utilis* เจริญได้เพียงเล็กน้อยโดยใช้น้ำตาลที่เหลืออยู่ในน้ำทิ้งในการเจริญ แต่เมื่อนำมาเลี้ยงด้วยกันปริมาณเซลจะมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการเจริญของ *C. utilis* นั่นเอง

ตารางที่ 2 Symba process

Culture	จำนวนหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา44 ชั่งโมงในน้ำทิ้งที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ (เซลต่อมิลลิลิตร)
E.fibuligera alone	3.2×10^9
C. utilis alone	2.0×10^8
C.utilis และ *E.fibuligera*	1.50×10^9 (approx. 90 % *C. utilis*)

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของเชื้อผสมที่ใช้ใน Symba process

เวลาในการเลี้ยง	จำนวนเซลต่อมิลลิลิตร	
	C. utilis	*E. fibuligera*
0 ชั่วโมง	4×10^7	5.5×10^7
24 ชั่วโมง	1.2×10^9	1.4×10^8

ประสิทธิภาพของ Symba process ขึ้นกับสายพันธุ์ของ *Endomycopsis* ซึ่งต้องสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ปริมาณมาก สิ่งสำคัญของการพัฒนา Symba process เพื่อเป็นการค้าคือการเลือก *E. fibuligera* สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ปริมาณมากนั่นเอง

ในการผลิต Symba yeast จะเลี้ยง *E.fibuligera* เพียงชนิดเดียวในถังหมักที่เรียกว่า Endofermenter ก่อน เมื่อครบช่วงเวลาที่เหมาะสมจึงถ่ายเชื้อนี้ลงถังหมักอีกใบ ซึ่งเรียกว่า Symbiotic fermenter ซึ่งเป็นส่วนที่มี *C. utilis* ต่อไป

ดังนั้นถ้านำกากของเสียหรือน้ำทิ้งที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบมาเข้า Symba process จะได้รับประโยชน์ทั้งในด้านการกำจัดของเสียและยังได้ Symba yeast เป็นผลพลอยได้ ซึ่ง Symba yeast สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์

ตารางที่ 4 อุตสาหกรรมที่ให้กากและของเสียที่สามารถเข้าสู่ Symba process ได้

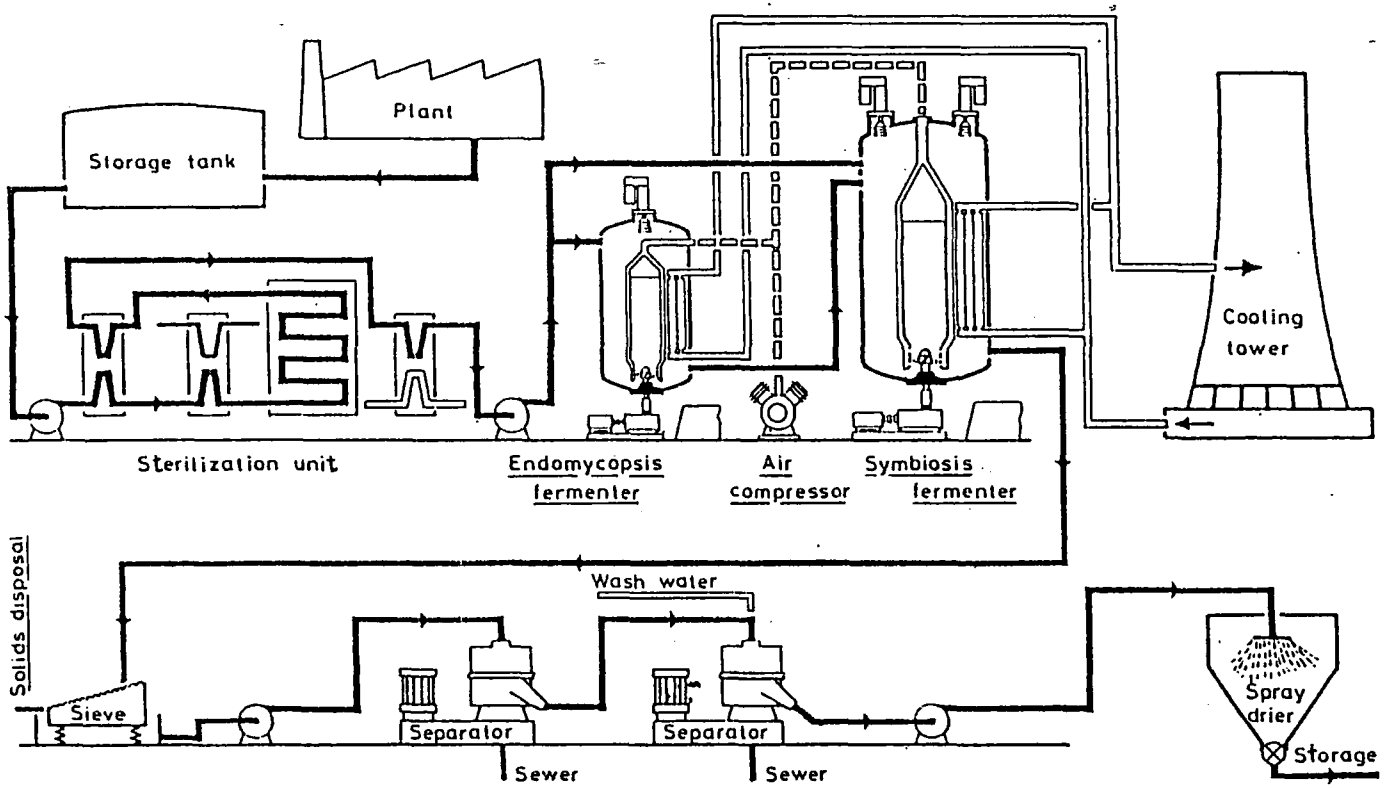
- Potato product	: French fries
	: Granules
	: Cubes
	: Flakes
	: Hasked brown
	: Dehydrated
	: Chips
- Rice products	: Instant rice
- Starch products	: Wheat starch
	: Maize starch
	: Glucose
	: Dextrose
	: derivertives
- Crassava products	
- Sweet potato products	
- Vegetable products	: Carrots
	: Red beets
- Bakery products	: Dough
	: Bread
	: Crackers

ใน Symba process น้ำทิ้งจะถูกแยกอนุภาคใหญ่ๆ ทิ้งไปก่อนแล้วผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ซึ่งความร้อนที่ให้ไป 90 เปอร์เซนต์ สามารถนำกลับมาใช้ได้ใหม่โดยใช้ heat exchanger ที่เหมาะสม สับสเตรทที่ฆ่าเชื้อแล้วจะถูกส่งเข้าสู่ถังหมักใบเล็กซึ่งมีเชื้อ *Endomycopsis* อยู่และมีการเสริมแหล่งไนโตรเจนและฟอสเฟตลงไปด้วย *Endomycopsis* จะย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ซึ่งปริมาณน้ำตาลจะมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับการเจริญของ *Endomycopsis* จากนั้นส่วนที่ได้จะเข้าสู่ถังหมักอีกใบซึ่งใหญ่กว่า (ความจุ 300 ลูกบาศก์-เมตร) การอยู่ร่วมกันแบบ symbiosis จะเกิดขึ้นในถังหมักนี้ ในการหมักจะต้องมีการให้อากาศ ซึ่งอากาศที่ให้ต้องผ่านการกรองก่อน และในขณะหมักจะมีความร้อนเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากเมตาบอลิซึมของเซลและจากการกวน ซึ่งความร้อนที่เกิดขึ้นนี้ จะถูกถ่ายเทออกโดย cooling tower

biomass ที่ได้จะถูกทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านขั้นตอนต่างๆ กัน ขึ้นกับคุณภาพของสับสเตรทและรูปแบบของการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ ในขั้นแรกเซลถูกทำให้เข้มข้นโดยเครื่องเซนตริฟิวจ์แบบต่อเนื่อง ซึ่งมี 2 ขั้นตอน การล้างเซลจะเกิดขึ้นในช่วงนี้ จากนั้นเซลเข้มข้นจะถูกทำให้แห้งโดยเครื่อง spray dryer หรือ drum dryer แล้วบรรจุในถุงหรือเก็บในลักษณะเป็นก้อน (bulk). ดังแสดงในรูปที่ 2

การหมุนเวียนของคาร์โบไฮเดรทตลอดการหมักใน Symba process ในครั้งหนึ่งๆ แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยที่จำกัดในกระบวนการทั้งหมดคือ ความสามารถในการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล (saccharifying activity) แป้งจะถูกเปลี่ยนเป็นเด็กซแตรน (dextrans) และ โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) น้ำตาลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ๆ เช่น กลูโคส มอลโตส และอื่น ๆ จะถูก *C. utilis* ใช้ไปในทันทีที่ถูกสร้างขึ้นมา ดังนั้นจะพบน้ำตาลเหล่านี้ในปริมาณน้อย ส่วนเด็กซตริน ซึ่ง *C. utilis* ไม่สามารถใช้ได้ จะสะสมมากขึ้นแต่สามารถทำให้ลดลงได้โดยการเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนเด็กซตรินให้เป็นน้ำตาล ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสของ *Endomycopsis* เป็นสิ่งสำคัญมาก แต่ใน symbiotic culture นั้น *Endomycopsis* การเจริญที่ค่อนข้างจำกัด ดังนั้นจึงต้องมีการเลี้ยง *Endomycopsis* เพียงอย่างเดียวก่อนถ่ายเชื้อ *Candida*

