



วิทยานิพนธ์

การหมักกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบ
แพคเบด

**CASSAVA WASTE FERMENTATION FOR AMYLASE
ENZYME PRODUCTION IN PACKED-BED FERMENTORS**

นายธีระพงษ์ สุขสว่าง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)

ปริญญา

วิศวกรรมเคมี

วิศวกรรมเคมี

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การหมักกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบด

Cassava Waste Fermentation for Amylase Enzyme Production in Packed-Bed Fermentors

นามผู้วิจัย นายธีระพงษ์ สุขสว่าง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จรูญ นัตถ์มานพ, D.Eng.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ไพศาล คงกาญจนาย, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจฉกหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การหมักกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบด

Cassava Waste Fermentation for Amylase Enzyme Production in Packed-Bed Fermentors

โดย

นายธีระพงษ์ สุขสว่าง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต (วิศวกรรมเคมี)

พ.ศ. 2550

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

/

/

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณพ่อ และคุณแม่ ที่คอยเป็นกำลังใจและการสนับสนุนทางด้านทุนทรัพย์สำหรับศึกษามาโดยตลอด

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จริญญา ฉัตรมานพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความกรุณาแนะนำและวางแผนงานวิจัย ให้คำปรึกษาชี้แนะ ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรรถศักดิ์ จารีย์ ประธานการสอบ และรองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมช รังสรรค์จิตร ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้สละเวลาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ เพื่อความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ คุณอภิชัย อรรถนันทน์ ห้างหุ้นส่วนจำกัด สหมิตรเป้งมัน จังหวัดชลบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์กากมันสำปะหลังที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอบคุณ คุณธรรพร พ่วงพลับ ผู้ช่วยวิจัย ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมชีวเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณาให้รายละเอียดและสาธิตเทคนิควิธีการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ จัดการเกี่ยวกับอุปกรณ์เพื่อใช้ในการวิจัย รวมทั้งสาธิตวิธีการวิเคราะห์และการใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ วิศวกรรมเคมี และบุคคลรอบข้างที่คอยให้ความช่วยเหลือเป็นกำลังใจ และสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

ธีระพงษ์ สุขสว่าง

เมษายน 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
วัสดุหมัก	3
จุลินทรีย์ (รา)	12
เอนไซม์	24
กระบวนการหมัก	31
อุปกรณ์และวิธีการ	46
อุปกรณ์	46
วิธีการ	50
ผลและวิจารณ์	57
สรุปและข้อเสนอแนะ	92
สรุป	92
ข้อเสนอแนะ	93
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	94
ภาคผนวก	107
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารเคมี	108
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐาน	110
ภาคผนวก ค ตารางข้อมูลผลการทดลอง	114
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	150

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญของโลกในปี 2547	4
2	ส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลังสดและแห้ง	6
3	องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง	10
4	ผลผลิตทางอุตสาหกรรมที่ได้จากเชื้อรา	14
5	เอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตอาหาร	27
6	คุณสมบัติของเอนไซม์อะไมเลสจากแหล่งต่างๆ	30
ตารางผนวกที่		
ค1	ปริมาณต้นเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	114
ค2	ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	115
ค3	ปริมาณต้นเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	115
ค4	ปริมาณต้นเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	116
ค5	ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	117
ค6	ปริมาณต้นเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	117
ค7	ปริมาณต้นเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	118
ค8	ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร	119

สารบัญตาราง (ต่อ)

[illegible]

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ค21 อุณหภูมิของวัสดุหมักที่รูปแบบการกั้นต่างๆ (1) กั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน, (2) กั้นแบบแบ่งตามยาว และ(3) ไม่มีแผ่นกั้น	128
ค22 ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมักของทุกรูปแบบของแผ่นกั้น	128
ค23 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบด	129
ค24 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดใช้การกั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน	129
ค25 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดใช้การกั้นแบบแบ่งตามยาว	130
ค26 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดและไม่มีแผ่นกั้น	131
ค27 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดใช้การกั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน	131
ค28 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดใช้การกั้นแบบแบ่งตามยาว	132
ค29 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดและไม่มีแผ่นกั้น	133
ค30 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดใช้การกั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน	133
ค31 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดใช้การกั้นแบบแบ่งตามยาว	134
ค32 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมันสำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบแพคเบดและไม่มีแผ่นกั้น	135

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ค33	อุณหภูมิของวัสดุหมักของความหนา 7.5 เซนติเมตรในถังหมักแบบแพคเบด 135
ค34	อุณหภูมิของวัสดุหมักของความหนา 10 เซนติเมตรในถังหมักแบบแพคเบด 136
ค35	อุณหภูมิของวัสดุหมักของความหนา 12.5 เซนติเมตรในถังหมักแบบแพคเบด 137
ค36	ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมักของทุกความหนาของวัสดุหมัก 137
ค37	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 138
ค38	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 138
ค39	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ของวัสดุหมักที่ความหนา 10 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 139
ค40	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ของวัสดุหมักที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 140
ค41	ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 140
ค42	ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่ความหนา 10 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 141
ค43	ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 142
ค44	ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 142
ค45	ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมักที่ความหนา 10 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 143
ค46	ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมักที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด 143

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ค47	อุณหภูมิของวัสดุหมักที่ตรงกลางถังหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 144
ค48	อุณหภูมิของวัสดุหมักที่ระหว่างขอบถังหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 145
ค49	อุณหภูมินอกถังหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 146
ค50	ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 146
ค51	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 147
ค52	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 148
ค53	ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 148
ค54	ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง ที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร 149

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง	9
2	ลักษณะรา <i>Rhizopus</i> ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	21
3	ถังหมักแบบถาด	39
4	ถังหมักแบบหมุน	41
5	ถังหมักแบบแพคเบด	43
6	ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด	44
7	แผนภาพถังหมักแพคเบดขนาด 30 ลิตรพร้อมอุปกรณ์ประกอบและระบบควบคุม	48
8	ลักษณะตารางบนแผ่นกระจกสำหรับนับจำนวนเซลล์	51
9	ต้นเชื้อสด <i>R. oligosporus</i> ในสแลนค์	57
10	รา <i>R. oligosporus</i> บนอาหารวุ้น	58
11	การหมักรา <i>R. oligosporus</i> บนปลายข้าวในถาด	58
12	ต้นเชื้อในรูปของผงของ รา <i>R. oligosporus</i>	58
13	ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์	62
14	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์	62
15	ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์	63
16	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์	65
18	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์	65
19	ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์	66
20	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักและใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์	66
21	แสดงรูปแบบของแผ่นกั้น	67
22	อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือ (1)การกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, (2)การกั้นแบบแบ่งตามยาว และ(3)แบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์	71
23	ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์	71
24	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์	72

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
25 ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์	72
26 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์	73
27 ค่าความเป็นกรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือ การกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์	73
28 แสดงความหนาของชั้นวัสดุหมัก	74
29 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 7.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	78
30 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	78
31 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	79

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
32	ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	79
33	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	80
34	ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	80
35	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	81
36	ค่าความเป็นกรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	81

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
37	อุณหภูมิของวัสดุหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	85
38	ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	85
39	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	86
40	ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	86
41	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	87
42	ค่าความเป็นกรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
43	ลักษณะของรา <i>R. oligosporus</i> บนวัสดุหมักในถังหมักแบบแพคเบด เมื่อทำการหมักครบ 96 ชั่วโมง (ก) กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ (ข) กากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่	88
44	แสดงลักษณะและอุณหภูมิของการเก็บสารละลายเอนไซม์อะไมเลส (ก) อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (ข) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ค) อุณหภูมิห้อง	89
45	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	90
46	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	90
47	ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที	91

การหมักกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบด

Cassava Waste Fermentation for Amylase Enzyme Production in Packed-Bed Fermentors

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ที่มีพืชผลทางการเกษตรที่สำคัญหลากหลายชนิด อาทิ ข้าว มันสำปะหลัง ข้าวโพด เป็นต้น โดยจะมีการแปรรูปขั้นต้นก่อนส่งออกจำหน่ายทั้งในและต่างประเทศ และจากการแปรรูปนี้จะมีวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร ที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้ง เช่น กากมันสำปะหลัง หรือน้ำตาล เช่น กากน้ำตาล หรือเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ใบพืชต่างๆ เป็นต้น หากไม่มีการจัดการวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้อย่างถูกวิธีแล้ว จุลินทรีย์ในธรรมชาติจะทำการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ในวัสดุ ส่งผลให้เกิดมลพิษทางอากาศจากกลิ่นไม่พึงประสงค์ หรือหากมีการชะล้างในฤดูฝน จะก่อให้เกิดการปนเปื้อนลงในแหล่งน้ำและดิน (ชลดา, 2546)

องค์ประกอบส่วนใหญ่ในกากมันสำปะหลัง คือ คาร์โบไฮเดรตมีประมาณ 66.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก (สุนีย์, 2539) จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะนำกากมันสำปะหลังนี้มาใช้ประโยชน์ โดยการใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักในการผลิตเอนไซม์ที่มีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรม เช่น เอนไซม์อะไมเลส เป็นต้น

ในปัจจุบันมีการนำเอนไซม์จากจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเอนไซม์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สามารถผลิตได้ในปริมาณมาก ต้นทุนการผลิตต่ำ มีราคาถูก และสามารถควบคุมการผลิตได้ดี (เบญจพร, 2542)

โครงการวิจัยนี้จึงให้ความสนใจศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากกากมันสำปะหลังในถังหมักแบบแพคเบด ซึ่งถังหมักแบบแพคเบดนี้ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องมาตั้งแต่ปี 2542 และปัจจุบันมีการใช้งานกันในการผลิตชีวน้ำและเต้าเจี้ยวในอุตสาหกรรมขนาดเล็ก งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพื่อนำไปสู่การผลิตจริงในอุตสาหกรรมต่อไป เพื่อนำเอนไซม์อะไมเลสไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมทอผ้า, อุตสาหกรรมทำแป้งขนมปัง และการผลิตแอลกอฮอล์ เป็นต้น เพื่อนำไปสู่การใช้งานจริงในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก และถังหมักแบบแพคเบด ได้แก่ ปริมาณต้นเชื้อ, ความชื้นเริ่มต้น, รูปแบบของแผ่นกั้น และความหนาของชั้นวัสดุหมัก
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสารละลายเอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ อุณหภูมิในการเก็บ

ขอบเขตการวิจัย

1. ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสโดยกระบวนการหมักแบบแห้งด้วย รา *Rhizopus oligosporus*
2. ศึกษาการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ศึกษาการหมักในถังหมักแบบแพคเบด ขนาด 30 ลิตร

การตรวจเอกสาร

วัตถุประสงค์

1. มันสำปะหลัง

ประวัติ

มันสำปะหลังจัดเป็นพืชหัวชนิดหนึ่ง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Manihot esculenta* Crantz มีชื่อสามัญเรียกหลายชื่อตามภาษาต่างๆ ที่ได้ยืมกันมากได้แก่ Cassava, Yuca, Manidioa, Manioc, Tapioca มันสำปะหลังมีแหล่งกำเนิดแถบที่ลุ่มเขตร้อน (Lowland tropics) มีหลักฐานแสดงว่าปลูกกันในโคลัมเบียและเวเนซุเอลา มานานกว่า 3,000-7,000 ปีมาแล้ว

ในประเทศไทย มันสำปะหลัง เดิมเรียกกันว่า มันสำโรง มันไม้ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า มันต้นเตี้ย ทางภาคใต้เรียกว่ามันเทศ (แต่เรียกมันเทศว่ามันหลา) คำว่าสำปะหลังที่คนส่วนใหญ่นิยมเรียกอาจมาจากคำว่า “สัมเปอ (Sampou)” ของชาวตะวันตก ประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าเพื่อใช้ทำแป้งและสาकुในภาคใต้ โดยปลูกระหว่างแถวของต้นยางพารากันมากกว่า 70 ปีแล้ว

ความสำคัญ

มันสำปะหลังเป็นพืชอาหารที่สำคัญเป็นอันดับ 5 ของโลกรองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวมันฝรั่ง เป็นพืชอาหารที่สำคัญของประเทศในเขตร้อน โดยเฉพาะประเทศต่างๆในทวีปแอฟริกาและทวีปอเมริกาใต้ ในทวีปเอเชีย ประเทศอินโดนีเซียและอินเดียมีการบริโภคมันสำปะหลังกันเป็นจำนวนมาก ปริมาณในการผลิตในปี 2544 ทั่วโลกผลิตได้ 139.827 ล้านตัน ปริมาณผลผลิตที่ได้ในแต่ละปี ร้อยละ 60 ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ ร้อยละ 27.5 ใช้ทำอาหารสัตว์ และร้อยละ 12.5 ใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ

ในปี 2548 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง 6.52 ล้านไร่ มากเป็นอันดับที่สี่รองจาก ข้าว ข้าวโพด และยางพารา แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญที่สุดของประเทศไทยในปัจจุบัน คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คิดเป็นร้อยละ 54 ของพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ รองลงมาคือ ภาคกลางรวม ภาคตะวันออกและภาคตะวันตกร้อยละ 32 และภาคเหนือร้อยละ 14 จังหวัดที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดได้แก่ นครราชสีมา 1,470,924 ไร่ รองลงมาคือ กำแพงเพชร สระแก้ว ชัยภูมิ ฉะเชิงเทรา ชลบุรี กาฬสินธุ์ กาญจนบุรี ราชบุรี จันทบุรี และขอนแก่น (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ตารางที่ 1 ประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญของโลกในปี 2547

ประเทศ	ผลการผลิต (พันตัน)	พื้นที่เก็บเกี่ยว (ล้านไร่)	ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัมต่อไร่)
ไนจีเรีย	33,379	21.815	1,526
บราซิล	24,230	11.130	2,177
ไทย	21,440	6.608	3,244
อินโดนีเซีย	19,197	8.036	2,389
คองโก	14,951	11.875	1,259
กานา	9,828	5.119	1,920
อินเดีย	7,100	1.688	4,206
แทนซาเนีย	6,890	4.125	1,670
โมซัมบิก	6,180	6.535	941
อังกูลา	5,600	4.024	1,400
อื่นๆ	47,776	30.346	1,556
ทั่วโลก	196,541	111.690	1,760

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร (2548)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ทำรายได้ให้เกษตรกรมากเป็นอันดับสี่ รองจากยางพารา อ้อย และ ข้าว ผลผลิตมันสำปะหลังส่งออก ปี 2547 มีมูลค่า 31,815 ล้านบาท เป็นผลผลิตมันเส้นร้อยละ 27 ผลผลิตมันอัดเม็ดร้อยละ 25.8 ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลังร้อยละ 20 เด็กซ์ทรีนและโมดิไฟสตาร์ท ร้อยละ 23.6 และอื่นๆร้อยละ 3.6 (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งผลผลิตมันสำปะหลังออกมากที่สุดในโลก เพราะประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังได้มาก เช่น ไนจีเรีย บราซิล และประเทศอื่นๆ นำผลผลิตที่ได้ใช้เป็นอาหารของพลเมืองภายในประเทศ ในขณะที่ประเทศไทยใช้มันสำปะหลังเพื่อบริโภคน้อยมาก ในปี 2548 ประเทศไทยส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังไปขายมากที่สุด คือ จีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน อินโดนีเซียและมาเลเซีย (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

ลักษณะและชนิดของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นไม้พุ่มยืนต้นมีอายุอยู่ได้หลายปี เมื่ออายุมากจะมีขนาดเท่าต้นไม้ใหญ่ขนาดเล็ก แต่การเพาะปลูกเกษตรกรจะปลูกแบบพืชล้มลุก โดยเก็บเกี่ยวทุกปีที่อายุ 8 – 12 เดือน ในสภาวะที่ราคาไม่ดีเกษตรกรอาจจะเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังที่อายุมากกว่าหนึ่งปีก็ได้ พันธุ์มันของสำปะหลังแต่ละพันธุ์จะมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่แตกต่างกันออกไป เช่น รูปทรงของต้น การแตกกิ่ง สีของลำต้น สีก้านใบ ลักษณะใบ รูปร่าง และสีของหัว ลักษณะต่างๆเหล่านี้เป็นลักษณะประจำพันธุ์ สามารถใช้แยกพันธุ์ต่างๆออกจากกันหรือใช้เพื่อจำแนกพันธุ์ (กรมวิชาการเกษตร, 2547)

มันสำปะหลังที่ปลูกในแหล่งปลูกทั่วโลกและในประเทศไทย แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

1. ชนิดหวาน (Sweet type) เป็นมันสำปะหลังที่มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคต่ำ ไม่มีรสขม ใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์ มีทั้งชนิดเนื้อร่วน นุ่ม และชนิดเนื้อแน่น เหนียว ในประเทศไทยไม่มีการปลูกเป็นพื้นที่ใหญ่ๆเนื่องจากมีตลาดจำกัด ส่วนใหญ่จะปลูกรอบๆบ้าน หรือตามร่องสวนเพื่อบริโภคเอง ในครัวเรือนหรือเพื่อจำหน่ายตามตลาดสดในท้องถิ่นในปริมาณไม่มาก

2. ชนิดขม (Bitter type) เป็นมันสำปะหลังที่มีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคสูง เป็นพิษและมีรสขมไม่เหมาะสำหรับการบริโภคของมนุษย์หรือใช้หัวสดเลี้ยงสัตว์โดยตรง แต่จะใช้สำหรับอุตสาหกรรมแปรรูปต่างๆ เช่น แป้งมัน มันอัดเม็ด แอลกอฮอล์ เนื่องจากมีปริมาณแป้งสูง

การใช้มันสำปะหลังในอุตสาหกรรม

ในปี 2547 เกษตรกรไทยผลิตมันสำปะหลังสดได้ประมาณ 19 – 20 ล้านตัน เนื่องจากหัวมันสำปะหลังสดไม่สามารถเก็บไว้นาน เพราะหัวจะเน่าเสีย จึงต้องนำมาแปรรูปผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆก่อน ในประเทศไทย หัวมันสำปะหลังสด 40 - 50 เปอร์เซ็นต์ จะใช้ทำมันเส้น มะมันอัดเม็ดเพื่อส่งขายเป็นอาหารสัตว์ในประเทศในยุโรป ส่วนที่เหลือ 50 – 55 เปอร์เซ็นต์ใช้ทำแป้ง

องค์ประกอบของหัวมันสำปะหลัง

หัวมันสำปะหลังเป็นส่วนของรากที่โตขึ้นสำหรับสะสมแป้ง หัวมันสำปะหลังสดมีน้ำอยู่ประมาณ 60 – 65 เปอร์เซ็นต์ และส่วนประกอบส่วนใหญ่คือแป้งหรือคาร์โบไฮเดรต ประมาณ 20 – 35 เปอร์เซ็นต์ (กรมวิชาการเกษตร, 2547) ดังนั้นหัวมันสำปะหลังจึงเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานในอาหารของคนและสัตว์ แต่มีปริมาณโปรตีนและไขมันน้อยมาก ไม่เหมาะสมที่ใช้เป็นแหล่งของโปรตีนและไขมัน การนำหัวมันสำปะหลังไปใช้มักทำให้แห้ง เพื่อลดความชื้นเสียก่อน เช่น มันเส้น มันอัดเม็ด หรือสกัดเฉพาะส่วนของแป้งออกจากหัวมันสำปะหลัง

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลังสดและแห้ง

ส่วนประกอบ	หัวมันสด	หัวมันแห้ง
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	63.25	10.63
คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์)	29.73	70.63
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	1.18	2.63
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	0.08	0.51
เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	0.85	2.2
เยื่อใย (เปอร์เซ็นต์)	0.99	1.73
โปตัสเซียม (มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม)	0.26	0.43
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	0.04	0.08
กรดไฮโดรไซยานิก (ส่วนในล้านส่วน)	173	100

ที่มา : พูนสุข (2526)

ส่วนประกอบของหัวมันสดและมันสำปะหลังแห้ง (ตารางที่ 2) จะเห็นว่าเมื่อหัวมันสำปะหลังแห้งแล้วมีความชื้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีคาร์โบไฮเดรต 70 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 2.63 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 0.51 เปอร์เซ็นต์ หัวมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีนและไขมันต่ำกว่า ธัญพืช กล่าวคือหัวมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีน 1.18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวและข้าวโพดมีปริมาณโปรตีน 7.82 เปอร์เซ็นต์ และ 8.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเพื่อทดแทนธัญพืช จึงต้องเพิ่มปริมาณโปรตีนสูตรอาหารโดยการผสมกากถั่วเหลือง

อุตสาหกรรมการแปรรูปมันสำปะหลัง

1. อุตสาหกรรมมันเส้น

มันเส้น (Chip) ได้จากการนำหัวมันสำปะหลังสดเข้าเครื่องหั่นที่เรียกว่าเครื่องโมมันเส้น ซึ่งจะหั่นหัวมันสดให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปตากแดดบนลานซีเมนต์ 2 – 3 วันให้แห้ง

2. อุตสาหกรรมมันอัดเม็ด

มันอัดเม็ดหรือที่เรียกว่ามันเม็ด ผลิตโดยการอัดมันเส้นโดยเครื่องอัดภายใต้สภาวะความร้อนและความดัน มันอัดเม็ดแบ่งออกเป็น 2 ชนิดโดยใช้ลักษณะทางกายภาพเป็นเกณฑ์ คือ ชนิดแข็ง (Hard pellets) ชนิดนิ่ม (Soft pellets) มันอัดเม็ดทั้งสองชนิดจะมีรูปร่างคล้ายดินสอ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2 – 3 เซนติเมตร ความชื้นประมาณร้อยละ 14 และมีสีขาว

3. อุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง

หัวมันสำปะหลังมีแป้งเป็นส่วนประกอบประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ แป้งมันสำปะหลังที่สกัดจากหัวมันสำปะหลัง และยังไม่มีการแปรรูปเรียกว่าแป้งดิบ (Tapioca starch, Native starch) ซึ่งกรรมวิธีการผลิตที่โรงงานขนาดใหญ่และขนาดกลางใช้กันอยู่ในปัจจุบันมีขั้นตอนดังนี้ (ภาพที่ 1)

1. ชั่งน้ำหนักและวัดเปอร์เซ็นต์แป้ง
2. ส่งเข้าเครื่องร่อนดินทรายออก
3. ส่งเข้าเครื่องปอกเปลือกและล้าง

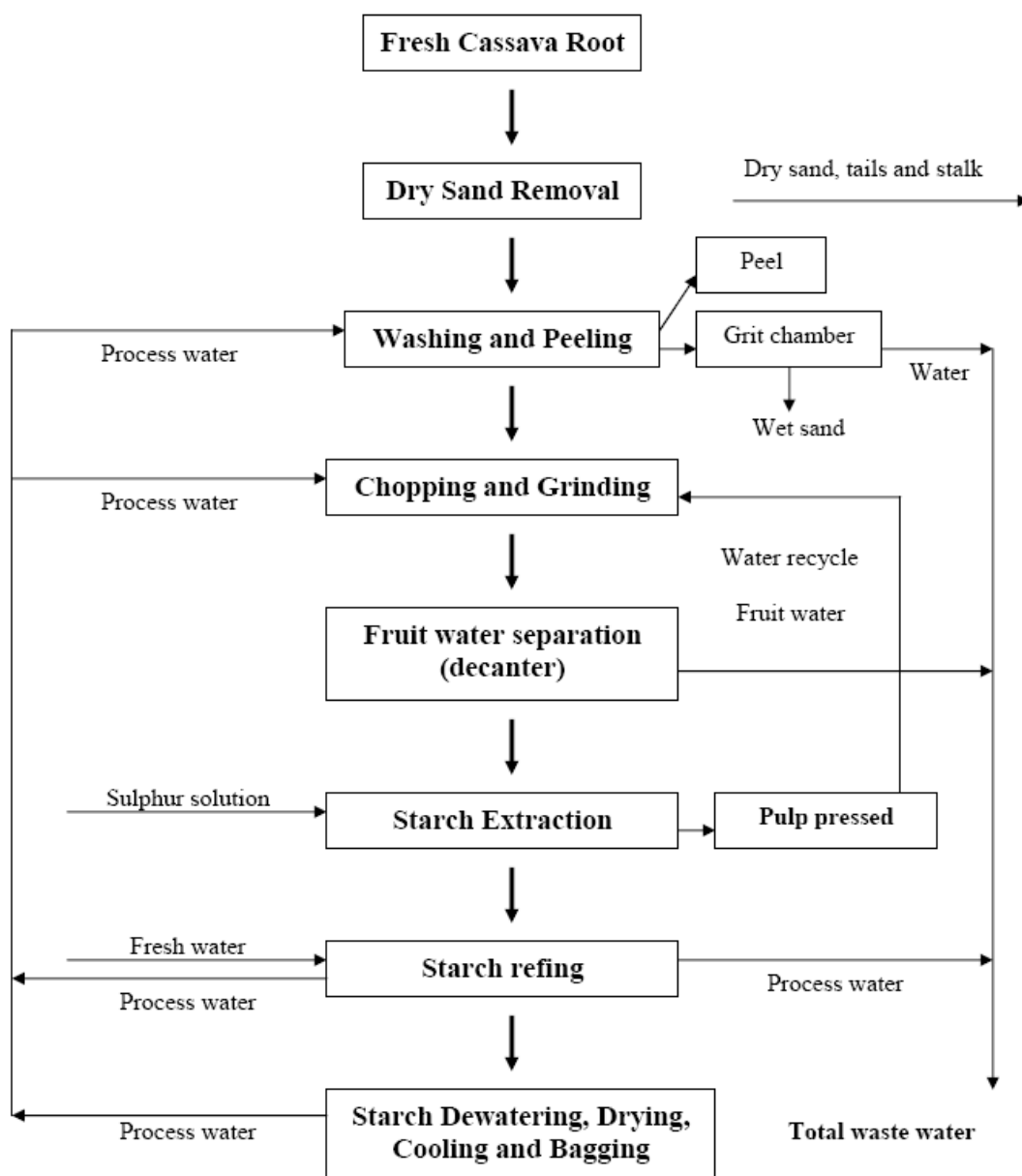
4. นำหัวมันสดที่ล้างสะอาดแล้วนำเข้าเครื่องโม่ให้ละเอียด จากนั้นนำมันที่โม่แล้วเข้าเครื่องแยกกากจากน้ำแป้ง กากของหัวมันที่ได้จะถูกส่งไปยังลานตาก
5. นำน้ำแป้งที่ได้มาฟอกด้วยน้ำกำมะถัน เพื่อฟอกและจัดยงทำให้น้ำแป้งขาวและบริสุทธิ์ขึ้น
6. แยกน้ำแป้งออกจากแป้งโดยใช้เครื่องสกัดเหวี่ยงระบบแรงเหวี่ยง (Centrifuge)
7. อบให้แห้งด้วยความร้อนโดยใช้ท่อลมร้อน
8. แป้งที่อบแล้วจะถูกนำมาตีให้แตกออกเป็นผง
9. นำแป้งที่แห้งสนิทและแตกตัวเป็นผงแล้วเข้าเครื่องร่อนเอาส่วนที่หยาบออกไปและบรรจุถุงจำหน่าย

อัตราการแปรรูปจากหัวมันสดเป็นแป้งมัน ขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์แป้งของหัวมันสด ถ้ามีหัวมันสดมีเปอร์เซ็นต์แป้งประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ จะใช้หัวมันสด 5 กิโลกรัมในการผลิตแป้ง 1 กิโลกรัม และจะได้กากมันประมาณ 0.4 - 0.5 กิโลกรัม

2 กากมันสำปะหลัง

ในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังนั้น กากมันสำปะหลังที่เหลือจากกระบวนการซึ่งถูกแยกออกมาในระหว่างกระบวนการสกัดและบีบอัด สำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยปกติกากมันสำปะหลังสดจะมีความชื้นประมาณ 75-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบางครั้งจะตากแดดก่อนจำหน่าย กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง และมีน้ำหนักคิดเป็นร้อยละ 24.80-32.32 ของน้ำหนักหัวมันสำปะหลังสดที่นำมาผลิตเป็นแป้งมันสำปะหลัง (ทรงศักดิ์, 2543)

องค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลัง คือ คาร์โบไฮเดรต และยังมีโปรตีน ไขมัน เยื่อใย และแร่ธาตุในปริมาณต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าสถานที่เพาะปลูกตลอดจนสภาพของกากมันสำปะหลัง จะมีผลต่อองค์ประกอบในกากมันสำปะหลัง ดังแสดงในตารางที่ 3



ภาพที่ 1 แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง
ที่มา : พืรพจน์ (2547)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

ลักษณะของกาก	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)									แหล่งข้อมูล
	คาร์โบไฮเดรต	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	ความชื้น	ไนโตรเจน	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส	
กากมันทั่วไป	75.45	1.77	0.18	8.2	1.36	13.03	-	-	-	ชานิศนดากร (2500)
กากมันอบแห้ง	71.7	2.3	1	9.6	1.5	13.86	-	0.04	-	ชานิศนดากร (2500)
กากมันตากแดด	67.5	2.3	0.7	9.8	6.2	13.47	-	0.03	-	ชานิศนดากร (2500)
กากมันทั่วไป	59.77	-	-	-	-	9.25	0.29	-	-	จิราภรณ์ (2525)
กากมันแห้ง	90.8	1.04	0.8	5.3	1.8	13.2	-	-	0.04	ทวี (2527)
กากมันสด (น้ำหนักแห้ง)	94	1	0.5	1.5	1.5	80	-	-	-	ทวี (2527)
กากมันทั่วไป	65.03	1.75	0.48	9.24	10.76	12.74	-	0.39	0.05	เสาวนิตย์ (2527)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลักษณะของกาก	องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)									แหล่งข้อมูล
	คาร์โบไฮเดรต	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	ความชื้น	ไนโตรเจน	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส	
กากมันทั่วไป	78.8	-	-	4.6	1.8	13.2	-	-	0.03	จิรสิทธิ์ (2529)
กากมันแห้ง	77.6	1	0.8	5.3	1.8	13.2	-	-	0.03	เมธีและฉลอง (2533)
กากมันสด	14	2.5	0.5	1.5	-	80	-	1.5	-	เมธีและฉลอง (2533)
กากมัน(ร้อยละ ของน้ำหนักแห้ง)	17.8	0.4	7.17	0.03	0.44	72	-	-	-	Sriroth <i>et al.</i> (2000)
กากมันทั่วไป	65.38	2.05	0.15	13.1	2.01	80.13	-	-	-	Srinorakutara <i>et al.</i> (2006)

ที่มา : ทรงศักดิ์ (2543)

จุลินทรีย์ (รา)

1. ลักษณะที่สำคัญของรา

ราเป็นยูคาริโอต เคโมออร์แกโนโทรฟ ไม่มีคลอโรฟิลล์ ดำรงชีวิตแบบแอโรบ (Aerobe) หรือแฟคัลเตติฟแอนแอโรบ (Facultative anaerobe) มีลักษณะเป็นทาลัส (Thallus) อาจเป็นเซลล์เดียว เช่น ยีสต์ แต่ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์มาต่อกันเป็นเส้นสายยาว มีผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลส (Cellulose) หรือไคติน (Chitin) อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือทั้งสองอย่างและมีสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

2. สัณฐานวิทยา

รามีทั้งชนิดเป็นเซลล์เดียว เช่น ยีสต์ และที่เป็นหลายเซลล์เรียงเป็นเส้นใย (Hypha) กลุ่มของเส้นใยเรียกไมซีเลียม (Mycelium) เส้นใยทั่วไปมีความกว้าง 5-10 ไมโครเมตร และมีความยาวมากเส้นใยประกอบด้วยผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์และช่องว่างภายในที่บรรจุโปรโทพลาซึม เยื่อหุ้มเป็นเยื่อ 2 ชั้น ล้อมรอบโปรโทพลาซึม ส่วนผนังเซลล์ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) หรือไคติน ในราชั้นต่ำผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลส

การเจริญของเส้นใยเกิดทางด้านปลาย โดยมีการยึดตัวในบริเวณนั้น เส้นใยจะมีการแบ่งตัวเว้าเข้ามาในเซลล์ (Centripetal invagination) และเกิดผนังกันโดยเยื่อหุ้มเซลล์คอดเข้ามา เกิดเป็นผนังที่ไม่สมบูรณ์ เพราะมีรูตรงกลางผนังเพื่อให้โปรโทซิมไหลเวียนถึงกันได้ แม้แต่นิวเคลียสก็เคลื่อนที่จากเซลล์หนึ่งไปอีกเซลล์ได้ เส้นใยแบ่งเป็น 3 แบบ คือ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

2.1 เส้นใยไม่มีผนังกัน (Nonseptate หรือ Coenocytic hypha) เส้นใยจะเป็นท่อทะลุถึงกัน มีไซโทพลาซึมและนิวเคลียสต่อเนื่อง

2.2 เส้นใยที่มีผนังกันและมีนิวเคลียสอันเดียวในแต่ละเซลล์

2.3 เส้นใยที่มีผนังกันและมีนิวเคลียสหลายอันในแต่ละเซลล์

เส้นใยของราที่เจริญแตกแขนงออกไปมากมายเรียกว่าไมซีเลียม ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ส่วนที่ติดเกาะอาหาร (Somatic) มีหน้าที่ดูดซึมอาหารที่ย่อยแล้วไปเลี้ยงทลัสส่วนต่างๆ และส่วนที่ขึ้นไปในอากาศ (Aerial) ทำหน้าที่สร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์

3. การสืบพันธุ์ของรา

รามีการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

3.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual reproduction) มีหลายแบบ ได้แก่

3.1.1 การแตกหักเป็นท่อนๆ (Fragmentation) เส้นใยที่ถึงขาดเป็นท่อนๆเจริญเป็นเส้นใยใหม่ได้

3.1.2 การแตกหน่อ (Budding) โดยเซลล์แม่มีส่วนยื่นออกมาเป็นหน่อเล็กๆ หน่อเจริญขึ้นจนแยกจากเซลล์แม่

3.1.3 การแบ่งตัว (Fission) เซลล์แต่ละเซลล์จะคอดตรงกลาง แล้วแบ่งออกเป็นสองส่วนพบในยีสต์บางชนิด

3.1.4 การสร้างสปอร์ (Sporulation) สปอร์แบบไม่อาศัยเพศ ของราเกิดขึ้นโดยการแบ่งไมโทซิสและไม่มีการรวมกันของนิวเคลียสของเซลล์ มีหลายชนิด

3.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual reproduction)

วิธีสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่มีการรวมกันของนิวเคลียสเกิดได้หลายวิธี

3.2.1 การรวมกันของแกมีต (Gametic copulation) มีการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์ ซึ่งแกมีตอันใดอันหนึ่งหรือทั้งสองอันอาจเคลื่อนที่ได้

3.2.2 การรวมกันของแกมีต-แกมีแทนเจียม (Gamete-gametangial copulation) โดยการที่แกมีแทนเจียม 2 อัน มาใกล้กันและสัมผัสกัน แต่ไม่เชื่อมกัน นิวเคลียสเพศผู้จะเคลื่อนผ่านรู (Fertilization tube) เข้าในแกมีแทนเจียมเพศเมีย

3.2.3 การรวมกันของแกมีแทนเจียม (Gametangial copulation) โดยการที่แกมีแทนเจียม 2 อันมาเชื่อมต่อกันได้ไซโกตซึ่งจะเจริญเป็นไซโกสปอร์ (Zygospore)

3.2.4 การรวมตัวกันของโซมาติกเซลล์ (Somatic copulation) เกิดการเชื่อมกันของโซมาติกเซลล์หรือเวเจเตติฟเซลล์ โดยไม่สร้างอวัยวะเพศ

3.2.5 สเปอร์มาโตเซชัน (Spermatization) เป็นการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เรียกว่า สเปอร์มาติอุม (Spermatium) ซึ่งเป็นเซลล์เล็กๆมีนิวเคลียสอันเดียว กับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่มีลักษณะเซลล์กลมใหญ่ในแอสโกโกเนียม โดยผ่านทางเส้นใยที่เรียกว่า ทริโคไจน์ (Trichogyne)

สปอร์แบบอาศัยเพศที่เกิดจากการรวมกันของสองนิวเคลียสกลายเป็นไซโกตนิวเคลียส (Zygote nucleus) ที่มีโครโมโซม $2n$ หลังจากนั้นจึงแบ่งไมโอซิสได้นิวเคลียสที่มีโครโมโซม n กลายเป็นสปอร์ สปอร์แบบนี้มีจำนวนน้อยกว่าที่ได้จากสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ

4. การใช้ราในอุตสาหกรรม

มีผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่ใส่ราในการผลิต ที่สำคัญ คือ สารปฏิชีวนะเพนิซิลลิน ผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าวซึ่งใช้เป็นเครื่องชูรส (Food additive) และเอนไซม์ เช่น โปรติเอส อะไมเลส เพกติเนส ที่ใช้ในอุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ผลิตได้จากเชื้อราแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลผลิตทางอุตสาหกรรมที่ได้จากเชื้อรา

ผลผลิต	จุลินทรีย์	ประโยชน์
กรดซิตริก	<i>Aspergillus niger</i> หรือ <i>Aspergillus wentii</i>	ผลิตภัณฑ์อาหาร ชีตรดใช้ประโยชน์ ทางการค้าเกี่ยวกับการถนอมอาหาร
กรดฟูมาริก	<i>Rhizopus nigricans</i>	ผลิตอัลคิลเรซิน วัตถุทำให้เปื่อย
กรดกลูโคมิก	<i>Aspergillus niger</i>	ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชวิทยา การทอผ้า เครื่องหนัง ถ่ายภาพ
กรดอินโนลิก	<i>Aspergillus terreus</i>	ผลิตอัลคิลเรซิน วัตถุทำให้เปื่อย

