

การเพิ่มปริมาณโปรตีนของมันเป็นสำปะหลัง โดยการหมักบนอาหารแข็ง

สามารถ มูลอามาตย์

สุจิตรา แสนสาคร

ปนัดดา วิชาชาติ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

วิธีการหมักบนอาหารแข็ง (solid state fermentation) ของมันเป็นสำปะหลัง โดยเชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Curvularia sp* ที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ 90%–95% ได้ถูกศึกษาเพื่อที่จะเพิ่มปริมาณโปรตีนของอาหารแข็ง (มันเป็นสำปะหลัง ขนาด 2–3 mm ซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและสารอาหารอื่นๆ ที่เติม) ผลการศึกษาพบว่า ที่อัตราส่วนยูเรียต่อแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 4:0 ปริมาณความชื้นเริ่มต้นของอาหารแข็ง 60% และใช้เชื้อผสม *Aspergillus oryzae* กับ *Curvularia sp* (อัตราส่วน 2:1) ปริมาณ 1×10^7 สปอร์ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของมันเป็นสำปะหลัง สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในอาหารแข็งได้สูงสุด คิดเป็น 13.95%(w/w) ที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

Protein Enrichment of Cassava by Solid State Fermentation

Samart Moonamart

Suchitra Sansakorn

Panadda Vichahart

Department of Biotechnology

Faculty of Technology Khon Kaen University

Abstract

Solid - state fermentation of cassava by *Aspergillus oryzae* and *Curvularia sp* at 90%–95% relative humidity was studied to increase protein content in solid medium (2–4 mm length cassava as a carbon source and other nutrients). The results showed that the ratio of urea : ammonium sulfate, 4:0; the initial moisture content of solid medium, 60%; and the ratio of mixed culture, *Aspergillus oryzae* : *Curvularia sp*, 2:1 gave the highest protein content 13.95%(w/w) in the solid medium at the fermentation time of 48 hours.

บทนำ

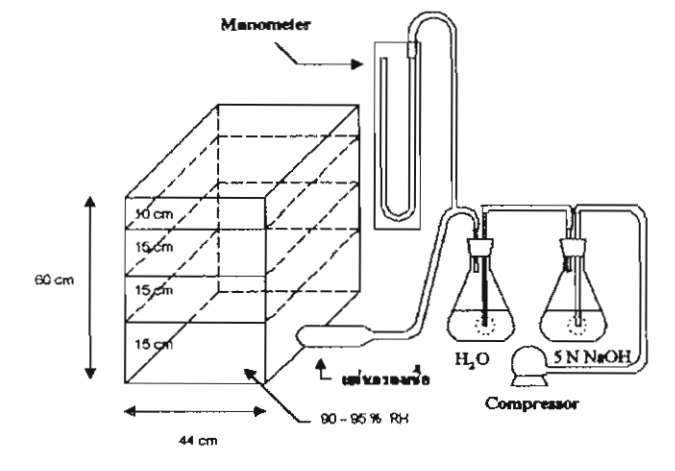
มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ และผลผลิตอยู่ในรูปมันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันเพื่อการส่งออก ภายหลังมักประสบปัญหาเกี่ยวกับการส่งออกของแป้งมันทำให้เกิดภาวะล้นตลาด ราคาตกต่ำ จึงได้มีการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำมันสำปะหลังมาแปรรูปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่น นำมาผลิตแอลกอฮอล์ พงชูรส กลูโคสซีรัป และพลาสติกย่อยสลายได้ หรือการดัดแปลง (modified starch) ให้มีคุณสมบัติบางประการที่ตรงตามความต้องการ นอกจากนั้นการใช้มันสำปะหลังในรูปมันเส้นที่หั่นเป็นชิ้นและผึ่งแดดจนแห้ง สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ได้เช่น เป็ด ไก่ และสุกร โดยใช้เป็นวัตถุดิบอาหารประเภทพลังงานทดแทนวัตถุดิบ

อาหารประเภทปลายข้าว ข้าวโพด หรือข้าวฟ่าง แต่สูตรอาหารที่มีการใช้มันสำปะหลังนั้น จะต้องมีการปรับสัดส่วนของวัตถุดิบอาหารอื่นๆ ในสูตรอาหารนั้นใหม่ เพื่อให้มีคุณค่าอาหารตรงตามความต้องการของสัตว์ แต่เนื่องจากมันเส้นเป็นวัตถุดิบอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำประมาณ 1-2(w/w) เท่านั้น ดังนั้น เมื่อใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารสัตว์ สูตรอาหารนั้นจำเป็นต้องมีการใช้วัตถุดิบอาหารโปรตีนสูงได้แก่ กากถั่วเหลือง ปลาป่น หรือ หัวอาหาร เพื่อคงระดับโปรตีนไว้ การศึกษาเป็นแนวทางการเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังเพื่อให้สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์ ทดแทนปลายข้าว หรือข้าวโพดได้ดีขึ้น โดยการหมักมันสำปะหลังด้วยเชื้อราที่คาดว่าจะสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลังได้