ในการประยุกต์ใช้ Symba process ทางการค้าจะใช้กระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องและเป็นระบบอัตโนมัติและสามารถดำเนินการได้โดยคนเพียงคนเดียว ซึ่งในปัจจุบันมีการ



รูปที่ 2 ขั้นตอนการผลิต Symba Yeast

ผลิต Symba yeast เป็นการค้าแล้วในประเทศสวีเดน

องค์ประกอบของ Symba yeast ที่ได้แสดงใน ตารางที่ 5 และ 6

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของ Symba yeast ที่ได้จากการใช้กากของเสียของ Swedish Sugar Company แห่งประเทศสวีเดน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
protein	48.0%
fat	3.0 %
carbohydrates	36.5 %
fiber	1.0 %
minerals	5.5 %
water	6.0 %
nucleic acid	4.0 %
vitamins :(mg/kg)	
thiamine	145
riboflavin	80
pyridoxine	35
niacin	430
folic acid	20

ตารางที่ 6 ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดใน Symbayeast ที่ได้จากการใช้กากของเสียของ Swedish Sugar Company แห่งประเทศสวีเดน

กรดอะมิโน	ปริมาณ (g/100 g raw protein)
arginine	4.6
aspartic acid	10.3
cysteine	1.0
glutamic acid	13.8
histidine	2.0
isoleucine	4.3
leucine	7.5
lysine	6.3
methionine	1.5
phenylalanine	5.4
threonine	5.4
tryptophan	1.3
tyrosine	4.8
valine	4.2

การนำ Symba yeast ไปใช้ประโยชน์

Swedish University of Agriculture ได้ทดลองนำ Symba yeastไปเลี้ยงสัตว์โดยใช้เป็นอาหารทดแทนอาหารเดิมดังแสดงในตารางที่ 7 และการทดลองที่สำคัญอีกการทดลองคือการใช้ Symba yeast เป็นอาหารทดแทนนมในการเลี้ยงลูกสัตว์อ่อนและลูกสัตว์พวกสุนัขและแมว สำหรับลูกวัว พบว่า Symba yeast สามารถใช้ทดแทนโปรตีนจากนมได้ถึง

40% ดังแสดงในตารางที่ 7 ซึ่งการทดลองทั้งหมดให้ผลในทางบวกและไม่แสดงผลเสียแต่ประการใด

ตารางที่ 7 การทดสอบการนำ Symba yeast มาเลี้ยงสัตว์

สัตว์ที่ทดลอง	อาหารเดิม
หนู	(เปรียบเทียบกับเคซีน)
ไก่	ปลาและกากถั่วเหลือง
หมู	ปลาและกากถั่วเหลือง
ลูกหมู	นมผง
ลูกวัว	นมผง หรือ กากถั่วเหลือง
ลูกวัว (1-8 สัปดาห์)	นมผง
มิงค์	เนื้อสัตว์
ลูกสุนัขหรือแมว	เนื้อสัตว์

และจากการนำ Symba yeast เป็นความอาหารแทนนมในลูกวัวอ่อนเพื่อให้หย่านมเร็ว ทำให้แม่วัวสามารถตั้งท้องได้ใหม่เร็วขึ้น ผลการทดลองดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การทดลองใช้ Symba yeast แทนนมในลูกวัว

	control			Symba yeast		
Ingredients %						
Dried skim milk	58.4			35.0		
Dried whey	19.0			20.0		
Symba yeast + 0.5 % met	-			25.0		
Fish meal (protanimal)	2.0			-		
Animal and vegetable fat	19.5			18.8		
Minerals and vitamins	1.1			1.1		
Chemical compositions:						
Crude protein %	25.7			26.5		
Meal ME/kg,calculated	4.35			4.35		
Ca (g/kg)	11			7		
P (g/kg)	8			7		
Results:	Mean			Mean		
No. of animals	6	6	12	7	7	14
Mean birth weight(kg)	41.3	40.3	40.8	42.5	40.4	41.5
Daily weight gain,						
0-8 weeks(g)	612	467	539	506	494	500
Daily weight gain,						
9-20 weeks (g)	983	853	918	949	878	914
Total milk refusals (kg/animal 0-8 weeks)						
	2.4	27.2	14.8	2.1	2.5	2.3
Diarrhoea days , total	-	4	4	2	1	3

เอนไซม์อะไมเลส

อะไมเลส เป็น extracellular enzyme ที่สามารถย่อยแป้งได้ พบได้ทั้งในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์หลายชนิด เอนไซม์อะไมเลส สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ตามตำแหน่งของการย่อยแป้งคือ

1. **endoamylase** จะย่อยแป้งแบบสุ่มที่ α-1,4 glycosidic linkage ถ้าย่อยไม่สมบูรณ์จะได้กลูโคส มอลโตสและเด็กตรินถ้าการย่อยสมบูรณ์จะได้มอลโตส และกลูโคส เอนไซม์ ประเภทนี้ได้แก่ α-amylase หรือ amylo (1-4) dextrinase เอนไซม์นี้พบทั้งในสัตว์ พืชและจุลินทรีย์ สำหรับจุลินทรีย์ที่สร้าง เช่น *Bacillus subtilis* ,*Aspergillus oryzae* เป็นต้น

2. **exoamylase** ย่อยแป้งจาก non-reducing end เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ β-amylase หรือ amylo (1,4) moltosidase จะย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α-1,4 glycosidic linkage เข้าไปทีละ 2 หน่วยของกลูโคสแต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะที่ต่อแบบ α-D (1,6) linkage ได้ ผลจากการย่อยจึงเป็นน้ำตาลมอลโตส และ limit dextrin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปนอยู่ด้วย เอนไซม์นี้พบมากทั้งในพืช ธัญพืชและมันเทศ จุลินทรีย์ที่สร้างส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรีย เช่น *B.cereus, B.megaterium* ส่วนกลูโคอะไมเลสหรือ γ-amylase หรือ amylo(1-4,1-6) glucosidase หรือ α-D(1-4)glucan glycohydrolase สามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์จาก non-reducing end ที่ตำแหน่งต่างๆ คือ α-1,4 และ α-1,6 glycosidic linkage เข้าไปทีละหน่วยจึงได้กลูโคสเพียงอย่างเดียวในการย่อย เอนไซม์นี้ พบครั้งแรกในจุลินทรีย์ต่อมาพบในเนื้อเยื่อสัตว์ด้วย จุลินทรีย์ที่สร้างได้แก่ ยีสต์และเชื้อรา เช่น *Endomycopsis fibuligera* ,*Aspergillus niger* และ *A. oryzae* เป็นต้น

เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการย่อยแป้งมันสำปะหลังคือ α-amylase และ gluco-amylase

<u>ผลที่เกิดจากอะไมเลสย่อยแป้ง</u>

แป้งเป็นสารคาร์โบไฮเดรตพวกโพลีแซคคาไรด์ ประกอบด้วยอะไมโลส(amylose) อะไมโลเพคติน (amylopectin) โดยที่อะไมโลสประกอบด้วยหน่วยของกลูโคส ต่อกันเป็น

ลูกโซ่ยาวด้วยพันธะ ∝-1,4 glycosidic linkage ไม่มีการแตกแขนง ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 1,100-4,400โมเลกุล คุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่กระจายในน้ำในลักษณะเป็น micelle ให้สีน้ำเงินกับสารละลายไอโอดีนส่วนอะไมโลเพคตินเกิดจากการต่อกันของกลูโคสด้วยพันธะ∝-1,4 glycosidic linkage ที่มีการแตกแขนงทุก 25 หน่วยของกลูโคสตรงตำแหน่งที่แตกแขนง ต่อกันด้วย ∝-1,6 glycosidic linkage พันธะแบบ ∝-1,3 ก็พบเช่นเดียวกัน น้ำหนักโมเลกุลสูงถึงเป็นล้าน ละลายน้ำอยู่ในรูปสารละลายคอลลอยด์ ให้สีน้ำตาลกับสารละลายไอโอดีน

Bernfeld (1995) พบว่าเมื่อแป้งถูกย่อยด้วยอะไมเลส จะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดังนี้

1. มีความเป็นรีดิวซ์สูงขึ้น
2. การให้สีกับสารละลายไอโอดีนเปลี่ยนไป
3. ความหนืดลดลง
4. ความสามารถในการเบี่ยงเบนแสง (optical rotation) ลดลง

<u>จุลินทรีย์ที่ใช้ใน Symba process</u>

Endomycopsis fibuligera

E.fibuligera ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของฟูดยีสต์ (food yeast) ในอดีตนักวิทยาศาสตร์ มีความเข้าใจว่า ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถใช้แป้งเพื่อการเจริญเติบโตได้ แต่เมื่อประมาณ ปี ค.ศ. 1942 (พ.ศ. 2485) Lynferd J.Wickler และคณะ มีความสนใจและได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ *E.fibuligera* ที่พบในมักกะโรนีและแป้งสำหรับทำมักกะโรนีพบว่าเชื้อนี้สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ การศึกษาทำโดยนำเชื้อ *E.fibuligera* ไปเลี้ยงในอาหารวุ้นที่มีแป้ง 1% และทดสอบเคลียร์โซน (clear zone) ด้วยสารละลายไอโอดีน พบว่าให้เคลียร์โซนขนาด 5.5-8.2 มิลลิเมตร

การจัดจำแนก *E.fibuligera*

E.fibuligera ถูกจัดอยู่ใน	class	Ascomycetes
	order	Endomycetales
	subfamily	Saccharomycoideae
	genus	Endomycopsis