ผลผลิต	จุลินทรีย์	ประโยชน์
เพคตินเอส	<i>Aspergillus wentii</i> หรือ	
โปรติเอส	<i>Aspergillus aureus</i>	
11-แกมมาไฮดรอกซี- โปรเจสเตอโรน	<i>Rhizopus arrhizus</i> หรือ <i>Rhizopus nigrican</i> และอื่นๆ	เป็นตัวกลางใน 17-แกมมาไฮดรอกซี- คอรัติโคสเตอโรน
กรดจิบเบอเรลลิก	<i>Fusarium moniliforme</i>	
กรดแลกติก	<i>Rhizopus oryzae</i>	อาหารและเภสัชผลิตภัณฑ์

ที่มา : นงลักษณ์ และ ปรีชา (2544)

5. สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

5.1 อุณหภูมิ (Temperature)

จุลินทรีย์มีความต้องการอุณหภูมิในการเจริญแตกต่างกัน อุณหภูมิที่จุลินทรีย์เจริญได้จะอยู่ระหว่างอุณหภูมิสูงสุด และอุณหภูมิต่ำสุด ซึ่งถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ จุลินทรีย์จะไม่เจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเรียกว่า อุณหภูมิเหมาะสม (Optimum temperature) อุณหภูมิทั้งสามชนิดนี้เรียกว่า อุณหภูมิคาร์ดินัล (Cardinal temperature) จะเห็นว่าจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญแตกต่างกัน สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม (นงลักษณ์ และ ปรีชา , 2544)

5.1.1 ไชโครไฟล์ (Psychrophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 15 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า พวกนี้จัดเป็นไชโครไฟล์ที่แท้จริง (Obligate psychrophile) อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญคือ 30 องศาเซลเซียส แต่บางพวกมีช่วงอุณหภูมิเหมาะสมระหว่าง 25 – 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดในการเจริญคือ 35 องศาเซลเซียส จึงจัดเป็นแฟคัลเตติฟไชโครไฟล์ (Facultative psychrophile)

5.1.2 มีโซไฟล์ (Mesophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางระหว่าง 25 – 40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญได้ที่ 5 – 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเหมาะสมที่ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ที่ 43 องศาเซลเซียส

5.1.3 เทอร์โมไฟล์ (Thermophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง ระหว่าง 45 – 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเหมาะสมอยู่ระหว่าง 50 - 55 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ระหว่าง 60 - 85 องศาเซลเซียส

5.2 ก๊าซ (Gases)

ก๊าซที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ คือ ออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เราสามารถจำแนกจุลินทรีย์ออกเป็น 4 กลุ่ม ตามความต้องการออกซิเจน ดังนี้ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

5.2.1 จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic microorganisms) มีความต้องการออกซิเจนเพื่อใช้สร้างพลังงาน เนื่องจากไม่สามารถสร้างพลังงานโดยกระบวนการหมักได้ จึงถือว่าเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนอย่างแท้จริง (Obligate aerobes)

5.2.2 จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ที่มีออกซิเจนหรือไม่ก็ได้ (Facultative microorganisms) พวกนี้สามารถสร้างพลังงานได้จากกระบวนการหายใจหรือกระบวนการหมัก และไม่จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการสังเคราะห์ต่างๆ

5.2.3 จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ที่มีออกซิเจนน้อย (Microaerophilic microorganisms) พวกนี้มีความต้องการออกซิเจนน้อยกว่า 0.2 บรรยากาศ อาจเนื่องจากออกซิเจนเป็นพิษต่อจุลินทรีย์เหล่านั้น

5.2.4 จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ที่ไม่มีออกซิเจน (Anaerobic microorganisms) เมื่อมีออกซิเจนทำให้จุลินทรีย์ชนิดนี้ใช้ออกซิเจนทำปฏิกิริยากับน้ำเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และจุลินทรีย์พวกนี้ไม่มีเอนไซม์คาตาเลส

5.3 ความเป็นกรด-เบส (Acidity or alkalinity , pH)

แบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรด-เบส ที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 ถึงแม้จะมีแบคทีเรียไม่กี่ชนิดที่สามารถเจริญได้ที่ความเป็นกรด-เบส ช่วงอื่น เราส่วนใหญ่และยีสต์เจริญได้ดีที่ความเป็นกรด-เบส ค่าและความเป็นกรด-เบส ที่เหมาะสมคือ 5 แต่อาจเจริญได้ที่ความ

เป็นกรด-เบส มากกว่า 7 จึงจัดเป็นพวกชอบกรดไม่แท้จริง (Facultative acidophile) ส่วน *Thiobacillus*, *Sulfolobus* และ *Thermoplasma* เจริญได้ที่เป็นกรด-เบส ดำมาๆคือ ค่าความเป็นกรด-เบส ประมาณ 2 พวกนี้จึงจัดเป็นพวกที่ชอบกรดอย่างแท้จริง (Obligate acidophile) ส่วนจุลินทรีย์บางพวกที่ชอบสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรด-เบส มากกว่า 7 จึงจัดเป็นพวกชอบเบส (Alkaliphile)

เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารไปนานๆจะทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสของอาหารเปลี่ยนไป เนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่เจริญปล่อยสารบางอย่างออกมา อาจเป็นกรดหรือเบส จึงทำให้ความเป็นกรด-เบสของอาหารเปลี่ยนไปมาก และไปขัดขวางการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย ดังนั้นในการเตรียมอาหาร จึงต้องใส่สารบางอย่างทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ (Buffer) ซึ่งเป็นสารต้านทานการเปลี่ยนความเป็นกรด-เบส ตัวอย่างสารที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ คือ โฟสเฟตเชิงซ้อนไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และไดโพสเฟตเชิงซ้อนไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

5.4 แรงดันออสโมติก (Osmotic pressure)

กระบวนการออสโมซิสเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารในสารละลายที่อยู่ในเซลล์และภายนอกเซลล์ไม่เท่ากัน ทำให้เกิดแรงดันออสโมติก

โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญได้ในที่มีเกลือเข้มข้น 10 ถึง 15 เปอร์เซ็นต์ หรือที่มีน้ำตาลเข้มข้น 50 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ จึงอาศัยหลักการนี้ในถนอมอาหารโดยการดองเค็มหรือแช่อิ่ม มีผลให้เซลล์ของจุลินทรีย์เหี่ยวและไม่สามารถเจริญได้ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

5.5 รังสี (Radiation)

ถึงแม้แสงสว่างจะจำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสงได้บางชนิด แต่แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่ต้องการแสง

ในปัจจุบันมีการประดิษฐ์หลอดที่ให้แสงอัลตราไวโอเลต ซึ่งมีความยาวคลื่น 2600 ถึง 2700 อังสตรอม หลอดนี้เรียกว่า U.V. lamp นิยมใช้กันมากเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ในห้องผ่าตัด ใน

โรงพยาบาล ในห้องปฏิบัติการของโรงงานเภสัชกรรม และในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและนม (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

รังสีอัลตราไวโอเลตมีความสามารถในการทะลุทะลวงต่ำมาก จึงสามารถใช้ฆ่าจุลินทรีย์ได้เฉพาะที่พื้นผิววัตถุเท่านั้น

5.6 ความกดดันเนื่องจากน้ำ (Hydrostatic pressure)

แบคทีเรียจากทะเลจะทนความกดดันได้ดีกว่าพวกบนบก หรืออยู่ในน้ำจึงความกดดันอาจมีผลทำให้รูปร่างของแบคทีเรียเปลี่ยนไป เชื้อบางชนิดจะสูญเสียแฟลกเจลลา และ บางชนิดอาจเจริญอยู่ได้แต่ไม่สามารถแบ่งตัวต่อไป (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

รา *Rhizopus oligosporus*

1. ลักษณะทั่วไปของรา *Rhizopus oligosporus*

Rhizopus oligosporus จัดเป็นราที่อยู่ใน Class Phycomyces (ปัญญูติ, 2534; Gupta, 1981; Alcama, 1983) มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมการหมัก รา *R. oligosporus* นี้ไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้เนื่องจากไม่มีคลอโรฟิลล์ การดำรงชีวิตส่วนมากจะอาศัยอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ รวมทั้งอาหารสำเร็จรูปที่ได้จากสิ่งมีชีวิต บางครั้งเรียกว่า Bread mold เพราะมักพบบ่อยในขนมปัง นอกจากนี้ยังพบในผักและผลไม้ที่เน่าเสีย (Hesseltine, 1979) รา *R. oligosporus* เจริญได้ดีที่ 25-37 องศาเซลเซียส ความชื้นปานกลางคือ 50-85 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-เบสประมาณ 6 และในสภาพที่มีอากาศโดยที่แสงไม่ใช่สิ่งจำเป็นในการเจริญ (Frazier, 1967) เซลล์ของรา *R. oligosporus* มีลักษณะทั่วไปเหมือนเซลล์พืช ประกอบด้วยโครงสร้างที่สำคัญ ดังนี้

1.1. ผนังเซลล์

ผนังเซลล์ของ *R. oligosporus* ทำหน้าที่เช่นเดียวกับพืชชั้นสูง โดยจะทำให้เซลล์คงรูปร่างอยู่ได้ ในราส่วนใหญ่รวมทั้ง *R. oligosporus* ด้วยจะมีผนังเซลล์ที่ประกอบไปด้วยสารพวกเซลลูโลสกับไคติน ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ของ N-acetyl-D-glucosamine ส่วนโปรตีนและไขมันที่ผนัง

เซลล์พบน้อยมาก แต่ที่ผนังเซลล์ของก้านชูสปอร์ (Sporangiophore) จะมีไขมันมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังพบกลีโคลินที่ผนังเซลล์อีกด้วย ทำให้ผนังเซลล์ทนต่อการถูกทำลายด้วยกรดได้ดี (Mehrotra, 1976; Alexopoulos and Mims, 1979)

1.2 เซลล์เมมเบรน (Cell membrane)

เซลล์เมมเบรนของ *R. oligosporus* ทำหน้าที่ห่อหุ้มโปรโตพลาสซึมและควบคุมการนำสารเข้าสู่ภายในเซลล์ ประกอบด้วยไขมันและโปรตีนที่จัดเรียงตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ Lipoprotein ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัดว่าประกอบด้วยโปรตีนชนิดใดบ้าง แต่พบว่ามีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการนำน้ำตาลและกรดอะมิโนเข้าสู่ภายในเซลล์ ไขมันและโปรตีนเหล่านี้จะมาจัดเรียงตัวเป็น Unit membrane ซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานของเซลล์เมมเบรน (Bilgrami and Verma, 1978)

1.3. ออแกเนลล์ (Organelle) ออแกเนลล์ที่พบใน *R. oligosporus* ก็เหมือนกับที่พบในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ดังนี้ (Bilgrami and Verma, 1978)

1.3.1. ไมโทคอนเดรีย ทำหน้าที่สร้างพลังงานในกระบวนการ Oxidative phosphorylation มีรูปร่างและจำนวนที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับช่วงระยะการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายนอก

1.3.2. เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม มีความสำคัญเกี่ยวกับการเจริญในด้านขยายขนาดและความยาวของเส้นใย เนื่องจากการเจริญของเส้นใยดังกล่าว ต้องการลิพิดและโปรตีนที่สังเคราะห์จากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดขรุขระไปใช้ในการสร้างส่วนประกอบอื่นๆ ของเซลล์

1.3.3. ไรโบโซม พบทั้งที่เป็นอิสระที่อยู่ในไซโตพลาสซึมและเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดขรุขระ ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีน ไรโบโซมที่เป็นอิสระในไซโตพลาสซึมจะสังเคราะห์โปรตีนที่นำไปใช้ควบคุมกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์ ส่วนไรโบโซมที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดขรุขระจะสังเคราะห์โปรตีนเพื่อนำไปใช้กับกิจกรรมภายนอกเซลล์

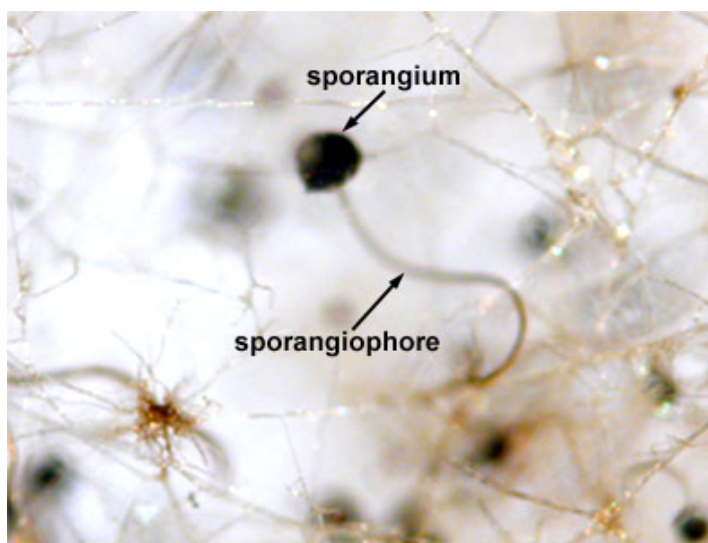
1.3.4. กอลจิแอปพาราตัส มีหน้าที่สังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่และสารประกอบเชิงซ้อนให้กับเซลล์ เช่น Lipoprotein ในเซลล์ปลายเส้นใยนั้นจะมีกอลจิแอปพาราตัสทำหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์เซลล์เมมเบรน

1.4. เซลล์ อินคลูชัน (Cell inclusion) ที่สำคัญในเซลล์ของ *R. oligosporus* ได้แก่ อาหารสะสม ซึ่งมีสองชนิดคือ ไกลโคเจนและลิพิด ไกลโคเจนจะพบมากที่สุดที่เซลล์ทั่วไปและเซลล์ของโครงสร้างที่ใช้สืบพันธุ์ ส่วนลิพิดจะพบมากในสปอร์และเป็นอาหารที่นำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ดี โดยทั่วไปแล้วไกลโคเจนและลิพิดจะพบมากในเซลล์ที่เจริญเต็มที่มากกว่าเซลล์ที่อายุน้อย ๆ (Bilgrami and Verma, 1978)

1.5. นิวเคลียส เซลล์ของ *R. oligosporus* จะมีนิวเคลียสกระจายอยู่ทั่วไป ซึ่งตามปกติเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมองไม่เห็นนิวเคลียสเนื่องจากมีขนาดเล็กและโปร่งแสง ต้องใช้วิธีการย้อมสีจึงจะเห็นได้ชัดเจน (Bilgrami and Verma, 1978)

รา *R. oligosporus* เป็นราจำพวกไซโกไมโคตินา (Zygomycotina) ซึ่งโดยปกติเป็นราที่สร้างเส้นใย สืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ สปอร์ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ อยู่ภายในอับสปอร์ (Sporangium) ซึ่งอยู่บนก้านชูสปอร์ (Sporangiophore) สำหรับสปอร์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะเรียกว่า ไซโกสปอร์ (Zygospore) (Deacon, 1997) ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารไคโตซานและไคตินทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงกับเซลล์

รา *R. oligosporus* เป็นราที่มีโครงสร้างพิเศษ คือ มีสโตลอน (Stolon) และตรงโคนด้านอับสปอร์จะพบลักษณะคล้ายรากในพืชชั้นสูง เรียกว่า ไรซอยด์ (Rhizoid) ซึ่งเป็นเส้นใยสั้น ๆ ที่มีจุดกำเนิดมาจากตำแหน่งเดียวกัน โดยจะเกิดตรงจุดที่เส้นใยสัมผัสกับอาหารที่มีผิวแห้ง ทำหน้าที่ในการยึดเกาะกับอาหาร และช่วยดูดซึมอาหารและอินทรีย์วัตถุต่าง ๆ เข้าสู่เส้นใย (Bilgrami and Verma, 1978)



ภาพที่ 2 ลักษณะรา *Rhizopus* ถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ที่มา: www.student.ccbcmd.edu

รา *R. oligosporus* เป็นราที่มีโครงสร้างเป็นเส้นใย โดยเส้นใยจะมีการเพิ่มจำนวนและรวมกลุ่มกันจนมีขนาดใหญ่ และมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเรียกว่า ไมซีเลียม (Mycelium) ซึ่งมีลักษณะคล้ายปุยฝ้ายแผ่กระจายเต็มภาชนะ เรียกลักษณะนี้ว่า Fluffy (Frazier, 1967) เส้นใยของรา *R. oligosporus* นั้นจะเป็นเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น (Non-septate hypha) ทำให้เส้นใยมีลักษณะเป็นท่อทะลุถึงกันโดยตลอด หรือเป็นเซลล์ที่ยาวและมีหลายนิวเคลียส เพราะมีไซโตพลาสซึมต่อเนื่องกัน และนิวเคลียสอยู่ปะปนกัน เรียกเส้นใยแบบนี้ว่า Coenocytic hypha (Bilgrami and Verma, 1978)

เส้นใยของ *R. oligosporus* มีการเจริญได้สองทิศทาง ในตามขวางจะเจริญไปอย่างเต็มที่แล้วจึงหยุดเจริญ ส่วนการเจริญตามยาวของเส้นใยจะขยายออกไปและแตกแขนงอย่างไม่จำกัดราบเท่าที่สภาวะแวดล้อมยังเหมาะสม เส้นใยที่มารวมเป็นไมซีเลียมจะประกอบด้วยสองส่วน ส่วนแรกเป็นไมซีเลียมที่ยึดเกาะกับอาหารเรียกว่า Vegetative mycelium ทำหน้าที่ดูดสารอาหารไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ และส่วนที่สองเป็นไมซีเลียมที่ขึ้นไปในอากาศ เรียกว่า Aerial mycelium หรือ Reproductive mycelium ทำหน้าที่สร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ (Bilgrami and Verma, 1978)

รา *R. oligosporus* ส่วนใหญ่จะมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ ซึ่งจะเกิดตรงข้อ (Node) เช่นเดียวกับไรซอยด์ สปอร์ที่เกิดจากปลายเส้นใยจะพองออกเป็นกระเปาะ แล้ว

ต่อมาผนังกันเกิดขึ้นภายในกระเปาะซึ่งจะมีผนังหนาและเจริญเป็นอับสปอร์ (Sporangium) ส่วนเส้นใยเรียกว่าก้านชูสปอร์ (Sporangiophore) นิวเคลียสภายในอับสปอร์จะมีการแบ่งตัวหลาย ๆ ครั้ง โดยมีส่วนของโปรโตพลาสซึมและผนังหนามาห่อหุ้มกลายเป็นสปอร์ที่เรียกว่า Sporangiospore จำนวนมากมาย เมื่ออับสปอร์แตกจะทำให้สปอร์เหล่านี้แพร่กระจายและเจริญเป็นเส้นใยใหม่เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสม ในบางครั้ง *R. oligosporus* อาจสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยก็ได้ โดยการสร้างสปอร์ที่เรียกว่าไซโกตสปอร์ ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของนิวเคลียสของเส้นใยสองสายที่มาพบกันแล้วสร้างผนังหนาขึ้นมาห่อหุ้ม ทำให้ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี (Bilgrami and Verma, 1978; Ross, 1979)

2. การนำรา *Rhizopus oligosporus* ไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม

มีการนำรา *Rhizopus* sp. ไปใช้งานในด้านอุตสาหกรรมได้หลายประเภท เช่น เพื่อการหมักให้เกิดกลิ่นรสที่น่าบริโภค การย่อยสลายอินทรีย์สาร การผลิตเอนไซม์ และการผลิตกรดอินทรีย์ เป็นต้น ในปัจจุบันมีการนำ *R. oligosporus* ซึ่งเป็นราที่ใช้หมักอาหารพื้นเมืองของประเทศอินโดนีเซียที่เรียกว่า เทมเป้เพื่อเพิ่มกลิ่นรสและคุณค่าทางโภชนาการ มาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอนไซม์หลากหลายชนิด ได้แก่ อะไมเลส โปรติเอส ไลเปส ซึ่งทำหน้าที่ไฮโดรไลสสารอาหารจำพวกโพลีแซคคาไรด์ โปรตีนและไขมัน (Steinkraus, 1995, 1996, 1997) และสามารถแบ่งจำแนกการใช้ประโยชน์ของ *R. oligosporus* ได้ดังนี้

2.1. การเพิ่มปริมาณโปรตีน

เทมเป้ของประเทศอินโดนีเซียซึ่งทำจากแป้งข้าวเจ้าที่ถูกไฮโดรไลสไปเป็นน้ำตาลมอลโตสและกลูโคส จากนั้นจะถูกหมักต่อไปเป็นแอลกอฮอล์ การสูญเสียแป้งที่เป็นของแข็งร่วมกับการเพิ่มจำนวนของไมซีเลียมมีผลให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้นเป็นสองเท่า (จาก 8 เปอร์เซ็นต์ไปเป็น 16 เปอร์เซ็นต์ในข้าว) เมื่อเทียบจากน้ำหนักแห้ง (Cronk *et al.*, 1977) ดังนั้นกระบวนการนี้ทำให้ปริมาณโปรตีนของแป้งที่เป็นสารตั้งต้นเพิ่มขึ้น เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคที่ต้องการรับประทานอาหารที่มีปริมาณโปรตีนสูง

ชาคร (2548) ได้ทำการทดลองเพิ่มโปรตีนให้กับวัสดุหมัก โดยใช้รา *R. oligosporus* ร่วมกับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* หมักกับกากมันสำปะหลังสด ชั่งข้าวโพด และกากปาล์ม ด้วยอัตราส่วน 70 ต่อ 20 ต่อ 10 โดยเติมกากน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ และยูเรีย 1.6 เปอร์เซ็นต์ ใช้

ปริมาณต้นเชื้อรา 30 เปอร์เซ็นต์ และยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนจาก 9 เปอร์เซ็นต์เป็น 13.2 เปอร์เซ็นต์ในการหมัก 72 ชั่วโมง

2.2 . การผลิตเอนไซม์

ในระหว่างการเจริญเติบโตของราพบว่า *Rhizopus* sp. สามารถผลิตเอนไซม์ซึ่งถือเป็นสารเมแทบอลิท์ปฐมภูมิซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญของรา โดยชนิดของเอนไซม์ที่สร้างขึ้นในระหว่างเจริญจะขึ้นกับชนิดของวัสดุหมักที่ใช้ เนื่องจากราจะสร้างเอนไซม์และขับออกมานอกเซลล์เพื่อช่วยย่อยวัสดุหมักซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ตัวอย่างเช่น เมื่อเลี้ยงราบางชนิดบนวัสดุหมักที่เป็นแป้ง จะสามารถตรวจพบผลผลิตของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยแป้ง ได้แก่ อะไมเลส กลูโคอะไมเลส หรือแอลฟาอะไมเลส เป็นต้น (Raimbault, 1998) ทั้งนี้ปริมาณและประสิทธิภาพของเอนไซม์ที่ได้จากการหมักจะได้รับอิทธิพลจากสภาวะแวดล้อมอย่างมาก ได้แก่ ความเป็นกรด-เบส ความชื้น อุณหภูมิ

Han *et al.* (2002) ได้ทดลองหมักเต้าหู้ด้วย *Actinomucor elegans* และ *Rhizopus oligosporus* จากนั้นจึงเปรียบเทียบผลผลิตของเอนไซม์โปรติเอส ไลเปส และกลูตามิเนส พบว่า *R. oligosporus* ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียสสามารถผลิตเอนไซม์ทั้งสามชนิดได้ปริมาณใกล้เคียงกับ *A. Elegans* จึงสามารถนำมาใช้ทดแทน *A. Elegans* ได้ในช่วงฤดูร้อน

รา *R. oligosporus* สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น อะไมเลส โปรติเอส ไฟเตส ไซแลนเนส เซลลูเลส ไคติเนส ไลเปส ฯลฯ (Yanai *et al.*, 1992; Ikasari and Mitchell, 1996; Sabu *et al.*, 2002; Pandey *et al.*, 2004)

2.3. การผลิตกรดอินทรีย์

สำหรับการผลิตกรดอินทรีย์ของ *Rhizopus* sp. ระหว่างการเจริญนั้นมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนหรือชีวมวล (Biomass) โดยกรดอินทรีย์ที่ *Rhizopus* sp. สามารถผลิตได้ ยกตัวอย่างเช่น กรดแลกติก ฟิวมาริก และอะซิติก (Soccol, 1992)

เอนไซม์ (Enzyme)

1. ความหมายของเอนไซม์

เอนไซม์หลายชนิดประกอบด้วยโปรตีนกับสารอินทรีย์อื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่เรียกว่า โคเอนไซม์ (Coenzyme) ส่วนที่เป็นโปรตีนเรียกว่าอะโปเอนไซม์ (Apoenzyme) เมื่อรวมกันจึงเป็น เอนไซม์ที่สมบูรณ์ที่เรียกว่า โฮโลเอนไซม์ (Holoenzyme) เอนไซม์อาจถูกทำลายด้วยความร้อน ตกตะกอนด้วยเอทานอลหรือเกลืออนินทรีย์ที่เข้มข้น เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต และไม่สามารถ ไดอะไลซ์ (Dialyze) ผ่านเยื่อเลือกผ่านได้ นอกจากนี้ยังมีความเฉพาะเจาะจง (Specificity) อย่างสูง ต่อวัสดุหมัก ซึ่งเป็นสารที่เอนไซม์ไปเร่งปฏิกิริยา และมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาได้สูง (High catalytic efficiency) (นงลักษณ์และปรีชา, 2544)

2. ชนิดของเอนไซม์

2.1 แบ่งตามลักษณะการสร้างเอนไซม์

2.1.1 เอนไซม์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้น (Inductive enzyme) เอนไซม์ชนิดนี้จะเกิดขึ้นได้เมื่อมีสารอาหารหรือวัสดุหมัก ซึ่งจะเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เซลล์สร้างเอนไซม์ ถ้าไม่มีวัสดุหมัก ชนิดนี้ เซลล์จะไม่สร้างเอนไซม์ดังกล่าวและเรียกวัดูดหมัก นี้ว่า ตัวเหนี่ยวนำ (Inducer)

2.2.2 เอนไซม์ที่มีอยู่ประจำ (Constitutive enzyme) เป็นเอนไซม์ที่เซลล์สร้างได้เองเป็นประจำ โดยไม่ขึ้นอยู่กับสารอาหารหรือวัสดุหมัก

2.2 แบ่งตามแหล่งที่เอนไซม์ทำงาน

2.2.1 เอนไซม์ที่สร้างขึ้นภายในเซลล์แล้วถูกขับออกมาทำงานภายนอกเซลล์ เรียกว่า เอกซ์ตราเซลล์ูลาร์เอนไซม์ (Extracellular enzyme) หรือ เอกโซเอนไซม์ (Exoenzyme) เมื่อทำปฏิกิริยากับวัสดุหมัก แล้วทำให้โมเลกุลเล็กลงจนเข้าสู่เซลล์ได้ ตัวอย่างเอนไซม์ เช่น โปรตีนเนส เจลาติเนส มอลเทส เป็นต้น

2.2.2 เอนไซม์ที่สร้างขึ้นและทำงานภายในเซลล์โดยทำปฏิกิริยากับวัสดุหมัก ภายในเซลล์ เรียกว่า อินตราเซลล์ูลาร์เอนไซม์ (Intracellular enzyme) หรือ เอนโดเอนไซม์ (Endoenzyme) ตัวอย่างเอนไซม์ เช่น ไฮโดรเลส ออกซิเดส

3. แหล่งของเอนไซม์ในอุตสาหกรรม

สิ่งมีชีวิตทุกชนิด ทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ สามารถผลิตเอนไซม์ได้แต่แหล่งผลิตเอนไซม์ที่สำคัญในอุตสาหกรรมในปัจจุบัน ได้แก่ จุลินทรีย์ เนื่องจากมีข้อดีหลายประการดังนี้คือ (สมใจ, 2537)

3.1 จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ปริมาณมากได้ในระยะเวลาสั้น โดยใช้ต้นทุนต่ำกว่าการผลิตจากพืชและสัตว์ เพราะจุลินทรีย์มีการเจริญและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนั้นยังมีขนาดเล็ก จึงใช้พื้นที่น้อย นอกจากนั้นยังสามารถเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อราคาถูก และผลิตได้ตลอดเวลาโดยไม่ขึ้นกับฤดูกาล

3.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ที่ต้องการทำได้โดยวิธีการง่าย ๆ และเวลาไม่นานนัก

3.3 จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาชนิดเดียวกันได้ แต่มีสมบัติบางอย่างต่างกัน จึงสามารถเลือกใช้เอนไซม์ที่เหมาะสม ในสภาวะที่แตกต่างกันได้ตามต้องการ

3.4 การเพิ่มผลผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์โดยการปรับปรุงพันธุกรรม หรือโดยการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมสามารถทำได้ง่ายกว่า สิ่งมีชีวิตอื่น

4. การผลิตเอนไซม์ (Enzyme production)

มีราหลายชนิดที่สามารถผลิตและขับเอนไซม์ออกจากเซลล์มาอยู่ในอาหารหรือวัสดุหมัก ในทางอุตสาหกรรมเลี้ยงราให้สร้างเอนไซม์ และทำให้เอนไซม์ที่ได้บริสุทธิ์ ราที่นิยมใช้ ได้แก่ *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* เอนไซม์ที่ราผลิตได้ เช่น อะไมเลส อินเวอร์เทส โปรติเอส เพกติเนส ซึ่งใช้ในการย่อยสลายสารต่างๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5

5. เอนไซม์อะไมเลส

อะไมเลสเป็น เอนไซม์จากเซลล์ของ เอนไซม์ ที่สามารถย่อยแป้งได้หลายลักษณะ ขึ้นอยู่กับว่าจะย่อยแป้งที่ตำแหน่งใด แป้งที่ประกอบด้วยกลูแคน (Glucan) 2 ชนิดคือ อะไมเลส (ประกอบด้วยหน่วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วย พันธะแอลฟา 1,4) และอะไมโลเพคติน (เป็นอะไมเลสที่มีโซ่กิ่งเพิ่มขึ้นโดยมีพันธะ 1,6 เป็นตัวเชื่อม) เอนไซม์อะไมเลสสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทตามตำแหน่งการย่อยแป้ง ได้แก่ (ดวงพร, 2530)

5.1 เอนโดอะไมเลส (Endoamylase) เป็นอะไมเลสประเภทที่ย่อยแป้งแบบสุ่มที่พันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิมิกของอะไมเลส หรืออะไมโลเพคติน แต่ไม่ย่อยที่พันธะ 1,6 กลูโคซิมิกของอะไมโลเพคตินถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้มอลโทสและกลูโคส แต่ถ้าไม่สมบูรณ์จะได้กลูโคส มอลโทส และเดกซ์ทริน เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้แก่แบคทีเรียพวก *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas saccharophila* และ *Clostridium sp.* และราพวก *Aspergillus oryzae* และ *A. niger*

5.2 เอกโซอะไมเลส (Exoamylase) เป็นอะไมเลสประเภทที่ย่อยแป้งจาก Non-reducing end เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ เบต้าอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส (Amyloglucosidase) โดยเบต้าอะไมเลสจะย่อยแป้งที่ตำแหน่งพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิมิก เข้าไปที่ละ 2 หน่วยของกลูโคส ทำให้ได้น้ำตาลมอลโทส และ Limit dextrin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปนอยู่ด้วย จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้ส่วนใหญ่จะเป็นพวกแบคทีเรีย เช่น *B. cereus* และ *B. megaterium* สำหรับกลูโคอะไมเลสนั้นสามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์จาก Non-reducing end ที่ตำแหน่งต่างๆคือที่พันธะ 1,6- และ แอลฟา 1,4 กลูโคซิมิก ทำให้ได้น้ำตาลกลูโคสโดยไม่มีเดกซ์ทรินหรือมอลโทสปนมาด้วย จุลินทรีย์ที่มีการผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ปริมาณมากคือราพวก *Aspergillus sp.* และ *Rhizopus sp.* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *A. awamori* สามารถผลิตกลูโคอะไมเลสในปริมาณมาก โดยไม่มีการผลิต Transglucosidase นอกจากราแล้ว ยีสต์และแบคทีเรียก็สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เช่น *Endomycopsis fibuliger*, *Aerobacter* และ *Clostridium* (คุษณี, 2537)

ตารางที่ 5 เอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตอาหาร

เอนไซม์	แหล่ง	ปฏิกิริยา	ประโยชน์
อะไมเลส	<i>Aspergillus</i>	ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล	ผลิตเบียร์ น้ำเชื่อม
อินเวอร์เทส	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ย่อยซูโครสเป็นกลูโคส และฟรักโทส	ทำลูกกวาด
เพกตินเอส	<i>Aspergillus</i>	ย่อยเพกตินเป็นน้ำตาล และกรดกาแลกทูโรนิก	เตรียมน้ำผลไม้เข้มข้น
เรนิน	<i>Endothia, Mucor</i>	ตกตะกอนเคซีน	ทำเนยแข็ง (ช่วยให้เป็นเคิร์ด)
โปรติเอส	<i>Bacillus, Aspergillus</i>	ไฮโดรไลซ์โปรตีน	ทำให้เนื้อนุ่ม
ไลอะเซตลรีดักเทส	<i>Enterobacter aerogenes</i>	กำจัดอะซิติก	ป้องกันเบียร์และน้ำผลไม้ไม่ให้เสียรสชาติ

ที่มา : นงลักษณ์ และ ปรีชา 2544

ปริมาณและค่ากิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสจะแตกต่างกันตาม Strain, Species และชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการผลิต วัตถุดิบที่ใช้สำหรับการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีในการผลิตด้วย (ปรีชาต, 2520)

Roby and Ackerman (1971) พบว่า *Pseudomonas stutzeri* สามารถผลิตอะไมเลสที่มีค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมเท่ากับ 10.5 Devi and Yegerswaran (1999) พบว่า *Micrococcus halobius* OR-1 ผลิตอะไมเลสและพอลิกลูตาเนสที่ย่อยสลายแป้งที่มีความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 90 นาที และเอนไซม์มีค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมเท่ากับ 8 และมีเสถียรภาพในช่วงความเป็นกรด-เบส 6 - 12

Mountfort and Asher (1988) ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากรา *Neocallimastix frontalis* พบว่ามีคุณสมบัติในการทำงานที่เหมาะสมที่ค่าความเป็นกรด-เบส 5.5 และอุณหภูมิ 55

องศาเซลเซียส และย่อยแป้งได้ผลิตภัณฑ์หลักคือ Maltotriose, Maltotetraose และ Oligosaccharide ที่เป็นสายยาว

Ramachandran *et al.* (2004) ทำการศึกษาการผลิตแอลฟาอะไมเลสจากตะกอนของน้ำมันมะพร้าวด้วยรา *Aspergillus oryzae* โดยการหมักแบบแห้ง พบว่าเมื่อใช้ตะกอนของน้ำมันมะพร้าวอย่างเดียวยสามารถผลิตแอลฟาอะไมเลสได้ 1,372 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ในช่วงเวลาการผลิตที่ 24 และเมื่อมีการเติมอาหารเสริม โดยเติม 0.5 เปอร์เซ็นต์แป้งและ 1 เปอร์เซ็นต์เปปโตน ทำให้เพิ่มการผลิตแอลฟาอะไมเลสเป็น 3,388 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง

6. กระบวนการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากจุลินทรีย์

การผลิตอะไมเลสระดับอุตสาหกรรมจากจุลินทรีย์ มีทั้งราและแบคทีเรีย (ตารางที่ 6) สำหรับราได้แก่ *Rhizopus* sp. , *A. oryzae*, *A. niger* และ *A. candidus* ส่วนแบคทีเรีย ได้แก่ *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. coagulans*, *Clostridium* sp. และ *Ps. Saccharophila* ในปี ค.ศ. 1965 ที่สหรัฐอเมริกาได้มีการผลิตอะไมเลสเป็นอุตสาหกรรมโดยใช้รา *A. oryzae* เรียกชื่อทางการค้าของเอนไซม์ว่า Taka-amylase (ดวงพร, 2530)

วิธีที่ใช้ในการผลิตอะไมเลสจากจุลินทรีย์โดยทั่วไปแบ่งเป็น 2 วิธีใหญ่ๆ คือ

6.1 กระบวนการหมักในอาหารเหลว นิยมใช้ในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากแบคทีเรียและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากรา โดยเลี้ยงในถังหมักขนาดใหญ่ อาหารที่ใช้เลี้ยงจะฆ่าเชื้อด้วยการใช้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 100-115 องศาเซลเซียส นาน 15-30 นาที ปริมาณต้นเชื้อ 3-5 เปอร์เซ็นต์ จะต้องควบคุมการให้อากาศและการกวน วิธีนี้จะใช้ระยะเวลาสั้นในการเพิ่มปริมาณการผลิตและควบคุมสภาพต่างๆ ได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือมีโอกาสปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นได้ง่ายและประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ลดลงจึงจำเป็นต้องคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงๆ อยู่เสมอ (ดวงพร, 2530)

6.2 กระบวนการหมักแบบแห้ง วิธีนี้นิยมใช้กับรามากว่าแบคทีเรีย โดยจะเลี้ยงเชื้อในสภาพที่เป็น Mold bran คือในรำข้าวที่มีความชื้นประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และจะแบ่งเป็นวิธีย่อยต่างๆ กัน ขึ้นกับภาชนะที่ใช้ เช่น Drum method (ใช้ท่อกระบอก) Tray-Chamber method (ใช้ถาด) วิธีนี้ดีที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด แต่มีข้อเสียคือต้องใช้แรงงานมากกว่าแบบการหมักในอาหาร

เหลว แต่ก็เหมาะสำหรับประเทศที่มีค่าแรงงานถูก มีโอกาสในการแปรรูปจากจุลินทรีย์อื่นง่ายกว่า การเลี้ยงแบบการหมักในอาหารเหลว (ดวงพร, 2530)

7. การนำเอนไซม์อะไมเลสไปใช้ประโยชน์

อุตสาหกรรมที่ใช้เอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ (ดวงพร, 2530)