วิธีการทดลอง

อุปกรณ์การทดลอง

ทำการหมักในตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์อากาศให้อยู่ในช่วง 90%–95% โดยดูจากอุณหภูมิกระเปาะเปียก (wet bulb temperature) ที่ถูกติดตั้งอยู่ภายในตู้ การเพิ่มความชื้นอากาศทำได้โดยให้อากาศจากคอมเพรสเซอร์ผ่านน้ำก่อนที่จะเข้าสู่ตู้ทดลอง ภายในตู้ถูกแบ่งออกเป็น 3 ชั้น สำหรับวางถาดอาหาร ลักษณะตู้แสดงอยู่ในรูปที่ 1 (ดัดแปลงจาก เชื้อวชาญ พานิชยานบาล, 2533)



รูปที่1 ตู้ควบคุมความชื้น

การคัดเลือกเชื้อรา

เชื้อรา *Aspergillus oryzae* ที่ใช้ทดสอบแยกได้จากถังหมักเต้าเจี้ยวในอุตสาหกรรม ส่วนเชื้อรา *Curvularia* sp. ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

การเตรียมวัตถุดิบ

1. บดมันเส้นที่ตากแห้งแล้วร่อนด้วยตระแกรงเพื่อคัดเอาเฉพาะขนาด 2–4 mm. (ปริมาณความชื้นของมันสำปะหลัง 16.49%)
2. เตรียมสารละลายโดยมีส่วนประกอบต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้งของมันสำปะหลัง บด ดังนี้ KH_2PO_4 1.5 กรัม, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.8 กรัม, citric acid 22.7 กรัม เติมหะเล่งไนโตรเจน urea : $(NH_4)_2SO_4$ ในอัตราส่วน 4:0 3:1 และ 2:2 กรัม (เพื่อเปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนทั้งสองต่อการหมัก) จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาณ 66.2 153.4 และ 287.95 มิลลิลิตร เพื่อให้สารอาหารที่เตรียมได้มีแหล่งไนโตรเจนและปริมาณความชื้นเริ่มต้นแตกต่างกัน
3. ผสมมันสำปะหลังและสารละลายอาหารเข้าด้วยกัน นำไปนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^\circ C$ เวลา 30 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจะได้อาหารแข็งที่ใช้ทดสอบการหมักมีแหล่งไนโตรเจนต่างๆ กัน และมีปริมาณความชื้นเริ่มต้น 40% 60% และ 80% ซึ่งเป็นช่วงความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา (วรารุณี ครุสง, 2538 และ Athapol N., 1991) การแปรผันค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นด้วยวิธีเติมน้ำนี้ ค่าที่วัดได้จริงมีความคลาดเคลื่อนจากตัวเลขนี้บ้างเล็กน้อย
4. เติม spore suspension ของเชื้อราปริมาณ 1×10^7 สปอร์ ต่อกรัม น้ำหนักแห้งของมันสำปะหลัง โดย
 - เติมเชื้อบริสุทธิ์ ของ *Aspergillus oryzae*
 - เติมเชื้อบริสุทธิ์ ของ *Curvularia* sp.
 - เติมเชื้อผสมระหว่าง *Aspergillus oryzae* กับ *Curvularia* sp. อัตราส่วน