ลักษณะทั่วไป

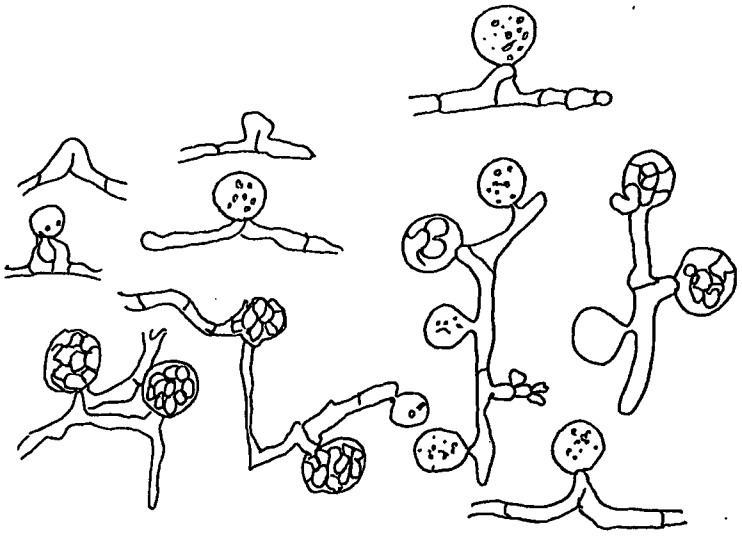
เชื้อในกลุ่มนี้จะสร้างไมซีเลียมที่แท้จริง (true mycelium) ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นอาร์โทรสปอร์ (arthrospore) ของซูโดไมซีเลียม (pseudomycelium) และเซลยีสต์

แอสโคสปอร์มีรูปร่างเป็นหมวกหรือรูปเดียว

รูปร่างลักษณะของ *E.fibuligera*

เป็นยีสต์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของยีสต์ที่สามารถสร้างเส้นใยได้ ในวงชีวิตของการเจริญเติบโตจะสร้างบลาสโตสปอร์ (blastospore) การสืบพันธุ์มีทั้ง การแบ่งตัว (devide) และการแตกหน่อ (budding) ลักษณะการแตกหน่อเป็นแบบสามารถเกิดได้รอบตัว (multipolar budding)

รูปร่างลักษณะของแอสโคสปอร์ที่พบโดยทั่วไป มีทั้งที่เป็นรูปไข่, รูปหมวกและรูปเดียว พบว่า ในหนึ่งแอสคัส (ascus) มี 1-4 สปอร์ ลักษณะการสร้างเส้นใยทำให้จัดอยู่ในจำพวกที่สร้างเส้นใยที่แท้จริง



รูปที่ 3 การเกิดแอสโคสปอร์ของ *E. fibuligera*

วงชีวิตของ ***E.fibuligera***

1. การเจริญเริ่มจากการที่มีบลาสโตสปอร์หลุดออกจากเซล

2. บลาสโตสปอร์ที่หลุดออกจากเซลมีการแตกหน่อ

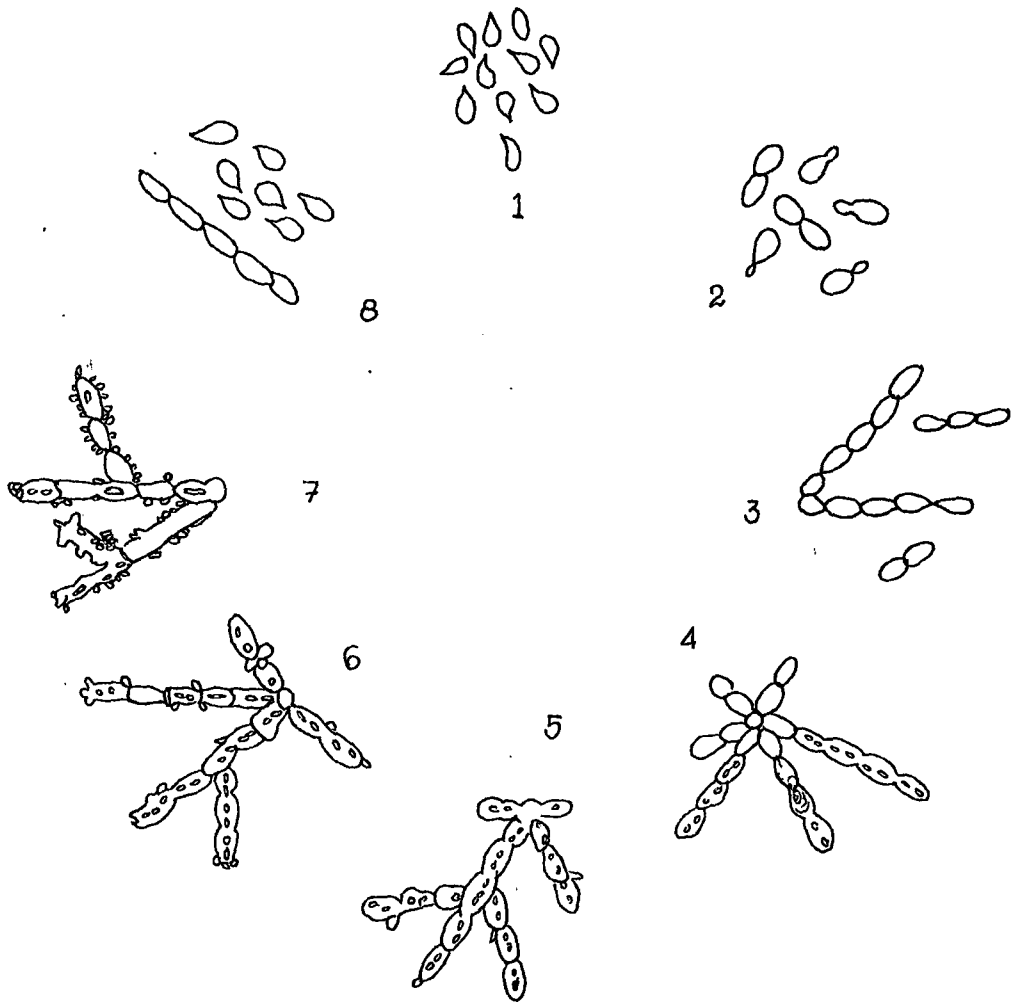
3. เมื่อมีการแตกหน่อ หน่อที่แตกออกมาจะไม่แยกจากเซลแม่โดยเด็ดขาด ทำให้เกิดเป็นเส้นสายต่อกันยาว ๆ เรียกลักษณะนี้ว่า ซูโดไมซีเลียม (pseudomycelium) ในขั้นนี้เซลจะมีรูปร่างกลมยาว และตรงกลางเซลจะป่อง

4. ขั้นนี้เซลเริ่มมีการยืดตัว (elongation) รูปร่างของเซลที่ปรากฏจะมีลักษณะคล้ายทรงกระบอก เมื่อมีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ เซลจะมีการสร้างแวคคิวโอล (vacuole) เซลยังคงต่อกันเป็นสายยาว ไม่แยกจากกันโดยเด็ดขาด ในช่วงนี้ถ้าดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นผนังเซลชัดเจน

การเจริญในช่วง 1-4 เป็นการเจริญในระยะต้นๆ ของ log phase ซึ่งจากการศึกษาพบว่า ยังไม่มีการสร้างเอนไซม์

5. หลังจากที่เซลเจริญเต็มที่ จะมีการสร้างบลาสโตสปอร์และพบว่าในช่วงนี้จะมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลสแล้ว

6. ในขั้นนี้มีการสร้างบลาสโตสปอร์เพิ่มขึ้นมากมาย และมีความสามารถในการ



รูปที่ 4 วงชีวิตของ *E.fibuligera*

สร้างเอนไซม์อะไมเลสเพิ่มมากขึ้น

7. ในช่วงนี้พบว่า มีการสร้างบลาสโตสปอร์มากที่สุด จากการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นว่าเส้นใยของเชื้อจะถูกปกคลุมด้วยบลาสโตสปอร์

8. เมื่อนำเซลที่อยู่ในช่วงนี้ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า ส่วนประกอบต่าง ๆ เช่น แวคคิวโอล ที่เคยพบในช่วงก่อนนี้จะไม่พบ จะเห็นแต่เพียงเยื่อหุ้มเซลเท่านั้น และยังพบอีกว่าบลาสโตสปอร์ที่สร้างขึ้นนั้นจะแยกออกจากเซลด้วย

สำหรับช่วงของการสร้างเอนไซม์อะไมเลสของ *E.fibuligera* จะเริ่มสร้างเมื่อเซลเข้าสู่ในระยะตอนปลายๆของ log phase แต่ยังสร้างในปริมาณน้อยมาก การสร้างเอนไซม์จะเกิดสูงสุดเมื่อเซลเข้าสู่ stationary phase

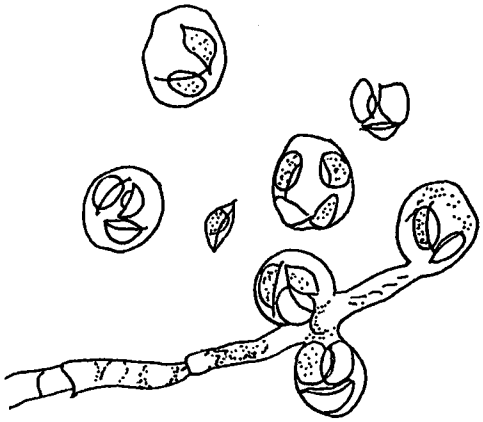
<u>ลักษณะทั่วไปของ *Endomycopsis fibuligera* เมื่อเลี้ยงบนอาหารต่าง ๆ</u>