7.1 อุตสาหกรรมทอผ้าในการทอผ้าจะต้องนำด้ายดิบมาจึงให้ตั้งบนเครื่องทอผ้า ซึ่งจะทำให้ด้ายดิบขาดได้ง่าย ดังนั้นก่อนที่จะทำการทอต้องนำเส้นด้ายไปชุบน้ำแป้ง เพื่อให้เส้นด้ายมีความทนทานต่อแรงดึง หลังจากทอผ้าเป็นผืนจึงต้องเอาแป้งที่ตกค้างออกโดยใช้เอนไซม์อะไมเลสย่อย จากนั้นนำไปซักด้วยน้ำร้อนเพื่อทำลายเอนไซม์ วิธีนี้ใช้กับการทอผ้าจากฝ้าย ขนแกะ และแพรเทียม

7.2 อุตสาหกรรมทำขนมปัง แป้งที่ใช้ในการผลิตขนมปังจะมีการเติมเอนไซม์อะไมเลส ชนิด Dextrinogenic enzyme ลงไป เพื่อย่อยโมเลกุลให้เล็กลง จากนั้นจะมีการเติมอะไมเลส ชนิด Saccharogenic enzyme ลงไป เพื่อเปลี่ยนแป้งบางส่วนให้เป็นน้ำตาล

7.3 การทำน้ำผลไม้ให้ใส บางครั้งน้ำผลไม้คั้นอาจมีความขุ่นเพราะมีปริมาณแป้งสูง จึงต้องใส่เอนไซม์อะไมเลสลงไป บ่มไว้นาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 – 90 ฟาเรนไฮต์

7.4 การผลิตแอลกอฮอล์ และเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ ใช้เป็นครั้งแรกในประเทศจีน โดยทำการผลิตแอลกอฮอล์จากราที่ย่อยให้เป็นน้ำตาล หลังจากนั้นประเทศญี่ปุ่นก็นำหลักการนี้มาผลิตแอลกอฮอล์เมื่อประมาณ 1,700 ปีมาแล้ว ซึ่งจะแตกต่างจากประเทศทางยุโรปและอเมริกาที่จะใช้ข้าวมอลต์ แต่ปัจจุบันหันมาใช้เอนไซม์จากราแทนเอนไซม์จากมอลต์

7.5 การผลิตกลูโคสและน้ำเชื่อมจากแป้ง โดยในระยะแรกของการผลิตกลูโคสและน้ำตาลอื่นๆ จะใช้วิธีการย่อยแป้งด้วยกรด เกิดการย่อยแบบสุ่มจึงได้สารหลายชนิด เช่น กลูโคส มอลโทส ทำให้เกิดสารเจเนติโอไบโอส ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสไม่ดีเกิดขึ้น ดังนั้นปัจจุบันการผลิตน้ำเชื่อมจากแป้งโดยใช้เอนไซม์เป็นที่นิยมกันมาก โดยเฉพาะการผลิตกลูโคสและน้ำเชื่อมที่มีกลูโคส

ตารางที่ 6 คุณสมบัติของเอนไซม์อะไมเลสจากแหล่งต่างๆ

คุณสมบัติ	แบคทีเรีย		รา		อื่นๆ	
	Liquefying	Saccharifying	Rhizopus	A. oryzae A. niger	Endomycopsis	Oospora
อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)	65-90	55-70	50-65	55-70	35	50-70
ค่าความเป็นกรด-เบส	4.8-10.6	4.0-7.8	5.4-7.0	4.7-9.5	6.0-7.5	6.0-10.5
ค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสม	5.4-6.0	4.8-5.2	3.6	4.9-5.2	5.4	5.6
ค่ากิจกรรมอะไมเลส (ต่อมิลลิกรัม)	1,800	1,190	475	980	760	970
อัตราส่วนไฮโดรไลซิสสูงสุด(%)	35	70	48	48	90	37
ผลิตภัณฑ์หลัก	เด็คตริน	มอลโทส	มอลโทส	มอลโทส	กลูโคส	เด็คตริน
	มอลโทส	กลูโคส				มอลโทส
		มอลโทไตรโอส				

ที่มา : Windish and Mhatre (1965)

กระบวนการหมัก

1. ลักษณะทั่วไปของการหมัก

การหมัก (Fermentation) คือ “ กระบวนการแปรรูปทางชีวเคมี ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ ” (สมใจ, 2537) การหมักในอุตสาหกรรมจะมีจุดประสงค์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นประโยชน์ หรือมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ทั้งนี้การหมักอาจเกิดขึ้นในสภาวะที่มีการให้อากาศเต็มที่หรือเพียงเล็กน้อยหรือปราศจากอากาศ มีวิธีการเพาะเลี้ยง 2 แบบ ซึ่งแบ่งตามลักษณะปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ

1.1. การหมักโดยใช้อาหารเหลว (Submerged fermentation; SmF)

กระบวนการหมักที่ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเหลว เช่น การหมักแอลกอฮอล์ และน้ำส้มสายชู

1.2. การหมักโดยใช้อาหารแข็งหรือการหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation; SSF)

เป็นกระบวนการหมักบนวัสดุที่เป็นของแข็ง ซึ่งไม่มีน้ำอิสระที่ใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ เพราะฉะนั้นน้ำที่อยู่ในกระบวนการหมักนี้ จึงอยู่ในสภาพของความชื้นที่อยู่ในวัสดุหมัก โดยถ้าความชื้นในกระบวนการนี้ต่ำกว่า 12 เปอร์เซ็นต์แล้ว จุลินทรีย์จะหยุดการเจริญ การหมักแบบแห้งนี้ไม่รวมกระบวนการหมักในของเหลวที่มีของแข็งที่ไม่ละลายน้ำปนอยู่ หรือการหมักของแข็งในอาหารเหลว การหมักแบบแห้งนี้วัตถุดิบส่วนใหญ่ ได้แก่ เมล็ดธัญพืช (เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และถั่วเหลือง) รำข้าวสาลี วัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลส (เช่น ไม้ ฟางข้าว) รวมทั้งของเสียจากกระบวนการผลิตอาหาร (Smith and Aidoo, 1988; คุษณี, 2537) วัตถุดิบจำพวกนี้ส่วนใหญ่โมเลกุลจะใหญ่จึงไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้น้อย และมีปริมาณมาก หาง่าย ราคาถูก และมีสารอาหารในปริมาณมาก

2. ขั้นตอนพื้นฐานของการหมัก

ขั้นตอนพื้นฐานของการหมัก สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ขั้นตอนดังนี้ (วรารุติ, 2529)

2.1 การเตรียมวัตถุดิบหรือวัสดุหมัก (Rawmaterial preparation)

ขึ้นกับชนิดของวัสดุหมักที่ใช้ ถ้าเป็นวัสดุหมักที่ใช้ได้ยากเช่น เซลลูโลส จะต้องนำไปผ่านกระบวนการที่ทำให้วัสดุหมักอยู่ในสภาพที่เหมาะสมกับการหมักต่อไปก่อน เช่น บดย่อย เป็นต้น

2.2 การหมัก (Fermentation)

สิ่งสำคัญประการหนึ่งในช่วงการหมักคือ การเตรียมหัวเชื้อ (Inoculum) ซึ่งเป็นการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ให้แข็งแรงและมีปริมาณเพียงพอต่อการหมัก จากนั้นนำวัสดุหมักที่เตรียมพร้อมแล้วนำมาเชื้อ ก่อนถ่ายเชื้อลงในถังหมัก (Fermentor) แล้วจึงปรับและควบคุมสภาวะของการหมักให้เหมาะสม

2.3 การแยกผลิตภัณฑ์ และการทำให้บริสุทธิ์ (Product isolation and Product purification)

เป็นขั้นตอนการแยกผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาโดยวิธีการต่างๆ เช่น การกรอง, การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นต้น เมื่อแยกผลิตภัณฑ์ได้ออกมาแล้ว นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยอาศัยเทคนิคทางโครมาโตกราฟี เช่น Adsorption chromatography, Gel chromatography เป็นต้น

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักแบบแห้ง

กระบวนการหมักแบบครั้งคราว แบบต่อเนื่อง หรือแบบอื่น ๆ จะสามารถดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพและประหยัดต้นทุนมากที่สุด จำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ (บุษบา, 2540)

3.1 ปัจจัยภายใน ควรพิจารณาถึงสิ่งเหล่านี้และเลือกควบคุมเฉพาะปัจจัยที่ควบคุมได้ เช่น

- การเจริญของเซลล์ จะมีผลต่อผลิตผลที่ต้องการ เช่น สารเมแทบอลิท์ปฐมภูมิจะเกี่ยวข้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ (Growth associated) แต่สารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิจะไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ (Non-growth associated)

- การเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของจุลินทรีย์

- การใช้วัสดุหมัก

- การตายของจุลินทรีย์เป็นผลมาจากสารยับยั้ง การย่อยสลายตัวเอง ความเสียหายจากไบโพัด หรือกลไกต่าง ๆ

- การสะสมของสารเมแทบอลิท์

- การใช้ออกซิเจนและความเข้มข้นของออกซิเจนละลายน้ำ

- การเกิดคาร์บอนไดออกไซด์

- กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง

- การเกิดฟองและการทำลายฟอง

- ความเป็นกรด-เบส และรีดอกซ์โพเทนเชียล (Redox potentials)

- ความหนืด หรือความสม่ำเสมอของอาหาร

- การกระจายความเข้มข้นในอาหาร

- ความร้อนในระหว่างการหมัก

- ลักษณะการไหลของอาหาร

3.2 ปัจจัยภายนอก โดยทั่วไปต้องควบคุมปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการคงสภาพของปัจจัยภายใน เช่น

- การถ่ายเชื้อ

- ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

- การทำอาหารให้ปราศจากเชื้อ

- อุณหภูมิ และการระบายความร้อน

- การเกิดฟองอากาศในอาหาร

- การกวนและการให้อากาศ

- ความดันอากาศภายในถังหมัก

4. กระบวนการหมักแบบแห้ง

เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์หรือการหมักบนวัสดุหมักที่เป็นของแข็ง โดยน้ำในระบบจะอยู่ในรูปความชื้นภายในวัสดุหมักและไม่มีน้ำออกมาภายนอกวัสดุหมักหรือมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Boyette *et al.*, 1991; Morin, 1992) วัสดุหมักที่ใช้หมักนี้ได้แก่ เมล็ดธัญพืช ข้าวสาลี รวมทั้งของเสียจากกระบวนการผลิตอาหาร (Smith, 1985; Mudgett, 1986)

5. ข้อดีและข้อเสียของกระบวนการหมักแบบแห้ง

เมื่อเปรียบเทียบการหมักบนแบบแห้งและอาหารเหลว พบว่ากระบวนการหมักแบบแห้งมีข้อดีและข้อเสีย ดังนี้ (Hesseltine, 1972; Mitchell *et al.*, 1992)

ข้อดีของการหมักแบบแห้ง

1. วัสดุหมักที่ใช้ในกระบวนการสามารถหาได้ง่าย เช่น ข้าวเจ้า ข้าวสาลี และผ่านขั้นตอนการเตรียมก่อนใช้งานน้อยกว่าอาหารเหลว
2. วัสดุหมักที่ใช้ในกระบวนการส่วนใหญ่จะต้องเติมน้ำ เพื่อปรับความชื้นให้เหมาะสมเท่านั้น แต่อาจมีการเติมสารอาหารอื่น ๆ ลงไปด้วยก็ได้
3. ต้องการพื้นที่ในการติดตั้งเครื่องมือที่ใช้ในการหมักไม่มาก
4. เครื่องมือที่ใช้สำหรับการขยายสู่ระดับอุตสาหกรรมไม่ยุ่งยากและไม่แตกต่างจากที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
5. ปริมาตรของถังหมักที่ใช้มีขนาดเล็ก เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตที่ได้จากกระบวนการ เนื่องจากใช้น้ำในปริมาณน้อยและมีสารอาหารอยู่ในปริมาณเข้มข้น ทำให้ค่าใช้จ่ายในการลงทุนและปฏิบัติการน้อยลง
6. หัวเชื้อที่ใช้อยู่ในรูปของสปอร์ จึงไม่จำเป็นต้องมีถังหมักสำหรับการเตรียมหัวเชื้อ (Seed tank) ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายลงได้

7. อาหารที่ใช้ในกระบวนการมีปริมาณความชื้นต่ำ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ โดยเฉพาะยีสต์และแบคทีเรีย ทำให้ไม่มีความจำเป็นต้องเข้มงวดเรื่องการฆ่าเชื้อก่อนทำการหมัก

8. สภาพการเจริญของจุลินทรีย์เช่นรา มีลักษณะคล้ายกับที่อยู่ในธรรมชาติ จึงทำให้เชื้อต้องการระยะเวลาในการปรับตัว (Lag phase) สั้น การหมักจึงเกิดขึ้นได้ดี

9. การเขย่าอาหารที่ใช้ในกระบวนการจะช่วยยับยั้งการสร้างสปอร์ของรา ภาวะเจริญในรูปแบบของเส้นใย ซึ่งเป็นการลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของราในห้องปฏิบัติการ

10. อากาศสามารถแพร่ไประหว่างช่องว่างของอนุภาคอาหารและอนุภาคจุลินทรีย์ได้อย่างสะดวก โดยแรงที่ใช้ในการเติมอากาศผ่านเข้าไปในถังหมักมีค่าน้อย เนื่องจากระหว่างอนุภาคของอาหารเป็นช่องว่างไม่ใช่ของเหลว นอกจากนี้แผ่นฟิล์มที่เคลือบอนุภาคบางมากทำให้ออกซิเจนผ่านเข้าสัมผัสกับอาหารเกิดปฏิกิริยาได้ง่าย

11. ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักแบบแห้งอาจมากกว่าผลผลิตที่ได้จากการหมักในอาหารเหลว ซึ่งผลผลิตที่ได้ค่อนข้างคงที่และมีสมบัติที่ไม่แตกต่างกันมากนัก

12. ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสามารถนำมาสกัดออกจากวัสดุหมักได้ทันที โดยการเติมสารละลายลงไป หรืออาจนำมาเก็บแช่แข็งไว้ก่อนที่จะนำมาสกัด

13. ผลผลิตที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้โดยตรง โดยไม่จำเป็นต้องแยกออกจากวัสดุหมักก่อน

ข้อเสียของการหมักแบบแห้ง

1. มีความจำกัดต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ ซึ่งจุลินทรีย์นั้นจะต้องสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีความชื้นต่ำ ทำให้กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ในระบบการหมักบนแบบแห้งนี้อยู่ในช่วงที่แคบ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นรา นอกจากนั้นได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และสเตรปโตมัยซิสบางสายพันธุ์เท่านั้น

2. การเขย่าหรือการกวนวัสดุหมักตลอดระยะเวลาการหมักต้องอาศัยพลังงานสูง

3. การเติมน้ำลงไปในช่วงแรกของการหมัก อาจมีผลทำให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย
4. ปริมาณเริ่มต้นของสปอร์ที่ใช้จะต้องมีปริมาณมากจึงจะได้ผลที่ดี ดังนั้นต้องมีกรรมวิธีการผลิตเพื่อเพิ่มปริมาณสปอร์ และการเก็บเกี่ยวสปอร์ต้องใช้เทคนิคที่ปลอดภัย
5. วัตถุดิบทางการเกษตรที่นำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ อาจต้องนำมาผ่านกระบวนการเพื่อเตรียมสภาพให้เหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อน เช่น การทำให้มีขนาดเล็กลง หรือการนำวัตถุดิบไปนึ่งก่อนแทนที่จะใช้วัตถุดิบนั้นในสภาพปกติ
6. มีปัญหาเกี่ยวกับการถ่ายเทความร้อนหรือมีความร้อนสะสมเกิดขึ้นในขณะทำการหมัก โดยเฉพาะในระบบที่มีขนาดใหญ่
7. เนื่องจากระบบการหมักนี้เป็นการหมักแบบแห้ง จึงเป็นปัญหาในการวัดค่าตัวแปรของระบบ และเป็นการยากที่จะแน่ใจว่ามีการกระจายตัวของอาหารที่ให้เพิ่มเข้าไปใหม่ ดังนั้นการควบคุมและการติดตามผลการหมักเช่น ความเป็นกรด-เบส ความชื้น และความเข้มข้นของวัสดุหมักสามารถทำได้ยาก
8. การถ่ายเทในสถานะที่เป็นของแข็ง ถูกจำกัดด้วยการแพร่เท่านั้น ดังนั้นการแพร่จึงเป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์
9. ข้อมูลพื้นฐานทั้งทางด้านวิทยาศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์เกี่ยวกับการหมักชนิดนี้นี้น้อย เช่น ข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของราที่สามารถเจริญบนวัสดุหมักที่สัมพันธ์กับรูปร่างของวัสดุหมัก เพราะส่วนใหญ่มีแต่การทดลองบนผิวแบนราบ
10. สมการการเจริญของจุลินทรีย์ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ จึงไม่สามารถที่จะออกแบบหรือกำหนดสภาวะที่เหมาะสมได้
11. ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธีนี้จะนานกว่าแบบเลี้ยงด้วยอาหารเหลว เนื่องจากค่าอัตราการเจริญจำเพาะมีค่าที่ต่ำกว่า โดยเฉพาะในการผลิตโปรตีนจากลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) จากรา

12. การแยกผลิตภัณฑ์โดยการสกัด (Leaching) จากวัสดุหมักที่มีลักษณะหนืดโดยธรรมชาติและผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น เอนไซม์ มีความแห้งเกินความต้องการของตลาด ทำให้ต้องผสมแคลเซียมคลอไรด์เพื่อลดความหนืดลง

13. การหาค่ามวลของเส้นใย (Mycelial mass) สามารถทำได้ยาก

14. อาจต้องมีการพัฒนากระบวนการหมักแบบแห้งต่อไปในอนาคตเพื่อให้แน่ใจว่าผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ มีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถผลิตได้ในปริมาณมาก

6. ประเภทของถังหมักในกระบวนการหมักแบบแห้ง

ถังหมักในกระบวนการหมักแบบแห้งมีโครงสร้างและการควบคุมที่ง่าย ซึ่งต่างจากระบบการควบคุมที่ใช้สำหรับการหมักในอาหารเหลว (คุยฉี, 2537) การหมักแบบแห้งอาจมีทั้งการกวนหรือการให้อากาศกับวัสดุหมัก การเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของถังหมักจะส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้ ถังหมักที่ใช้ในกระบวนการผลิตจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมสามารถแบ่งประเภทได้ดังนี้

6.1 ถังหมักแบบถาด (Tray fermentors)

เป็นถังหมักที่ใช้ได้ง่าย และให้ผลผลิตที่สม่ำเสมอ ถังหมักชนิดนี้ช่วยให้ปฏิกิริยาของเอนไซม์สูงขึ้นในระหว่างการหมัก แต่ข้อเสียก็คือต้องใช้พื้นที่ในการหมักเป็นบริเวณมาก ถังหมักชนิดนี้ใช้กันมากในการผลิตอาหารหมัก เอนไซม์ เห็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบตะวันออกไกลในการผลิตโคจิ โดยชาวพื้นที่จะนำเอาถั่วเหลืองมาหมักในถาดไม้ที่วางเรียงซ้อนกัน ซึ่งในปัจจุบันได้มีการดัดแปลงการหมักแบบเก่ามาเป็นถังหมักโคจิ และใช้กันทั่วไปตามโรงงานที่ผลิตโคจิเพื่อเป็นการค้า โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น ถังหมักชนิดนี้ทำงานโดยอาศัยการเป่าลมผ่านบริเวณด้านล่างของอาหารแข็ง มีการควบคุมความร้อนและความชื้นภายในถังหมักระหว่างกระบวนการหมัก โดยน้ำร้อนที่อยู่ในอ่างน้ำจะถูกพ่นและพัดผ่านไปยังอาหารแข็ง เป็นการรักษาความร้อนและความชื้นให้เหมาะสม อัตราการไหลของอากาศจะถูกควบคุมโดยแผ่นเหล็กปิดอากาศ ถังหมักโคจิชนิดนี้ยังใช้ในการหมักโคจิจากข้าวเพื่อใช้ในการผลิตสาเกด้วย (Nunokawa, 1972)

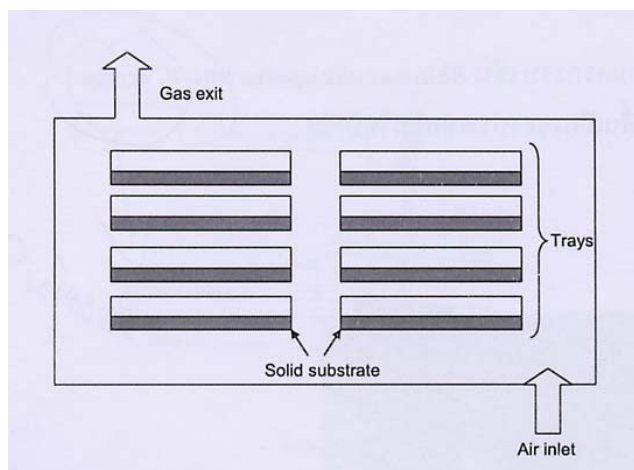
การหมักแบบถาดเป็นเทคนิคที่ง่าย ไม่มีการให้อากาศและไม่มีการกวนวัสดุหมัก วัสดุหมักจะถูกเกลี่ยเป็นชั้นบางๆบนวัสดุที่ขึ้น ได้แก่ ถาดอะลูมิเนียม ไม่มีการเจาะรูให้อากาศบริเวณก้นถาด ดังนั้นปัญหาที่พบ คือ ปริมาณวัสดุหมักที่จะหมักมีปริมาณจำกัด สามารถหมักได้เป็นชั้นบาง ๆ และความหนาของวัสดุหมักควรหนาไม่เกิน 5 เซนติเมตร เพื่อหลีกเลี่ยงความร้อนที่เพิ่มสูงเกินไป และเพื่อให้วัสดุหมักได้รับอากาศอย่างทั่วถึง (Tunga *et al.*, 1999) นอกจากนี้ Ghildyal *et al.* (1992) ได้ศึกษาการหมักในถังหมักแบบถาด โดยหมักส่วนผสมของรำข้าวสาลีและแป้งข้าวโพดด้วยรา *Aspergillus niger* CFTRI 1105 พบว่าประสิทธิภาพการหมักจะลดต่ำลงเมื่อเพิ่มความสูงของวัสดุหมัก และระบบยากต่อการควบคุม นอกจากนี้เมื่อวัสดุหมักมีความหนา จะเกิดปัญหาในเรื่องการถ่ายเทความร้อน และการควบคุมตัวแปรต่างๆ เช่น ความชื้น ค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิทำได้ยากขึ้น (Mitchell and Lonsane, 1992)

เป็นการหมักที่ใช้งานง่ายและให้ผลผลิตที่สม่ำเสมอ มีข้อจำกัดในเรื่องขนาดของถาดใช้พื้นที่และแรงงานมาก ปริมาณผลผลิตที่ได้ค่อนข้างต่ำ บริเวณกลางถาดจะมีอุณหภูมิสูงและขาดออกซิเจน (Sangsurasak and Mitchell, 1996) ในปัจจุบัน ถังหมักชนิดนี้ได้ถูกพัฒนาจากเดิมที่ใช้ถาดไม้เรียงซ้อนกันมาเป็นชั้นสแตนเลส ซึ่งบรรจุอยู่ในถังหมักทำให้สามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ดี นอกจากนี้ถังหมักชนิดนี้ยังถูกใช้ในกระบวนการผลิตโคจิ เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเหล้าสาเกในประเทศญี่ปุ่น (Raimbault, 1998) และใช้ในการผลิตกรดซิตริก (Cannel and Moo-Young, 1980) เป็นต้น

ถังหมักแบบถาดประกอบด้วยถาดแบนๆ โดยวัสดุหมักที่ใช้จะต้องเกลี่ยเป็นชั้นบางๆ ให้มีความหนาเพียงไม่กี่เซนติเมตร ถังหมักชนิดนี้รักษาอุณหภูมิให้คงที่โดยการให้อากาศขึ้นพัดผ่านผิวหน้าวัสดุหมัก ดังภาพที่ 3 ส่วนข้อเสียของถังหมักแบบถาดคือไม่เหมาะกับการผลิตสเกลใหญ่เพราะต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่และจำนวนถังหมักมาก (Pandey *et al.*, 2001)

ถังหมักแบบถาดได้รับการพัฒนาจนมีประสิทธิภาพทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ โรงงานต้นแบบ และในระดับอุตสาหกรรม (Backman and Rodriguez-Kabana, 1975; Toet and Somers, 1994) ในระบบนี้ วัสดุหมักจะถูกเกลี่ยเป็นชั้นบาง ๆ บนวัสดุที่ขึ้น ได้แก่ ถาดอะลูมิเนียมหรือถาดสแตนเลส ไม่มีการให้อากาศแต่อาจมีการเจาะรูให้อากาศผ่านบริเวณก้นถาด อุณหภูมิและความชื้นจะแปรตามสภาพอากาศ แต่สามารถควบคุมได้โดยทำการหมักในห้องที่เป็นระบบปิดมีการควบคุมอุณหภูมิหรือความชื้น นอกจากนี้ยังสามารถทำการเพาะเลี้ยงราในถุงโพลีเอทิลีนที่มีรูพรุนแทนการหมักในถาดได้ (Paau *et al.*, 1993) ข้อเสียของระบบการหมักแบบถาดคือ ความยากในการ

ทำงานให้เป็นแบบอัตโนมัติในสเกลใหญ่ จึงต้องการแรงงานที่มีความละเอียดรอบคอบสูง (Mitchell *et al.*, 1992) ยิ่งไปกว่านั้น ความยากในการฆ่าเชื้อและสิ้นเปลืองพื้นที่ก็เป็นปัญหาสำคัญ



ภาพที่ 3 ถังหมักแบบถาด

ที่มา: Pandey *et al.* (2001)

6.2 ถังหมักแบบหมุน (Rotating drum fermentors)

ถังหมักแบบหมุนถูกออกแบบเพื่อปรับปรุงระบบการให้อากาศให้เพียงพอ และการผสมของวัสดุหมักให้เข้ากันได้ดี แต่มีข้อจำกัด คือ การทำลายจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์จากแรงเฉือน (Shear force) ความร้อนที่สูงขึ้น และบริเวณที่ใช้ในการหมักมีเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตร ทั้งหมดของถังหมัก การผสมและการให้อากาศแก่ชั้นวัสดุหมักทำได้ 2 วิธีได้แก่ วิธีแรกโดยการ หมุนของตัวถัง (Silman, 1980; Stuart *et al.*, 1999) และวิธีที่สองโดยการติดตั้งใบกวนหรือแผ่นกั้น (Baffle) ติดกับผนังด้านในของถัง (Nagel *et al.*, 2001a, 2001b)

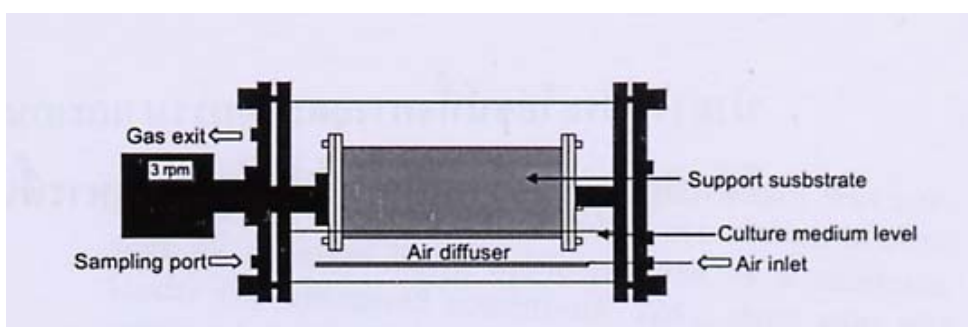
ถังหมักแบบหมุนประกอบด้วยลูกกลิ้งซึ่งทำหน้าที่ยัดและหมุนตัวถัง นอกจากนี้ยังมี ถังหมักแบบหมุนที่ใช้หลักการเฟืองขับ โดยหมุนที่ความเร็วรอบต่างๆ การผสมกันภายในถังหมัก แบบหมุนจะเกิดขึ้นโดยการกลิ้งหรือการหมุนของตัวถังหมักอย่างช้าๆ เป็นการผสมโดยวิธีทางกล เช่น ใบกวน อาจมีผลทำลายจุลินทรีย์ หรือทำลายโครงสร้างของอาหาร อย่างไรก็ตามปัญหามัก เพิ่มขึ้นเนื่องจากการจับตัวเป็นก้อนของอาหาร หรืออาจเกิดการสีกันระหว่างอนุภาคทำให้จุลินท ร์ตายได้ ถังหมักแบบหมุนประกอบด้วยช่องทางเข้าและออกของอากาศ โดยอากาศอาจเข้าสู่ถึง

หมักโดยผ่านทางด้านล่างถึงหรือตามแนวความยาวถึงโดยหัวฉีดแบบพ่นฝอย การระบายอากาศออกจากถังหมักจะใช้พัดลมดูดอากาศติดตั้งตรงฝั่งตรงข้ามของช่องทางเข้าของอากาศ (Takamine, 1914) อากาศจะผ่านการฆ่าเชื้อและเพิ่มความชื้นจากน้ำกลั่นก่อนเข้าสู่ถังหมัก นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุงประสิทธิภาพของถังหมักโดยการแบ่งถังหมักเป็น 3 ส่วน ใน 4 ส่วน (Lindenfelser and Ciegler, 1975) หรืออาจจะมีแผ่นกั้น (Baffle) เพื่อทำหน้าที่แยกวัสดุหมักออกจากกัน โดยการหมุนถังอย่างช้าๆ ผลผลิตที่ได้จากถังหมักชนิดนี้ เช่น อาหารสัตว์ เอนไซม์ ชีวมวล และปุ๋ยหมัก เป็นต้น (วรารุณี และ รุ่งนภา, 2532)

ถังหมักแบบหมุนเป็นถังหมักที่ออกแบบให้มีการผสมของวัสดุหมักและการให้อากาศไปพร้อมกัน แต่ถูกจำกัดด้วยเรื่องผลิตภัณฑ์หรือการทำให้จุลินทรีย์เกิดความเสียหาย ซึ่งเกิดจากการหมุนของถังหมักหรือการกววนของใบพาย (ดังภาพที่ 4) ส่วนข้อเสียของถังหมักชนิดนี้คือสามารถใส่วัสดุหมักได้เพียง 30 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรถัง เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องประสิทธิภาพในการผสมของถังหมัก (Rodriguez Couto and Sanroman, n.d.)

ถังหมักแบบหมุน ประกอบด้วยภาชนะบรรจุทรงกระบอกแนวนอนหรือเอียงติดลูกกลิ้งที่ทำหน้าที่เป็นตัวยึดและหมุนถังหมัก การผสมภายในถังเกิดขึ้นโดยการกลิ้งหรือหมุนถังหมักอย่างช้าๆ อาจมีเหล็กก้นในถังเพื่อช่วยในการกววนอาหาร สำหรับถังหมักชนิดนี้มักพบปัญหาการรวมตัวเป็นก้อนของอาหาร หรืออาจเกิดการสึกกร่อนระหว่างอนุภาคเป็นผลทำให้จุลินทรีย์ตาย นอกจากนี้การควบคุมอุณหภูมิสามารถทำได้ยากเนื่องจากไม่สามารถระบายความร้อนด้วยระบบน้ำหล่อเย็นเหมือนถังหมักแบบแพคเบด

นอกจากนี้มียารายงานว่าจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในถังหมักแบบหมุนจะเจริญอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ (Takamine, 1914; Underkofler *et al.*, 1939) และดีกว่าการหมักแบบถาด การเพาะเลี้ยงราทั้งในถังหมักแบบหมุนและถังหมักแบบกวน จะทำให้เส้นใยถูกทำลายเนื่องจากแรงเฉือนที่เพิ่มขึ้นจากการหมุนหรือกวนซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ความยากของการขยายขนาดถังหมักแบบหมุนนี้ได้แก่ เส้นใยจะถูกทำลายในช่วงเริ่มต้นของการเจริญ (Takamine, 1918) ซึ่งปัญหานี้จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อขนาดถังหมักใหญ่ขึ้น นอกจากนี้การควบคุมอุณหภูมิ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น การจับตัวเป็นก้อนของวัสดุหมักและการเจริญที่ช้าลงเนื่องจากการเสียดสีของอนุภาค เหล่านี้ล้วนเป็นปัญหาสำคัญที่พบในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมักแบบหมุน



ภาพที่ 4 ถังหมักแบบหมุน

ที่มา : Rodriguez Couto and Sanroman (n.d.)

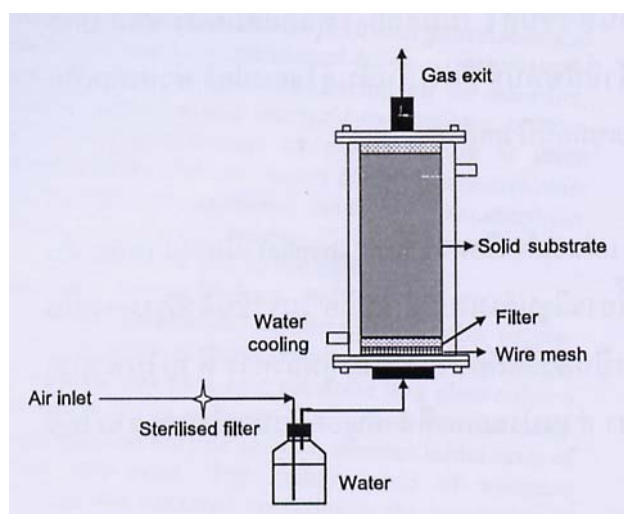
6.3 ถังหมักแบบแพคเบด (Packed-bed fermentors)

ถังหมักแบบแพคเบดเป็นถังหมักที่มีการใช้งานมานานกว่า 20 ปี และนิยมใช้งานมากในระดับอุตสาหกรรม ถังหมักชนิดนี้มีลักษณะเป็นถังทรงกระบอกสูง นิยมทำจากแก้วหรือพลาสติก ขนาดของถังขึ้นอยู่กับกรอกแบบให้มีความเหมาะสมกับการใช้งาน โดยคำนึงถึงสัดส่วนของความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง นอกจากนี้มีจุดเด่นเฉพาะตัวของถังแพคเบดก็คือ ภายในถังจะบรรจุของแข็งที่มีการจัดเรียงตัวอย่างมีรูปแบบพื้นผิวที่มี รูพรุน ซึ่งเป็นช่องทางการอัดอากาศผ่านไปยังชั้นวัสดุหมัก (Mitchell and Lonsane, 1992; Walas, 1988) ถังหมักแบบแพคเบดสามารถควบคุมอุณหภูมิในการหมักได้โดยการให้อากาศที่มีความชื้นเข้าไปทางด้านล่างของถังหมัก (ดังภาพที่ 5) เพื่อป้องกันไม่ให้วัสดุหมักแห้งเกินไป (Rodriguez Couto and Sanroman, n.d.) อากาศนอกจากเป็นแหล่งออกซิเจนของจุลินทรีย์พวกที่ใช้ออกซิเจนแล้ว ยังช่วยในการระบายความร้อนในถังหมักแบบแพคเบดด้วย โดยความร้อนสามารถถ่ายเทไปยังอากาศได้โดยการพาความร้อน จากเหตุผลดังกล่าว ความชื้น อัตราการไหลของอากาศ มักถูกควบคุมให้คงที่เพื่อรักษาอุณหภูมิให้คงที่ โดยให้มีการสูญเสียในวัสดุหมักน้อยที่สุด (มณีรัตน์, 2542) การหมักในถังหมักแพคเบดเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นระบบปิดจึงลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ ได้มากกว่าแบบถาด และไม่ทำให้เกิดปัญหาการทำลายเส้นใยจากการหมุนเมื่อเปรียบเทียบกับถังหมักแบบหมุน (Ghildyal *et al.*, 1994) สำหรับกระบวนการผลิตที่ใช้ถังหมักชนิดนี้ เช่น การผลิตเอทานอล (Saucedo-Castaneda *et al.*, 1992) การผลิตสารควบคุมทางชีวภาพ (Vrije *et al.*, 2001) และการผลิตเอนไซม์โปรติเอส (Aikat and Bhattacharyya, 2001)

ถังหมักแบบแพคเบดสามารถไปใช้งานสามารถประยุกต์ใช้ได้หลากหลาย โดยมีจุดประสงค์การใช้งานที่แตกต่างกัน เช่น เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสและระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารตั้งต้นที่ไหลผ่านเบด ใช้เป็นที่บรรจุตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ใช้ตรึงเอนไซม์ในกระบวนการเชิงวิศวกรรมชีวเคมี เป็นต้น

โดยปกติอากาศจะถูกส่งเข้าไปในคอลัมน์ทางด้านล่างด้วยอากาศขึ้นเพื่อป้องกันไม่ให้วัสดุหมักแห้งเกินไป คอลัมน์ในห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะมีความสูงประมาณ 30 เซนติเมตรแต่อาจสูงถึง 60 เซนติเมตร ในขณะที่เส้นผ่านศูนย์กลางที่ใช้ประมาณ 5 เซนติเมตร โดยวัสดุหมักสูงไม่เกิน 20 เซนติเมตร รักษาอุณหภูมิโดยการให้อากาศขึ้นผ่านวัสดุหมักจากด้านล่างคอลัมน์ (Gumbira-Sa'id *et al.*, 1992) อาจวางอยู่อย่างน้ำเพื่อรักษาอุณหภูมิให้คงที่ตลอดการหมัก (Oriol *et al.*, 1988; Tomasini *et al.*, 1997) สำหรับกระบวนการหมักสเกลใหญ่ อุณหภูมิของคอลัมน์สามารถควบคุมโดยใช้ปลอกหุ้มที่มีน้ำหล่อเย็น (Mitchell and Lonsane, 1993; Pandey *et al.*, 2001)

มีรายงานว่าเครื่อง Zymotis ซึ่งเป็นถังหมักแบบแพคเบดขนาด 50 กิโลกรัม สามารถผลิตสปอร์ได้ในปริมาณมาก (Roussos *et al.*, 1991, 1993) ในระบบนี้วัสดุหมักจะถูกแบ่งออกเป็นหลายส่วน ซึ่งแยกจากกันด้วยแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อนของเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน (Heat exchanger) เพื่อระบายความร้อนออกจากระบบ ข้อเสียของถังหมักแบบแพคเบดคือ แยกผลิตภัณฑ์ได้ยาก จุลินทรีย์เจริญไม่สม่ำเสมอ และกำจัดความร้อนได้ยาก (Mitchell and Lonsane, 1993; Lonsane *et al.*, 1985) ระบบนี้สามารถทำงานได้ที่กำลังการผลิตต่าง ๆ โดยการเพิ่มหรือนำชั้นของวัสดุหมักออก จุดที่น่าสนใจคือ แม้ว่าถังหมักแบบแพคเบดนี้จะมีพื้นที่ผิวน้อยกว่าถังหมักแบบถาด (Tray bioreactor) แต่สามารถผลิตสปอร์ของเราได้มากกว่า เนื่องจากสปอร์สามารถเกิดภายในชั้นของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ไม่ได้เกิดเฉพาะที่ผิวน้ำของอาหารเลี้ยงเชื้อดังเช่นในการหมักแบบถาด ดังนั้นจึงไม่สิ้นเปลืองพื้นที่เมื่อต้องการผลิตในปริมาณมาก แต่ทั้งนี้ต้องระวังเรื่องความร้อนที่สะสมในชั้นหมักด้วย

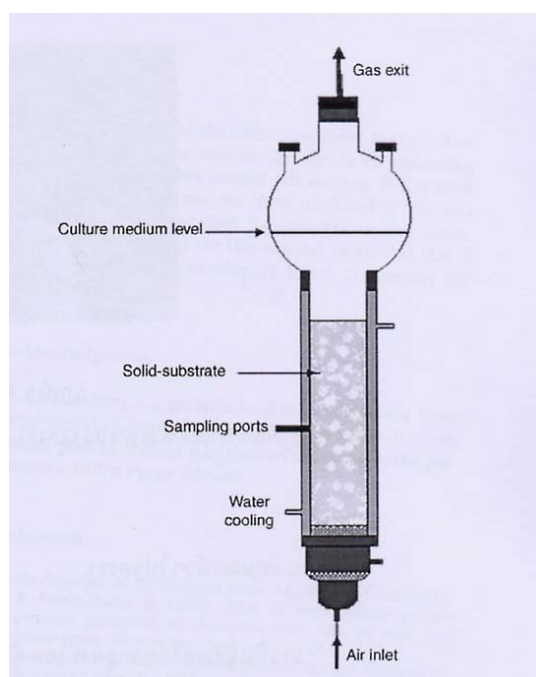


ภาพที่ 5 ถังหมักแบบแพคเบด

ที่มา : Rodriguez Couto and Sanroman (n.d.)