2:1

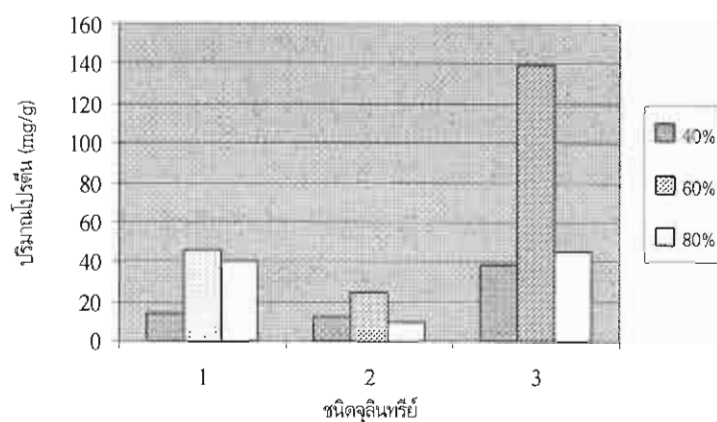
การหมัก

หลังจากผสมสารอาหารที่เตรียมไว้กับสปอร์ของเชื้อราให้เข้ากันดีแล้ว จากนั้นนำไปใส่ลงในภาชนะอาหารที่เตรียมไว้ โดยเกลี่ยให้มีความหนาเท่ากัน 1 เซนติเมตร ทิ้งให้แห้ง (ความหนามีผลต่อปริมาณออกซิเจนที่ได้รับของเชื้อรา) และนำไปหมักในตู้บ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0 24 48 และ 72 วิเคราะห์หา pH และปริมาณความชื้นอาหารที่เปลี่ยนแปลง และหาปริมาณโปรตีนในมันเป็นสำปะหลังโดยวิธี Lowry's method (Lowry, O.H., 1951)

ผลการทดลอง

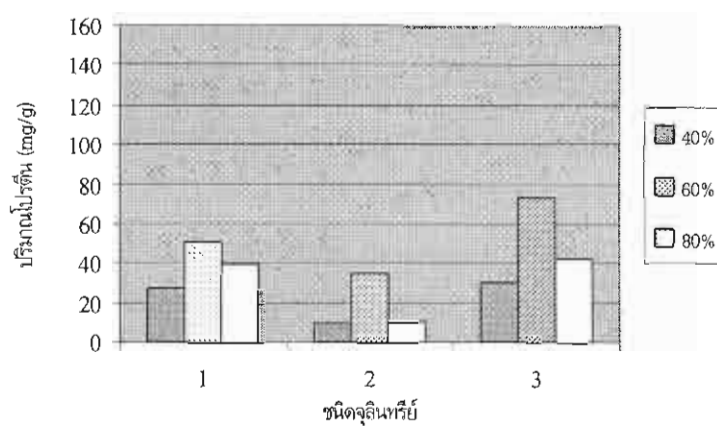
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความชื้นอาหารเริ่มต้นที่ 40% 60% และ 80% พบว่า ที่เวลาหมัก 48 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนในมันเป็นสำปะหลัง (มิลลิกรัมโปรตีน/กรัมมันเป็นสำปะหลัง, mg/g) สำหรับอาหารที่มีความชื้นเริ่มต้น 60% มีค่าสูงสุด ไม่ว่าจะใช้เชื้อราชนิดใดทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม และผลเป็นเช่นเดียวกันสำหรับทุกๆ ค่าของสัดส่วนแหล่งไนโตรเจน (รูปที่ 2 ถึงรูปที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมพบว่า ที่ความชื้น 60% การหมักโดยใช้เชื้อผสมได้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยวอย่างเห็นได้ชัด แต่ที่ความชื้น 40% และ 80% พบว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม สำหรับแหล่งไนโตรเจนพบว่าการใช้ urea : $(NH_4)_2SO_4$ เท่ากับ 4:0 เมื่อใช้เชื้อผสมและความชื้นเริ่มต้น 60% มีค่าโปรตีนในมันเป็นสำปะหลังสูงสุดเท่ากับ 139.55 mg/g

ผลของปริมาณโปรตีนเมื่อเพิ่มระยะเวลาของการหมักจาก 0-72 ชั่วโมง แสดงอยู่ในรูปที่ 5 พบว่า การหมักที่ใช้เชื้อเดี่ยว *Curvularia* sp. และเชื้อเดี่ยว *Aspergillus oryzae* เมื่อความชื้นอาหารเริ่มต้น 60% และ urea : $(NH_4)_2SO_4$ = 4:0 ปริมาณโปรตีนมีค่าเปลี่ยนแปลงไม่มากนักตามเวลาการหมักจาก 0-72 ชั่วโมง แต่กรณีที่ใช้เชื้อผสมของราทั้งสองพบว่าปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดจาก 0-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นค่าจะลดลงเล็กน้อย ปริมาณโปรตีนสำหรับกรณีใช้เชื้อผสมที่ 48 ชั่วโมงมีค่าสูงสุดเท่ากับ 139.55 mg/g คิดเป็น 13.95% (w/w)