1. เลี้ยงใน malt extract พบว่า หลังจากเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จะมีการแตกหน่อ หน่อที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นรูปไข่ขนาด (4-8) x (6-18) ไมครอน

2. เลี้ยงใน malt agar พบว่า หลังจากที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จะมีการแตกหน่อและสร้างไมซีเลียมที่แท้จริง (true mycelium) และมีการสร้างเส้นใยมากกว่าเมื่อเลี้ยงใน malt extract เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส เชื้อจะมีสีน้ำตาลอมเหลือง

3. เลี้ยงใน potato และ corn meal agar เชื้อจะสร้าง saptate mycelium และ pseudomycelium ส่วนบริเวณปลายของเส้นใยจะมีการสร้างบลาสโตสปอร์ ซึ่งมีรูปร่างทั้งแบบทรงกลมและรูปไข่

การสร้างแอสโคสปอร์บริเวณที่เซลสองเซลใกล้ชิดกัน จะปรากฏให้เห็นเป็นปุ่มขึ้นออกมา ซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดที่บริเวณปลายของเส้นใย hyphae จะเกาะกันเป็นกลุ่ม หนึ่งแอสคัสจะประกอบด้วย 2-4 แอสโคสปอร์ สปอร์มีรูปร่างคล้ายหมวก



รูปที่ 5 *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในน้ำกลั่นหลังจาก 3 สัปดาห์

จากการศึกษาการสร้างสปอร์ของ *E.fibuligera* 12 สายพันธุ์จาก 15 สายพันธุ์ พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการทำให้เชื้อสร้างสปอร์คือ มันฝรั่งและข้าวโพดผสมวุ้นเล็กน้อย

การหมัก (fermentation)

ตารางที่ 9 ความสามารถในการหมักของ *E. fibuligera* ในสับเสตรทต่าง ๆ

สับสเตรท	ความสามารถในการหมัก
กลูโคส	+ (ไม่ดี)
แลคโตส	-
แรฟฟีโนส	+,-
กาแลคโตส	-
ซูโครส	+
มอลโตส	+
เมลิไบโอส	-
สารละลายแป้ง	+,-

การย่อยและการดูดซึมสารประเภทคาร์บอน

ตารางที่10 ความสามารถในการย่อย และ การดูดซึมสารประเภทคาร์บอน ของ*E. fibuligera*

กลูโคส	+	ดี-ไรโบส	-
กาแลคโตส	-	แอล-แรมโนส	-
แอล-ซอร์โบส	-	เอธานอล	+
ซูโครส	+	กลีเซอรอล	+
มอลโตส	+	อีริไธออล	+,-
เซโลไบโอส	+	ไรบิทอล , เซลดอม	-
ทรีฮาโลส	+,-	กาแลคไททอล	-
แลคโตส	-	ดี-แมนิทอล +,เซลดอม	-
เมลิไบโอส	-	ดี-กลูซิทอล+,เซลดอม	-
แรฟฟีโนส +,เซลดอม	-	แอลฟา-เมธิล-ดี- กลูโคไซด์	+
เมโลไซโตส	+,-	ซาลิซิน	+
อินูลิน	-	ดีแอล-แลคติกแอซิด	+(อ่อน)
สารละลายแป้ง	+	ซักซินิก แอซิด + ,เซลดอม	-
ดี-ไซโลส	-	ซิตริกแอซิด	+,-
แอล-อะราบิโนส	-	อิโนซิทอล	+,-
ดี-อะราบิโนส	-		

ไม่มีการดูดซึมโพแทสเซียมไนเตรทและไม่สามารถเจริญในอาหารที่ไม่มีวิตามิน เชื้อนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ปัจจัยจำเป็นต่อการเจริญของยีสต์

1. แหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงาน

สารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของยีสต์มีหลายชนิด ขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ โดยทั่วไปแล้ว D-glucose ,D-fructose ,D-manose และ sucrose ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานของยีสต์ได้เกือบทุกชนิด นอกจากนี้ *Candida utilis* ,*C.tropicalis* สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสได้ *Endomycopsis fibuligera* สามารถใช้แป้งได้ส่วน *Fabospora fragilis* สามารถย่อยอินูลินได้เนื่องจากมีเอนไซม์อินูเลสที่ผนังเซล *C.rugosa*, *C.lipolytica* และ *C.intermedia* N-30 สามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้

2. แหล่งไนโตรเจน

ยีสต์ต้องการไนโตรเจนเพื่อใช้ในการสร้างโปรตีนของเซล ยีสต์ทุกชนิดสามารถใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนได้บางชนิดใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต แอมโมเนียมคาร์บอเนต แอมโมเนียมทาร์เทรต หรือ ยูเรียได้ดี

3. แหล่งฟอสฟอรัส

ยีสต์ต้องการฟอสฟอรัสเพื่อใช้ในการสร้างพลังงาน เซลของยีสต์สามารถดูดซึมสารออร์โทฟอสเฟต และ โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ได้ดีกว่าไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต สารอนินทรีย์ฟอสเฟต ยีสต์สามารถสะสมไว้ในรูปเบต้าฟอสเฟตในโวลูดีน แกรนูล และ เบต้าฟอสเฟตนี้ สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ดี

4. แหล่งซัลเฟอร์

ยีสต์ส่วนใหญ่ใช้สารอนินทรีย์ซัลเฟตได้ดี เช่น แมกนีเซียมซัลเฟต การซึมผ่านผนังเซลของสารนี้ต้องใช้พลังงาน อัตราการให้อากาศจะมีผลต่อปริมาณสารประกอบซัลเฟอร์ในเซลโดยเมื่อให้อากาศเพิ่มขึ้นจะลดปริมาณซัลเฟอร์ลง

5. วิตามิน

ยีสต์ต้องการวิตามินชนิดต่างๆ เพื่อเป็นสารช่วยการเจริญและเป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ เช่น ต้องการไบโอติน 0.29 มิลลิกรัมต่อลิตร แพนโททีเนท 50 มิลลิกรัมต่อลิตร อิโนซิทอล 1200 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังต้องการไธอามิน ไพริดอกซินและไนอะซินด้วย

สารอาหารอื่นๆ นั้นยีสต์ต้องการปริมาณต่ำได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ เช่น แมกนีเซียม โคบอลต์ โมลิบดินัม ทองแดง และสังกะสี เป็นต้น

6. พีเอชของอาหาร

พีเอชที่เหมาะสมของยีสต์โดยทั่วไป อยู่ระหว่าง 4.5-5.5 การเลี้ยงยีสต์ในระดับอุตสาหกรรมมักปรับพีเอชของอาหารให้อยู่ระหว่าง 3.5-5.0 เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ปะปนมา พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์แต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันเช่น *Candida quilliermondii* มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 4.5 *C.utilis* มีพีเอชที่เหมาะสม 4.5-5.0 เช่นเดียวกับ *Hansenula anomala* ,*Saccharomyces fragilis* จะมีค่าพีเอชที่เหมาะสมระหว่าง 5.2-5.5

7. อุณหภูมิ

ยีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20 -30 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดของยีสต์ เช่น *C. utilis* เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส ส่วน *C.tropicalis* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส *Hansenula polymorpha* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงในเมธานอล *Trichosporon pullulans, T.haponieum* และ *T. cutaneum* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงในสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

8.ปริมาณอากาศ

ยีสต์ต้องการปริมาณอากาศจำนวนมากเพื่อใช้ในการเจริญ โดยทั่วไปต้องการหนึ่งหน่วยปริมาตรของอากาศ ต่อหนึ่งหน่วยปริมาตรของอาหารต่อนาที หรือ 275-530 ลูกบาศก์ฟุตต่อปอนด์ของของแข็ง 30 เปอร์เซนต์ ซึ่งออกซิเจนจะมีผลทำให้เพิ่มขบวนการหายใจและขับสารพิษออกจากผลิตภัณฑ์

บทที่ 3

การดำเนินการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. จุลินทรีย์

   1.1 *Endomycopsis fibuligera*

   1.2 *Candida utilis*

2. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

   2.1 Yeast extract-Malt extract (YM)

   2.2 Media 1- Media 11

   สูตรอาหารเหล่านี้แสดงไว้ใน ภาคผนวก ก

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

   3.1 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

   3.2 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

   3.3 pH meter (edt research ecm 201)

   3.4 Spectrophotometer (ULTROSPEC 11 LKB Biochrom)

   3.5 Orbital shaker (gallenkamp)

   3.6 Hot air oven

   3.7 Colony counter

   3.8 เครื่องแก้วและอุปกรณ์ในการเขี่ยเชื้อ

4. การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น (starter)

   1. เชื้อเริ่มต้นของ *Endomycopsis fibuligera* สำหรับการทดลองที่ 1-5

   - ถ่ายเชื้อของ *Endomycopsis fibuligera* อายุ 24 ชั่วโมง จาก slant YM 1 loop ลงใน YM broth 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไป

ให้อากาศที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. เชื้อเริ่มต้นของ *Candida utilis*

- เตรียมโดยใช้วิธีเดียวกับข้อ 1

วิธีทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาเปอร์เซ็นต์ของแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *E.fibuligera*