6.4 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด (Air-solid fluidized bed fermentors)

ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด เป็นถังหมักที่มีลักษณะเป็นคอลัมน์สูง มีการอัดอากาศเข้าด้านล่างด้วยความเร็วที่พอทำให้วัสดุลอยตัวได้ (Minimum fluidizing velocity) ทำให้วัสดุหมักเกิดการแขวนลอยอยู่ในก๊าซ ซึ่งอาจมีการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน จึงมีใบกวนเพื่อช่วยให้อนุภาคของวัสดุหมักกระจายตัว (ดังภาพที่ 6) การผสมของวัสดุหมักและการกระจายความร้อนดีขึ้น (Rodriguez Couto and Sanroman, n.d.) ในลักษณะเช่นนี้ เป็นผลทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนสามารถเจริญได้ดีกว่าถังหมักแบบอื่นๆ และไม่มีปัญหาเรื่องการสะสมความร้อน ในกรณีที่ใช้ผลิตชีวมวลก็สามารถอบแห้งภายในถังหมักได้ทันที ตัวอย่างการนำถังหมักชนิดนี้มาประยุกต์ใช้ เช่น การผลิตเอนไซม์ ชีวมวล (Mitchell, 1992) และสปอร์ของเชื้อรา *C. minutans* เป็นต้น แต่การควบคุมสภาวะในการหมักของถังชนิดนี้ทำได้ยาก



ภาพที่ 6 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด

ที่มา : Rodriguez Couto and Sanroman (n.d.)

7. การหมักแบบแห้งในถังหมักแบบแพคเบด

ถังหมักแบบแพคเบดที่ใช้ในการหมักแบบแห้งโดยทั่วไปนั้น มักทำด้วยแก้วหรือพลาสติก เพื่อสะดวกต่อการสังเกตติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ มีการให้อากาศขึ้นเข้าทางด้านล่างและไหลออกทางด้านบนของถังหมัก ดังนั้นถังหมักแบบนี้จึงต้องมีฐานที่มีการเจาะรู (Perforation) ไว้สำหรับวางอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นที่ให้อากาศผ่าน ถังหมักแบบแพคเบดนี้มีรูปทรงที่ต่างกันไป แต่ส่วนใหญ่หมักมีลักษณะเป็นทรงกระบอกสูง (Silman *et al.*, 1979; Sato *et al.*, 1985; Saucedo-Castaneda *et al.*, 1992; Yang *et al.*, 1994) อย่างไรก็ตาม ถังหมักที่เป็นทรงกระบอกสั้น (Laukevics *et al.*, 1984; Narahara *et al.*, 1984; Koyama *et al.*, 1980) และทรงสี่เหลี่ยมก็มีใช้เช่นเดียวกัน (Roussos *et al.*, 1993)

ถังหมักแบบแพคเบดมักวางอยู่ในห้องที่มีอุณหภูมิคงที่หรือมีระบบน้ำหล่อเย็นควบคุมอุณหภูมิ การให้อากาศมีความสำคัญมากในระบบนี้ เพราะนอกจากเป็นแหล่งออกซิเจนของจุลินทรีย์พวกที่ใช้ออกซิเจนแล้วยังช่วยระบายความร้อนในแพคเบดด้วย โดยความร้อนสามารถถ่ายเทไปยังอากาศได้โดยการพาความร้อน จากเหตุผลดังกล่าว ความชื้น อัตราการไหลของอากาศ มักถูก

ควบคุมให้คงที่เพื่อรักษาอุณหภูมิให้คงที่ โดยให้มีการสูญเสียในวัสดุหมักน้อยที่สุด (มณีนันท์, 2542)

การหมักในถังแพคเบดเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากใช้ระบบปิดจึงลดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นได้มากกว่าแบบถาด และไม่ทำให้เกิดปัญหาการทำลายเส้นใยจากการหมุนเมื่อเปรียบเทียบกับถังหมักแบบหมุน (Ghildyal *et al.*, 1994) ทั้งยังสามารถตรวจการเจริญของจุลินทรีย์ได้โดยไม่ต้องมีการเก็บตัวอย่าง (Gumbira-Sa'id *et al.*, 1993) จากการวัดความดันที่ลดลงในถังหมัก (Pressure drop) แทน ปัจจัยสำคัญของการหมักในถังแพคเบดที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์มีอยู่หลายตัวแปร ซึ่ง Ghildyal *et al.* (1994) พบว่าความแตกต่างของอุณหภูมิในถังหมักแบบแพคเบดที่สูงขึ้น จะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ต่อมา Sangsurasak and Mitchell (1995) พบว่าการเจริญและการตายของรา *Rhizopus oligosporus* เป็นฟังก์ชันขึ้นกับอุณหภูมิ โดยการตายของจุลินทรีย์จะเกิดที่ส่วนบนของเบดซึ่งอุณหภูมิสูงสุด นอกจากนี้ Growthman *et al.* (1993) ยังพบว่าความแตกต่างของความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นตามความสูงเบดก็เป็นปัจจัยที่ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ลดลง Yang *et al.* (1994) ได้แสดงให้เห็นถึงรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในถังหมักแบบแพคเบด จากปัญหาเรื่องการระบายความร้อนที่พบ Sangsurasak and Mitchell (1995) ได้เสนอทางแก้ปัญหาก็เกี่ยวกับความร้อนสะสมในถังหมักแบบแพคเบดด้วยการเพิ่มความเร็วอากาศหรือลดอุณหภูมิขาเข้าของลม ระบบนี้จะมีประสิทธิภาพเมื่ออัตราส่วนความสูงของวัสดุหมักต่อเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 1: 1 หรือน้อยกว่า (Sargantanis *et al.*, 1993) ค่าพารามิเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับถังหมักแบบแพคเบดที่ใช้หมักถั่วเหลืองด้วยรา *Apergillus oryzae* ที่มีปริมาตรเบด 0.35 ลูกบาศก์เมตร (เพ็ญจิตร และคณะ, 2544) มีดังนี้ ความเร็วของอากาศขึ้นที่ผ่านเข้าถังหมักควรอยู่ในช่วง 0.2-0.3 เมตรต่อวินาทีและอุณหภูมิที่เข้าถังควรต่ำกว่า 35 องศาเซลเซียส และหากมีการเปลี่ยนความหนาของการหมัก พบว่าความสูงของเบดไม่ควรเกิน 0.4 เมตร ต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.50 เมตร หรือค่าของความสูงเบดต่อเส้นผ่านศูนย์กลางเบดควรต่ำกว่า 0.50 จูพารัตน์ (2547) ทำการศึกษาสภาวะในถังหมักแบบแพคเบด ขนาด 50 ลิตรเพื่อให้ราสร้างสปอร์ พบว่า ที่ความหนาของวัสดุหมัก 5 เซนติเมตร อัตราการให้อากาศ 0.1 เมตรต่อวินาที และความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตรที่อัตราการให้อากาศ 0.2 เมตรต่อวินาที จะให้จำนวนสปอร์ที่มีชีวิตสูงสุดเป็น 4.33×10^7 และ 2.00×10^7 CFU ต่อกรัมวัสดุหมักตามลำดับ และเมื่อทดลองปรับเปลี่ยนอัตราการให้อากาศเป็น 3 ระดับ โดยให้อากาศที่ความเร็ว 0, 0.1 และ 0.2 เมตรต่อวินาที ที่เวลา 0-12, 12-36 และ 36-96 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร และแบ่งกั้นวัสดุหมักแบบขนาน จะให้จำนวนสปอร์ที่มีชีวิตสูงสุดเท่ากับ 9.4×10^7 CFU ต่อกรัมวัสดุหมัก

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

รา *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 (ATCC22959) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2. วัสดุหมัก

วัสดุหมักที่ใช้ในการทดลองได้แก่ กากมันสำปะหลัง โดยวัดความชื้นได้ 12.95 เปอร์เซ็นต์ และองค์ประกอบอื่นๆ คือคาร์โบไฮเดรตประมาณ 67.46 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 11.58 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.18 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 1.85 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 3.30 เปอร์เซ็นต์ (ธัญยาภรณ์, 2542) โดยก่อนถ่ายตั้งเชื้อลงในวัสดุหมัก ต้องนำวัสดุหมักไปทำการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที เพื่อรักษาสภาพปลอดเชื้อ

3. ถังหมักแบบแพคเบด

ถังหมักแบบแพคเบดที่ใช้ในการทดลองมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร (ไม่รวมฝา) อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางต่อความสูงเท่ากับ 3 : 4 โดยมีปริมาตรรวม 30 ลิตร ทำจากเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 304 ประกอบด้วยฝาปิด ตัวถัง ตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร และถังน้ำขนาด 16 ลิตร มีช่องสำหรับเสียบเซนเซอร์วัดอุณหภูมิ มีระบบการให้อากาศและระบายความร้อนในถังหมัก โดยพัดลมดูดอากาศจะดูดอากาศจากด้านล่างถึงผ่านผิวน้ำในถังน้ำที่ภายในประกอบด้วยหัวกระจายอากาศเพื่อเพิ่มความชื้นให้กับอากาศ เมื่ออากาศขึ้นผ่านแผ่นกรองอากาศจะเข้าสู่ตัวถังทางด้านล่างและผ่านชั้นอาหารหมักที่บรรจุอยู่ในตะแกรงแล้วอากาศจะถูกดูดออกไปด้านบนฝาดัง (ดังภาพที่ 7) ลักษณะของถังหมักแบบแพคเบดและอุปกรณ์ประกอบมีส่วนประกอบสำคัญดังต่อไปนี้

3.1 ถังหมักแบบแพคเบด (Packed-bed bioreactor) ขนาด 30 ลิตร โดยมีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางต่อความยาวเป็น 3 : 4 มีช่องเสียบเซนเซอร์วัดอุณหภูมิ

3.2 ตะแกรงรองรับวัสดุหมัก เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร รูพรุนตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร

3.3 พัดลมดูดอากาศ (Hitachi Blower รุ่น VB-007-DN, Japan) ขนาด 1/2 แรงม้า

3.4 ถังน้ำ (Waterbath) ขนาด 16 ลิตร

3.5 แผ่นกรองอากาศ (Air filter)

3.6 หัวกระจายอากาศ (Air distributor) จำนวน 2 หัว

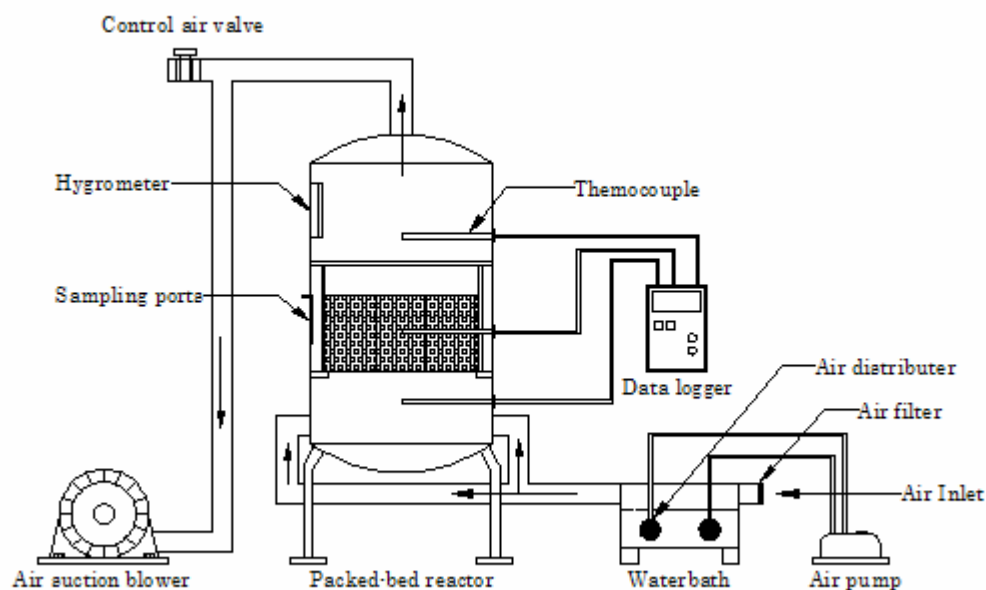
3.7 เครื่องให้อากาศ (Cosmo Aquarium Air Pump Double Type 12000, China) 30
วัตต์

3.8 เครื่องวัดอัตราเร็วลมอากาศ (Air flow meter)

3.9 เครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (Barigo Hygrometer รุ่น 420, Germany)

3.10 เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermocouple) ช่วง -25 ถึง 110 องศาเซลเซียส

3.11 เครื่องเก็บข้อมูล (Multilog Datalogger รุ่น DB-526, Israel)



ภาพที่ 7 แผนภาพถังหมักแพคเบดขนาด 30 ลิตรพร้อมอุปกรณ์ประกอบและระบบควบคุม

4. อุปกรณ์วิเคราะห์ต่างๆ

4.1 ตู้ปลอดเชื้อ

4.2 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น IL-82 บริษัท YAMATO ประเทศ ญี่ปุ่น

4.3 เครื่องเขย่า (orbital shaker) รุ่น SK2-DO บริษัท CTL

4.4 เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (moisture analyzer) รุ่น AMB 50 บริษัท Adam Equipment ประเทศอังกฤษ

4.5 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์(spectrophotometer) รุ่น Anthekie Advanced บริษัท Secomam ประเทศฝรั่งเศส

4.6 อ่างน้ำอุ่น (water bath) ควบคุมอุณหภูมิน้ำที่ 37 องศาเซลเซียส รุ่น SBD 50 - Cold ยี่ห้อ Heto บริษัท Scientific promotion ประเทศไทย

4.7 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น BL210S ยี่ห้อ Sartorius บริษัท Goettingen ประเทศเยอรมัน

4.8 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น LM6100 บริษัท Mettler Toledo ประเทศ สวิตเซอร์แลนด์

4.9 เครื่องบดผง รุ่น MX-X10GMC บริษัท TOSHIBA ประเทศ ญี่ปุ่น

4.10 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH meter) รุ่น 420A ยี่ห้อ Orion บริษัท Thermo orion ประเทศสหรัฐอเมริกา

4.11 เครื่องให้ความร้อน (Hot plate) รุ่น ARE บริษัท VELP SCIENTIFICA ประเทศ อิตาลี

4.12 ตู้อบ (Hot air oven) รุ่น BD/ED/FD บริษัท BINDER GmbH ประเทศ เยอรมัน

4.13 เครื่องตรวจนับปริมาณสเปิร์ม (Haemocytometer) รุ่น BH-2 บริษัท OLYMPUS ประเทศ ญี่ปุ่น

4.14 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) รุ่น HL-340 บริษัท HUXLEY

วิธีการ

1. การเตรียมต้นเชื้อ *R. oligosporus*

1.1 การเตรียมสารละลายสปอร์รา *R. oligosporus*

นำรา *R. oligosporus* ในสแลนค์หรือหลอดทดลองมาเขี่ยเชื้อ เพื่อเพาะเลี้ยงรา *R. oligosporus* บนอาหารวุ้น Potato dextrose agar (PDA) ซึ่งเตรียมจากสูตรในภาคผนวก ก ข้อ 1 หลังจากเทลงในจานเลี้ยงเชื้อและรอให้เย็นจนวุ้นในจานเลี้ยงเชื้อแข็ง โดยต้นเชื้อราหนึ่งสแลนค์จะสามารถเขี่ยเชื้อลงในจานเลี้ยงเชื้อได้ประมาณ 30 จานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน จากนั้นเติมสารละลาย Polyethylene glycol sorbitan monooleate (Tween 80) ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีราเจริญเต็มจานเพาะเชื้อ ทำการลอกสปอร์และเส้นใยราออกจากหน้าวุ้นด้วยลูปเขี่ยเชื้อที่ปลอดเชื้อ

1.2 การเตรียมต้นเชื้อ *R. oligosporus* บนปลายข้าวในถาด

แช่ปลายข้าว 150 กรัมในน้ำกลั่นนาน 1 ชั่วโมง นำปลายข้าวที่สะอาดนำไปใส่ถุงพลาสติก ทนร้อนแล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที รอนปลายข้าวเย็น จากนั้นนำสารละลายสปอร์จากจานเลี้ยงเชื้อ 10 จานมาคลุกกับปลายข้าวให้ทั่วในถาดอลูมิเนียม ขนาด $20 \times 30 \times 5$ เซนติเมตร เกลี่ยให้ปลายข้าวกระจายทั่วถาด จะให้ความหนาของปลายข้าว ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปิดด้วยผ้าขาวบาง แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน จากนั้นจึงนำปลายข้าวที่มีราเจริญเต็มที่ไปอบแห้งที่ 45 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน นำไปปั่นผงแล้วตรวจนับจำนวนสปอร์ต่อกรัมผงเชื้อที่ได้ด้วย Haemocytometer

2. การตรวจนับปริมาณสปอร์ราโดยใช้ Haemocytometer (Petreoff-Hausse chamber)

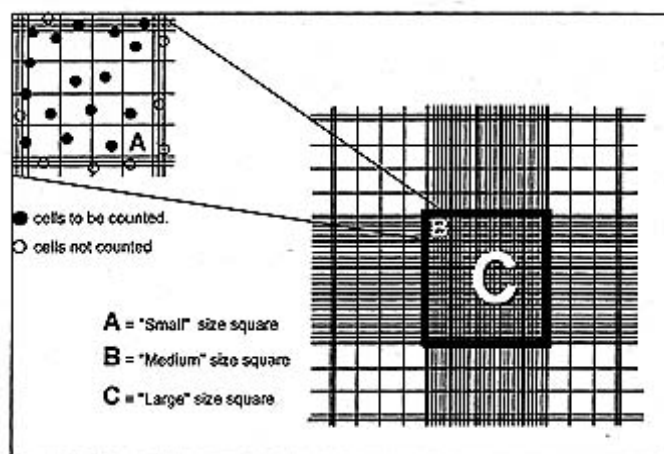
Haemocytometer เป็นอุปกรณ์ใช้นับจำนวนเซลล์หรืออนุภาคอื่นในสารแขวนลอยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ มีลักษณะเป็นช่องทำจากแก้วชนิดพิเศษที่มีความเที่ยงตรงสูง โดยปกติ Haemocytometer เป็นอุปกรณ์ที่ใช้เพื่อวิเคราะห์ส่วนประกอบในเลือด และเพื่อนับจำนวนเซลล์ในของเหลวเป็นหลัก นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการนับจำนวนสปอร์ของราได้

แผ่นกระจกของเครื่อง Haemocytometer จะประกอบด้วยร่องตามแนวยาวสี่ร่องในแถบสีเหลี่ยมผืนผ้า 3 แถบบริเวณกึ่งกลางแผ่น สำหรับพื้นผิวขนาดใหญ่ด้านนอกทั้ง 2 ด้านที่เหลือ จะไม่เรียบ และพื้นผิวบนแถบสีเหลี่ยมผืนผ้าบริเวณกึ่งกลางแผ่นจะมีผิวเรียบและเป็นมันวาว โดยตารางที่ใช้นับจำนวนเซลล์ซึ่งอยู่บนแถบกลางจะมีความลึกมากกว่าทั้ง 2 แถบที่ขนาบข้าง บนตารางสำหรับนับจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 8) จะประกอบด้วยช่องสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่จำนวน 25 ช่อง แต่ละช่องมีขนาด 0.2×0.2 มิลลิเมตร ในแต่ละช่องใหญ่แบ่งออกเป็นช่องเล็กจำนวน 16 ช่อง แต่ละช่องเล็กมีพื้นที่ 0.05×0.05 มิลลิเมตร เมื่อนำสไลด์แก้วมาปิดทับบนแผ่นกระจกจะทำให้มีความสูง 0.1 มิลลิเมตร ดังนั้นจะทำให้เกิดปริมาตรของเหลวที่ต้องการนับจำนวนเซลล์ (Chamber base) เป็น 0.00025 ($0.05 \times 0.05 \times 0.1$) ลูกบาศก์มิลลิเมตร (จุฬารัตน์, 2547)

การคำนวณจำนวนเซลล์ที่ตรวจนับได้

สูตรที่ใช้คำนวณจำนวนเซลล์

$$\text{จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตรของสารละลาย} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้} \times \text{แฟกเตอร์การเจือจาง}}{\text{จำนวนช่องที่นับ} \times \text{พื้นที่ที่นับ} \times \text{ความสูงของสารละลาย}}$$



ภาพที่ 8 ลักษณะตารางบนแผ่นกระจกสำหรับนับจำนวนเซลล์

ที่มา : Aquaculture & Aquatic Resources Management (2007)

3. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก

3.1 การศึกษาปริมาณต้นเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก

ชั่งกากมันสำปะหลังจำนวน 20 กรัม น้ำหนักแห้ง ใส่ลงในพลาสติก ปรับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 55 เปอร์เซ็นต์ นำพลาสติกที่ใส่วัสดุหมักนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที ปลดปล่อยไอน้ำให้เย็น จากนั้นนำมาผสมกับต้นเชื้อโดยมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ ใช้อุณหภูมิในการหมัก 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่ากิจกรรมอะไมเลสทุกๆ 12 ชั่วโมง

3.2 การศึกษาปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก

ชั่งกากมันสำปะหลังจำนวน 20 กรัม น้ำหนักแห้ง ใส่ลงในพลาสติก ปรับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำพลาสติกที่ใส่วัสดุหมักนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที ปลดปล่อยไอน้ำให้เย็น จากนั้นนำมาผสมกับต้นเชื้อโดยใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุหมักแห้ง ใช้อุณหภูมิในการหมัก 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่ากิจกรรมอะไมเลสทุกๆ 12 ชั่วโมง

4. การศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบเพคเบดขนาด 30 ลิตร

4.1 การศึกษารูปแบบของการกั้นวัสดุหมักที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร เมื่อไม่มีการให้อากาศ

นำกากมันสำปะหลังจำนวน 1,000 กรัม มาปรับความชื้นวัสดุหมักให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที รองวัสดุหมักเย็น จากนั้นคลุกผงที่เตรียมไว้ลงไป 7.5 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุหมักแห้ง แล้วบรรจุลงในตะแกรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร ให้มีความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร โดยทำการศึกษาลักษณะการกั้นแบ่งส่วนตะแกรง 3 แบบ แบ่งแบบเป็น 4 ส่วน, แบ่งแบบตามยาวและไม่มีการใส่แผ่นกั้น

จากนั้นนำตะแกรงใส่ลงในถังหมักแบบแพคเบด ไม่มีการให้อากาศตลอดการหมักเป็นเวลา 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างและวัดอุณหภูมิทุกๆ 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-เบสและค่ากิจกรรมอะไมเลส

4.2 การศึกษาผลกระทบของความหนาของวัสดุหมักเมื่อมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที

นำกากมันสำปะหลังจำนวน 750, 1,000 และ 1,250 กรัม ตามลำดับ มาปรับความชื้นวัสดุหมักให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที ร่อนวัสดุหมักเย็น จากนั้นคลุกผงที่เตรียมไว้ลงไป 7.5 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุหมักแห้ง แล้วบรรจุลงในตะแกรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร โดยการกั้นแบ่งแบบตามยาว เป็น 3 ส่วน โดยจะทำการศึกษาความหนาของชั้นวัสดุหมัก โดยมีความหนาของวัสดุหมักเป็น 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร ตามลำดับ จากนั้นนำตะแกรงใส่ลงในถังหมักแบบแพคเบด มีการให้อากาศในชั่วโมงที่ 12 ของการหมักด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที จนถึงชั่วโมงที่ 96 เก็บตัวอย่างและวัดอุณหภูมิทุกๆ 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-เบสและค่ากิจกรรมอะไมเลส

4.3 การศึกษาผลของการเติมเกลือแร่ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตรและมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที

นำกากมันสำปะหลังจำนวน 1,250 กรัม ปรับความชื้นวัสดุหมักให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ โดยการปรับความชื้นเริ่มต้นด้วยน้ำกลั่นเปรียบเทียบกับกรณีการเติมสารละลายเกลือแร่ซึ่งประกอบด้วย ยูเรีย 2.5 เปอร์เซ็นต์และโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที ร่อนวัสดุหมักเย็น จากนั้นคลุกผงที่เตรียมไว้ลงไป 7.5 เปอร์เซ็นต์ของวัสดุหมักแห้ง แล้วบรรจุลงในตะแกรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร การกั้นแบ่งแบบตามยาว เป็น 3 ส่วน ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร จากนั้นนำตะแกรงใส่ลงในถังหมักแบบแพคเบด มีการให้อากาศในชั่วโมงที่ 12 ของการหมักด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที จนถึงชั่วโมงที่ 96 เก็บตัวอย่างและวัดอุณหภูมิทุกๆ 12 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-เบสและค่ากิจกรรมอะไมเลส

5. การศึกษาความคงตัวต่อการเก็บรักษาของสารละลายเอนไซม์อะไมเลส

จากผลการทดลองที่ 4.2 นำวัสดุหมักที่เก็บตัวอย่างในชั่วโมงการหมักที่ 96 มาสกัดเอนไซม์ด้วยสารละลาย 0.1 M Acetate buffer pH 5.0 เก็บสารละลายเอนไซม์อะไมเลสที่ได้ในหลอดทดลองพลาสติก หลอดละ 10 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20, 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (28-29 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 30 วัน แล้วนำตัวอย่างมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์หลังการเก็บเป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 20, 25 และ 30 วัน เปรียบเทียบกับกิจกรรมของสารละลายเอนไซม์อะไมเลสก่อนนำมาบ่ม

6. การหาค่ากิจกรรมเอนไซม์

นำวัสดุหมักที่เก็บตัวอย่างมาจำนวน 10 กรัม น้ำหนักแห้งใส่ลงในพลาสติก มาทำการสกัดเอนไซม์ด้วยสารละลาย 0.1 M Acetate buffer pH 5.0 (ภาคผนวก ก ข้อ 2) จำนวน 100 มิลลิลิตรผสมกับโกลูอิน 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวางไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จึงได้สารละลายเอนไซม์ นำสารละลายเอนไซม์ไปวิเคราะห์ค่ากิจกรรมอะไมเลส

การหาค่ากิจกรรมอะไมเลสโดยวิธีของ Okolo ที่ปรับปรุง (Okolo *et al.*, 1995) นำสารละลาย DNS reagent (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ใส่ในหลอดทดลองชุดแรกจำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วพักไว้ นำหลอดทดลองอีกชุดใส่สารละลาย Soluble starch เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ จำนวนหลอดละ 1.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย 0.15 M Acetate buffer (ภาคผนวก ก ข้อ 2) จำนวน 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดชุดนี้ไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมสารละลายเอนไซม์ที่สกัดจากวัสดุหมักจำนวน 0.5 มิลลิลิตร อุ่นต่อไปอีก 15 นาที จากนั้นดูดสารละลายที่เติมสารละลายเอนไซม์แล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลาย DNS reagent ที่เตรียมไว้ นำไปต้มในอ่างน้ำเดือดนาน 5 นาทีและแช่ในอ่างน้ำเย็นแล้วเติมน้ำกลั่นจำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

กำหนดให้ 1 ยูนิตของเอนไซม์ หมายถึง ค่ากิจกรรมอะไมเลสแสดงเป็นไมโครโมลของน้ำตาลกลูโคสที่เกิดจากเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร ย่อยสารละลาย Soluble starch 2 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

7. การวิเคราะห์ตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของ *R. oligosporus* บนวัสดุหมัก

7.1 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน โดยวิธีของ Morgan-Elson ที่ปรับปรุงแล้ว (Van de Loo, 1976) (ภาคผนวก ก ข้อ 3)

การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีน ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งและบดละเอียดแล้ว จำนวน 0.5 กรัม เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วดูดส่วนใส 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ความเป็นกรด-เบสของสารละลายให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 เปอร์เซ็นต์และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วนำส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีน

ใส่สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Acetyl acetone 1 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) ต้มในน้ำเดือดนาน 20 นาที เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย Ehrlich reagent 1 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก ข้อ 3) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร หาปริมาณกลูโคซามีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคซามีนที่ความเข้มข้น 0-300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ข ข้อ 2)

7.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 1984)

นำกระตอมูนิเยม อบที่อุณหภูมิ 103±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน เก็บไว้ในโถดูดความชื้นจนกว่าจะใช้ ชั่งตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ความชื้น ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงในกระตอมูนิเยมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 103±2 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง เปิดฝาท่ออบ จากนั้นนำกระตอมูนิเยมออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งหาน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำหลาย ๆ ครั้งจนได้น้ำหนักคงที่ น้ำหนักส่วนที่หายไปคือน้ำหนักน้ำหรือความชื้น ซึ่งสามารถคำนวณหาปริมาณความชื้นได้จาก

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

7.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959)

การสกัดน้ำตาลจากกากมันสำปะหลังหมัก นำตัวอย่างกากมันสำปะหลังหมักไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาบดละเอียดด้วยโกร่ง ซึ่งตัวอย่างให้ได้ น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.3 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดใหญ่ เติมน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ เอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดด้วยลูกแก้ว นำไปใส่ใน Water bath อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง เขย่าหลอดทุกครั้งชั่วโมงเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ ตั้งทิ้งให้เย็น กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 แล้วปรับปริมาตรสารละลายที่ได้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ นำตัวอย่างที่จะหาปริมาณน้ำตาลจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง สำหรับหลอดสารละลายเปล่า (Blank) ใช้น้ำหรือบัฟเฟอร์แทนสามารถทำได้ครั้งละหลายตัวอย่าง เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ในระหว่างต้มควรใช้ลูกแก้ววางบนปากหลอดเพื่อลดการระเหยของน้ำ ลูกแก้วควรมีขนาดใหญ่กว่าปากหลอดพอควรเพื่อกันไม่ให้ลูกแก้วตกลงในหลอด จากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยการนำหลอดแก้วมาแช่ในน้ำแข็งที่ละลาย หรือใส่ในอ่างน้ำที่เปิดให้น้ำไหลตลอดเวลา เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 520 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่าง 0-1,000 ไมโครกรัม (Glucose equivalent) (ภาคผนวก ข ข้อ 3)

7.4 การวัดค่าความเป็นกรด-เบสโดยวิธีของ Han and Anderson (1975)

การวัดค่าความเป็นกรด-เบส โดยนำตัวอย่างวัสดุหมักที่ทำการอบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จำนวน 1 กรัม บดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 คน ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้ววัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-เบส

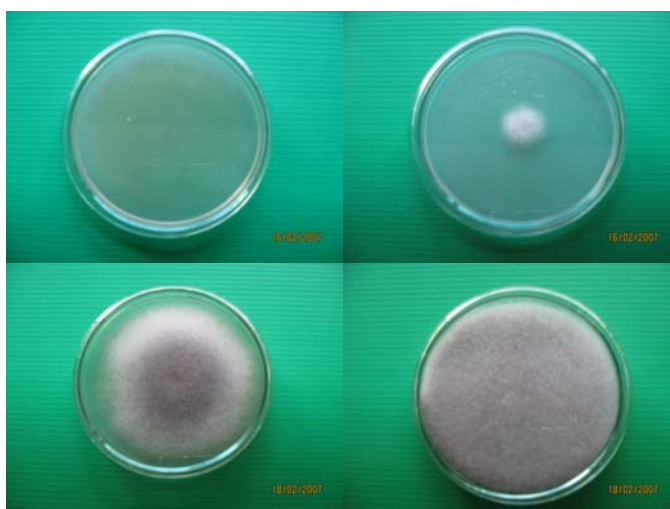
ผลและวิจารณ์

1. การเตรียมต้นเชื้อรา *R. oligosporus*

การเตรียมต้นเชื้อ *R. oligosporus* โดยนำต้นเชื้อ *R. oligosporus* ในสแลนค์ แสดงดังภาพที่ 9 มาเจ็ยเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงรา *R. oligosporus* บนอาหารวุ้นที่ทำจากมันฝรั่ง Potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 4 วัน พบว่าราจะมีลักษณะการเจริญที่เปลี่ยนแปลง ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงรา จะสร้างเส้นใยสีขาวแผ่ไปโดยรอบ และจะเริ่มสร้าง สปอร์เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน จากนั้นจะสร้าง สปอร์และเจริญเต็มที่จนเต็มจานเลี้ยงเชื้อที่เวลา 4 วันได้แสดงไว้ในภาพที่ 10 และได้ทำการขยาย ขนาดของรา *R. oligosporus* ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราลงบนปลายข้าวในถาดพบว่า เชื้อราจะเจริญได้ดี โดยลักษณะการเจริญของราจะเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวในวันที่ 2 และมีกลิ่นคล้ายข้าวสุก เส้นใยจะหนาและฟูขึ้นในวันที่ 3 และเริ่มสร้างสปอร์สีเทาดำเมื่อครบ 4 วัน จึงสร้างสปอร์ขึ้นเต็มถาด ดังแสดงในภาพที่ 11 ลักษณะของเมล็ดข้าวหลังจากที่ราเจริญแล้วนั้นจะแห้ง ทั้งนี้อาจเป็นผล เนื่องจากถาดมีลักษณะของภาชนะที่เปิดกว้าง ทำให้ความชื้นของปลายข้าวที่อยู่สูญเสียได้มากกว่าในสแลนค์ เมื่อทำการอบแห้งที่ 45 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 4 วันในการทำให้แห้ง และทำการนับจำนวนสปอร์พบว่าเท่ากับ 1.4×10^{10} สปอร์ต่อกรัมวัสดุหมักแห้ง จากนั้นจึงเก็บผงต้นเชื้อ ในฟลาสก์ดังแสดงในภาพที่ 12 เพื่อเตรียมสำหรับการใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 9 ต้นเชื้อรา *R. oligosporus* ในสแลนค์



ภาพที่ 10 รา *R. oligosporus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 11 การหมักรา *R. oligosporus* บนปลายข้าวในถาด



ภาพที่ 12 ต้นเชื้อในรูปผงของ รา *R. oligosporus*

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก

2.1 การศึกษาปริมาณต้นเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ระดับความชื้นของกากมันสำปะหลังที่ใช้ปริมาณต้นเชื้อทุกสัดส่วนได้แก่ 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเปลี่ยนแปลงระดับความชื้นขึ้นลง ประมาณ 3-6 เปอร์เซ็นต์จากความชื้นเริ่มต้น จนกระทั่งในช่วงโหมงการหมักที่ 96 (ภาพที่ 13) ซึ่งความชื้นที่เพิ่มขึ้นเกิดจากน้ำภายในวัสดุหมักระเหยออกมาและเมื่อเรามีการเจริญเกิดการคายน้ำของราจากกระบวนการเมแทบอลิซึม และเมื่อเราสร้างสปอร์จะทำให้ความชื้นของวัสดุหมักลดลง การทดลองนี้อุดจุกพลาสติกด้วยสำลีทำให้ความชื้นไม่สามารถระบายออกจากระบบ จึงเกิดเป็นหยดน้ำเกาะที่ผิวด้านในของพลาสติก และทำการทดลองในระบบปิดมีการควบคุมอุณหภูมิในการหมัก ดังนั้นความชื้นรวมของระบบจึงมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการหมักและเพิ่มขึ้นทุกสัดส่วนของปริมาณต้นเชื้อ การที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เกิดจากราเจริญและย่อยสลายวัสดุหมักได้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงต้นของการหมัก ถึงแม้ว่าในช่วงท้ายของการหมักรา *Rhizopus oligosporus* จะเจริญเพิ่มปริมาณในอัตราที่น้อยลง แต่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ยังคงเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลแตกต่างจากงานวิจัยของ ทรงศักดิ์ (2543) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงสุด จากนั้นลดลง (ภาพที่ 14) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อเปรียบเทียบในปริมาณต้นเชื้อที่แตกต่างกัน พบว่า ที่ปริมาณต้นเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด รองลงมาคือที่ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณต้นเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าปริมาณของต้นเชื้อมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ผลการวิเคราะห์กลูโคซามีน

กลูโคซามีนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญภายในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ปริมาณกลูโคซามีนสามารถใช้บ่งบอกถึงการเจริญของจุลินทรีย์ได้ แต่ปริมาณกลูโคซามีนไม่สามารถบอกจำนวนจุลินทรีย์หรือเปลี่ยนเป็นน้ำหนักของจุลินทรีย์ (Zheng and Shitty, 1997)

จากภาพที่ 15 แสดงปริมาณกลูโคซามีนที่มีปริมาณของต้นเชื้อที่ต่างกัน พบว่าปริมาณกลูโคซามีนของการหมักด้วยต้นเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 36 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 74.46 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จะเห็นได้ว่าในช่วงแรกของการหมักที่ระยะเวลา 0-36 ชั่วโมง ราเจริญได้อย่างรวดเร็ว จากการเก็บตัวอย่างเพื่อที่จะนำมาวิเคราะห์ผลการทดลอง สังเกตพบว่าในชั่วโมงการหมักที่ 24 และ 36 มีเส้นใยสีขาวของราเกิดขึ้นอยู่เป็นจำนวนมากภายในฟลาสก์ที่ใช้หมัก หลังจากชั่วโมงที่ 36 ปริมาณกลูโคซามีนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาจนครบ 96 ชั่วโมง ส่วนในต้นเชื้อที่มีปริมาณ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 53.46 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จะเห็นได้ว่าในช่วงแรกของการหมักที่ระยะเวลา 0-48 ชั่วโมง ราเจริญได้ดี จากการเก็บตัวอย่างสังเกตพบว่าในชั่วโมงการหมักที่ 36 และ 48 มีเส้นใยสีขาวของราเกิดขึ้นอยู่เป็นจำนวนมาก หลังจากชั่วโมงที่ 48 ปริมาณกลูโคซามีนลดลงจากเดิมตลอดเวลาจนครบ 96 ชั่วโมง ที่ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ หลังจากชั่วโมงการหมักที่ให้ค่าปริมาณกลูโคซามีนสูงสุด หลังจากนั้นปริมาณกลูโคซามีนมีแนวโน้มคล้ายกัน คาดว่าอัตราการเกิดและการตายของจุลินทรีย์ในช่วงนี้มีค่าใกล้เคียงกัน และในต้นเชื้อที่มีปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 มีค่าเท่ากับ 46.28 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักวัสดุหมักแห้ง เนื่องจากใช้ปริมาณต้นเชื้อน้อยสุด จะพบว่าที่ระยะ 0-36 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นอัตราการเจริญจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนมีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 หลังจากนั้นปริมาณกลูโคซามีนจะเริ่มลดลง

ภาพที่ 19 แสดงปริมาณกลูโคซามีนที่ความชื้นเริ่มต้นต่างกัน พบว่าปริมาณกลูโคซามีนของการหมักที่ปริมาณความชื้นที่เริ่มต้น 55 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 53.46 และ 31.92 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ ส่วนที่ปริมาณความชื้นที่เริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 60 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 24.47 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง นอกจากนี้ยังพบว่า ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณกลูโคซามีนต่ำเนื่องจากความชื้นของวัสดุหมักอาจต่ำเกินไปสำหรับการเจริญของรา ในขณะที่ความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นของวัสดุหมักอาจสูงเกินไปทำให้ราเจริญได้ไม่ดี ปริมาณกลูโคซามีนที่วิเคราะห์ได้จึงอยู่ในระดับต่ำที่สุด

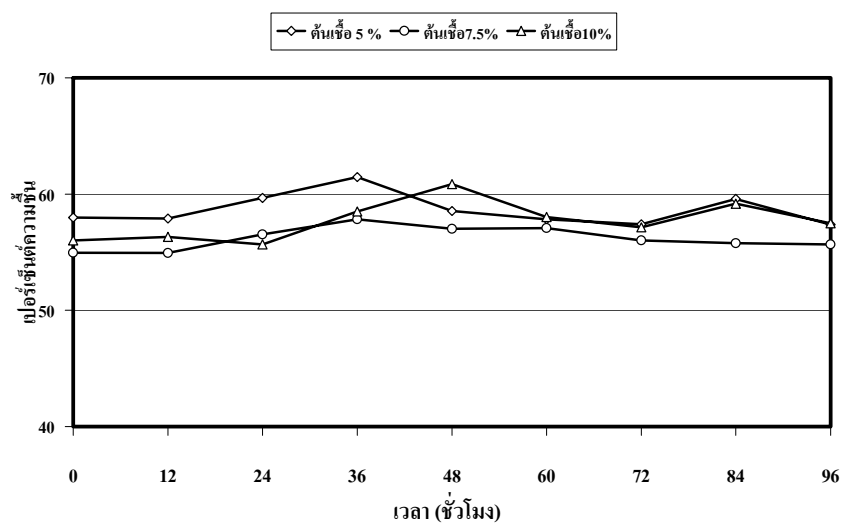
ผลการวิเคราะห์กิจกรรมอะไมเลส

ผลของศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่ปริมาณต้นเชื้อต่างกัน พบว่าช่วงแรกของระยะเวลาการหมัก เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ แต่ยังผลิตได้ในปริมาณน้อย เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพิ่มมากขึ้น

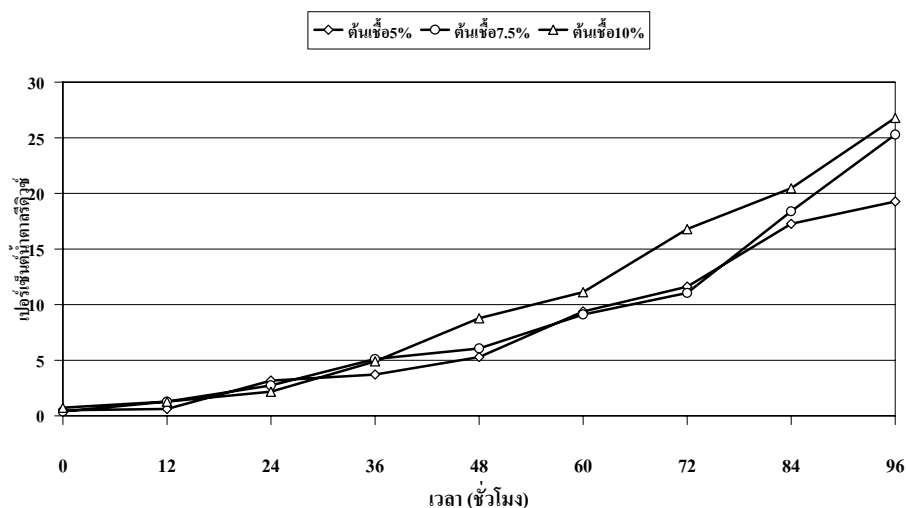
เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในช่วง 72 ชั่วโมงการหมักที่มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 8,190.26 และ 8,464.14 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และในปริมาณต่อเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในช่วง 84 ชั่วโมงการหมักที่มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 8,987.60 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ดังแสดงในภาพที่ 16 จะเห็นได้ว่าในช่วงแรกของการหมักที่ระยะเวลา 0-48 ชั่วโมง เราจะผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้น้อย เนื่องจากเป็นช่วงที่รากำลังเจริญ และหลังจากชั่วโมงที่ 48 เราเจริญดีแล้วจึงมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลสมากขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีปริมาณสูงสุดชั่วโมงการหมักที่ 72 เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และชั่วโมงการหมักที่ 84 เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์ที่วัดได้จะมีค่าลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก จากวงจรชีวิตของราเข้าสู่ช่วงการเจริญเต็มที่ ราจะสร้างเส้นใยน้อยลงและเริ่มมีการสร้างสปอร์แทน มีการต้องการอาหารหรือแหล่งพลังงานลดลง เอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจะลดลงด้วย

จากภาพที่ 20 ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในช่วง 84 ชั่วโมงการหมักที่มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 8,987.60 และ 7,141.84 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ และในปริมาณความชื้นที่เริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในช่วง 60 ชั่วโมงการหมักที่มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 5,497.84 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จากการทดลอง พบว่าปริมาณความชื้นเริ่มต้นทุกค่ามีแนวโน้มเหมือนกันคือค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส จะเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงการหมักเริ่มต้นจนถึงชั่วโมงที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส สูงสุด จากนั้นค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสจะมีค่าลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

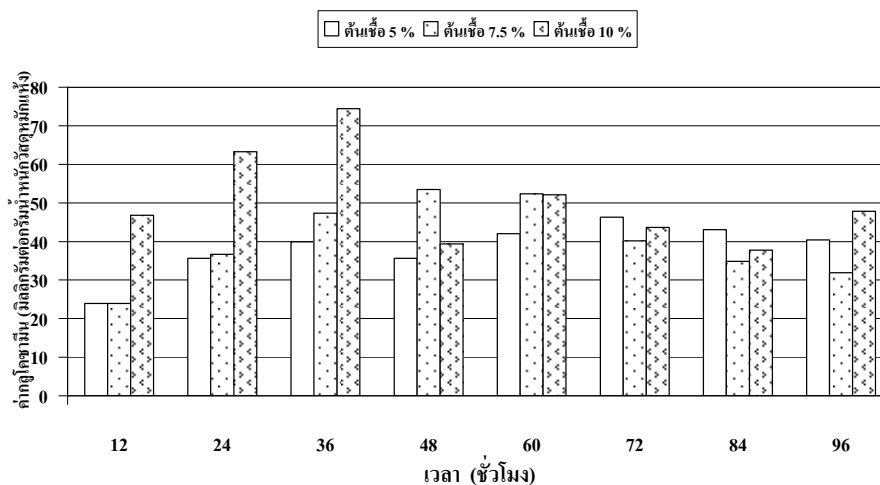
จากการทดลอง ใช้ความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ (เกษณีชัยและจิราภา, 2547) สรุปได้ว่าควรใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ เพราะเป็นปริมาณต้นเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้มากที่สุด จึงนำปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้เพื่อทำการศึกษาในการทดลองต่อไปและการขยายขนาดการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบเพคเบด



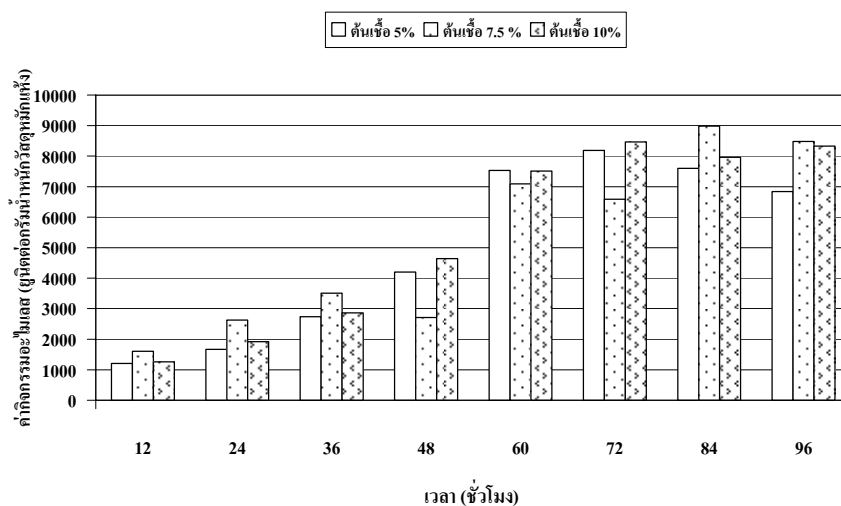
ภาพที่ 13 ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 14 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 15 ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณด้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 16 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้ปริมาณด้นเชื้อเป็น 5, 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และมีความชื้นเริ่มต้นเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์

2.2 การศึกษาปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก

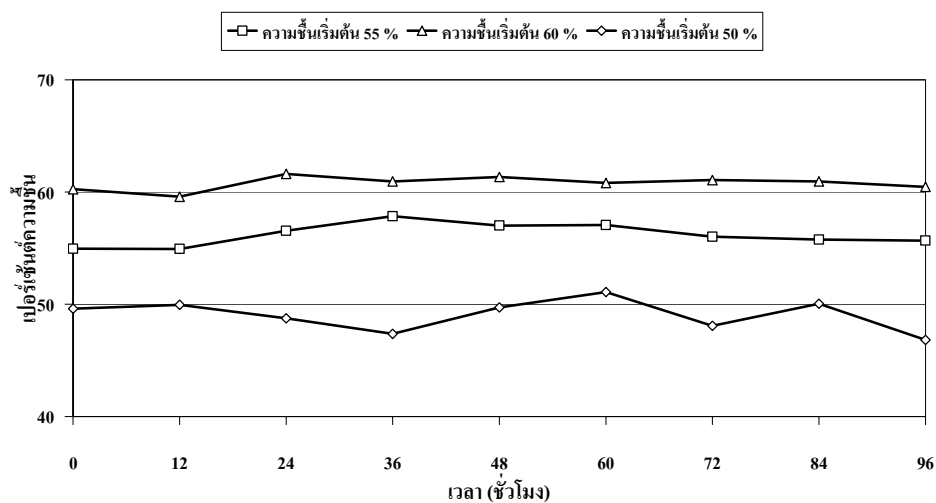
ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ระดับความชื้นของกากมันสำปะหลังที่ใช้ปริมาณความชื้นเริ่มต้นทุกค่าได้แก่ 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 17) จะมีการเปลี่ยนแปลงระดับความชื้นขึ้นลง ประมาณ 1-3 เปอร์เซ็นต์จากความชื้นเริ่มต้นของแต่ละการทดลอง ยกเว้นที่ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ในช่วงโมการหมักที่ 96 ปริมาณความชื้นที่ลดลงอย่างมาก ความชื้นของวัสดุหมักอาจเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก อันเนื่องมาจากน้ำอิสระที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมา และไม่สามารถระบายออกจากระบบได้ ในทางตรงกันข้ามวัสดุหมักจะมีความชื้นลดลงเมื่อราสร้างสปอร์ ความชื้นของวัสดุหมักมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ วัสดุหมักที่มีความชื้นจะทำให้เส้นใยของราแทรกตัวเข้าสู่ภายในได้ดีกว่าวัสดุหมักที่แห้ง แต่วัสดุหมักที่มีความชื้นสูงก็จะเกาะติดกันได้ง่าย

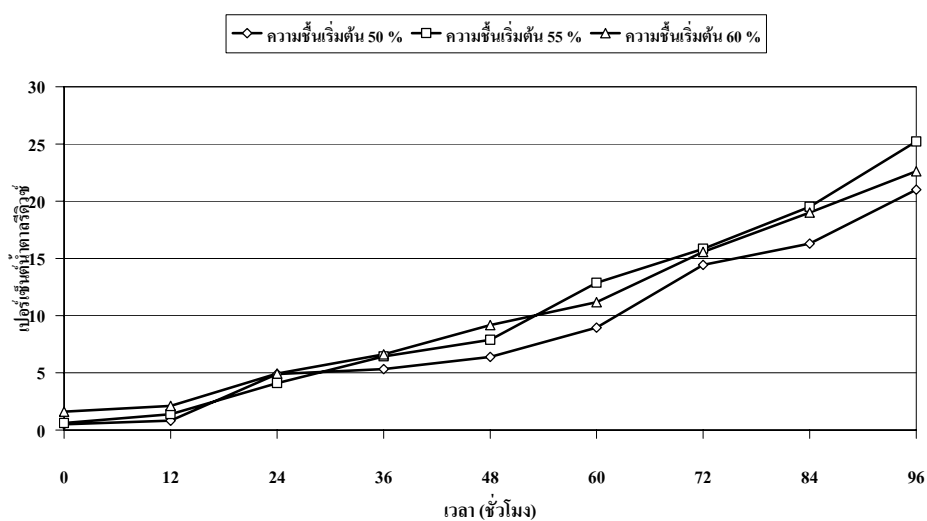
ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการหมักและเพิ่มขึ้นทุกค่าของปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่ทำการทดลอง การที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เกิดจากราเจริญและย่อยสลายวัสดุหมักผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาพที่ 18) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความชื้นที่เริ่มต้นแตกต่างกัน พบว่า ที่ปริมาณความชื้นที่เริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด รองลงมาคือที่ปริมาณความชื้นที่เริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ และที่ปริมาณความชื้นที่เริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับค่ากิจกรรมอะไมเลส

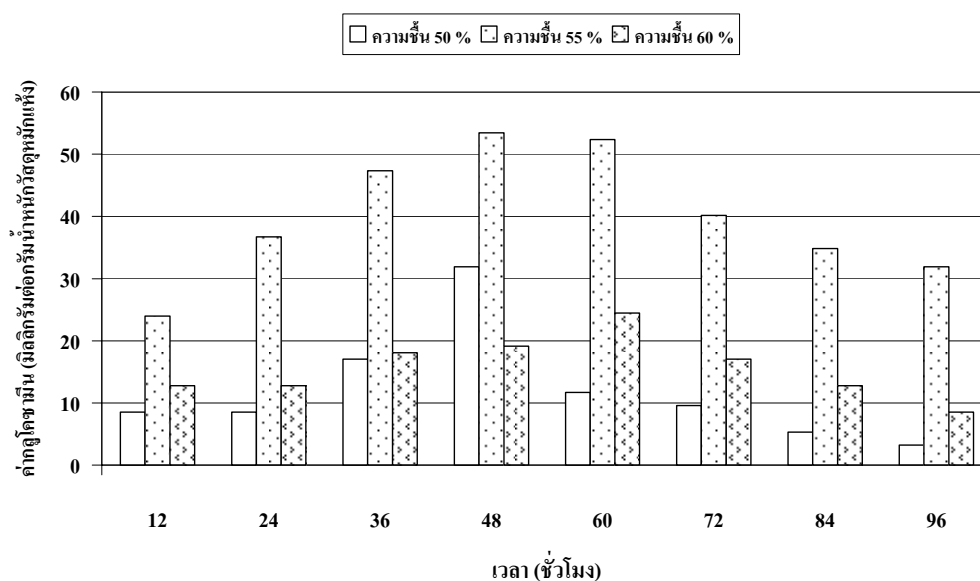
จากการทดลอง ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลอง 2.1 เนื่องจากความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ที่ใช้ในการทดลอง 2.1 เป็นปริมาณความชื้นที่เหมาะสมกับการเพิ่มโปรตีนในการหมัก ดังนั้นจึงต้องทำการหาปริมาณความชื้นที่เหมาะสมกับการผลิตเอนไซม์อะไมเลส และสรุปได้ว่าควรใช้ความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ เพราะเป็นความชื้นเริ่มต้นที่สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์และเอนไซม์อะไมเลสได้มากที่สุด จึงนำความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ ใช้เพื่อทำการศึกษารายขนาดการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบเพคเบดต่อไป



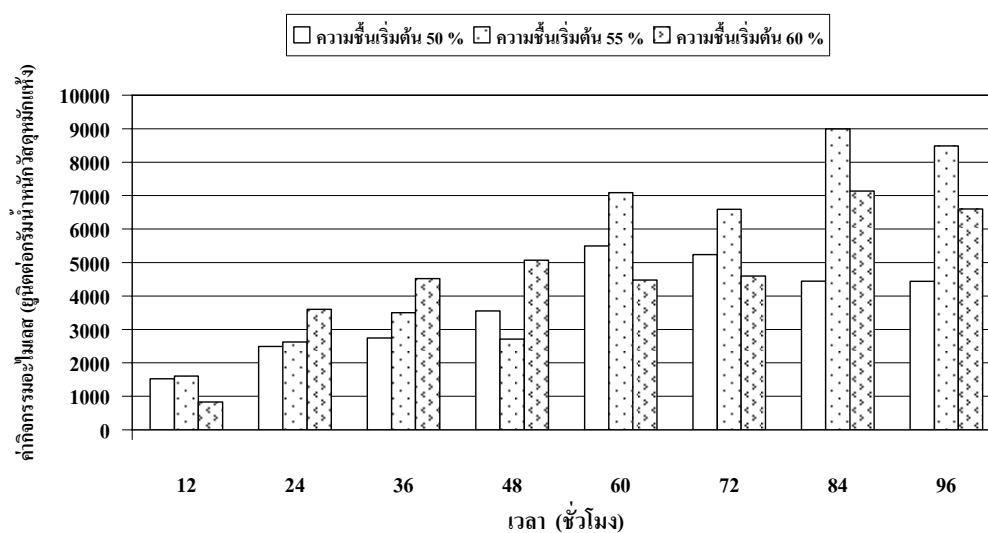
ภาพที่ 17 ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมัก เป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณ ดันเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 18 ปริมาณน้ำที่ดูดซับที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมัก เป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณ ดันเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์



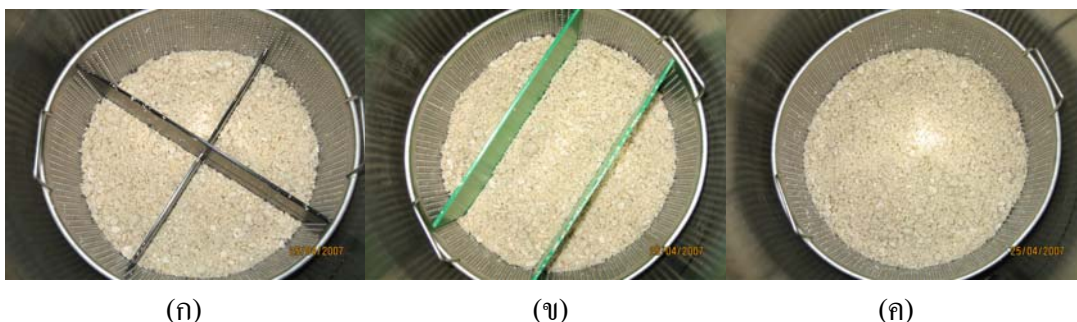
ภาพที่ 19 ปริมาณกลูโคซามินที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 20 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อแปรค่าความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 50, 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก และใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบดขนาด 30 ลิตร

3.1 การศึกษารูปแบบของการกั้นวัสดุหมักที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร เมื่อไม่มีการให้อากาศ



ภาพที่ 21 แสดงรูปแบบของแผ่นกั้น (ก) แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน (ข) แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว (ค) แบบไม่มีแผ่นกั้น

ผลของอุณหภูมิในวัสดุหมักและปริมาณความชื้น

อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการหมัก 96 ชั่วโมงชี้ให้เห็นถึงการเจริญของรา *R. oligosporus* เนื่องจากความร้อนเกิดขึ้นจากกระบวนการหายใจและกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งการถ่ายเทความร้อนในกระบวนการหมักแบบแห้งจะถูกจำกัดด้วยความสามารถในการถ่ายเทความร้อนของวัสดุหมัก (Raimbault, 1998) อุณหภูมิในวัสดุหมักที่ชั่วโมงการหมักเริ่มต้น จะอยู่ในช่วง 30-32 องศาเซลเซียส เนื่องจากการถ่ายด้นเชื้อลงในวัสดุหมักภายหลังจากฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสนาน 25 นาทีแล้วทิ้งไว้ให้เย็น โดยไม่มีการควบคุมอุณหภูมิวัสดุหมักขณะถ่ายด้นเชื้อ จึงทำให้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ชั่วโมงการหมักเริ่มต้นไม่เท่ากัน

กากมันสำปะหลังที่ใช้เป็นวัสดุหมักมีความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 22 และภาพที่ 23 พบว่า การใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน มีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 12 และระดับความชื้นจะลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก การกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน เป็นการกั้นที่ทำให้วัสดุหมักมีพื้นที่สัมผัสกับอากาศมากที่สุด เกิดการกระจายตัวของความร้อนได้ดี จึงทำให้อุณหภูมิของวัสดุหมักไม่สูง ส่วนที่ใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว ซึ่งมีอุณหภูมิของวัสดุหมักเริ่มต้นมี

ค่าไม่สูงนัก ก่อนที่อุณหภูมิจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงการหมักที่ 36 เนื่องจากเป็นช่วงที่ราเจริญได้ดีที่สุด (Log phase) หลังจากนั้นอุณหภูมิจะลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และความชื้นในช่วงแรกของการหมักที่ 0-12 ชั่วโมง ความชื้นจะลดลง ก่อนที่ความชื้นจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงการหมักที่ 36 เป็นช่วงที่อุณหภูมิของวัสดุหมักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากความร้อนทำให้น้ำภายในวัสดุหมักระเหยออกมาสู่ผิวของวัสดุหมักและไม่สามารถระบายออกจากระบบได้ทัน ทำให้ความชื้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นความชื้นในวัสดุหมักจะมีค่าใกล้เคียงกับความชื้นเริ่มต้น เนื่องจากรามีการเจริญทำให้วัสดุหมักแห้งลงเล็กน้อย การใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว จะมีพื้นที่สัมผัสกับอากาศได้น้อยกว่าแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน การกระจายตัวของความร้อนทำไม่ได้ไม่ดัดนัก จึงทำให้อุณหภูมิของวัสดุหมักเพิ่มสูงขึ้น ส่วนแบบไม่มีแผ่นกั้น การสัมผัสของวัสดุหมักกับอากาศจะมีพื้นที่สัมผัสน้อยที่สุด การกระจายตัวของความร้อนน่าจะแย่ที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิของวัสดุหมักแบบไม่มีแผ่นกั้นกับแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน อุณหภูมิของวัสดุหมักแบบไม่มีแผ่นกั้นสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิของวัสดุหมักแบบไม่มีแผ่นกั้นกับแบบแบ่งตามยาว กลับมีอุณหภูมิภายในวัสดุหมักต่ำกว่า ส่วนแบบไม่มีแผ่นกั้นอุณหภูมิจะสูงขึ้นเรื่อยๆ จนมีค่าสูงสุดในช่วงการหมักที่ 24 เนื่องจากการเจริญของรา หลังจากนั้นอุณหภูมิจะลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และระดับความชื้นจะมีค่าใกล้เคียงกับความชื้นเริ่มต้น

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการหมักและเพิ่มขึ้นทุกแบบของแผ่นกั้นที่ทำการทดลอง การที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง เกิดจากราเจริญและย่อยสลายวัสดุหมักผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงต้นของการหมัก (ภาพที่ 24) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อเปรียบเทียบตามรูปแบบของแผ่นกั้นที่แตกต่างกัน พบว่า การใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วนมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด รองลงมาคือการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุดซึ่งมีค่าประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิเคราะห์กลูโคซามีน

กลูโคซามีนเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ปริมาณกลูโคซามีนสามารถบ่งบอกถึงการเจริญของจุลินทรีย์ (Zheng and Shitty, 1997) จากภาพที่ 25 แสดงปริมาณกลูโคซามีนที่มีรูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน พบว่าปริมาณกลูโคซามีนของการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน มีค่าสูงสุดในช่วงการหมักที่ 24 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 65.96 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ส่วนการ

ใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 86.17 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และในแบบไม่มีแผ่นกั้น ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 96 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 56.38 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จากการทดลอง พบว่าของการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วนและการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว มีแนวโน้มคล้ายกัน และมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของวัสดุหมัก คือในชั่วโมงที่ให้ค่ากลูโคซามีนสูงสุดนั้น เป็นชั่วโมงในการหมักที่ตามหลังชั่วโมงการหมักที่ให้ค่าอุณหภูมิของวัสดุหมักสูงสุดอยู่ 12 ชั่วโมง และหลังจากชั่วโมงที่ให้ค่ากลูโคซามีนสูงสุด ปริมาณกลูโคซามีนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาจนครบ 96 ชั่วโมง ส่วนในแบบไม่มีแผ่นกั้น ปริมาณกลูโคซามีนจะแตกต่างจาก 2 แบบแรก คือจะมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณกลูโคซามีนอย่างช้าจนมีค่ากลูโคซามีนสูงสุดในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก

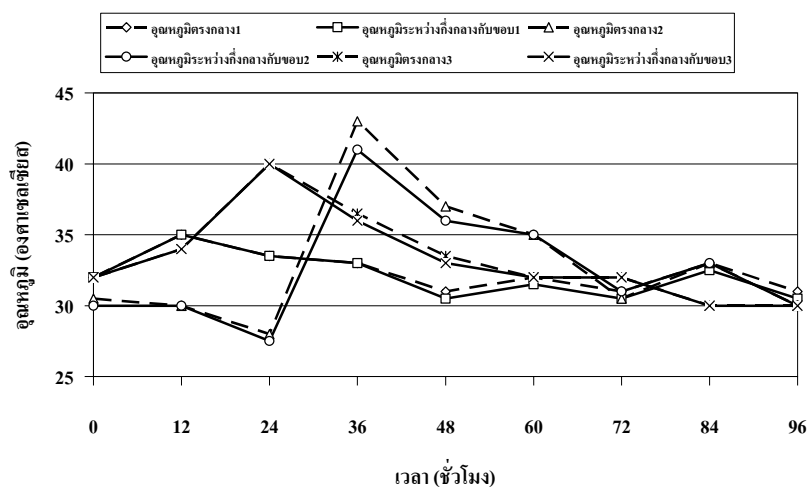
ผลการวิเคราะห์กิจกรรมอะไมเลส

เมื่อศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่มีรูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน พบว่าในช่วงแรกขอระยะเวลาการหมัก เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ แต่ยังผลิตได้ในปริมาณน้อย เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพิ่มมากขึ้น ที่การใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 8,664.65 ยูนิตต่อกรัม น้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ส่วนการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 96 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 6,191.83 ยูนิตต่อกรัม น้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และในแบบไม่มีแผ่นกั้น เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 24 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 4,646.64 ยูนิตต่อกรัม น้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ดังแสดงในภาพที่ 26 จากการทดลอง พบว่าของการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วนและแบบไม่มีแผ่นกั้น มีแนวโน้มคล้ายกันคือค่ากิจกรรมอะไมเลสจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงชั่วโมงที่ให้ค่ากิจกรรมสูงสุด จากนั้นค่ากิจกรรมจะลดลงเล็กน้อยและคงที่จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก เนื่องจากในช่วงแรกมีอัตราการเจริญของราอย่างรวดเร็วและเมื่อราเจริญเต็มที่แล้วจะผลิตเอนไซม์อะไมเลส ส่วนในช่วงหลังวงจรชีวิตของราเข้าสู่ช่วงการเจริญคงที่ ราจะสร้างเส้นใยน้อยลงและเริ่มมีการสร้างสปอร์แทน มีการต้องการอาหารหรือแหล่งพลังงานลดลง เอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจะลดลงด้วย ส่วนการใช้แผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว ค่ากิจกรรมอะไมเลสจะแตกต่างจาก 2 แบบแรก คือจะมีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมอะไมเลสอย่างช้าๆจนมีกิจกรรมอะไมเลสสูงสุดในชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก เป็นผลมาจากการกั้นแบบนี้มีค่ากลูโคซามีนที่สูงมากจึงทำให้มีการผลิตเอนไซม์อะไมเลสออกมาเรื่อยๆจนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก

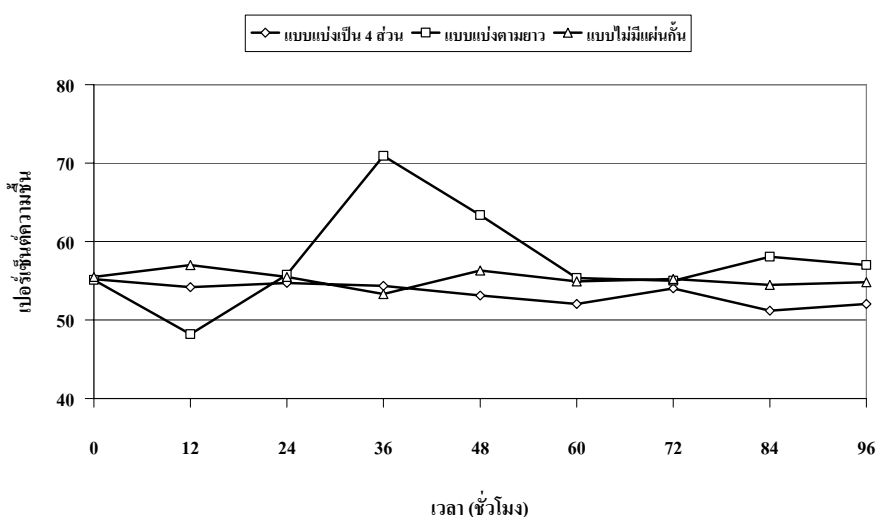
ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-เบส

รา *R. oligosporus* จะเจริญอยู่ในช่วงความเป็นกรด-เบสระหว่าง 4-6.3 (Nagel *et al.*, 1999) ค่าความเป็นกรด-เบสที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของรา *R. oligosporus* จากภาพที่ 27 เป็นเพียงตัวบ่งชี้การเจริญของรา *R. oligosporus* จะเห็นว่าค่าความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นที่ชั่วโมงที่ 0 ของทุกการทดลอง จะอยู่ในช่วง 3.8-4.2 เมื่อเวลาผ่านไปค่าความเป็นกรด-เบสลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 12-24 ชั่วโมงแรกของทุกรูปแบบของแผ่นกั้น หลังจากนั้นในแบบไม่มีแผ่นกั้น ค่าความเป็นกรด-เบสจะลดลงจนถึงสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก ส่วนในแผ่นกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน ค่าความเป็นกรด-เบสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก แสดงให้เห็นว่าราเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงแรกและช้าลง Raimbault (1998) การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสของจุลินทรีย์เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม การลดลงของค่าความเป็นกรด-เบสเป็นผลมาจากการปล่อยกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก, กรดอะซิติก และกรดแลกติก หรือเอนไซม์ ส่วนการที่ค่าความเป็นกรด-เบสเพิ่มขึ้นจากเมื่ออาหารที่เป็นแป้งหมด รา *R. oligosporus* จะสร้างเอนไซม์โปรติเอสมาย่อยสลายโปรตีนใช้เป็นอาหารต่อ ซึ่งโปรตีนอาจมาจากตัวเซลล์ของราเอง การสลายโปรตีนจะให้แอมโมเนียออกมา และรวมกับความชื้นที่มีอยู่จะได้เป็นไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังกล่าวถึงค่าความเป็นกรด-เบสของจุลินทรีย์ไว้ด้วย รา *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp. อาจมีค่าความเป็นกรด-เบสลดลงต่ำกว่า 3 ได้

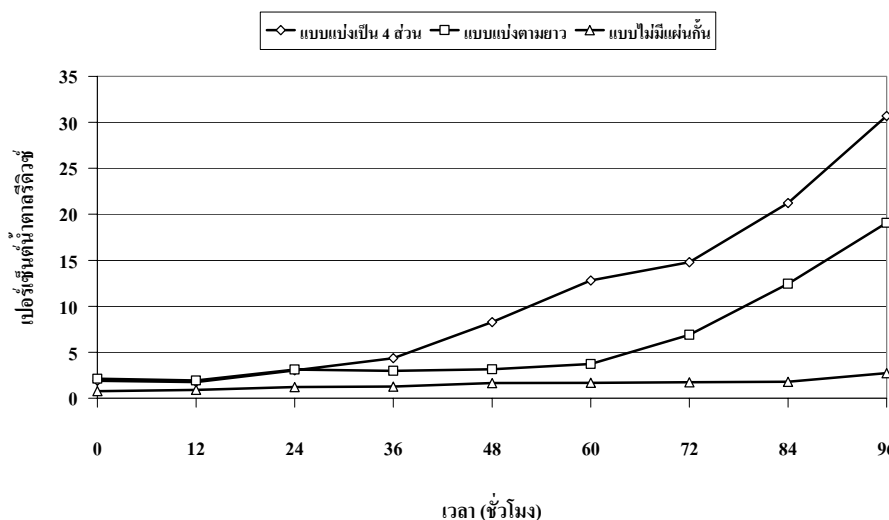
จากการทดลองในส่วนนี้ ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองที่ 2 และความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร (เกษณีย์และจิราภา, 2547) สรุปได้ว่าเลือกใช้การกั้นแบบตามยาว ถึงแม้ว่ารูปแบบการกั้นแบบตามยาวจะไม่ใช้รูปแบบการกั้นที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้มากที่สุด แต่รูปแบบการกั้นแบบนี้ให้ค่ากลูโคซามีนมากที่สุด ดังนั้นถ้ามีการปรับสภาวะอื่นๆโดยใช้รูปแบบการกั้นนี้ อาจทำให้ผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้มากขึ้นอีกทั้งรูปแบบการกั้นแบบตามยายังง่ายต่อการออกแบบแผ่นกั้นเมื่อมีการขยายขนาดการผลิต



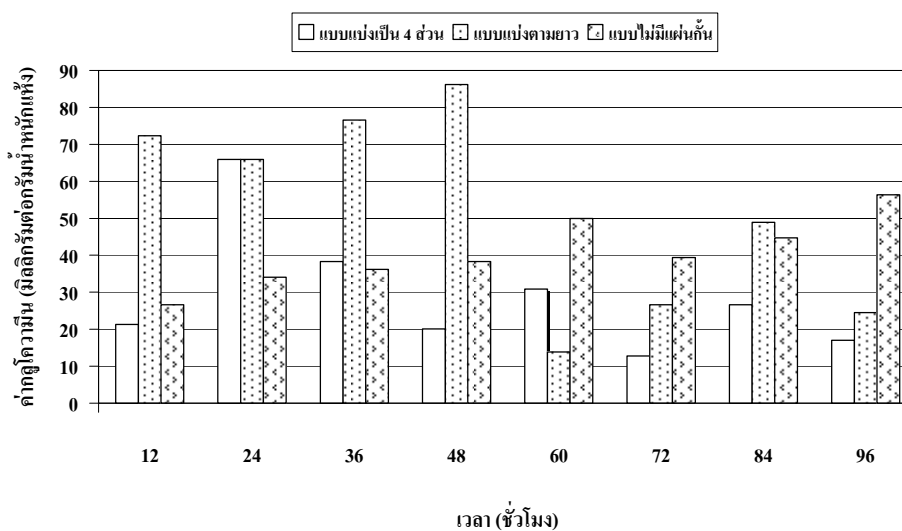
ภาพที่ 22 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือ (1) การกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, (2)การกั้นแบบแบ่งตามยาว และ(3)แบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์