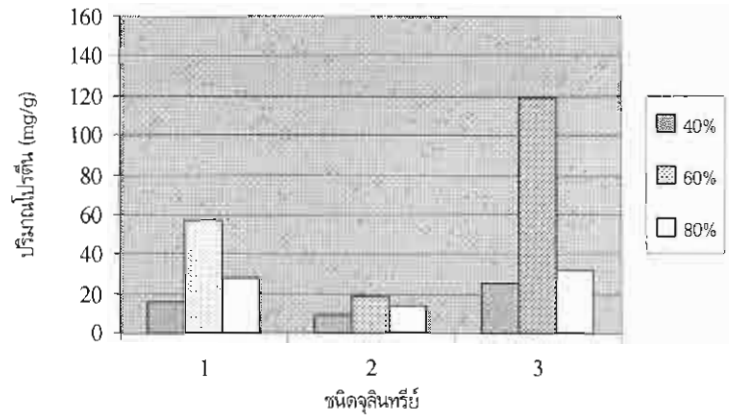
รูปที่ 2 ปริมาณโปรตีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เวลาหมัก 48 ชั่วโมง urea : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 4 : 0$

ชนิดจุลินทรีย์ 1 = *Aspergillus oryzae*; 2 = *Curvularia* sp.; 3 = *A. oryzae* + *C. sp.*



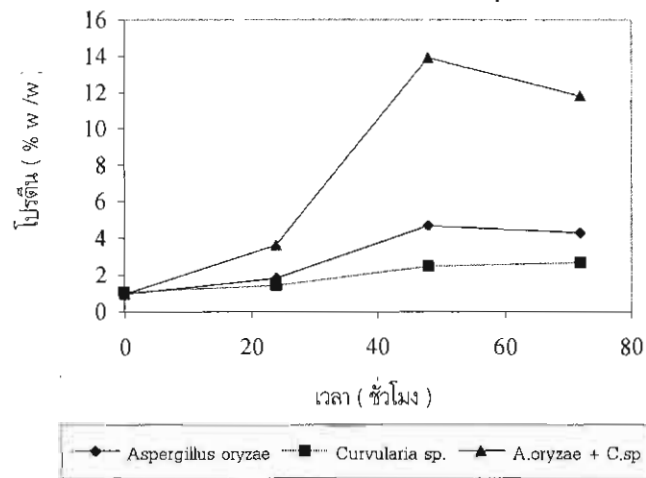
รูปที่ 3 ปริมาณโปรตีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เวลาหมัก 48 ชั่วโมง urea : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 1 : 1$

ชนิดจุลินทรีย์ 1 = *Aspergillus oryzae*; 2 = *Curvularia* sp.; 3 = *A. oryzae* + *C. sp.*



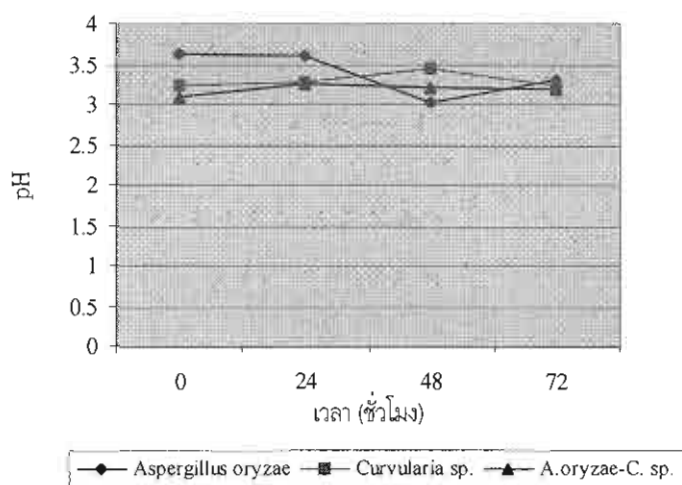
รูปที่ 4 ปริมาณโปรตีนที่ความเข้มข้นต่างๆ เวลาหมัก 48 ชั่วโมง urea : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 3 : 1$

ชนิดจุลินทรีย์ 1 = *Aspergillus oryzae*; 2 = *Curvularia* sp.; 3 = *A. oryzae* + *C. sp.*