1. ถ่ายเชื้อ *E. fibuligera* จาก starter จำนวน 1 มิลลิลิตร โดยเทคนิคปลอดเชื้อลงใน MD1-MD5 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้อากาศที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำมาทำ dilution plate count แบบ spread plate ทำ 3 ซ้ำ เลือกนับความเจือจาง ที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี บันทึกผล

การทดลองที่ 2 การหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E. fibuligera*

1.ถ่ายเชื้อ *E.fibuligera* จาก starter โดยเทคนิคปลอดเชื้อ ลงใน MD3 , MD6 และ MD7 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้อากาศที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำมาทำ dilution plate count แบบ spread plate ทำ 3 ซ้ำ เลือกนับปริมาณเชื้อใน ความเจือจางที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี บันทึกผล

การทดลองที่ 3 การหาปริมาณ $NH_4H_2PO_4$

ทำการทดลองเหมือนการทดลองที่ 1 แต่ใช้ MD8 - MD11 แทน

การทดลองที่ 4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของ *E.fibuligera*

1. ถ่ายเชื้อ *E.fibuligera* จาก starter 5 มิลลิลิตร โดยเทคนิคปลอดเชื้อลงใน MD8 เลี้ยงเป็นเวลา 44 ชั่วโมง โดยใช้อาหาร 13 ฟลาสก์ เก็บตัวอย่าง ทุก ๆ 4 ชั่วโมง

2. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นโดยวิธีของ Nelson - Somogyi (9)

การทดลองที่ 5 การหาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายเชื้อ *C.utilis*

<u>การทดลองที่ 5.1</u>

1. ถ่ายเชื้อ *E.fibuligera* และ *C.utilis* จาก starter เชื้อละ 5 มิลลิลิตร ลงใน MD8 จำนวน 10 ฟลาสก์ นำไปเขย่าให้อากาศที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก ๆ 4 ชั่วโมง

2. วิเคราะห์ปริมาณ Symba yeast โดยการทำ dilution plate count แบบ spread plate ทำ 3 ซ้ำ โดยเลือกนับความเจือจางที่มีจำนวนโคโลนี 30 - 300 โคโลนี บันทึกผล

<u>การทดลองที่ 5.2</u>

1. ถ่ายเชื้อ *E.fibuligera* จาก starter 5 มิลลิลิตร ลงใน MD8 จำนวน 10 ฟลาสก์ นำไปให้อากาศที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

2. ถ่ายเชื้อ *C.utilis* จาก starter 5 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ที่ได้จากข้อ 1 นำไปเขย่าให้อากาศที่ความเร็วรอบเท่าเดิม

3. ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 5.1

<u>การทดลองที่ 5.3 - 5.5</u>

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5.2 แต่เปลี่ยนระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *E.fibuligera* จาก 6 ชั่วโมง เป็น 12 , 18 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

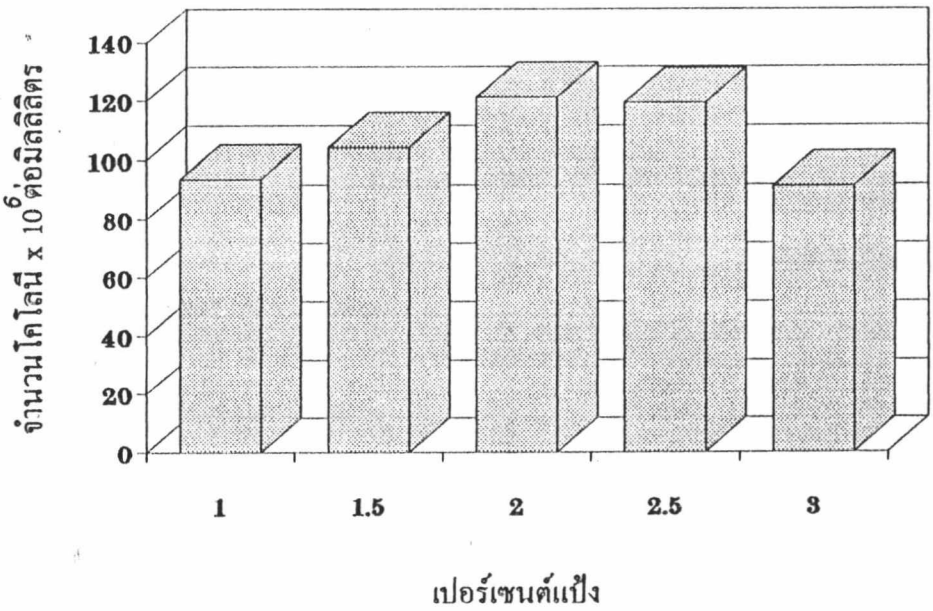
บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการทดลองที่ 1

ตารางที่ 11 จำนวนโคโลนีของ *E. fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

แป้งมันสำปะหลัง (%)	จำนวนโคโลนี (x 10^6 / มล.)
1.0	93.67
1.5	104.33
2.0	121.33
2.5	119.50
3.0	91.33

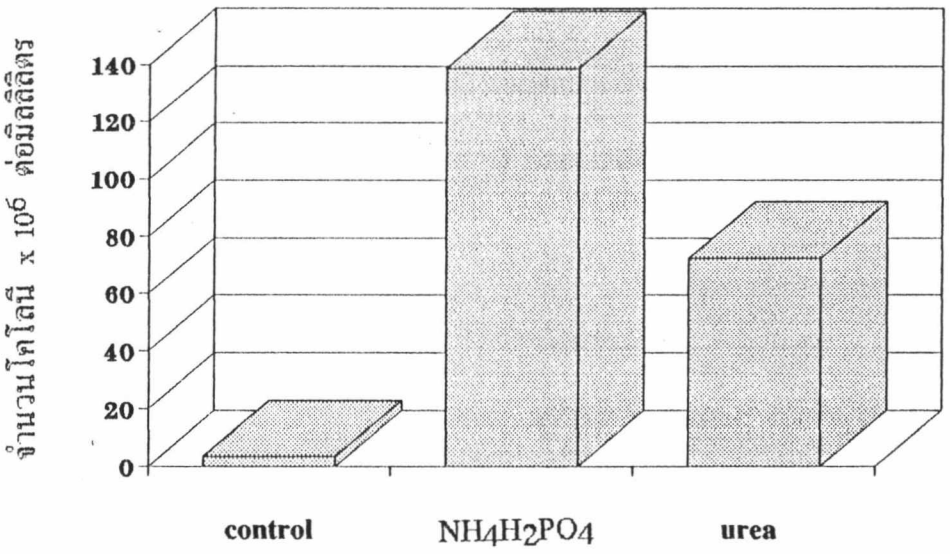


รูปที่ 6 จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

ผลการทดลองที่ 2

ตารางที่ 12 จำนวนโคโลนีของ *E. fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

แหล่งไนโตรเจน	จำนวนโคโลนี (x 10^6 / มล.)
ไม่เติม	3.5
$NH_4H_2PO_4$	139.0
Urea	72.5

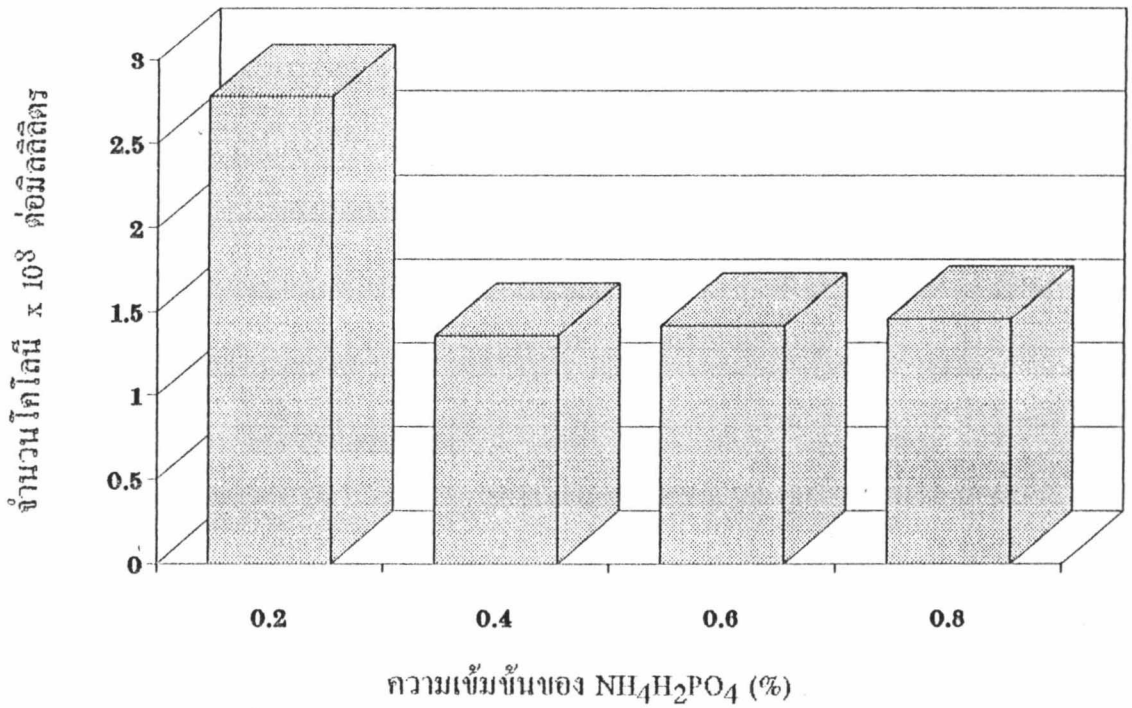


รูปที่ 7 จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งที่มีแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ

ผลการทดลองที่ 3

ตารางที่ 13 จำนวนโคโลนีของ *E. fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม $NH_4H_2PO_4$ ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ $NH_4H_2PO_4$ (%)	จำนวนโคโลนี (x 10^6 / มล.)
0	278.0
0.4	163.33
0.6	142.0
0.8	130.3

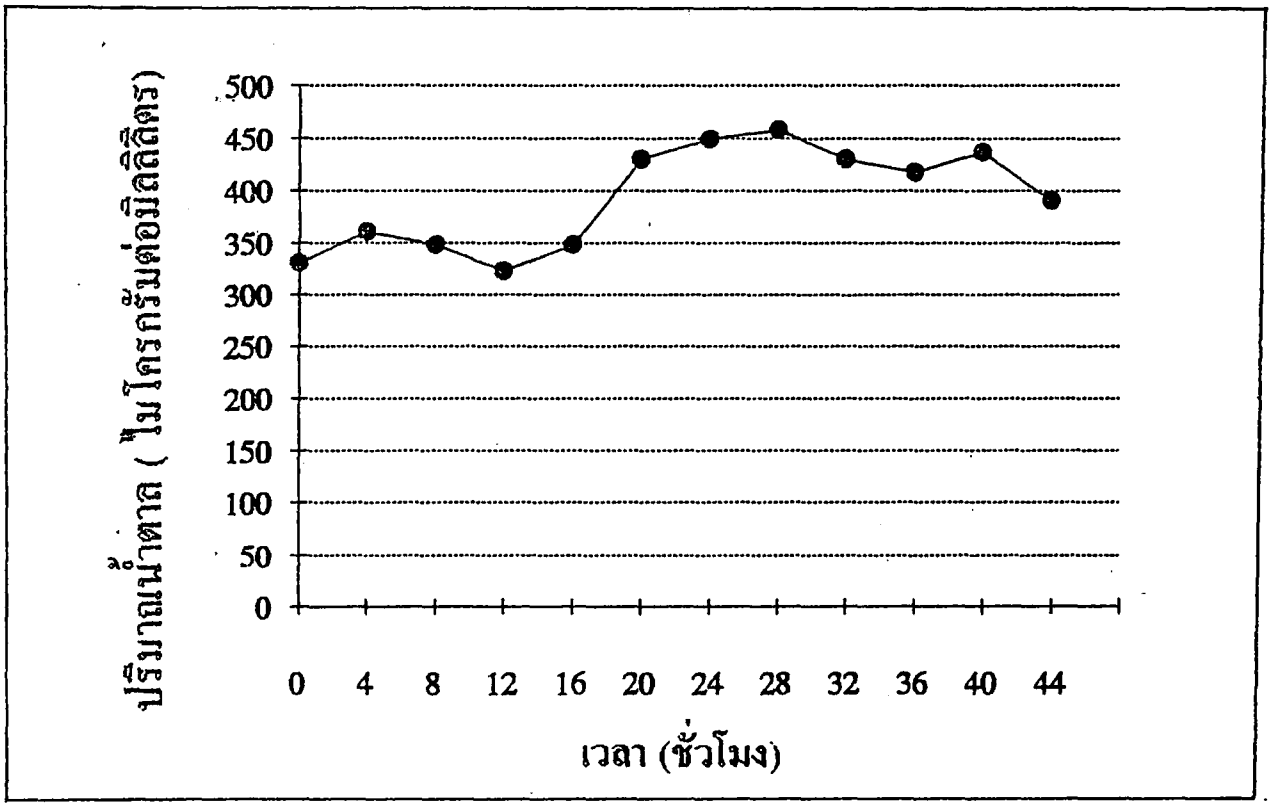


รูปที่ 8 จำนวนโคโลนีของ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงในอาหารแป้งที่มี $NH_4H_2PO_4$ ความเข้มข้นต่าง ๆ

ผลการทดลองที่ 4

ตารางที่ 14 แสดงปริมาณน้ำตาลที่เวลาต่าง ๆ เมื่อเลี้ยง *E .fibuligera* ในอาหารแป้งที่เติม $NH_4H_2PO_4$ ความเข้มข้น 0.2 %

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
0	343.65
4	360.50
8	347.88
12	322.53
16	347.88
20	430.26
24	449.27
28	458.77
32	430.26
36	417.58
40	436.59
44	390.21



รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลเมื่อเลี้ยง *E.fibuligera* ใน อาหารแป้งที่มี $NH_4H_2PO_4$ 0.2 %

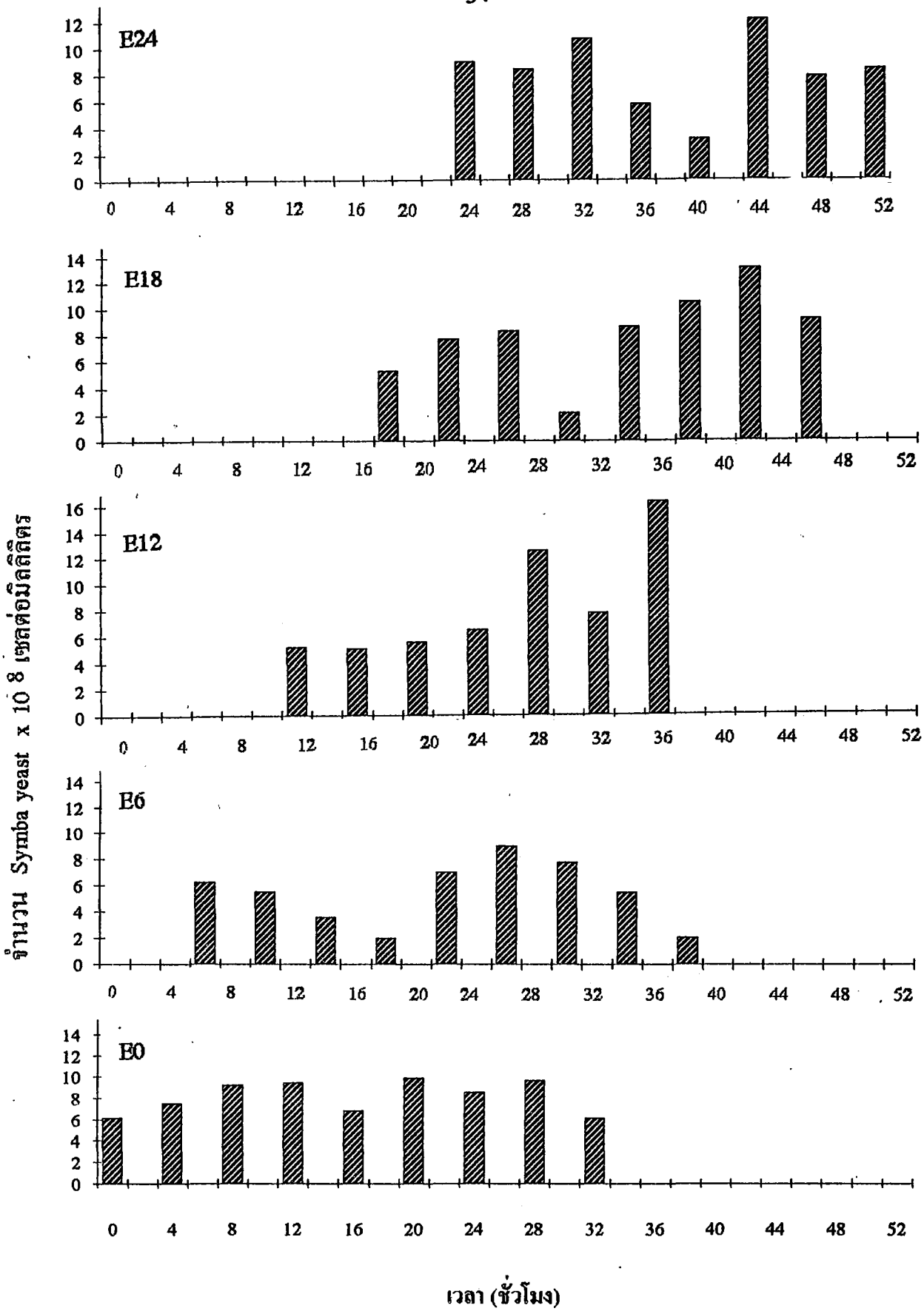
ผลการทดลองที่ 5

ผลการทดลองที่ 5.1 - 5.5

ตารางที่ 15 ปริมาณ Symba yeast ณ ชั่วโมงต่าง ๆ เมื่อเลี้ยง *C.utilis* ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* เป็นเวลาต่าง ๆ กัน