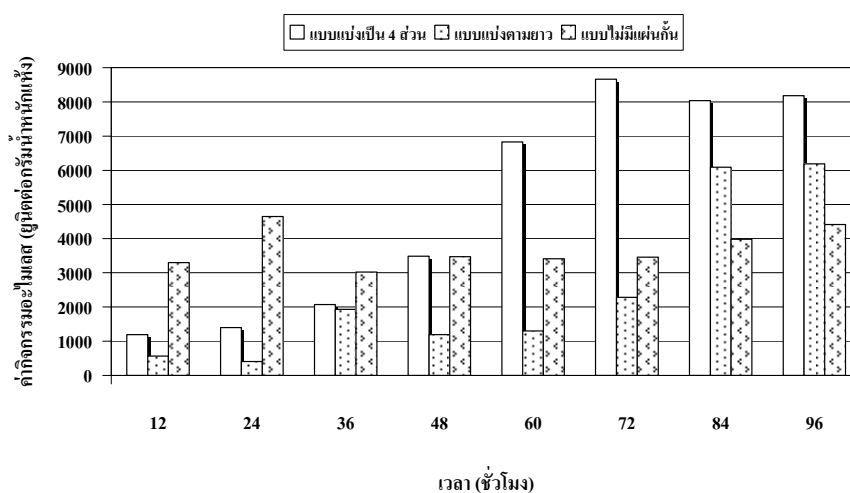
ภาพที่ 23 ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์



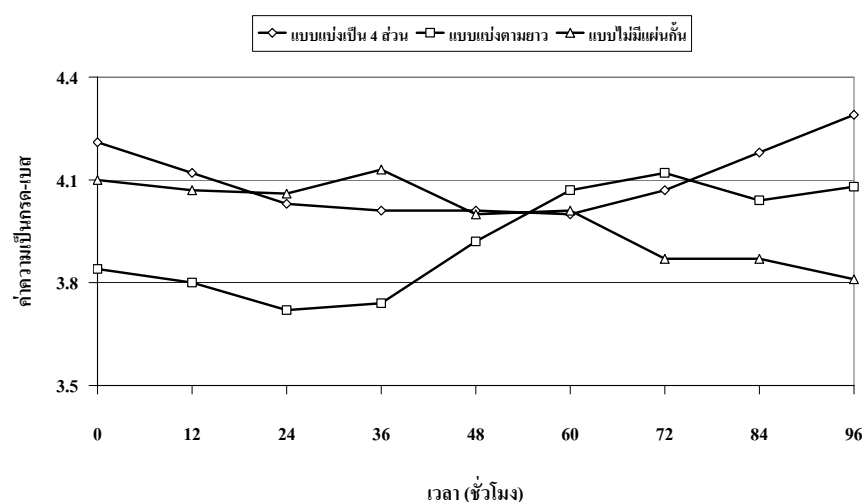
ภาพที่ 24 ปริมาณน้ำตาลลิตรที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 25 ปริมาณกลูโคสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์

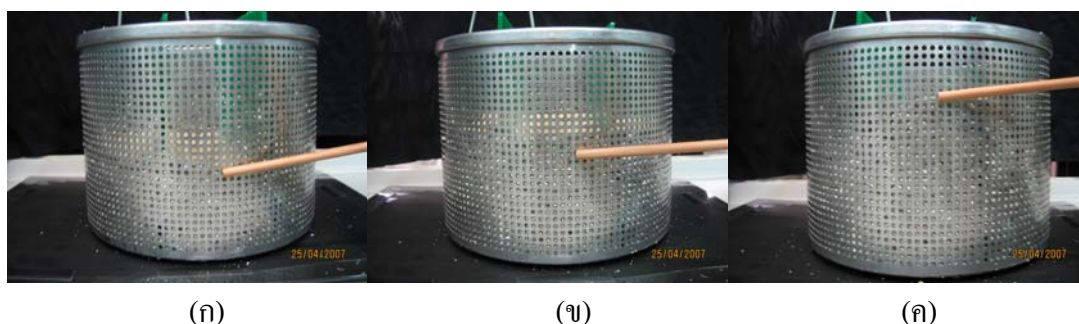


ภาพที่ 26 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 27 ค่าความเป็นกรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ เมื่อใช้รูปแบบของแผ่นกั้นต่างกัน คือการกั้นแบบแบ่งเป็น 4 ส่วน, การกั้นแบบแบ่งตามยาว และแบบไม่มีแผ่นกั้น โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมักใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์

3.2 การศึกษาผลกระทบของความหนาของวัสดุหมักเมื่อมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 28 แสดงความหนาของชั้นวัสดุหมัก (ก) ความหนา 7.5 เซนติเมตร (ข) ความหนา 10 เซนติเมตร (ค) ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ผลของอุณหภูมิในวัสดุหมัก

อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการหมัก 96 ชั่วโมงชี้ให้เห็นถึงการเจริญของรา *R. oligosporus* เนื่องจากความร้อนเกิดขึ้นจากกระบวนการหายใจและกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งการถ่ายเทความร้อนในกระบวนการหมักแบบแห้งจะถูกจำกัดด้วยความสามารถในการถ่ายเทความร้อนของวัสดุหมัก (Raimbault, 1998)

อุณหภูมิในวัสดุหมักที่ชั่วโมงการหมักเริ่มต้น จะอยู่ในช่วง 31-32 องศาเซลเซียส เนื่องจากไม่มีการควบคุมอุณหภูมิวัสดุหมักขณะถ่ายคั่นเชื้อ จึงทำให้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ชั่วโมงการหมักเริ่มต้นไม่เท่ากัน (ภาพที่ 29 และ 30) ที่ความหนาของวัสดุหมัก 7.5 และ 10 เซนติเมตร พบว่าชั่วโมงการหมักที่ 0 - 12 ที่ไม่มีการให้อากาศ เป็นช่วง Lag phase ของรา ทำให้ในชั่วโมงการหมักที่ 12 อุณหภูมิของวัสดุหมักใกล้เคียงกับอุณหภูมิออกถังหมัก หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 มีการให้อากาศ ทำให้อุณหภูมิของวัสดุหมักลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก (ภาพที่ 31) ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร พบว่า ชั่วโมงการหมักที่ 0 - 12 ที่ไม่มีการให้อากาศ อุณหภูมิของวัสดุหมักสูงขึ้น เนื่องจากความหนาของวัสดุหมักมากที่สุดทำให้เกิดการสะสมของความร้อนภายในวัสดุหมัก หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 มีการให้อากาศ อุณหภูมิของวัสดุหมักยังคงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

เป็นเพราะว่าความร้อนยังคงสะสมอยู่และความร้อนที่เกิดจากการเจริญของรา แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 36 อุณหภูมิของวัสดุหมักลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก

การเพิ่มหรือลดของอุณหภูมิของวัสดุหมักได้รับอิทธิพลมาจากอุณหภูมิอากาศภายนอกถึงหมักที่จะถูกดูดเข้าไปถึงหมักเพื่อให้อากาศและระบายความร้อนจากวัสดุหมัก เนื่องจากไม่มีระบบการควบคุมอุณหภูมิอากาศก่อนเข้าถึงหมัก มีเพียงการให้อากาศไหลผ่านผิวน้ำเพื่อเพิ่มความชื้นให้กับอากาศ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ระดับความชื้นของกากมันสำปะหลังที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ช่วงแรกของการหมักที่ 0-12 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยทุกค่าความหนาของวัสดุหมักที่ทำการทดลอง หลังจากนั้นมีการเปิดลมที่ความเร็วลม 0.1 เมตรต่อวินาทีในช่วงชั่วโมงการหมักที่ 12 ทำให้ความชื้นของวัสดุหมักมีค่าลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก เนื่องจากความชื้นที่ระเหยจากวัสดุหมักถูกลมพัดออกจากถังหมัก (ภาพที่ 32) พบว่าที่ความหนาของวัสดุหมัก 7.5 เซนติเมตรเป็นความหนาที่น้อย อากาศแทรกตัวเข้าไปในวัสดุหมักได้ง่ายทำให้ระบายความร้อนได้ดี น้ำภายในวัสดุหมักระเหยออกมาสู่ผิววัสดุหมักได้ง่ายจึงทำให้ความชื้นลดลงมากที่สุด รองลงมาคือที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร เป็นความหนาที่มากที่สุดในการทดลอง อากาศแทรกตัวเข้าไปในวัสดุหมักได้ยาก การระบายความร้อนไม่ดีทำให้เกิดการสะสมของความร้อน ส่งผลให้เกิดการระเหยของน้ำภายในวัสดุหมัก จึงทำให้ความชื้นลดลงมาก และที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตรความชื้นลดลงน้อยที่สุด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการหมักและเพิ่มขึ้นทุกค่าความหนาของวัสดุหมักที่ทำการทดลอง (ภาพที่ 33) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อเปรียบเทียบกับความหนาของชั้นวัสดุหมักต่างกัน พบว่า ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตรมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด รองลงมาคือความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตรและความหนาของวัสดุหมัก 7.5 เซนติเมตรมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด

ผลการวิเคราะห์กฎโคชามิน

กฎโคชามินเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ปริมาณกฎโคชามินสามารถใช้บ่งบอกถึงการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Zheng and Shitty, 1997) จากภาพที่ 34 แสดงปริมาณกฎโคชามินที่มีความหนาของชั้นวัสดุหมักต่างกัน พบว่าปริมาณกฎโคชามินที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 และ 12.5 เซนติเมตร ตามลำดับ มีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 55.32 และ 78.32 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ ส่วนความหนาของวัสดุหมัก 7.5 เซนติเมตร ปริมาณกฎโคชามินมีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 86.17 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จากการทดลอง พบว่าความหนาของวัสดุหมักทุกค่ามีแนวโน้มเหมือนกันคือค่ากฎโคชามินจะเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงการหมักเริ่มต้นจนถึงชั่วโมงที่ให้ค่ากฎโคชามินสูงสุด จากนั้นปริมาณกฎโคชามินจะมีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก เนื่องจากในช่วงแรกมีอัตราการเจริญของราอย่างรวดเร็วและหลังจากนั้นอัตราการเจริญจะลดลง

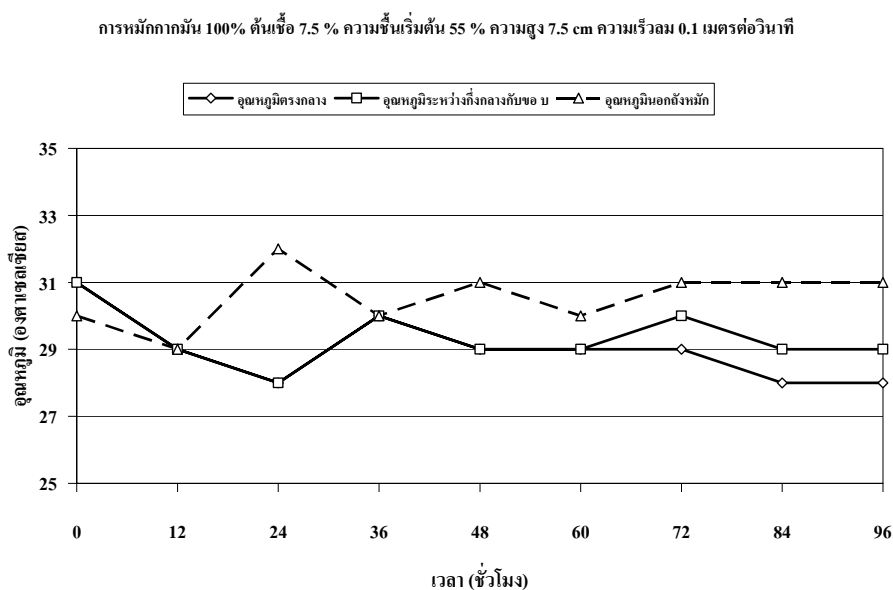
ผลการวิเคราะห์กิจกรรมอะไมเลส

เมื่อศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่มีความหนาของชั้นวัสดุหมักต่างกัน พบว่าช่วงแรกของระยะเวลาการหมัก เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ แต่ยังผลิตได้ในปริมาณน้อย เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพิ่มมากขึ้น ที่ความหนาของวัสดุหมัก 7.5 และ 10 เซนติเมตร ตามลำดับ เราผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 84 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 7,426.46 และ 7,281.68 ยูนิตต่อกรัม น้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ ส่วนที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 8,283.02 ยูนิตต่อกรัม น้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ซึ่งเป็นค่ากิจกรรมอะไมเลสสูงที่สุดของทุกความหนา สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาภรณ์ (2545) พบว่าค่ากิจกรรมอะไมเลสจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น แต่ค่ากิจกรรมอะไมเลสจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงเกิน 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 35 จากการทดลอง พบว่าความหนาของชั้นวัสดุหมักทุกค่าความหนามีแนวโน้มคล้ายกันคือค่ากิจกรรมอะไมเลสจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงชั่วโมงที่ให้ค่ากิจกรรมสูงสุด จากนั้นค่ากิจกรรมจะลดลงเพียงเล็กน้อยและคงที่จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก เนื่องจากในช่วงแรกมีอัตราการเจริญของราอย่างรวดเร็วและเมื่อราเจริญเต็มที่แล้วจะผลิตเอนไซม์อะไมเลส ส่วนในช่วงหลังวงจรชีวิตของราเข้าสู่ช่วงการเจริญคงที่และเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจะลดลงด้วย

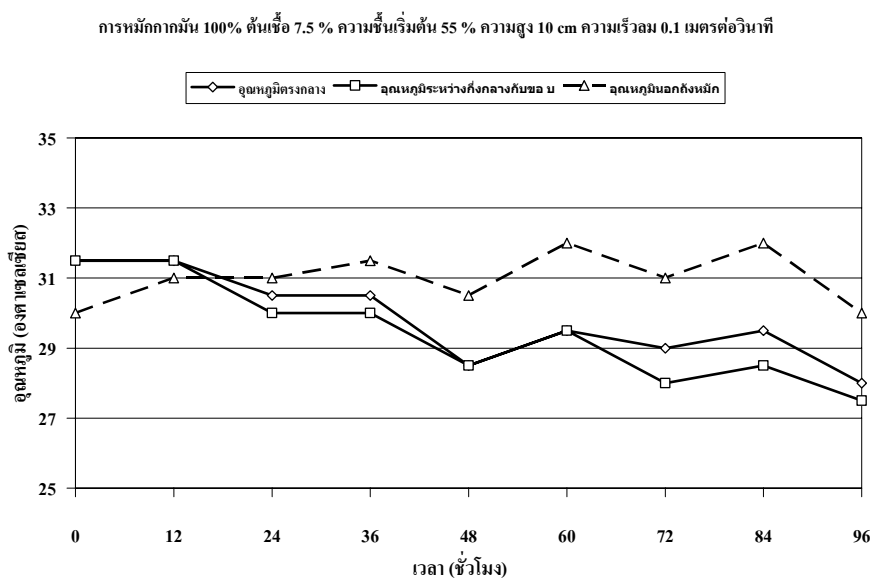
ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-เบส

รา *R. oligosporus* จะเจริญอยู่ในช่วงความเป็นกรด-เบสระหว่าง 4-6.3 (Nagel *et al.*, 1999) ค่าความเป็นกรด-เบสที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของรา *R. oligosporus* จากภาพที่ 36 เป็นเพียงตัวบ่งชี้การเจริญของรา *R. oligosporus* จะเห็นว่าค่าความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นที่ชั่วโมงที่ 0 ของทุกการทดลองประมาณ 3.8 เมื่อเวลาผ่านไปค่าความเป็นกรด-เบสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในช่วง 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่าความเป็นกรด-เบสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก ซึ่งมีแนวโน้มเหมือนกันทุกค่าของความหนาของชั้นวัสดุหมัก แสดงให้เห็นว่าราเจริญอย่างช้าในช่วงแรกและมีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นในช่วงหลัง Raimbault (1998) การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสของจุลินทรีย์เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม การลดลงของค่าความเป็นกรด-เบสเป็นผลมาจากการปล่อยกรดอินทรีย์หรือเอนไซม์ ส่วนการที่ค่าความเป็นกรด-เบสเพิ่มขึ้นเกิดจากการสะสมของแอมโมเนียหรือการไฮโดรไลซ์ของยูเรีย

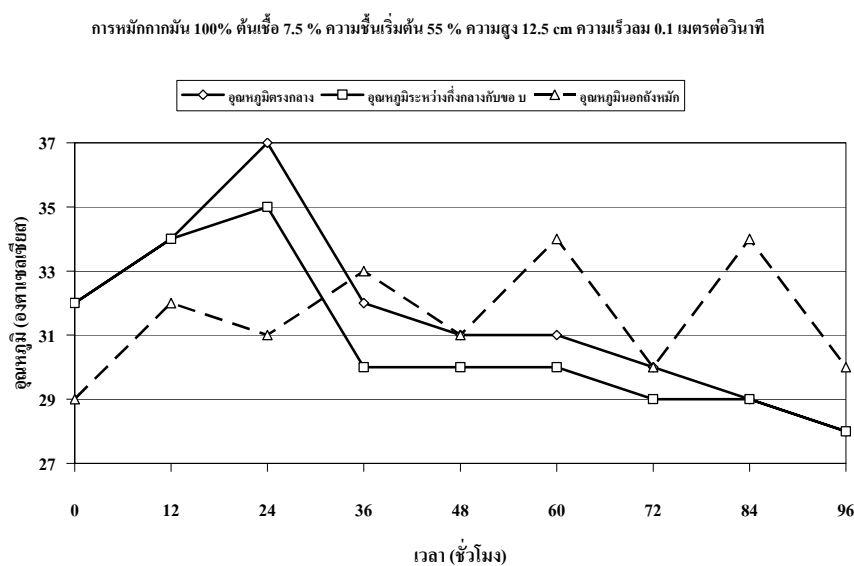
จากการทดลองในส่วนนี้ ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองที่ 2 และรูปแบบการกั้นแบบตามยาว จากการทดลอง 3.1 โดยในการทดลองส่วนนี้ ทำการศึกษาความหนาของวัสดุหมักและการเติมอากาศ จากการทดลอง 3.1 สังเกตพบว่าอุณหภูมิของรูปแบบของแผ่นกั้นทั้ง 3 แบบ จะมีช่วงเวลาที่ทำให้อุณหภูมิในการหมักสูงสุดซึ่งแตกต่างกัน คือ ในชั่วโมงการหมักที่ 12, 24 และ 36 ดังนั้นจึงเริ่มต้นอากาศในชั่วโมงการหมักที่ 12 และมีความเร็วลม 0.1 เมตรต่อวินาที สอดคล้องกับงานวิจัย (จุฬารัตน์, 2547) สรุปได้ว่าควรใช้ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร เพราะสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์และเอนไซม์อะไมเลสได้มากที่สุด นอกจากนี้ได้ผลผลิตในปริมาณมากที่สุดด้วย



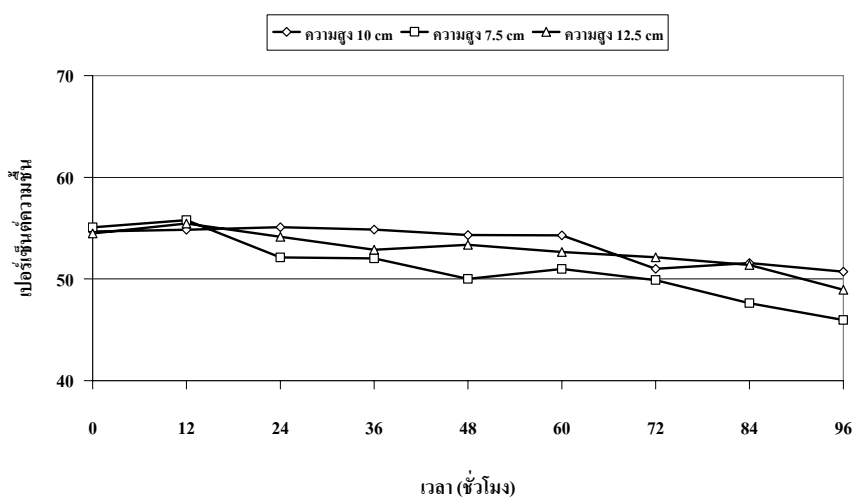
ภาพที่ 29 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 7.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



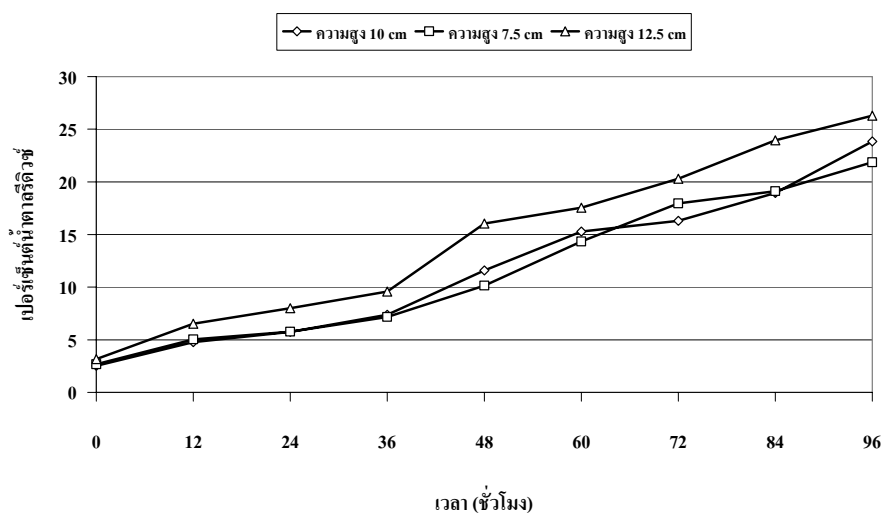
ภาพที่ 30 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 10 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



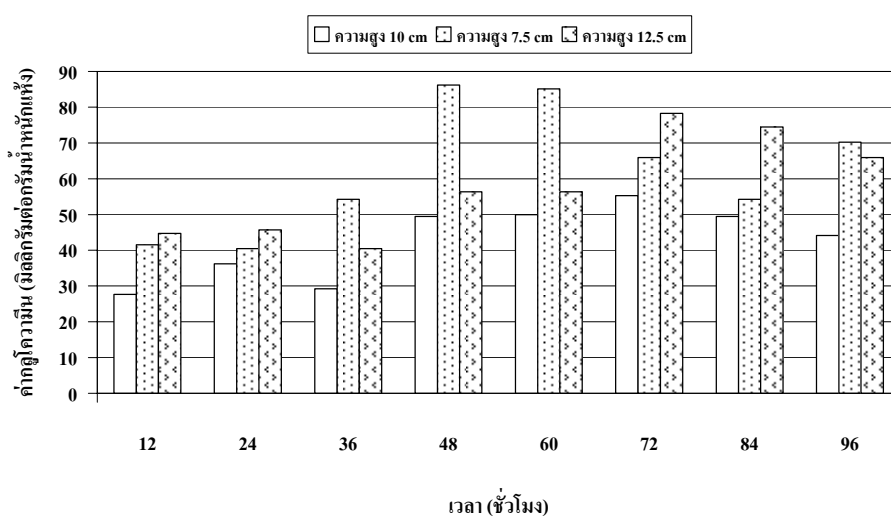
ภาพที่ 31 อุณหภูมิในการหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดันเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



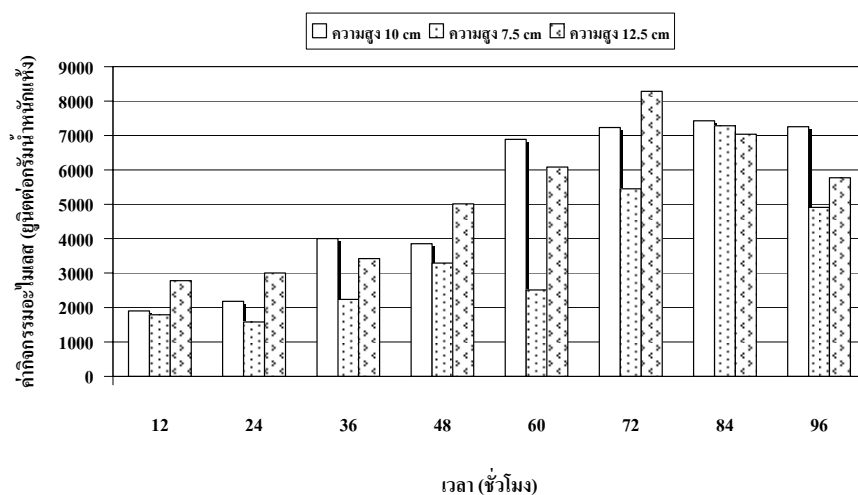
ภาพที่ 32 ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณดันเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



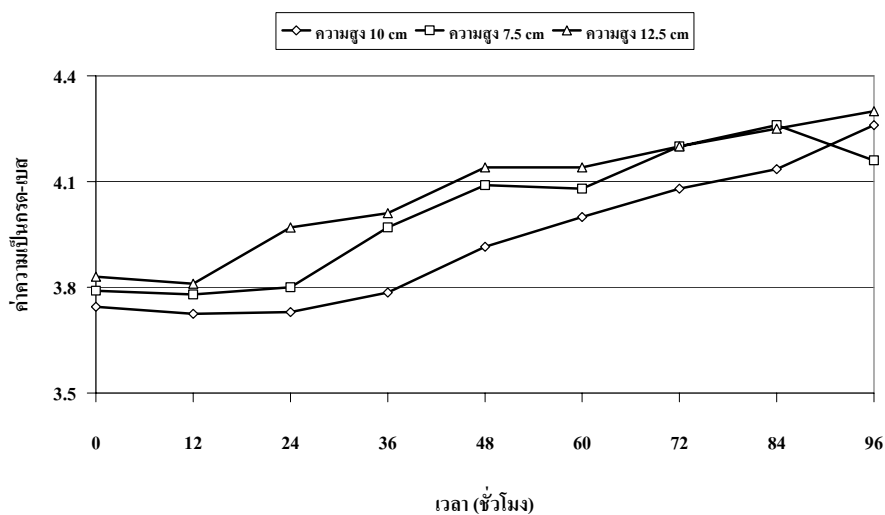
ภาพที่ 33 ปริมาณน้ำไอน้ำที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศ ด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 34 ปริมาณกลูโคซามีนที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศ ด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 35 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 36 ค่าความเป็นกรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที

3.3 การศึกษาผลของการเติมเกลือแร่ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตรและมีการให้อากาศ ด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที

ผลของอุณหภูมิในวัสดุหมัก

อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการหมัก 96 ชั่วโมงชี้ให้เห็นถึงการเจริญของรา *R. oligosporus* เนื่องจากความร้อนเกิดขึ้นจากกระบวนการหายใจและกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งการถ่ายเทความร้อนในกระบวนการหมักแบบแห้งจะถูกจำกัดด้วยความสามารถในการถ่ายเทความร้อนของวัสดุหมัก (Raimbault, 1998)

อุณหภูมิในวัสดุหมักที่ชั่วโมงการหมักเริ่มต้นเท่ากับ 31 องศาเซลเซียส เนื่องจากไม่มีการควบคุมอุณหภูมิวัสดุหมักขณะถ่ายคั้นเชื้อ (ภาพที่ 37) การหมักกากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่ พบว่า ชั่วโมงการหมักที่ 0 - 12 ที่ไม่มีการให้อากาศ อุณหภูมิของวัสดุหมักสูงขึ้น เนื่องจากความหนาของวัสดุหมักมากที่สุดทำให้เกิดการสะสมของความร้อนภายในวัสดุหมัก หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 มีการให้อากาศ อุณหภูมิของวัสดุหมักยังคงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เป็นเพราะว่าความร้อนยังคงสะสมอยู่และความร้อนที่เกิดจากการเจริญของรา แต่หลังจากชั่วโมงการหมักที่ 24 อุณหภูมิของวัสดุหมักลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 38) จากการทดลอง พบว่าในช่วงแรกของการหมักที่ 0-12 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ปรับความชื้นด้วยน้ำกลั่นหรือปรับด้วยเกลือแร่ หลังจากนั้นมีการเปิดลมที่ความเร็วลม 0.1 เมตรต่อวินาที ในชั่วโมงการหมักที่ 12 ทำให้ความชื้นของวัสดุหมักมีค่าลดลงจนสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก เนื่องจากความชื้นที่ระเหยจากวัสดุหมักจะถูกลมพัดออกมาสู่ภายนอกของถังหมัก เมื่อเปรียบเทียบการใช้กากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นลดลงมากกว่าการใช้กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นวัสดุหมัก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากการทดลอง (ภาพที่ 39) พบว่า เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์เป็นวัสดุหมัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการหมัก ส่วนกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะมีปริมาณสูงที่สุดในชั่วโมงการหมักที่ 12 มีค่าเท่ากับ 5.3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้น มีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก ซึ่งมีผลการทดลอง สอดคล้องกับ ทรงศักดิ์, 2543 แต่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ใช้กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นวัสดุหมัก

ผลการวิเคราะห์กลูโคซามีน

กลูโคซามีนเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ ปริมาณกลูโคซามีนสามารถใช้บ่งบอกถึงการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Zheng and Shitty, 1997) จากภาพที่ 40 แสดงปริมาณกลูโคซามีน เมื่อใช้กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ และกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก พบว่าวัสดุหมักที่เป็นกากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 78.32 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ส่วนวัสดุหมักเป็นกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าสูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 84 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 39.36 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก วัสดุหมักแห้ง ยูเรียซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนและโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นแหล่งของฟอสเฟตให้กับรา ซึ่งเมื่อเติมลงไปในวัสดุหมักในปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้ราเจริญได้ดี ในทางกลับกันหากเติมในปริมาณมากจนเกินไป นอกจากจะสิ้นเปลืองสารเคมีแล้วยังมีผลในการยับยั้งการเจริญของราอีกด้วย คาดว่าปริมาณเกลือแร่ที่เดิมไม่เหมาะสมจึงทำให้มีปริมาณกลูโคซามีน น้อยกว่าใช้แต่กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก จากการทดลอง พบว่า วัสดุหมักทั้งสองแบบค่ามี แนวโน้มเหมือนกันคือค่ากลูโคซามีนจะเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงการหมักเริ่มต้นจนถึงชั่วโมงที่ให้ค่า กลูโคซามีนสูงสุด จากนั้นปริมาณกลูโคซามีนจะมีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการ หมัก เนื่องจากในช่วงแรกมีอัตราการเจริญของราอย่างรวดเร็วและหลังจากนั้นอัตราการเจริญจะ ลดลง

ผลการวิเคราะห์กิจกรรมอะไมเลส

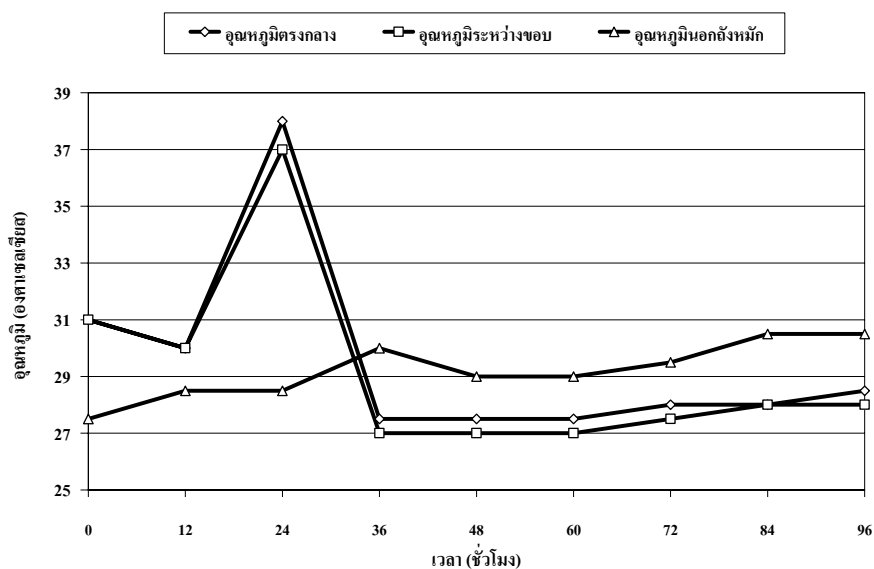
จากภาพที่ 41 พบว่าช่วงแรกของระยะเวลาการหมัก เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ แต่ยังผลิตได้ในปริมาณน้อย เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพิ่ม

มากขึ้น วัสดุหมักที่เป็นกากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 72 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 8,283.02 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ส่วนวัสดุหมักเป็นกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ เราสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดในชั่วโมงการหมักที่ 84 มีค่ากิจกรรมอะไมเลสเท่ากับ 3,967.08 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งจากการทดลอง พบว่าวัสดุหมักทั้งสองแบบค่ามีแนวโน้มเหมือนกันคือค่ากิจกรรมอะไมเลสจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงชั่วโมงที่ให้ค่ากิจกรรมสูงสุด จากนั้นค่ากิจกรรมจะลดลงเพียงเล็กน้อยและคงที่จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก เนื่องจากในช่วงแรกมีอัตราการเจริญของราอย่างรวดเร็วและเมื่อราเจริญเต็มที่แล้วจะผลิตเอนไซม์อะไมเลส ส่วนในช่วงหลังวงจรชีวิตของราเข้าสู่ช่วงการเจริญคงที่และเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจะลดลงด้วย และมีผลสอดคล้องกับปริมาณกลูโคซามีน

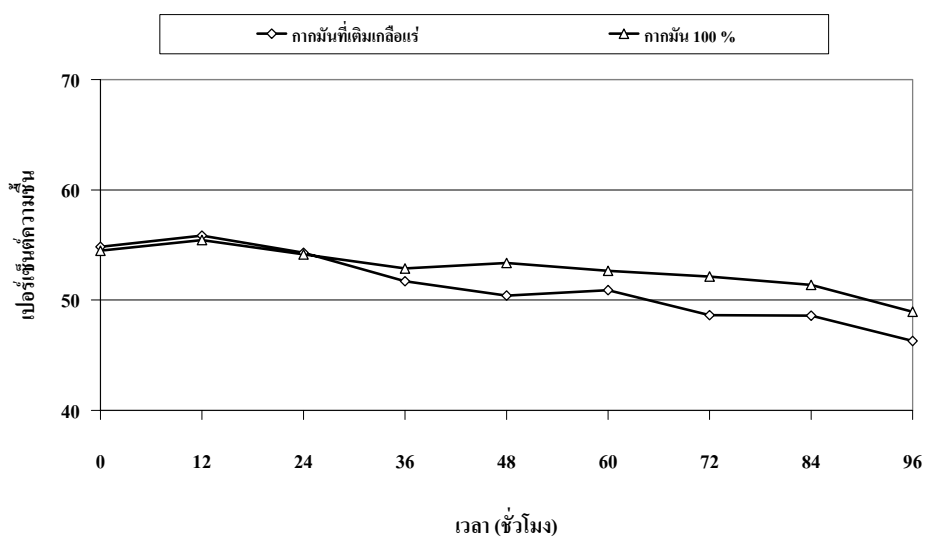
ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-เบส

รา *R. oligosporus* จะเจริญในช่วงความเป็นกรด-เบสระหว่าง 4-6.3 (Nagel *et al.*, 1999) ค่าความเป็นกรด-เบสที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของรา *R. oligosporus* จากภาพที่ 42 เป็นเพียงตัวบ่งชี้การเจริญของรา *R. oligosporus* จะเห็นว่าค่าความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นที่ชั่วโมงที่ 0 ของวัสดุหมักที่เป็นกากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 3.8 เมื่อเวลาผ่านไปค่าความเป็นกรด-เบสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในช่วง 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่าความเป็นกรด-เบสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก ส่วนวัสดุหมักเป็นกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ค่าความเป็นกรด-เบสเริ่มต้นที่ชั่วโมงที่ 0 มีค่าประมาณ 6 เมื่อเวลาผ่านไปค่าความเป็นกรด-เบสมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในช่วง 12-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่าความเป็นกรด-เบสมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก แสดงให้เห็นว่าราเจริญอย่างช้าในช่วงแรกและมีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นในช่วงหลัง Raimbault (1998) การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสของจุลินทรีย์เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม การลดลงของค่าความเป็นกรด-เบสเป็นผลมาจากการปล่อยกรดอินทรีย์หรือเอนไซม์ ส่วนการที่ค่าความเป็นกรด-เบสเพิ่มขึ้นเกิดจากการสะสมของแอมโมเนียหรือการไฮโดรไลซิสของยูเรีย