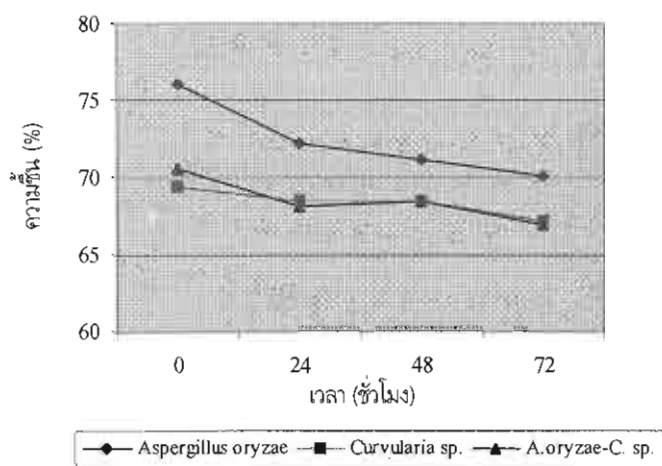


รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงโปรตีนในระหว่างการหมัก ที่ความเข้มข้น 60% และ urea : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 4 : 0$

ค่า pH และความชื้นของอาหารแข็งตลอดระยะเวลาการหมัก จะแสดงผลอยู่ในรูปที่ 6 และรูปที่ 7 ตามลำดับ ซึ่งพบว่า ตลอดระยะเวลาการหมัก pH เปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 3–4 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา ส่วนการเปลี่ยนแปลงความชื้นอาหารพบว่า เมื่อเวลาหมักเพิ่มขึ้นความชื้นอาหารค่อยๆ ลดลง อาหารมีลักษณะยึดติดกันเป็นก้อน ยิ่งระยะเวลาหมักมากขึ้นอาหารจะแห้งมากขึ้น



รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลง pH ในระหว่างหมัก ความชื้นเริ่มต้น 60% urea : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 4 : 0$



รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงความชื้น(%) ในระหว่างการหมัก urea : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 4 : 0$

สรุปและวิจารณ์

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณความชื้นเริ่มต้นของอาหารแข็ง (มันสำปะหลัง) ที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่สำคัญในการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในมันสำปะหลัง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hattaya (Hattaya S., 1998) ที่บอกว่า การหมักบนอาหารแข็ง (solid state

fermentation) ปริมาณน้ำในวัตถุดิบมีผลอย่างมากต่อการหมัก แต่อย่างไรก็ตาม นอกจากความชื้นอาหารแข็งที่มีความสำคัญแล้ว ในการหมักจะต้องมีการควบคุมสภาวะความชื้นให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วย โดยควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ให้อยู่ในช่วง 90%–95% การใช้เชื้อผสม *pergillus oryzae* กับ *Curvularia sp.* สามารถเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อบริสุทธิ์ทั้งสอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *Curvularia sp.* เป็นราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจึงมีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี Poonsook (Poonsook A., 1995) (มันเส้นที่ใช้ทดสอบมีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบประมาณ 2%) ดังนั้นการใช้ *Curvularia sp.* อาจเป็นการช่วยเสริมให้ *Aspergillus oryzae* สามารถใช้แป้งซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในมันสำปะหลังได้ดีขึ้น ซึ่งการใช้เชื้อผสมสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูงสุดคิดเป็น 13%w/w สำหรับแหล่งไนโตรเจนพบว่า urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมกว่า $(NH_4)_2 SO_4$ ซึ่งดูได้จากผลของอัตราส่วน urea : $(NH_4)_2 SO_4 = 4:0$ ได้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่ค่าอัตราส่วนอื่นๆ (3:1 และ 2:2) การศึกษานี้เป็นแนวทางหนึ่งในการแปรรูปมันสำปะหลังให้มีคุณค่าและเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมสัตว์ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- เชี่ยวชาญ พานิชยานบาล (2533) *การเพิ่มปริมาณโปรตีนของมันสำปะหลังโดยการหมักบนอาหารแข็ง* ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น
- วรารุณี ครุสง (2538) *จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร* กรุงเทพฯ สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์
- Athapol Noomhorn, S. Ilangantileke and M.B.Bentista (1991) **Factors in the protein enrichment of cassava by solid state fermentation.** Asian Institute of Technology. 117-123
- Hattaya Srisukwattana, Ajaree Trisuttayawait and Penjit Sangsurasak (1998) **Theoretical study of the effects of water content and temperature on solid state fermentation using MATLAB™.** KKU. Engineering Journal. Vol.25, 11-25

- Lowry, O.H., J.Rosebrough, A.L.Farr and R.J.Randall (1951) ***Protein measurement with the folin-reagent.*** J.Biol.Chem. vol 193
- Pitt,j.j. and A.D. Hocking (1997) ***Primary keys miscellaneous fungi.*** Fungi and food spoilage. 98-101.
- Poonsook Atthasampunna (1995) ***TISTR Culture collection: List of Cultures*** Bangkok MIRCEN Thailand Institute of Scientific and Technological Research Bangkok,Thailand, p79-80.