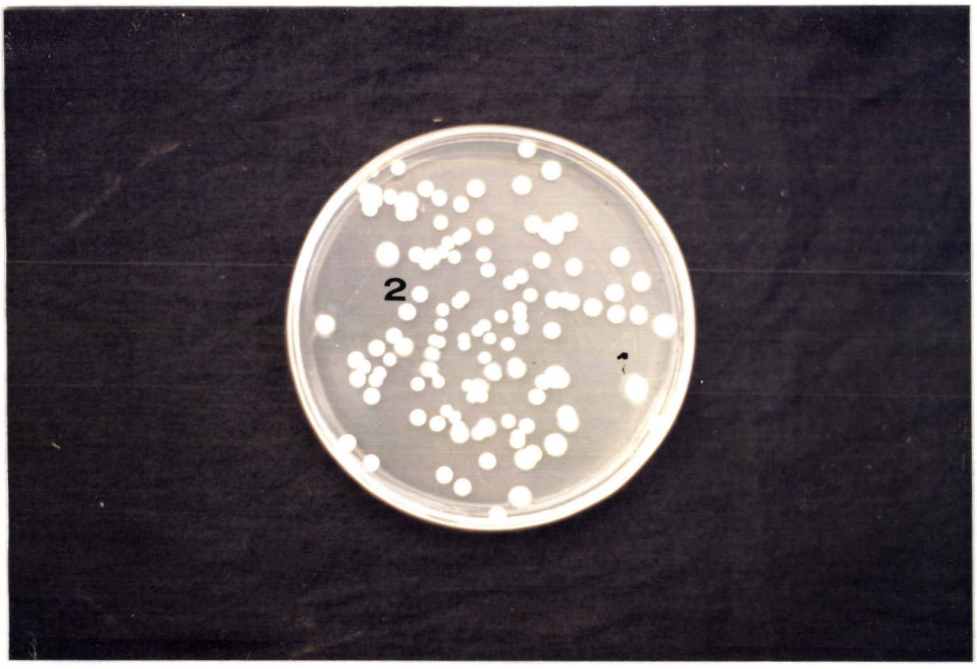
วิธีการเลี้ยง *E.fibuligera*	จำนวน Symba yeast ที่ชั่วโมงต่าง ๆ หลังจากถ่ายเชื้อ *C.utilis*								
	0	4	8	12	16	20	24	28	32
E0	6.1	7.5	9.2	9.5	6.8	9.9	8.5	9.7	6.1
E6	6.2	5.5	3.6	2.0	7.0	9.1	7.7	5.5	2.1
E12	5.2	5.1	5.6	6.5	12.6	7.8	16.3	-	-
E18	5.3	7.7	8.3	2.5	8.6	10.5	13.1	9.2	-
E24	8.9	8.4	10.7	5.7	3.1	12.1	7.8	8.3	-

หมายเหตุ : E0, E6, E12, E18 และ E24 หมายถึง การเลี้ยง *E.fibuligera* เป็นเวลา 0,6,12,18 และ 24 ชั่วโมง ก่อนการถ่ายเชื้อ *C.utilis*



รูปที่ 10 ปริมาณ Symba yeast เมื่อถ่ายเชื้อ *C.utilis* หลังจากเลี้ยง *E.fibuligera* ที่เวลาต่าง ๆ

รูปที่ 11 รูปเปรียบเทียบลักษณะของ *C.utilis* และ *E.fibuligera*



รูปที่ 12 ลักษณะโคโลนีของ *C.utilis* และ *E.fibuligera* เมื่อเลี้ยงรวมกันในอาหาร YM agar

1=โคโลนีของ *E.fibuligera* ,2=โคโลนีของ *C.utilis*

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ผลผลิตใดๆมีปัจจัยหลายประการที่ต้องคำนึงถึงเช่น สารอาหารที่จำเป็นในการเจริญ อุณหภูมิ พีเอช เป็นต้น แต่ในกระบวนการหมักบางอย่าง เช่น การผลิตเซลจุลินทรีย์จำเป็นต้องมีการให้อากาศที่เหมาะสมด้วย ในการศึกษาการผลิต Symba yeast จากแป้งมันสำปะหลังนั้น ความเข้มข้นของแป้งเป็นสิ่งสำคัญเนื่องจากแป้งมันสำปะหลังเมื่อได้รับความร้อนจะหนืดข้น ซึ่งจะมากขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งที่ใช้และความหนืดนี้จะมีผลต่อปริมาณอากาศที่เชื้อจะได้รับและการกระจายของสารอาหารไปยังเซลจุลินทรีย์

การทดลองที่1 เป็นการหาความเข้มข้นที่พอเหมาะของแป้งมันสำปะหลังที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของ *E.fibuligera* ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของแป้งที่ 2 เปอร์เซนต์ จะให้ปริมาณเซลสูงสุดมากที่สุด (121.33 x 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซนต์ เป็นความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังที่จะใช้ในการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 2 เป็นการหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะะสมต่อการเจริญของเชื้อ *E.fibuligera* ในการทดลองแหล่งไนโตรเจนที่เลือกใช้คือ $NH_4H_2PO_4$และยูเรีย เนื่องจาก $NH_4H_2PO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E.fibuligera* ในการผลิต Symba yeast จากมันฝรั่ง ส่วนยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูก จากผลการทดลองพบว่า $NH_4H_2PO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E.fibuligera* มาก โดยให้จำนวนเซลของ *E.fibuligera* มากกว่าการเลี้ยงในอาหารที่มียูเรียและในอาหารที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนเลย ซึ่งนอกจาก $NH_4H_2PO_4$ จะเป็นแหล่งไนโตรเจนแล้วยังเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญของเชื้อด้วย และจากการทดลองที่ 3 พบว่า $NH_4H_2PO_4$ ที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซนต์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *E.fibuligera* ที่สุด โดยให้ปริมาณเซลที่แตกต่างจากความเข้มข้นอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

การทดลองที่ 4 เป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลในขณะเลี้ยงเชื้อ *E.fibuligera* และจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปริมาณน้ำตาลจะเริ่มสูงขึ้นจากเดิมในช่วง 14 - 44 ชั่วโมงของการเลี้ยง แสดงว่าเวลาในการเลี้ยงเชื้อมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาล และคาดว่าเวลาในการถ่ายเชื้อ *C.utilis* น่าจะอยู่ในช่วงนี้ จึงได้ทำการทดลองที่ 5 เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายเชื้อ *C. utilis* ลงใน และจากการวิเคราะห์ปริมาณ Symba yeast ที่เกิดขึ้น พบว่า การถ่ายเชื้อ *C.utilis* หลัง จากการเลี้ยง *E.fibuligera* เป็นเวลา 12 และ 18 ชั่วโมง จะให้ปริมาณ Symba yeast มากที่สุด ซึ่งเป็นการยืนยันว่า การถ่ายเชื้อ *C. utilis* ควรกระทำเมื่อปริมาณน้ำตาลเริ่มสูงขึ้น เพื่อจะได้มีน้ำตาลในอาหารเพียงพอต่อการเจริญของ *C.utilis*

ดังนั้น จากการทดลองทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่า อาหารที่เหมาะสมต่อการผลิต Symba yeast จากมันสำปะหลังคือ อาหารที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 2 เปอร์เซนต์ และ $NH_4H_2PO_4$ 0.2 เปอร์เซนต์ และควรถ่ายเชื้อ *C.utilis* หลังจากเลี้ยง *E.fibuligera* แล้วเป็นเวลา 12 ถึง 18 ชั่วโมง

แต่อย่างไรก็ตาม ปัญหาพิเศษนี้ เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น ข้อมูลที่ได้ยังไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ และเพื่อให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคตจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงปัจจัยที่จำเป็นอื่น ๆ อีกเช่น อุณหภูมิในการเลี้ยง พีเอชที่เหมาะสมของอาหาร ธาตุอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นในการเจริญของเชื้อ การให้อากาศที่เหมาะสม ปริมาณเชื้อที่ใช้เป็นกล้าเชื้อแต่ละครั้ง สายพันธุ์ของเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้มาก การขยายปริมาณการผลิตและปัจจัยอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการพัฒนาการผลิต Symba yeast จนสามารถนำมาใช้กับประเทศไทยได้จริง

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Yeast extract - Malt extract (YM)

Yeast extract	0.3 %
Malt extract	0.3 %
Peptone	0.5 %
Glucose	1.0 %

2. Media 1 (MD1)

แป้งมันสำปะหลัง	1.0 %

3. Media 2 (MD2)

แป้งมันสำปะหลัง	1.5 %

4. Media 3 (MD3)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %

5. Media 4 (MD4)

แป้งมันสำปะหลัง	2.5 %

6. Media 5 (MD5)

แป้งมันสำปะหลัง	3.0 %

7. Media 6 (MD6)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %
ยูเรีย	0.215 %

8. Media 7 (MD7)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %
$NH_4H_2PO_4$	0.822 %

9. Media 8 (MD8)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %
$NH_4H_2PO_4$	0.2 %

10. Media 9 (MD9)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %
$NH_4H_2PO_4$	0.4 %

11. Media 10 (MD10)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %
$NH_4H_2PO_4$	0.6 %

12. Media 11 (MD11)

แป้งมันสำปะหลัง	2.0 %
$NH_4H_2PO_4$	0.8 %

หมายเหตุ 1. ปริมาณแหล่งไนโตรเจน MD6 และ MD7 ได้จากการคำนวณ ดังแสดงไว้ในภาคผนวก ข

2. MD1 - MD11 จะปรับพีเอชเป็น 4.5

3. กรณีต้องการอาหารแข็งจะเติมวุ้น 2.0 %

4. อาหารทุกชนิดจะฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) โดยใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนให้เท่ากันในอาหาร ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างกัน

สูตรอาหารทั่วไปจะมีแหล่งไนโตรเจนประมาณ 0.5 % แต่ถ้าคำนวณออกมาเป็นปริมาณไนโตรเจนจริงๆ จะมีไนโตรเจนเพียงประมาณ0.1 %จึงกำหนดว่าจะต้องมีไนโตรเจน 0.1 % ไม่ว่าจะมาจากแหล่งไนโตรเจนชนิดใด

น้ำหนักโมเลกุล H = 1 ,N = 14 ,O = 16 ,P = 31 ,S = 32

1. NH_2CONH_2 (urea) มีน้ำหนักโมเลกุล 60 มีไนโตรเจน 28 ดังนั้นถ้าต้องการไนโตรเจน 0.1 กรัม จะต้องใช้ urea

= (60 x 0.1) / 28

= 0.215 กรัม (หรือ 0.215 %)

2. $NH_4H_2PO_4$ มีน้ำหนักโมเลกุล 115 มีไนโตรเจน 14 ดังนั้นถ้าต้องการไนโตรเจน 0.1 กรัมจะต้องใช้ $NH_4H_2PO_4$

= (115 x 0.1) / 14

= 0.822 กรัม (หรือ 0.822 %)

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางเคมี

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ใช้วิธีของ Somogyi-Nelson ตามใน A.O.A.C.