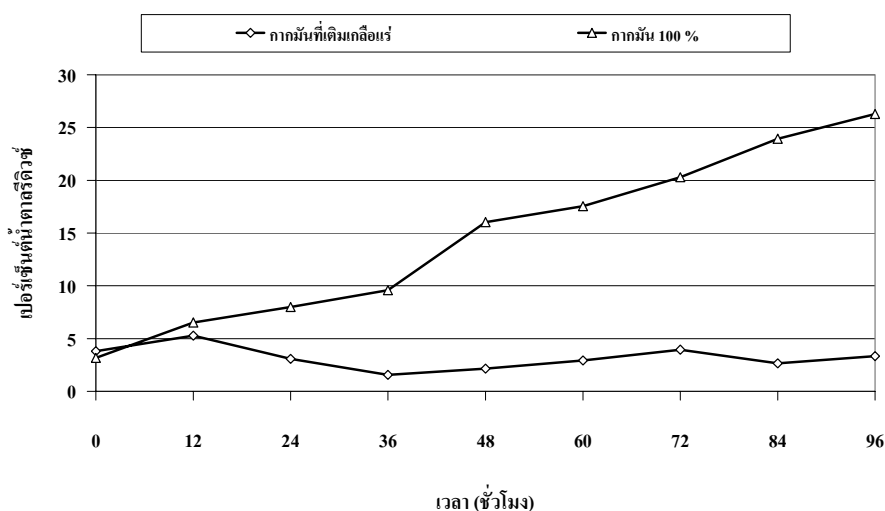
จากการทดลองในส่วนนี้ ใช้ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองที่ 2 และรูปแบบการกั้นแบบตามยาว จากการทดลอง 3.1 ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร จากการทดลอง 3.2 โดยการทดลองส่วนนี้ศึกษาการเดิมเกลือแร่ในวัสดุหมัก พบว่าการเดิมเกลือแร่เพิ่มในวัสดุหมัก ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่ากิจกรรมอะไมเลสลดลง สรุปว่าการเดิมเกลือแร่ลงในวัสดุหมักไม่เหมาะสมกับการผลิตเอนไซม์อะไมเลส



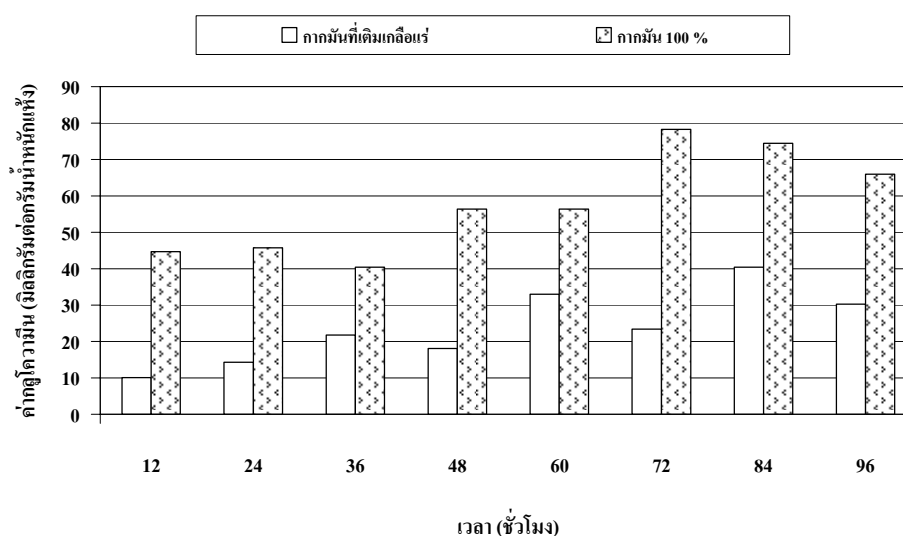
ภาพที่ 37 อุณหภูมิของวัสดุหมักที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



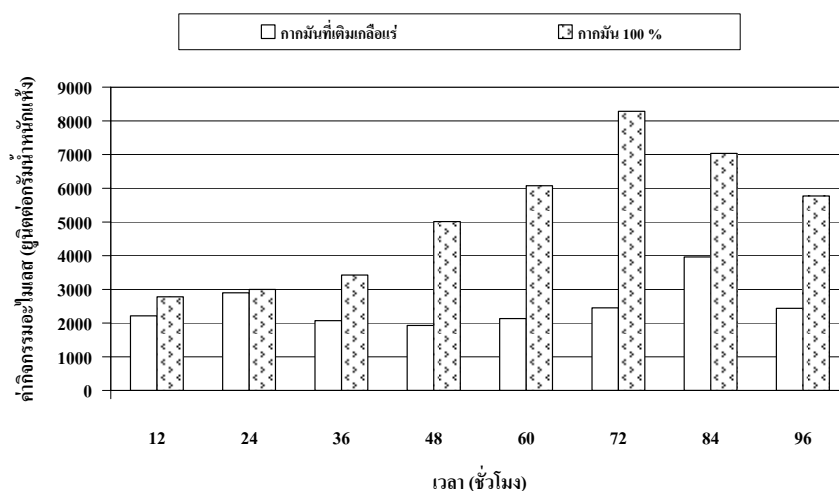
ภาพที่ 38 ระดับความชื้นที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่ เมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



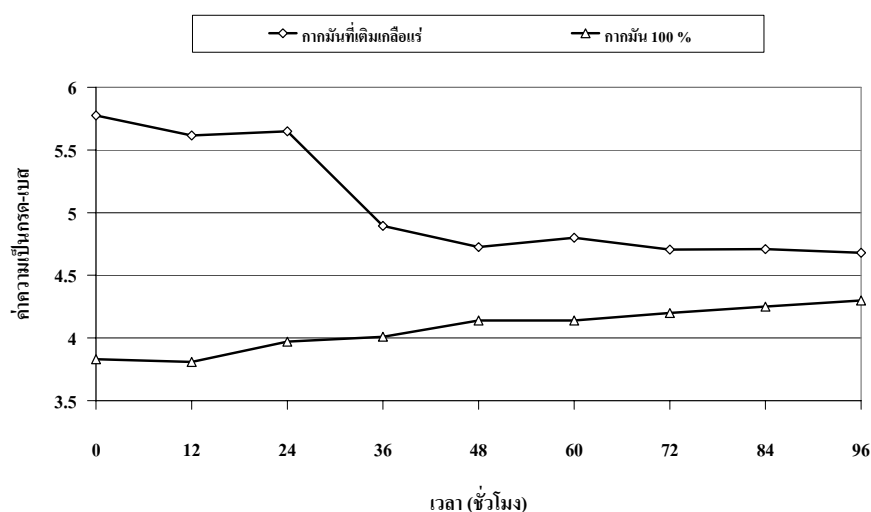
ภาพที่ 39 ปริมาณไอน้ำที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 40 ปริมาณกลูโคสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร ใช้กากมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่ ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 41 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตรใช้กากมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่ ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



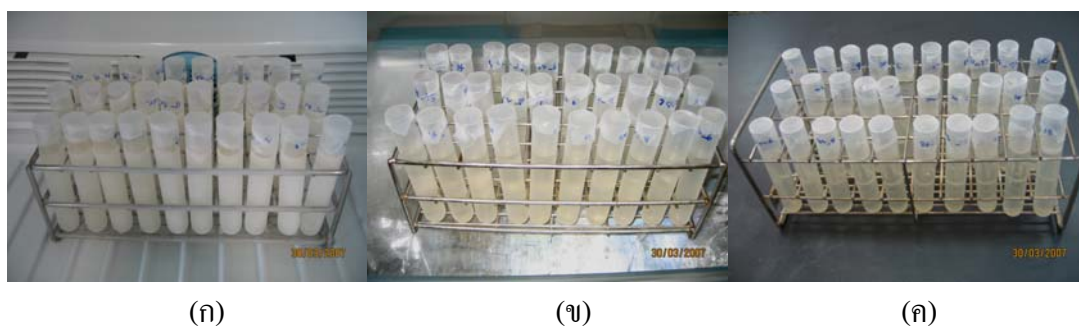
ภาพที่ 42 ค่าความเป็นกรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ ที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตรใช้กากมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่ ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 43 ลักษณะของรา *R. oligosporus* บนวัสดุหมักในถังหมักแบบแพคเบด เมื่อทำการหมักครบ 96 ชั่วโมง (ก) กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์ (ข) กากมันสำปะหลังที่เติมเกลือแร่

4. การศึกษาความคงตัวต่อการเก็บรักษาของสารละลายเอนไซม์อะไมเลส

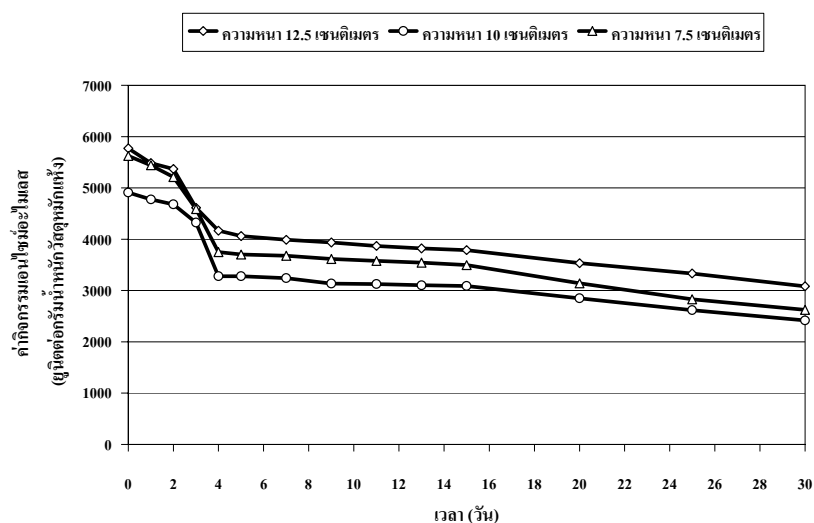
จากการทดลอง (ภาพที่ 45, 46 และ 47) การเก็บสารละลายเอนไซม์ดิบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่ทำให้เอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงของค่ากิจกรรมมากนักในระยะ 30 วัน ในขณะที่การเก็บสารละลายเอนไซม์ดิบที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงมากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพราะสารละลายเอนไซม์ถูกทำลายจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจากการเก็บในอุณหภูมิที่ต่ำมากจนสารละลายกลายเป็นของแข็ง ส่วนการเก็บสารละลายเอนไซม์ดิบที่อุณหภูมิห้อง ค่ากิจกรรมเอนไซม์จะลดลงเรื่อยๆตั้งแต่วันแรกในการเก็บ และลดลงอย่างมากหลังจากวันที่ 3 ของการเก็บ เนื่องมาจากที่อุณหภูมิต่ำมีผลทำให้ระบบมีพลังงานที่ต่ำการเปลี่ยนแปลงต่างๆ รวมถึงแรงกระทำที่เกิดขึ้นในระบบจึงมีไม่มากนักทำให้ไม่เกิดผลกระทบกับเอนไซม์ นอกจากนี้เนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งจุลินทรีย์สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารในระหว่างการเจริญได้ การเก็บสารละลายเอนไซม์ดิบที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้คั่น ก็เป็นการควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์นำเอนไซม์ไปใช้เป็นแหล่งอาหาร ทำให้เอนไซม์สามารถรักษาความสามารถในการทำงานไว้ได้



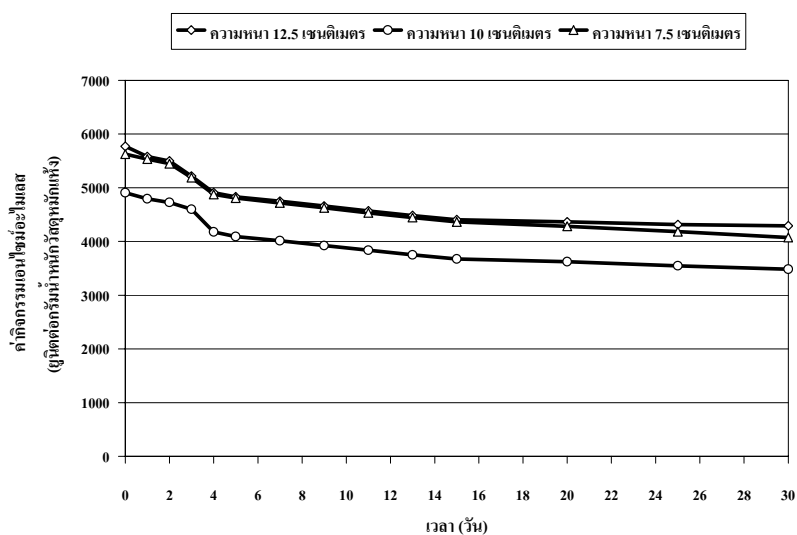
ภาพที่ 44 แสดงลักษณะและอุณหภูมิของการเก็บสารละลายเอนไซม์อะไมเลส (ก) อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (ข) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ค) อุณหภูมิห้อง

จากผลการทดลองจะแสดงให้เห็นว่าไม่ควรเก็บรักษาเอนไซม์ในรูปของสารละลายเมื่อทำการเก็บที่อุณหภูมิห้องเพราะค่ากิจกรรมเอนไซม์จะลดลงตลอดเวลา สภาวะที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาเอนไซม์ควรเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิต่ำ พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถเก็บเอนไซม์ไว้ได้นานกว่า 30 วัน แต่หากสารละลายเอนไซม์ดิบมีปริมาณมากจะทำให้การเก็บยุ่งยากขึ้น ซึ่งเป็นข้อเสียของเอนไซม์ดิบในรูปสารละลาย

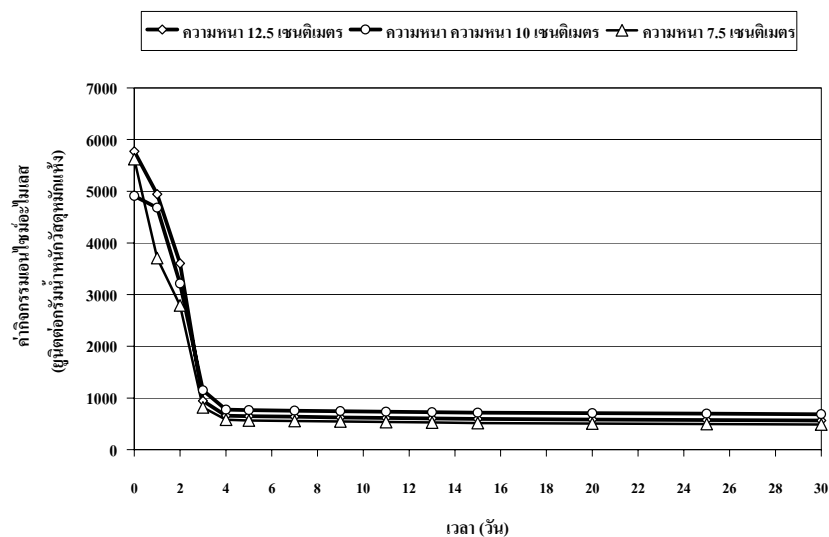
เอกสิทธิ์ (2546) ทำศึกษาการเก็บรักษาเอนไซม์อะไมเลส พบว่าเมื่อนำสารละลายเอนไซม์ดิบไปทดสอบการเก็บรักษา พบว่าที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสและ 4 องศาเซลเซียสสามารถเก็บรักษาเอนไซม์ไว้ได้อย่างน้อย 120 วัน โดยไม่สูญเสียค่ากิจกรรมเอนไซม์ แต่เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะเริ่มสูญเสียกิจกรรมตั้งแต่การเก็บ 15 วัน



ภาพที่ 45 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 46 ค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสที่ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที



ภาพที่ 47 ค่ากิจกรรมอนไช่มอะไมเลสที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ โดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง (28-29 องศาเซลเซียส) ความหนาของวัสดุหมักต่างกัน คือความหนา 7.5, 10 และ 12.5 เซนติเมตร โดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ และมีการให้อากาศด้วยความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในการหมักแบบแห้งด้วยรา *Rhizopus oligosporus* โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรก คือ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก ส่วนที่สองคือ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบด สามารถสรุปได้ดังนี้

1. จากการทดลองโดยใช้กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์เป็นวัสดุหมัก ทำการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในพลาสติก โดยมีค่ากิจกรรมอะไมเลสสูงสุด คือ 8,987.60 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งในชั่วโมงที่ 84 จึงใช้สภาวะนี้มาทำการขยายการผลิตในถังหมักแบบแพคเบดต่อไป

2. จากการทดลองโดยใช้กากมันสำปะหลัง 100 เปอร์เซ็นต์เป็นวัสดุหมัก ใช้ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์และความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความหนาของวัสดุหมัก 12.5 เซนติเมตร มีการให้อากาศด้วยความเร็วลม 0.1 เมตรต่อวินาทีหลังจากชั่วโมงการหมักที่ 12 และใช้แผ่นกั้นแบบตามยาว มีความเหมาะสมในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในถังหมักแบบแพคเบด มีค่ากิจกรรมอะไมเลสสูงสุด คือ 8,283.02 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งในชั่วโมงที่ 72

3. จากการทดลองสภาวะที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาเอนไซม์ที่อยู่ในรูปสารละลายคิบวร เก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถเก็บเอนไซม์ไว้ได้นานกว่า 30 วัน โดยทำให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงเล็กน้อย

ข้อเสนอแนะ

1. การหมักในถังหมักแบบแพคเบดมักพบปัญหาในการระบายความร้อนซึ่งแก้ปัญหาโดยให้อากาศที่ผ่านถึงเพิ่มความชื้นระบายความร้อนในถังหมักแบบแพคเบด แต่ก็ยังทำให้ความชื้นของวัสดุหมักลดลง ส่งผลต่อการเจริญของรา การให้อากาศในงานวิจัยนี้ทำให้อากาศตั้งแต่เวลาที่กำหนดจนสิ้นสุดระยะเวลาในการหมัก ทำให้สูญเสียความชื้นบนวัสดุหมักมาก ดังนั้นถ้ามีระบบควบคุมการให้อากาศช่วงระยะเวลาสั้นๆ ช่วงหนึ่งให้เพียงพอต่อการควบคุมอุณหภูมิของวัสดุหมักให้มีความเหมาะสม น่าจะเป็นการลดการสูญเสียความชื้นบนวัสดุหมักได้มากทางหนึ่ง

2. ชนิดของวัสดุหมักมีผลต่อความหนาของวัสดุหมักและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการหมักในถังหมักแบบแพคเบด เนื่องจากรูพรุนระหว่างอนุภาครวมทั้งลักษณะการหดตัวของวัสดุหมักเมื่อความชื้นลดลง มีผลอย่างยิ่งต่อการไหลของอากาศผ่านชั้นหมัก ดังนั้น หากมีการปรับเปลี่ยนชนิดของวัสดุหมัก ควรทำการทดลองเพื่อหาความหนาและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมกับวัสดุหมักนั้น ๆ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง ลำดับที่ 7. 124 น.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. มันสำปะหลัง. แหล่งที่มา:

<http://www.doa.go.th/fieldcrops/cas/eco/index.HTM>, 9 เมษายน 2550.

เกษณีย์ เอี่ยมรักษาเกียรติ และจิราภา จันทร์อำภากุล. 2547. การหมักมันสำปะหลังและรำข้าวในถังหมักแบบแพคเบด. ปรินญาวิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิราภรณ์ โล่งสัฒน. 2525. การผลิตกรดซิตริกจากกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Aspergillus niger*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิรสิทธิ์ สงค์ประเสริฐ. 2529. การขุนโค-กระบือ. สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้, เชียงใหม่. 155 น.

จุฬารัตน์ ครองแถว. 2547. การผลิตต้นเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* โดยวิธีการหมักแบบแห้งในถังหมักแบบแพคเบด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลดา ชื้อสัดย์. 2546. การใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเอทานอล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชวนิศนดากร วรวรรณ. 2500. หลักการให้อาหารสัตว์ : หลักวิชาอาหารสัตว์โดยทั่วไปและคุณค่าวิธีให้อาหารสัตว์สำหรับประเทศไทย. แผนกวิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 210 น.

ชาคร วิชกุล. 2548. การศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังในฟาร์มโค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- ดวงพร คันธโชติ. 2530. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- คุณณี ธาระบริพัฒน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ทวี แก้วคง. 2527. โภชนศาสตร์สัตว์เบื้องต้นและการให้อาหารสัตว์. สำนักพิมพ์เกษตรไทย, กรุงเทพฯ. 242 น.
- ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล. 2543. อาหารสัตว์จากกากมันสำปะหลังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชั้นยาภรณ์ นาวิวรรณ. 2542. การผลิตแซนแทนกัมจากกากมันสำปะหลังโดย *Xanthomonas Campestris*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2544. จุลชีววิทยาทั่วไป. ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. จุลชีววิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- บุษบา ขงสมิทธิ์. 2540. จุลชีววิทยาการหมักวิตามินและสารสี. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เบญจพร บัวบาน. 2542. การผลิตและสมบัติของเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งดิบจากเชื้อยีสต์ *Saccharomycopsis* sp. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พูนสุข อัดตะสัมปณณะ. 2526. รายงานการสัมมนา เรื่องการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลัง, น. 103-114. ใน งานวิจัยและพัฒนาการใช้ประโยชน์มันสำปะหลังจากสถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 25 พฤษภาคม 2526. สถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

- พีรพจน์ นิติพจน์. 2547. ผลของการใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งของอาหารพลังงานทดแทนมัน
สำปะหลังเส้นในสูตรอาหารชั้น ต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก ความสามารถในการ
การย่อยได้ และการเจริญเติบโตในโคนมรุ่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- มณีนรัตน์ ตีรนนท์กุล. 2542. การศึกษาทดลองหมักถั่วเหลืองแบบอาหารแข็งในระบบแพคเบด.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เมธา วรรณพัฒน์ และฉลอง วชิราภากร. 2533. เทคนิคการให้อาหารโคเนื้อและโคนม. ภาควิชา
สัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 142 น.
- ปาริชาติ วัฒนา. 2520. การผลิต starch syrups จากแป้งมันสำปะหลังโดยการไฮโดรไลส์ด้วย
เอนไซม์, กรดและเอนไซม์กับกรดรวมกัน, น. 1-13. ใน รายงานผลงานวิจัยทุนอุดหนุน
ประเภทอาจารย์และศาสตราจารย์ ประจำปี 2519 ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล และ สิทธิเดช ชายบัญชา. 2544. การบ่มโคจิในถัง
บ่มแบบแพคเบดสำหรับอุตสาหกรรมชี้อ้วนและเต้าเจี้ยว. รายงานวิจัยพัฒนาและวิศวกรรม
ฉบับสมบูรณ์.
- วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.
สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- สมใจ ศิริโชค. 2537. เทคโนโลยีการหมัก. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพฯ.
- สุณีย์ โชตินิรนาท. 2539. การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์และอัลตรา
ฟิลเทรชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกสิทธิ์ โหมยิตวงษา. 2546. การแยกและเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แอคซิดโปรติเอสและอะไมเลสจาก *Aperpergillus niger* . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

Aikat, K and B.C. Bhattacharyya. 2001. Protease Production in solid state fermentation with liquid medium recycling in a stacked plate reactor and in packed bed reactor by a local strain of *Rhizopus oryzae*. **Process Biochemistry** (36): 1059-1068.

Alcama, I.E. 1983. **Fundamentals of Microbiology**. Addison-Wesley Publishing Co., Massachusetts.

Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims. 1979. **Introductory mycology**. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Aquaculture & Aquatic Resources Management. 2007. Haemocytometer. Available Source: <http://www.aqua.ait.ac.th/projects/arp/haema2.htm>, April 12, 2007.

Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). 1984. **Official Method of Analysis**. 14th ed. George Banton Co., Ltd., Washington, D.C.

Backman, P and R Rodriguez-Kabana. 1975. A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. **Phytopathol** (65): 819-821.

Bilgrami, K.S. and R.N. Verma. 1978. **Physiology of fungi**. Vikas Publishing House PVT, Ltd., New Dehli.

Cannel, E. and M. Moo-Young. 1980. Solid-state fermentation systems. **Process Biochem**. 15 (5): 2-7.

Cronk, T.C., K.H. Steinkraus, L.R. Hackler and L.R. Mattick. 1977. Indonexian tape ketan fermentation. **Appl. Environ. Micro.** (33): 1967-1073.

Deacon, J.W. 1997. **Modern mycology**. 3rd ed. Blackwell Science, Oxford.

Devi, K.P.R. and G. Yogeewaran. 1999. Coexpression of saccharifying alkaline amylase and pullulanase in *Micrococcus- Halobius* or-1 isolated from tapioca cultivar soil. **World J. Microbiol. & Biotechnol.** (15): 223-229.

Frazier, W.C. 1967. **Food microbiology**. McGraw-Hill, Inc., Bombay.

Ghildyal, N.P., M.K. Growthman, K.S.M. Rarhava, K.S.M.S.R. Rao and N.G. Karanth. 1994. Interaction of transport resistances with biochemical reaction in packed bed solid substrate fermentor: effect of temperature gradients. **Biotechnol. Bioeng** (16): 252-257.

Growthman, M.K., K.S.M.S.R. Rao, N.P. Ghildyal and N.G. Karanth. 1993. Gas concentration and temperature gradients in a packed bed in solid state fermentor. **Biotech. Adv.** (11): 611-620.

Gumbira-Sa'id, E., D.A. Mitchell, P.F. Greenfield and H.W. Doelle. 1992. A Packed bed solid-state cultivation system for the production of animal feed: cultivation, drying and product quality. **Biotechnol. Letters.** (14): 623-628.

_____, P.F. Greenfield, D.A. Mitchell and H.W. Doelle. 1993. Operational parameters for packed beds in solid-state cultivation. **Biotechnol. Adv.** (11): 599-610.

Gupta, J.S. 1981. **Textbook of fungi**. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi.

Han, Y.W., and A.W. Anderson. 1975. Semisolid fermentation of rey grass straw. **Appl. Microbiol.** (30): 930-934.

- Han, B.Z., Y. Ma, F.M. Rombouts and M.J.R. Nout. 2002. Effects of temperature and relative humidity on growth and enzyme production by *Actinomucor elegans* and *Rhizopus oligosporus* during sufu pehtze preparation. **Food Chemistry**. In press.
- Hesseltine, C.W. 1972. Biotechnology report: Solid state fermentations. **Biotechnol. Bioeng.** (14): 571-532.
- _____ 1979. Microorganism involved in food fermentation in tropical Asia, *In* **Proceedings of the International Symposium on Microbiological Aspects of Food Storage, Proceedings and Fermentation in Tropical Asia**. Bogor, Indonesia.
- Ikasari, L. and D.A. Mitchell. 1996. Leaching and characterization of *Rhizopus oligosporus* acid protease from solid-state fermentation. **Enz. Microb. Tech.** (19): 171-175.
- Koyama, Y., K. Tanaka, T. Yoshida and H. Tahuchi. 1980. Control of solid state fermentation. **Microbial Utilization of Renewable Resources** (1): 149-159.
- Laukevics, J.J., A.F. Apsite, U.E. Viesturs and R.P. Tenderdy. 1984. Solid substrate fermentation of wheat straw to fungal protein. **Biotechnol. Bioeng.** (26): 1465-1474.
- Lindenfelser, L.A. and A. Ciegler. 1975. Solid-substrate fermentor for ochratoxin A production. **Appl. Microb.** (29): 323-327.
- Lonsane, B.K., N.P. Ghildiyal, S. Budhiatman and S.V. Ramakrishna. 1985. Engineering Aspects of Solid State Fermentation. **Enz. Microb. Tech.** (17): 258-265.
- Mehrotra, B.S. 1976. **The fungi**. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.

Analytical Chemistry. (31): 426-428.

Mitchell, D.A., B.K. Lonsane, A. Durand, R. Renaud, S. Almanza, J. Maratray and G.W.

Malaney. 1992. **Solid substrate cultivation.** Elsevier science publishers, London.

_____ and B.K. Lonsane. 1993. Definition, characteristics and potential, pp. 1-13.

In H.W. Doelle, D.A. Mitchell and C.E. Rolz, eds. **Solid Substrate Cultivation.**

Elsevier Applied Science, London.

Mountfort, D. O. and R. A. Asher. 1998. Production of α - amylase by the ruminal anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. **Appl. Environ. Microb.** (54): 2293-2299.

Mudgett, R.E. 1986. Solid-state fermentation, 11. 66-83. *In* A.L. Demain and N.A. Solomon, eds. **Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology.** American Society for Microbiology, Washington D.C.

Nagel, F.J., J. Oostra, J. Tramper and A. Rinzema. 1999. Improved model system for solid-substrate fermentation: effect of pH nutrients and buffer on fungal growth rate. **Process Biochemistry.** (35): 69-75.

_____, J. Tramper, M.S.N. Bakker and A. Rinzema. 2001a. Temperature control in a continuously mixed bioreactor for solid-state fermentation. **Biotechnol. Bioeng.** (72): 219-230.

_____, J. Tramper, M.S.N. Bakker and A. Rinzema. 2001b. Model for on-line moisture-content control during solid-state fermentation. **Biotechnol. Bioeng.** (72): 231-243.

- Narahara, H., Y. Koyama, T. Yoshida, P. Atthasampunna and H. Taguchi. 1984. Control of water content in a solid state culture of *Aspergillus oryzae*. **J. Ferment. Technol.** (62): 453-459.
- Nunokawa, Y. 1972. Sake in rice : chemistry and technology, pp. 449-487. In D.F. Huston, ed. **American society of cereal chemistry**. St. Paul, Minn.
- Okolo, B. N., Ezeogu, L. I. and Mba, C. N. 1995. Production of raw starch digestive amylase by *Aspergillus niger* grown on native starch sources. **Journal of Science of Food and Agriculture**. (69): 109-115.
- Oriol, E., M. Raimbault, S.Y. Roussos and G. Viniegra-Gonza'lez. 1988. Water and water activity in the solid state fermentation of cassava starch by *Aspergillus niger*. **Appl. Microb. Biotechnol.** (27): 398-503.
- Paau, A., M. Bennett and L. Graham. 1993. **Production of Enhanced Biocontrol Agents**. U.S. Patent 5,194,258.
- Pandey, A., C.R. Soccol, J.A. Rodriguez-Leon and P. Nigam. 2001. **Solid-State Fermentation in Biotechnology: Fundamentals and Applications**. Asiatech Publishers Inc., New Delhi.
- _____, P. Selvakumar, C.R. Soccol and P. Nigam. 2004. **Solid state fermentation for the production of industrial enzymes**. Available
Source:<http://www.ias.ac.in/currsci/jul10/articles23.htm>, August 28, 2004.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology** (1): 174-188.

- Ramachandran, S, A.K. Patel, K.M. Nampoothiri, S. Chandran, G. Szakacs, C.R. Socool and A. Pandey. 2004. Alpha amylase from a Fungal Culture Grown on oil Cakes and Its Properties. **Brazilian Achives of Biology and Technology Journal**. (47): 309-317.
- Robyt, J. F. and R. J. Ackerman. 1971. Isolation, Purification, and Characterization of a maltotetraose-producing amylase from *Pseudomonasstutzeri*. **Arch. Biochem. Biophys.** (145): 105-114.
- Rodriguez Couto, S. and M.A. Sanroman. n.d. **Application of solid-state fermentation to food industry-A review**. Available Source: http://www.aseanfood.info/scripts/count_article.asp?Article_code=11016201, September 21, 2006.
- Ross, I.K. 1979. **Biology of the fungi**. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Roussos, S., A. Olmos, M. Raimbault, G. Saucedo-Castaneda and B. Lonsane. 1991. Strategies for large-scale inoculum development for solid state fermentation system: conidiospores of *Trichoderma harzianum*. **Biotechnol. Techniques** (5): 415-420.
- _____, M. Raimbault, J. Prebois and B. Lonsane. 1993. Zymotis, a large scale solid state fermenter. **Appl. Biochem. Biotechno** (42): 37-51.
- Sabu A., S. Sarita, A. Pandey, B. Bogar, G. Szakacs and C.R. Soccol. 2002. Solid-State Fermentation for Production of Phytase by *Rhizopus oligosporus*. **Appl. Biochem. Biotechnol.** (103): 251-260.
- Sangsurasak, P. and D.A. Mitchell. 1995. Incorporation of death kinetic into a 2-dimensional dynamic heat transfer model for solid state fermentation. **J. Chem. Tech. Biotechnol.** (64): 253-260.

- _____ and D.A. Mitchell. 1996. Effective heat removal-a key engineering challenge in solid state fermentation, pp. F7.1-F7.11. *In Proc. 6th National chemical Engineering Symposium* . Kasetsart University, Bangkok.
- Sargantanis, J., M.N. Karim, V.G. Murphy, D. Ryo and R.P. Tengerty. 1993. Effect of operating conditions on solid substrate fermentation. **Biotech. Bioeng.** (42): 149-158.
- Sato, K., K. Nagatani and S. Sato. 1985. Solid state ethanol fermentation by means of inert gas circulation. **Biotech. Bioeng.** (27): 1312-1319.
- Saucedo-Castaneda, G., B.K. Lonsane, M.M. Krishnaiah, J.M. Navarro, S. Roussos and M. Rambault. 1992. Maintenance of heat and water balances as a scale up criterion for the production of ethanol by *Schwanniomyces casyelli* in a solid state fermentation system. **Proc. Biochem.** (7): 97-107.
- Silman, R.W. 1980. Enzyme formation during solid-substrate fermentation in rotating vessels. **Biotechnol. Bioeng.** (22): 411-420.
- _____, H.F. Canway, R.A. Anderson and E.B. Bagley. 1979. Production of aflatoxin in corn by a large scale solid substrate fermentation process. **Biotechnol. Bioeng.** (21): 1799-1808.
- Smit, J.E. 1985. **Biotechnology Principles**. American Society for Microbiology, Washington D.C.
- _____ and K.E. Aidoo. 1988. Growth of fungi on solid substrate, pp. 249-269. *In* D.R. Berry, ed. **Physiology of Industrial Fungi**. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- Soccol, C.R. 1992. Physiologie et metabolisme de *Rhizopus* en culture solide et submergee, en relation avec la degradetion d'amidon cru et la production d'acide L(+) lactique. PhD Thesis thesis, Universite' Technologique de Compiegne.
- Srinorakutara, T., L. Kaewvimol and L. Saengou. 2006. Approach of cassava waste pretreatments for fuel ethanol production in Thailand. **J. Sci. Chula. Univ.** 1 (31): 77-84.
- Sriroth, K., R. Chollakup, S. Chotineeranat, K. Piyachomkwan and C.G. Oates. 2000. Processing of Cassava waste of improved biomass utilization. **Bioresorce Tech.** 71 (1): 63-69.
- Steinkraus, K.H. 1995. **Classification of Household Fermentation Techniques.** Background Paper for WHO/FAO Workshop on Assessment of Fermentation as Household Technology for Improving Food Safety, Dec. 11-15, 1995. Department of Health. Pretoria, South Africa.
- _____ 1996. Introduction to Indigenous fermented Foods, pp. 1-5. *In* K.H. Steinkraus, ed. **Handbook of Indigenous Fermented Foods.** Marcel Dekker, New York.
- _____ 1997. Classification of fermented foods: Worldwide review of Household Fermentation Techniques. **Food Control.** (8): 311-317.
- Stuart, D.M., D.A. Mitchell, M.R. Johns and J.D. Litster. 1999. Solid-state fermentation in rotating drum bioreactors: Operating variables affect performance through their effects on transport phenomena. **Biotechnol. Bioeng.** (63): 383-391.
- Takamine, J. 1914. nzymes of *Aspergillus oryzae* and the application of its amyloclastic enzyme to the fermentation industry. **Ind. Eng. Chem.** (6): 824-828.

_____ 1918. **Process for Producing Diastatic Product.** U.S. Patent 1,263,817.

Toet, M.J. and A. Somers. 1994. **Production of *Trichoderma harzianum* Rifa CMI CC No. 333646.** U.S. Patent 5,330,912.

Tomasini, A., C. Fajardo and J. Barrios-Gonzalez. 1997. Gibberellic acid production using different solid-state fermentation systems. **World J. Microb. Biotechnol.** (13): 203-206.

Tunga, R., R. Banerjee and B.C. Bhattacharyya. 1999. Studies of some physical parameters for large scale protease production by SSF. **Bioprocess Eng.** (21): 107-112.

Underkofler, L.A., E.I. Fulmer and L. Schoene. 1939. Saccharification of starchy grain mashes for the alcoholic fermentation industry: use of mold amylase. **Ind. Eng. Chem.** (31): 734-738.

Van de Loo, H.M. 1976. An improved method for the quantitative determination of hexosamine according to Elson and Morgan. **Anal. Biochem.** (76): 556-560.

Vrije, T. de, N. Antoine, R.M. Buitelaar, S. Bruckner, M. Dissevelt and J.M. Whipps. 2001. The fungal biocontrol agent *Coniothyrium minitans* : Production by solid-state fermentation, application and marketing. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** (56): 58-68.

Walas, S.M. 1988. **Chemical Process Equipment: Selection and Design.** Butterworth Publishers., New York.