สารเคมี

1. Somogyi Reagent

Copper reagent A (I)

ละลาย 25 กรัมของ Na_2CO_3 (anhydrous) , 25 กรัมของ sodium potassium tartrate (Rochelle salt) ,20กรัมของ $NaHCO_3$,200 กรัมของ Na_2SO_4 (anhydrous) ในน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

Copper reagent B (II)

ละลาย 15 กรัมของ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ด้วย ฟลาสก์ตวงปริมาตร

นำ 25 ส่วน ของ reagent A (I) ผสมกับ 1 ส่วนของ reagent B (II) และเตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น

2. Nelson's Reagent

ละลาย ammonium molybdate 50 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มล. เติม Conc. H_2SO_4 42 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน เติม $Na_2HAsO_4.7H_2O$ (sodium arsinate) 6 กรัม ที่ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ในฟลาสก์ตวงปริมาตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ และสารละลายนี้ต้องเก็บในขวดสีชา

3. สารละลายมาตรฐานกลูโคส

ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่ง Glucose (anhydrous) 0.02 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. ในขวดวัดปริมาตร

วิธีการ

สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายกลูโคส 1 มล.

↓

เติม Somogyi reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน

↓

นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 20 นาที ทำให้เย็นทันที

↓

เติม Nelson' s reagent 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน

↓

เติมน้ำกลั่น 2 มล. เขย่าให้เข้ากัน

↓

นำไปวัดค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

นำค่าที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

การเตรียมกราฟมาตรฐานของกลูโคส

ทำการเตรียมสารละลายกลูโคสที่ความเข้มข้นดังต่อไปนี้ จากสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่เตรียมไว้แล้ว

ความเข้มข้น (g/ml)	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
สารละลาย-กลูโคส(ml)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	1.0
น้ำกลั่น(ml)	1.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0
ปริมาตรรวม	1.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	1.0

เมื่อเตรียมแล้ว นำไปทำตามวิธีการดังกล่าวข้างต้น นำผลที่ได้ (OD) ไปเขียนกราฟกับค่าความเข้มข้น โดยให้ ODเป็นแกนตั้งและความเข้มข้นเป็นแกนนอน

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

<u>การวิเคราะห์ที่ 1</u> เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ

ข้อมูลจากการทดลองแบบ CRD

% แป้ง	จำนวนโคโลนีต่อเพลท			ค่าเฉลี่ย
1.0	88	99	94	93.67
1.5	108	107	98	104.33
2.0	103	113	121	121.33
2.5	125	114	-	119.5
3.0	89	96	89	91.33

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

Source of Variation	degree of freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value	Tubular F 5%	1%
Treatment	4	2167.76	541.94	13.58**	3.63	6.42
Error	9	359.17	39.91			
Total	13	2526.93				

** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่มากที่สุดของ 2 treatment คือ แป้ง 2 และ 2.5 เปอร์เซนต์ ได้ดังนี้

$$LSD_{0.05} = t_{0.05}\sqrt{MSE\,(1/r_1 + 1/r_2)}$$
$$= 2.262\sqrt{39.908\ \ (1/3+1/2)}$$
$$= 13.04$$

$$LSD_{0.01} = t_{0.01}\sqrt{MSE\,(1/r_1 + 1/r_2)}$$
$$= 3.250\ \sqrt{39.908\ (1/3+1/2)}$$
$$= 18.74$$

$d = 121.33 - 119.5 = 1.83$

$d < LSD_{0.05}$ และ $LSD_{0.01}$

ดังนั้น สรุปว่า จำนวนโคโลนีของเชื้อเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแป้ง 2 และ 2.5 เปอร์เซนต์ ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

<u>การวิเคราะห์ที่ 2</u> เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้

ข้อมูลจากการทดลองแบบ CRD (ทำ 3 ซ้ำ)

แหล่งไนโตรเจน	จำนวนโคโลนีต่อเพลท			ค่าเฉลี่ย
control	32	34	39	35
$NH_4H_2PO_4$	33	142	143	139
Urea	78	26	80	78

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value	Tubular F 5%	Tubular F 1%
Treatment	2	16496.2	8248.10	523.02**	5.14	10.92
Error	6	94.67	15.77			
Total	8	16590.9				

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จึงทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดังนี้

$$LSD_{0.05} = 2.447\sqrt{2 \times 15.77/3}$$

$$= 7.93$$

$$LSD_{0.01} = 3.707\sqrt{2 \times 15.77/3}$$

$$= 12.02$$

การเปรียบเทียบ

control กับ $NH_4H_2PO_4$: 35 - 139.33 = 104.33 แตกต่างกัน

control กับ Urea : 35 - 78 = 43 แตกต่างกัน

$NH_4H_2PO_4$ กับ Urea : 139-78 = 61.33 แตกต่างกัน

ดังนั้น สรุปว่า แหล่งไนโตรเจนทั้งสองให้ผลในการเลี้ยงแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

การวิเคราะห์ที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณ $NH_4H_2PO_4$ ที่ใช้

ข้อมูลจากการทดลองแบบ CRD (ทำ 3 ซ้ำ)

% $NH_4H_2PO_4$	จำนวนโคโลนีต่อเพลท			ค่าเฉลี่ย
0.2	275	282	277	278
0.4	126	141	142	136.33
0.6	143	144	139	142
0.8	146	136	157	146.33

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

Source of Variation	Degree of Freedom	Sum of Square	Mean of Square	F Value	Tubular F 5%	Tubular F 1%
Treatment	3	42460.67	14153.56	268.72**	4.07	7.59
Error	8	421.33	52.67			
Total	11	52039.64				

** หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จึงทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดังนี้

$$LSD_{0.05} = 2.306\sqrt{2 \times 52.67/3}$$

$$= 13.66$$

$$LSD_{0.01} = 3.355\sqrt{2 \times 52.67/3}$$

= 19.88

เปรียบเทียบ $NH_4H_2PO_4$ 0.2 กับ 0.4 เปอร์เซนต์

d = 278 - 146.33 = 131.67 > $LSD_{0.05}$ และ $LSD_{0.01}$ แตกต่างกัน

เปรียบเทียบ 0.2 กับ 0.6 : 278 - 142 = 136 แตกต่างกัน

0.2 กับ 0.4 : 278 - 136.33 = 141.67 แตกต่างกัน

สรุปว่า $NH_4H_2PO_4$ 0.2 เปอร์เซนต์ ให้ผลแตกต่างจากการใช้ $NH_4H_2PO_4$ 0.4, 0.6 และ 0.8 เปอร์เซนต์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

เอกสารอ้างอิง

1. Kummuanta,J. ,Choice of microorganism for single cell protein. Reginal. UNESCO , UNDO , ICRO , Training Course , Bangkok , 1976.
2. Humphrey , T . W . , Single cell protein , InR.I.Mateles and S.R. Tannenhaum (eds.) , Single Cell Protein. M.I.T. Press ,Cambridge,1968:65-78.
3. Synder . E. E. , Microbbial source of protein , Adv Food Res , 1970 : 85-140.
4. Presscott , S . C. and C . C . punn, Industrial Microbiology ,Kogalusha Co. Ltd Tokyo, 1959 : 327
5. Lynferd J. Wuckerham , Lewis B. Lockwood , Pettijion O. Glann and and George E.ward ,Starch hydrolysis and fermentation by the Yeast *E.fibuligera* "Bacteriology" , 48 (4) , 1944 : 413-427.
6. N.J.W. Kreager-van Rij , Endomycopsis Pekker , The Yeast : A Taxonomy study, (J. Lodder 2nd ed.) North-Holland Publishing,London,1971 :166-208.
7. Imrie , F .K. E. ,Carbohydrate as substrate for SCP production ,unpubised paper UNESCO Training course Kasetsart University ,1976 : 167.
8. Rose . A. S and J. S. Harrison ,the Yeast ,vol. 2 , Academic Press Inc. , New York , 1971 :571.
9. A.O.A.C. ,Official Method of Analysis , 16 th ed. ,Washington D.C., The Association of Official Analytical Chemist.,1980.
10. โสภณ สินธุประภา และคณะ ,มันสำปะหลัง , เอกสารทางวิชาการเล่มที่ 7 กรมวิชาการเกษตร, 7(2526) : 1-41 ,120-146.
11. เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ , มันสำปะหลัง , ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , 2519 :48-74.
12. ดวงพร คันธโชติ , จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม : ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ , โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้า , กรุงเทพ . , 2530 : 57-58

13. ดวงดาว กัณหะสิริ และคณะ , การหาปัจจัยประกอบเพื่อการผลิต Symba yeast , สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง , 2533.

14. วีรศักดิ์ สุรพัฒน์ , การวางแผนการทดลองทางชีววิทยา , ภาควิชาสถิติประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง , :23-24.