Windish, W.W. and N.S. Mhatre. 1965. Microbial amylases. **Adv. Appl. Microbiol.** (7): 273-283.

www.student.ccbcmd.edu/.../images/rhizopus3d1.JPG

- Yanai K., N. Takaya, N. Kojima, H. Horiuchi, A. Ohta and M. Takagi. 1992. Purification of two chitinases from *Rhizopus oligosporus* and isolation and sequencing of the encoding genes. **J. Bacteriol.** (174): 7398-7406.
- Yang, S.S., L. Chiu and S.S. Yuan. 1994. Oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus*: gas and temperature patterns in a solid state column bioreactor. **W. J. Micro. and Biotech.** (10): 215-220.
- Zheng, Z. And K. Shetty. 1997. Cranberry processing waste for solid state fungal inoculant production. **Process Biochemistry.** (33): 323-329.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารเคมี

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	กรัม

2. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมอะไมเลส

2.1 สารละลาย 0.2 M Acetic acid เตรียมโดย CH_3COOH เข้มข้น ปริมาณ 2.9 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

2.2 สารละลาย 0.2 M Sodium acetate เตรียมโดย CH_3COONa 1.64 กรัม หรือ $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2.72 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2.3 สารละลาย 0.1 M Acetate buffer pH 5.00 เตรียมโดยผสมสารละลาย 0.2 M Acetic acid จำนวน 352 มิลลิลิตร กับสารละลาย 0.2 M Sodium acetate จำนวน 148 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.4 สารละลาย Soluble starch 2 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลาย Soluble starch จำนวน 2 กรัม กับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (แต่เวลาใช้ต้องเขย่าก่อนทุกครั้ง เพราะแป้งมักตกตะกอนอยู่ข้างล่าง)

2.5 สารละลาย 0.15 M Acetate buffer pH 5.00 เตรียมโดยผสมสารละลาย 0.2 M Acetic acid จำนวน 52.8 มิลลิลิตร กับสารละลาย 0.2 M Sodium acetate จำนวน 22.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

2.6 สารละลาย 2 N NaOH เตรียมโดยละลาย NaOH จำนวน 8 กรัม กับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

2.7 สารละลาย 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) reagent เตรียมโดยละลาย 3,5-Dinitrosalicylic จำนวน 1 กรัม กับสารละลาย 2 N NaOH จำนวน 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Potassium sodium tartrate (Rochelle salt) จำนวน 30 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

3. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน

3.1 สารละลาย Acetyl acetone reagent เตรียมโดยเติม 4 เปอร์เซ็นต์ Acetyl acetone ลงใน 1.25 M Na_2CO_3 ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

3.2 สารละลาย Ehrlich reagent เตรียมโดยละลาย Para-dimethylaminobenzaldehyde 1.6 กรัม ในส่วนผสมของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร และ 95 เปอร์เซ็นต์ เอทิลแอลกอฮอล์ 30 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นได้นาน 2-3 วัน

3.3 สารละลาย 30 เปอร์เซ็นต์ NaOH

3.4 สารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl)

4. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

4.1 Sodium potassium tartrate (Rochelle salt)

4.2 สารละลาย 2 M NaOH เตรียมโดยละลาย NaOH 8 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4.3 สารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS solution) เตรียมโดยละลาย 3,5- Dinitrosalicylic acid 2.5 กรัม ลงใน 50 มิลลิลิตรของ 2 M NaOH เติม Sodium potassium tartrate 75 กรัม และคนจน

ละลายหมด เติมน้ำให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง จะสามารถเก็บได้นานหลายอาทิตย์

ภาคผนวก ข

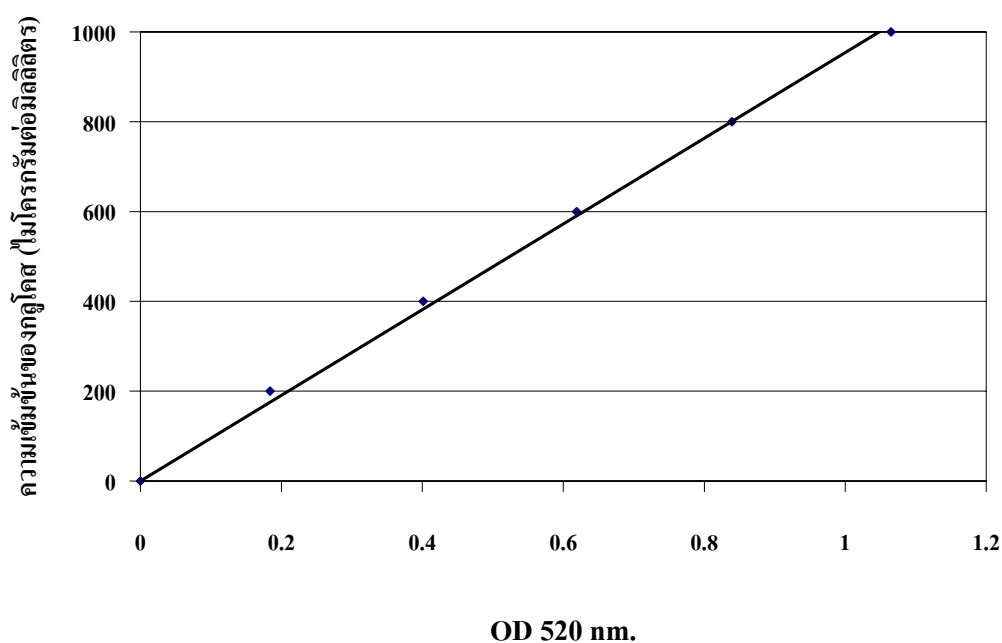
กราฟมาตรฐาน

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานค่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส

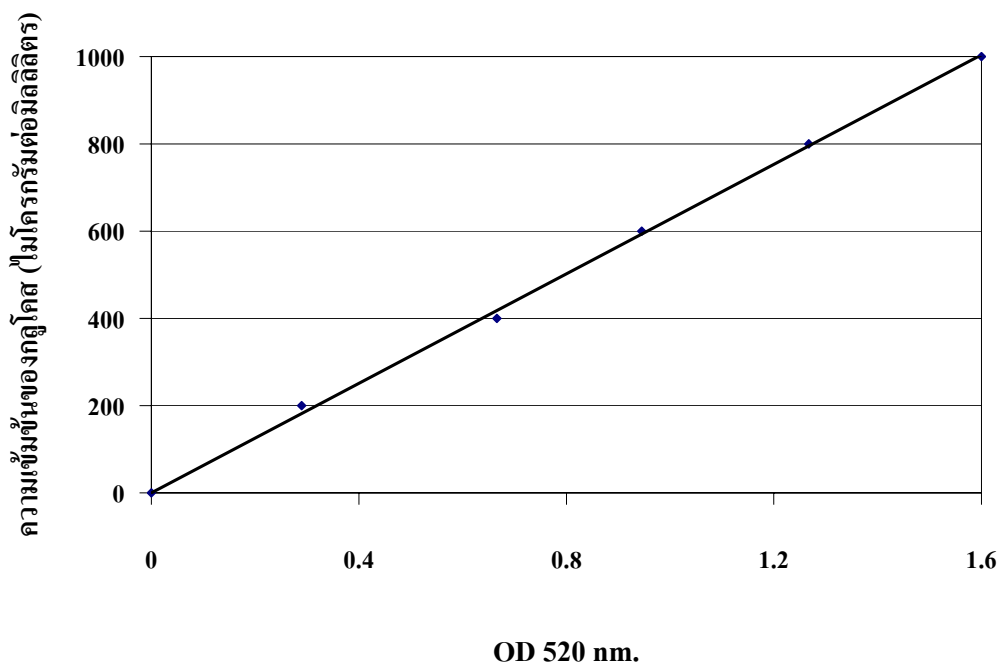
1.1 สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

1.1.1 Stock solution 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลายน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

1.1.2 Working solution นำสารละลายในข้อ 1.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อนำมาหากราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เมื่อวิเคราะห์ตามวิธีการของ



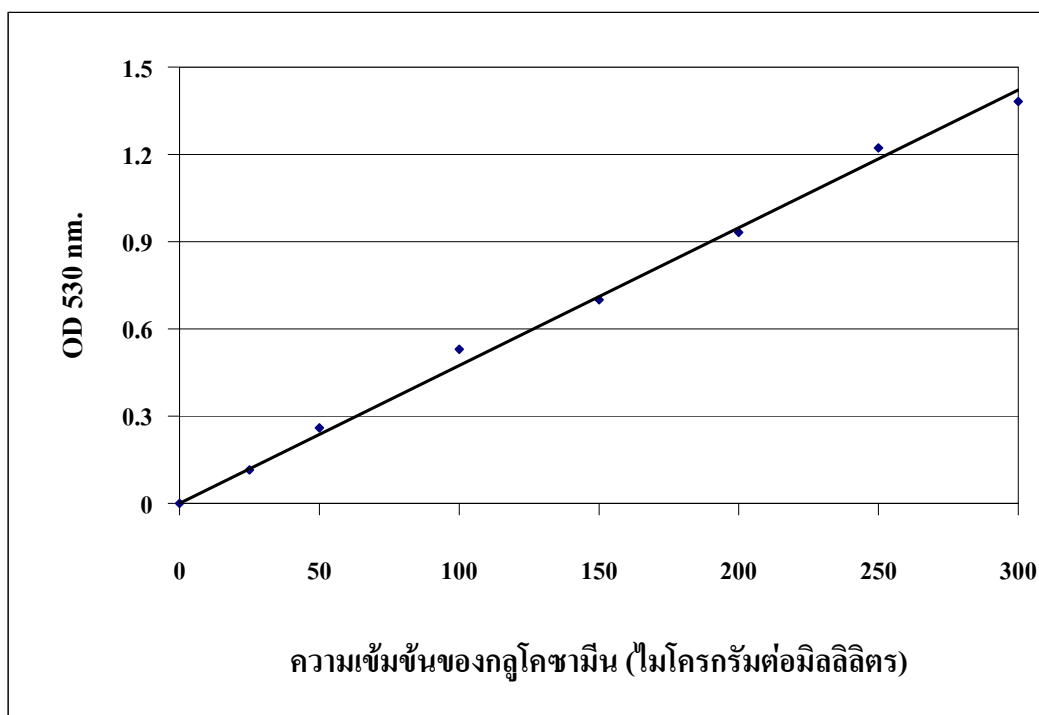
ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานของกลูโคสที่เสถียรภาพที่ความเข้มข้น 0-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เมื่อวิเคราะห์ตามวิธีการ

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคซามีน

2.1 สารละลายมาตรฐาน Glucosamine hydrochloride

2.1.1 Stock solution 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลาย Glucosamine hydrochloride 5 กรัม ในน้ำกลั่น จนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร

2.1.2 Working solution นำสารละลายในข้อ 2.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 25 50 100 150 200 250 และ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทำกราฟมาตรฐาน



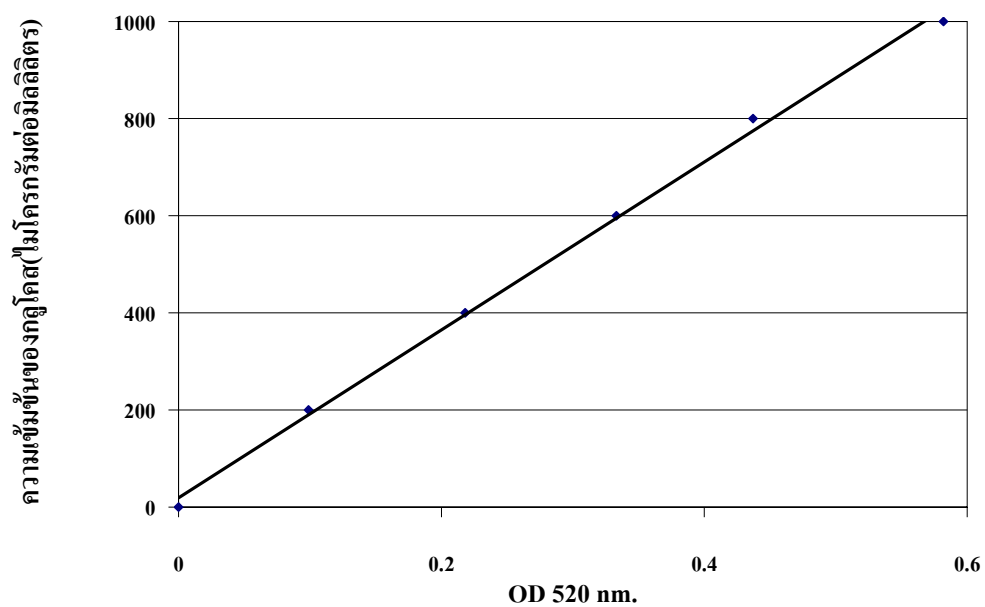
ภาพผนวกที่ ข3 กราฟมาตรฐานของคลอโรฟิลล์ที่ความเข้มข้น 0-300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เมื่อวิเคราะห์ตามวิธีการของ Morgan-Elson ที่ปรับปรุงแล้ว

3. การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์

3.1 สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

3.1.1 Stock solution 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลายน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3.1.2 Working solution นำสารละลายในข้อ 3.1.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 400, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อนำมาหากราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ ข4 กราฟมาตรฐานของกลูโคสที่ความเข้มข้น 0-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร เมื่อวิเคราะห์ตามวิธี DNS

ภาคผนวก ค

ตารางข้อมูลผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ ค1 ปริมาณดินเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	58.15	57.83	57.99
12	58.17	57.61	57.89
24	59.23	60.11	59.67
36	61.83	61.09	61.46
48	59.21	57.87	58.54
60	58.04	57.62	57.83
72	57.28	57.54	57.41
84	60.17	58.99	59.58
96	57.32	57.46	57.39

ตารางผนวกที่ ค2 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
0	56.27	55.88	53.6	54.09	54.96
12	54.81	55.02	55.06	54.87	54.94
24	57.42	57.23	55.67	55.84	56.54
36	59.08	58.96	56.60	56.72	57.84
48	57.41	57.37	56.62	56.68	57.02
60	58.17	57.94	55.96	56.17	57.06
72	56.15	56.29	55.88	55.76	56.02
84	57.88	56.86	53.67	54.71	55.78
96	58.26	57.75	53.06	53.57	55.66

ตารางผนวกที่ ค3 ปริมาณดินเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	56.17	55.85	56.01
12	56.67	55.97	56.32
24	55.58	55.76	55.67
36	58.00	59.02	58.51
48	61.82	59.88	60.85

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	57.93	58.13	58.03
72	57.54	56.76	57.15
84	59.10	59.24	59.17
96	57.57	57.39	57.48

ตารางผนวกที่ ค4 ปริมาณดินเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	0.56	0.44	0.50
12	0.60	0.62	0.61
24	3.20	3.14	3.17
36	3.88	3.56	3.72
48	5.35	5.21	5.28
60	9.36	9.42	9.39
72	11.67	11.55	11.61
84	17.20	17.36	17.28
96	19.59	18.97	19.28

ตารางผนวกที่ ค5 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวิซ์				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
0	0.39	0.42	0.83	0.84	0.62
12	1.28	1.18	1.50	1.60	1.39
24	2.72	2.84	5.50	5.38	4.11
36	5.11	5.06	7.78	7.81	6.44
48	6.06	6.02	9.72	9.76	7.89
60	9.11	8.98	16.61	16.74	12.86
72	11.06	11.22	20.61	20.43	15.83
84	18.40	18.16	20.61	20.83	19.50
96	25.28	25.09	25.17	25.38	25.23

ตารางผนวกที่ ค6 ปริมาณดินเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวิซ์		ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	0.77	0.67	0.72
12	1.37	1.19	1.28
24	2.26	2.08	2.17
36	4.85	4.93	4.89
48	8.71	8.85	8.78

ตารางผนวกที่ ค6 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	11.26	10.96	11.11
72	17.57	15.99	16.78
84	20.37	20.51	20.44
96	26.54	27.02	26.78

ตารางผนวกที่ ค7 ปริมาณดินเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	34.20	33.88	34.04
12	23.78	24.10	23.94
24	35.81	35.47	35.64
36	39.83	39.95	39.89
48	35.79	35.47	35.63
60	42.13	41.91	42.02
72	46.39	46.15	46.27
84	41.90	44.26	43.08
96	41.51	39.33	40.42

ตารางผนวกที่ ค8 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
0	35.64	35.23	6.38	6.83	21.02
12	35.11	36.38	12.77	11.50	23.94
24	56.38	55.43	17.02	17.97	36.70
36	57.45	54.67	37.23	40.01	47.34
48	53.72	52.44	53.19	54.45	53.45
60	55.85	56.95	48.94	47.82	52.39
72	52.66	54.39	27.66	25.93	40.16
84	52.66	54.81	17.02	14.87	34.84
96	53.19	55.57	10.64	8.28	31.92

ตารางผนวกที่ ค9 ปริมาณดินเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
0	43.83	45.53	44.68
12	46.23	47.39	46.81
24	66.14	60.46	63.30
36	73.20	75.74	74.47
48	40.24	38.48	39.36

ตารางผนวกที่ ค9 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	54.00	50.26	52.13
72	44.09	43.15	43.62
84	36.32	39.22	37.77
96	47.74	48.00	47.87

ตารางผนวกที่ ค10 ปริมาณต้นเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1,055.85	707.99	881.92
12	1,055.97	1,364.15	1,210.06
24	1,555.76	1,780.82	1,668.29
36	3,059.02	2,418.82	2,738.92
48	4,059.88	4,344.32	4,202.10
60	7,558.13	7,514.47	7,536.30
72	8,056.76	8,323.76	8,190.26
84	7,644.24	7,553.72	7,598.98
96	6,057.39	7,625.09	6,841.24

ตารางผนวกที่ ค11 ปริมาณดันเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำหรับหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ค่าเฉลี่ย
0	1,196.94	1,236.48	1,515.35	1,475.79	1,356.14
12	1,315.77	1,575.93	1,896.79	1,636.63	1,606.28
24	1,639.09	1,856.08	3,605.79	3,388.80	2,622.44
36	2,491.00	2,762.14	4,519.47	4,248.35	3,505.24
48	414.73	808.56	5,000.55	4,604.32	2,707.04
60	7,679.19	7,054.83	6,492.02	7,116.36	7,085.60
72	8,302.32	8,364.39	4,873.56	4,811.49	6,587.94
84	8,884.41	8,926.50	9,090.78	9,048.71	8,987.60
96	8,524.74	8,430.85	8,438.63	8,532.50	8,481.68

ตารางผนวกที่ ค12 ปริมาณดันเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำหรับหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1,570.08	1,703.60	1,636.84
12	1,335.29	1,179.87	1,257.58
24	1,762.67	2,086.55	1,924.61
36	2,737.48	2,981.68	2,859.58
48	4,578.64	4,701.34	4,639.99

ตารางผนวกที่ ค12 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	7,509.52	7,499.44	7,504.48
72	8,396.11	8,532.17	8,464.14
84	8,038.30	7,887.26	7,962.78
96	8,176.13	8,485.03	8,330.58

ตารางผนวกที่ ค13 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	49.35	49.85	49.6
12	49.75	50.17	49.96
24	47.44	50.06	48.75
36	46.7	48.02	47.36
48	49.56	49.88	49.72
60	51.55	50.63	51.09
72	48.76	47.40	48.08
84	50.84	49.24	50.04
96	45.71	47.93	46.82

ตารางผนวกที่ 14 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	59.76	60.76	60.26
12	59.27	59.89	59.58
24	61.55	61.67	61.61
36	61.98	59.92	60.95
48	61.34	61.34	61.34
60	61.13	60.47	60.80
72	60.88	61.22	61.05
84	62.04	59.86	60.95
96	60.93	59.99	60.46

ตารางผนวกที่ 15 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวัช		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	0.53	0.47	0.5
12	0.69	0.93	0.81
24	5.5	4.28	4.89
36	5.73	4.93	5.33
48	6.34	6.44	6.39

ตารางผนวกที่ ค15 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	9.51	8.37	8.94
72	14.89	13.99	14.44
84	15.57	17.01	16.29
96	21.27	20.75	21.01

ตารางผนวกที่ ค16 ปริมาณดินเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1.89	1.33	1.61
12	2.05	2.17	2.11
24	5.10	4.78	4.94
36	6.21	7.01	6.61
48	9.56	8.78	9.17
60	11.01	11.33	11.17
72	16.15	14.97	15.56
84	18.74	19.26	19.00
96	23.55	21.67	22.61

ตารางผนวกที่ ค17 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	3.43	2.95	3.19
12	9.24	7.78	8.51
24	9.09	7.93	8.51
36	17.42	16.62	17.02
48	33.01	30.84	31.92
60	11.40	12.00	11.70
72	9.81	9.33	9.57
84	5.48	5.16	5.32
96	3.27	3.11	3.19

ตารางผนวกที่ ค18 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	5.66	4.98	5.32
12	12.69	12.83	12.76
24	13.64	11.88	12.76
36	18.90	17.26	18.08
48	17.85	20.45	19.15

ตารางผนวกที่ ค18 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	25.23	23.71	24.47
72	17.65	16.39	17.02
84	13.02	12.52	12.77
96	7.85	9.17	8.51

ตารางผนวกที่ ค19 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิเมตร

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1,209.29	1,169.49	1,189.39
12	1,580.22	1,463.36	1,521.79
24	2,485.92	2,498.92	2,492.42
36	2,771.02	2,711.28	2,741.15
48	3,337.38	3,759.02	3,548.20
60	5,499.44	5,496.24	5,497.84
72	5,143.05	5,328.71	5,235.88
84	4,602.31	4,284.53	4,443.42
96	4,529.12	4,348.58	4,438.85

ตารางผนวกที่ ค20 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำหรับหลังที่ทำการหมักในพลาสติกขนาด 250 มิลลิตร

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1,858.01	1,869.97	1,863.99
12	861.76	808.56	835.16
24	3,605.37	3,605.97	3,605.67
36	4,297.59	4,741.35	4,519.47
48	5,154.63	4,988.13	5,071.38
60	4,456.98	4,496.42	4,476.70
72	4,845.38	4,338.66	4,592.02
84	7,024.44	7,259.24	7,141.84
96	6762.22	6438.32	6,600.27

ตารางผนวกที่ ค21 อุณหภูมิของวัสดุหมักที่รูปแบบการกั้นต่างๆ (1) กั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน, (2) กั้นแบบแบ่งตามยาว และ(3) ไม่มีแผ่นกั้น

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมัก					
	ตรงกลาง	ระหว่าง	ตรงกลาง	ระหว่าง	ตรงกลาง	ระหว่าง
	(1)	ขอบ(1)	(2)	ขอบ(2)	(3)	ขอบ(3)
0	32	32	30.5	30	32	32
12	35	35	30	30	34	34
24	33.5	33.5	28	27.5	40	40
36	33	33	43	41	36.5	36
48	31	30.5	37	36	33.5	33

ตารางผนวกที่ ค21 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมัก					
	ตรงกลาง	ระหว่าง	ตรงกลาง	ระหว่าง	ตรงกลาง	ระหว่าง
	(1)	ขอบ(1)	(2)	ขอบ(2)	(3)	ขอบ(3)
60	32	31.5	35	35	32	32
72	31	30.5	30.5	31	32	32
84	33	32.5	33	33	30	30
96	31	30.5	30	30	30	30

ตารางผนวกที่ ค22 ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมักของทุกรูปแบบของแผ่นกั้น

ชั่วโมงที่	ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมักที่รูปแบบการกั้น		
	แบบแบ่ง 4 ส่วน	แบบแบ่งตามยาว	ไม่มีแผ่นกั้น
0	4.21	3.84	4.10
12	4.12	3.80	4.07
24	4.03	3.72	4.06
36	4.01	3.74	4.13
48	4.01	3.92	4.00
60	4.00	4.07	4.01
72	4.07	4.12	3.87
84	4.18	4.04	3.87
96	4.29	4.08	3.81

ตารางผนวกที่ ค23 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบค

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	แบบแบ่ง 4 ส่วน	แบบแบ่งตามยาว	ไม่มีแผ่นกั้น
0	55.20	55.10	55.48
12	54.18	48.20	57.00
24	54.72	55.77	55.49
36	54.35	70.92	53.30
48	53.11	63.37	56.32
60	52.04	55.35	54.91
72	54.03	55.03	55.24
84	51.21	58.07	54.48
96	52.06	57.00	54.83

ตารางผนวกที่ ค24 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคใช้การกั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	2.01	1.83	1.92
12	1.67	1.87	1.77
24	3.10	2.98	3.04
36	4.69	4.01	4.35
48	8.40	8.18	8.29

ตารางผนวกที่ ค24 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	13.08	12.54	12.81
72	14.67	14.91	14.79
84	21.82	20.62	21.22
96	30.35	31.05	30.70

ตารางผนวกที่ ค25 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
 ลำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคใช้การกั้นแบบแบ่งตามยาว

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	2.21	2.07	2.14
12	1.95	1.93	1.94
24	3.35	2.89	3.12
36	2.95	3.03	2.99
48	3.19	3.11	3.15
60	4.01	3.45	3.73
72	6.58	7.24	6.91
84	13.12	11.78	12.45
96	17.56	20.60	19.08

ตารางผนวกที่ ค26 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
 สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคและไม่มีแผ่นกั้น

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวิซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	0.87	0.69	0.78
12	0.99	0.85	0.92
24	1.25	1.17	1.21
36	1.33	1.23	1.28
48	1.73	1.59	1.66
60	1.90	1.48	1.69
72	1.88	1.62	1.75
84	1.83	1.79	1.81
96	2.89	2.55	2.72

ตารางผนวกที่ ค27 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
 สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคใช้การกั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	7.98	6.92	7.45
12	20.18	22.38	21.28
24	67.11	64.81	65.96
36	38.98	37.62	38.30
48	20.47	19.75	20.11

ตารางผนวกที่ ค27 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	32.49	29.21	30.85
72	12.51	13.03	12.77
84	27.98	25.22	26.6
96	17.17	16.87	17.02

ตารางผนวกที่ ค28 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
 ลำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคไใช้การกวนแบบแบ่งตามยาว

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	39.98	38.74	39.36
12	73.77	70.91	72.34
24	66.74	65.18	65.96
36	77.71	75.49	76.60
48	87.83	84.51	86.17
60	13.43	14.23	13.83
72	27.85	25.35	26.60
84	51.23	46.65	48.94
96	23.77	25.17	24.47

ตารางผนวกที่ ค29 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
 สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคและไม่มีแผ่นกั้น

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	47.18	48.56	47.87
12	27.43	25.77	26.60
24	32.96	35.12	34.04
36	36.40	35.94	36.17
48	39.21	37.39	38.30
60	51.97	48.03	50.00
72	38.61	40.11	39.36
84	43.70	45.66	44.68
96	56.98	55.78	56.38

ตารางผนวกที่ ค30 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
 สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบเพคเบคใช้การกั้นแบบแบ่ง 4 ส่วน

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	905.29	896.79	901.04
12	1,297.59	1,080.63	1,189.11
24	1,497.30	1,299.86	1,398.58
36	2,136.59	2,002.35	2,069.47
48	3,542.69	3,434.27	3,488.48

ตารางผนวกที่ ค30 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	6,901.35	6,748.17	6,824.76
72	8,602.76	8,726.54	8,664.65
84	7,871.80	8,195.42	8,033.61
96	8,336.12	8,032.36	8,184.24

ตารางผนวกที่ ค31 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบพลิกเบคใช้การกวนแบบแบ่งตามยาว

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	655.01	598.62	626.81
12	576.05	557.13	566.59
24	404.46	399.78	402.12
36	1,908.94	1,954.24	1,931.59
48	1,199.25	1,184.05	1,191.65
60	1,394.70	1,197.56	1,296.13
72	2,398.08	2,177.84	2,287.96
84	6,049.14	6,132.14	6,090.64
96	6,227.27	6,156.39	6,191.83

ตารางผนวกที่ ค32 ปริมาณต้นเชื้อ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ ของกากมัน
สำปะหลังที่ทำการหมักในถังหมักแบบพลิกเบดและไม่มีแผ่นกั้น

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	3,339.85	3,274.15	3,307.00
12	3,413.31	3,182.33	3,297.82
24	4,896.53	4,396.75	4,646.64
36	3,096.80	2,945.04	3,020.92
48	3,559.05	3,385.91	3,472.48
60	3,429.36	3,403.66	3,416.51
72	3,407.32	3,512.48	3,459.90
84	4,071.26	3,887.62	3,979.44
96	4,453.80	4,379.14	4,416.47

ตารางผนวกที่ ค33 อุณหภูมิของวัสดุหมักของความหนา 7.5 เซนติเมตรในถังหมักแบบพลิกเบด

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมัก		
	อุณหภูมิตรงกลาง	อุณหภูมิระหว่างขอบ	อุณหภูมินอกถัง
0	31	31	30
12	29	29	29
24	28	28	32
36	30	30	30
48	29	29	31

ตารางผนวกที่ ค33 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมัก		
	อุณหภูมิตรงกลาง	อุณหภูมิระหว่าง ขอบ	อุณหภูมินอกถัง
60	29	29	30
72	29	30	31
84	28	29	31
96	28	29	31

ตารางผนวกที่ ค34 อุณหภูมิของวัสดุหมักของความหนา 10 เซนติเมตรในถังหมักแบบแพคเบด

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมัก		
	อุณหภูมิตรงกลาง	อุณหภูมิระหว่าง ขอบ	อุณหภูมินอกถัง
0	31.5	31.5	30.0
12	31.5	31.5	31.0
24	30.5	30.0	31.0
36	30.5	30.0	31.5
48	28.5	28.5	30.5
60	29.5	29.5	32.0
72	29.0	28.0	31.0
84	29.5	28.5	32.0
96	28.0	27.5	30.0

ตารางผนวกที่ ค35 อุณหภูมิของวัสดุหมักของความหนา 12.5 เซนติเมตรในถังหมักแบบพลิกเบค

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมัก		
	อุณหภูมิตรงกลาง	อุณหภูมิระหว่างขอบ	อุณหภูมินอกถัง
0	32	32	29
12	34	34	32
24	37	35	31
36	32	30	33
48	31	30	31
60	31	30	34
72	30	29	30
84	29	29	34
96	28	28	30

ตารางผนวกที่ ค36 ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมักของทุกความหนาของวัสดุหมัก

ชั่วโมงที่	ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมักของชั้นวัสดุหมัก		
	10 เซนติเมตร	7.5 เซนติเมตร	12.5 เซนติเมตร
0	3.75	3.79	3.83
12	3.75	3.78	3.81
24	3.73	3.80	3.97
36	3.78	3.97	4.01
48	3.92	4.09	4.14
60	4.00	4.08	4.14
72	4.08	4.20	4.20
84	4.14	4.26	4.25
96	4.26	4.16	4.30

ตารางผนวกที่ ค37 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบ
แพคเบด

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	10 เซนติเมตร	7.5 เซนติเมตร	12.5 เซนติเมตร
0	54.66	55.08	54.48
12	54.83	55.77	55.45
24	55.09	52.12	54.15
36	54.86	52.02	52.88
48	54.32	50.01	53.36
60	54.28	50.98	52.66
72	51.00	49.88	52.14
84	51.58	47.62	51.38
96	50.71	45.96	48.95

ตารางผนวกที่ ค38 เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมัก
แบบแพคเบด

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	2.81	2.53	2.67
12	5.07	4.99	5.03
24	5.90	5.64	5.77
36	7.13	7.21	7.17
48	10.31	9.97	10.14

ตารางผนวกที่ ค38 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	14.80	13.86	14.33
72	17.88	18.02	17.95
84	19.44	18.78	19.11
96	22.15	21.55	21.85

ตารางผนวกที่ ค39 เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ของวัสดุหมักที่ความหนา 10 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแพคเบด

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	2.41	2.67	2.54
12	4.48	5.06	4.77
24	5.08	6.44	5.76
36	8.12	6.64	7.38
48	12.96	10.22	11.59
60	16.55	14.03	15.29
72	17.12	15.48	16.30
84	21.02	16.86	18.94
96	24.46	23.24	23.85

ตารางผนวกที่ ค40 เปอร์เซ็นต์น้ำตากรีดิวซ์ของวัสดุหมักที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแฟลคเบค

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตากรีดิวซ์		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	3.28	3.06	3.17
12	6.61	6.45	6.53
24	8.18	7.82	8.00
36	9.83	9.33	9.58
48	16.13	15.97	16.05
60	18.29	16.83	17.56
72	20.96	19.64	20.30
84	24.51	23.41	23.96
96	26.77	25.79	26.28

ตารางผนวกที่ ค41 ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่ความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบแฟลคเบค

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	67.03	64.89	65.96
12	42.23	40.75	41.49
24	40.24	40.62	40.43
36	54.58	53.94	54.26
48	86.58	85.76	86.17

ตารางผนวกที่ ค41 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	84.99	85.23	85.11
72	67.04	64.88	65.96
84	54.16	54.36	54.26
96	70.89	69.53	70.21

ตารางผนวกที่ ค42 ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่มีความหนา 10 เซนติเมตร ในถังหมักแบบ
แพคเบค

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	12.76	28.72	20.74
12	22.34	32.98	27.66
24	15.96	56.38	36.17
36	19.14	39.36	29.25
48	39.37	59.57	49.47
60	42.57	57.45	50.01
72	52.13	58.51	55.32
84	45.75	53.19	49.47
96	48.94	39.36	44.15

ตารางผนวกที่ ค43 ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่มีความหนา 12.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบ
แพคเบค

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	56.28	58.62	57.45
12	46.53	42.83	44.68
24	46.99	44.51	45.75
36	41.19	39.67	40.43
48	56.17	56.60	56.38
60	57.29	55.47	56.38
72	79.28	77.36	78.32
84	75.05	73.89	74.47
96	66.88	65.04	65.96

ตารางผนวกที่ ค44 ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมักที่มีความหนา 7.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบ
แพคเบค

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1,092.35	1,056.11	1,074.23
12	1,847.32	1,734.52	1,790.92
24	1,651.75	1,508.09	1,579.92
36	2,221.81	2,245.37	2,233.59
48	3,224.77	3,358.19	3,291.48

ตารางผนวกที่ ค44 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	2,552.28	2,472.62	2,512.45
72	5,503.24	5,395.48	5,449.36
84	7,409.02	7,154.34	7,281.68
96	4,956.99	4,861.25	4,909.12

ตารางผนวกที่ ค45 ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมักที่ความหนา 10 เซนติเมตร ในถังหมักแบบ
แพคเบค

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	1,721.92	2,367.44	2,044.68
12	1,353.38	2,451.90	1,902.64
24	1,539.05	2,812.85	2,175.95
36	4,293.10	3,718.26	4,005.68
48	4,588.85	3,120.41	3,854.63
60	8,965.11	4,807.11	6,886.11
72	9,204.21	5,255.51	7,229.86
84	8,852.32	6,000.60	7,426.46
96	8,882.82	5,623.68	7,253.25

ตารางผนวกที่ ค46 ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมักที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร ในถังหมักแบบ
แฟลคเบด

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	2,855.96	2,637.22	2,746.59
12	2,939.29	2,619.65	2,779.47
24	3,113.55	2,885.31	2,999.43
36	3,327.04	3,518.24	3,422.64
48	4,924.81	5,102.07	5,013.44
60	6,291.23	5,870.97	6,081.10
72	8,389.55	8,176.49	8,283.02
84	7,063.54	7,011.28	7,037.41
96	5,869.54	5,673.86	5,771.70

ตารางผนวกที่ ค47 อุณหภูมิของวัสดุหมักที่ตรงกลางถังหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิม
เกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมักตรงกลางถัง		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	32	30	31
12	32	28	30
24	38	38	38
36	28	28	27.5
48	28	27	27.5

ตารางผนวกที่ ค47 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมักตรงกลางถัง		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	28	27	27.5
72	28	28	28
84	28	28	28
96	28	29	28.5

ตารางผนวกที่ ค48 อุณหภูมิของวัสดุหมักที่ระหว่างขอบถึงหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิม
เกลือแร่เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิของวัสดุหมักระหว่างขอบ		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	32	30	31
12	32	28	30
24	37	37	37
36	28	26	27
48	28	26	27
60	28	26	27
72	28	27	27
84	28	28	28
96	28	28	28

ตารางผนวกที่ ค49 อุณหภูมิออกถังหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่เป็นวัสดุหมัก
ที่มีความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิออกถังหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	29	26	27.5
12	31	26	28.5
24	29	28	28.5
36	32	28	30
48	29	29	29
60	30	28	29
72	30	29	29.5
84	32	29	30.5
96	30	31	30.5

ตารางผนวกที่ ค50 ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่เป็น
วัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	5.59	5.96	5.78
12	5.60	5.63	5.62
24	5.62	5.68	5.65
36	4.91	4.88	4.90
48	4.58	4.87	4.72

ตารางผนวกที่ ค50 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	ค่าความเป็นกรด-เบสของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
60	4.83	4.77	4.80
72	4.86	4.55	4.70
84	4.83	4.59	4.71
96	4.73	4.63	4.68

ตารางผนวกที่ ค51 เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่เป็น
วัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์ความชื้นของวัสดุหมัก		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	54.54	55.13	54.84
12	56.77	54.92	55.84
24	51.88	56.71	54.30
36	51.38	52.04	51.71
48	49.00	51.84	50.42
60	48.45	53.35	50.90
72	43.41	53.86	48.64
84	48.76	48.44	48.60
96	45.13	47.44	46.28

ตารางผนวกที่ ค52 เปอร์เซ็นต์น้ำตาเล็ดตัวของวัสดุหมัก ที่เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่
เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	เปอร์เซ็นต์น้ำตาเล็ดตัว				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
0	4.35	4.41	3.25	3.19	3.80
12	5.57	5.60	4.97	4.94	5.27
24	4.28	4.32	1.89	1.83	3.08
36	1.73	1.68	1.39	1.44	1.56
48	2.29	2.27	2.02	2.22	2.20
60	2.69	2.75	3.17	3.11	2.93
72	3.55	3.49	4.35	4.41	3.95
84	2.79	2.86	2.52	2.47	2.66
96	3.43	3.32	3.24	3.37	3.34

ตารางผนวกที่ ค53 ปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่
เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลูโคซามีน				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
0	0.00	2.41	23.4	20.99	11.70
12	3.19	3.34	17.02	16.85	10.10
24	9.57	9.29	19.15	19.43	14.36
36	22.34	22.45	21.28	21.17	21.81
48	18.08	18.08	18.08	18.08	18.08

ตารางที่ ค53 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	ปริมาณกลุโคซามีน				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
60	26.60	26.81	39.36	39.15	32.98
72	12.77	12.56	34.04	34.23	23.40
84	32.98	33.07	47.87	47.76	40.42
96	24.47	23.32	36.17	37.32	30.32

ตารางผนวกที่ ค54 ค่ากิจกรรมอะไมเลสของวัสดุหมัก เมื่อใช้กากมันสำปะหลังที่เดิมเกลือแร่
เป็นวัสดุหมัก ที่ความหนา 12.5 เซนติเมตร

ชั่วโมงที่	กิจกรรมอะไมเลส				ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	
0	829.17	834.09	3,014.62	3,009.72	1,921.90
12	1,618.58	1,597.87	2,812.04	2,832.75	2,215.31
24	2,924.50	2,935.14	2,873.13	2,862.51	2,898.82
36	2,340.08	2,349.38	1,806.53	1,797.21	2,073.30
48	2,124.28	2,120.66	1,734.84	1,734.84	1,929.56
60	2,360.96	2,352.25	1,912.31	1,912.31	2,136.64
72	2,222.40	2,209.06	2,690.77	2,690.77	2,456.58
84	4,459.57	4,462.48	3,474.58	3,474.58	3,967.08
96	3,143.27	3,117.34	1,731.95	1,731.95	2,437.61

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายธีระพงษ์ สุขสว่าง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 3 เมษายน 2525
สถานที่เกิด	จังหวัดปทุมธานี
ประวัติการศึกษา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

