บทที่ 5

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

5.1 ชนิดของจุลินทรีย์และวิธีการเก็บรักษา

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือ Rhizopus oligosporus TISTR 3001 (NRRL 2710) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เก็บเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารวุ้นแข็งเอียงชนิดโพเทโท เดกซ์โทรส เอการ์ (potato dextrose agar) โดยลาก (streak) เชื้อบนอาหารวุ้นแข็งเอียงในหลอดแก้ว (test tube) บ่มไว้ที่ 37°ซ เป็นเวลา 3 - 5 วัน จนมีการเจริญของเชื้อราและมีการสร้างสปอร์ จึงเก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ (stock culture)

5.2 การเตรียมสปอร์ของ R.oligosporus เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมัก

(1) การเตรียมสปอร์บนอาหารวุ้นแข็งเอียงในขวดแบน

โดยการลาก (streak) เชื้อลงบนอาหารวุ้นแข็งเอียงชนิดโพเทโท เดกซ์โทรส เอการ์ (potato dextrose agar) ในขวดแบน บ่มไว้ที่ 37°ซ เป็นเวลา 3 - 5 วัน จนมีการเจริญของเชื้อราและมีการสร้างสปอร์

(2) การเตรียมสปอร์เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

เติมทวีน 80 (tween 80) 0.1 % ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 25 มิลลิลิตร ใช้ห่วง (loop) เขี่ยให้สปอร์หลุดออกจากสายใย กรองผ่านผ้าโปร่งที่ซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น เพื่อแยกส่วนสายใยออก นำสารแขวนลอยของสปอร์มานับจำนวนสปอร์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer)

5.3 การเตรียมชิ้นมันสำปะหลังที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก

มันเส้นที่ใช้ในการทดลองนำมาจากลานตากมันที่อำเภอศรีมหาโพธิ์ จังหวัดปราจีนบุรี โดยการนำเอาหัวมันสดเข้าเครื่องหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆมีความยาวชิ้นละประมาณ 5 ซม นำไปตากบนลานตากจนแห้ง จะเรียกมันที่แห้งแล้วนี้ว่า " มันเส้น " นำมันเส้นมาบดด้วยเครื่องบดแบบไจราทอรีคลัทเชอร์ (gyratory crusher) จะได้มันบดมีขนาดต่างๆกันตั้งแต่ขนาดใหญ่

ไปจนถึงมันปน นำมันที่ได้มาแยกขนาดด้วยตะแกรงร่อนแล้วเลือกเอาขนาดที่อยู่ระหว่าง 3 – 5 มม มาใช้ เพราะเป็นขนาดที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ และจะทำให้ชั้นหมักมีความพรุนเพียงพอในการถ่ายเทอากาศให้กับชั้นหมัก

5.4 <u>การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มโปรตีนมันสำปะหลัง</u>

(1) การศึกษาการทำลายจุลินทรีย์ปนเปื้อน และ การเปลี่ยนสภาพของวัตถุดิบให้อยู่ในสภาพที่เชื้อรา <u>Rhizopus oligosporus</u> TISTR 3001 จะใช้เป็นอาหารได้ง่ายขึ้น

นำชั้นมันสำปะหลังดิบขนาด 3 – 5 มม ต้มในน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 80°ซ , 85°ซ , 90°ซ ,100°ซ ที่ช่วงเวลาต่าง ๆ กัน หลังจากนั้นมันสำปะหลังจะถูกนำไปเก็บไว้ที่กล่องหมักระดับห้องปฏิบัติการที่ควบคุมสภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อดูว่ามีจุลินทรีย์ปนเปื้อนหรือไม่

(2)การหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้นของชั้นมันกับเวลาที่ใช้ต้มชั้นมันสำปะหลังที่อุณหภูมิต่าง ๆ

นำชั้นมันสำปะหลังดิบขนาด 3 – 5 มม ต้มในน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 80°ซ , 85°ซ , 90°ซ ,100°ซ ที่ช่วงเวลาต่าง ๆ กัน นำไปทำแห้งที่ตู้อบเพื่อหาปริมาณความชื้นของชั้นมันที่สภาวะดังกล่าว

(3) การหาระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้งชั้นมันสำปะหลังที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องอบแห้งแบบถาด (tray dryer) และให้ลมร้อนไหลขนานกับชั้นมัน

นำชั้นมันสำปะหลังที่ต้มแล้วใส่ถาดในเครื่องอบแห้ง โดยปรับความเร็วลมร้อนคงที่และให้ลมร้อนไหลขนานกับชั้นมัน ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนคงที่ที่ 70°ซ,80°ซ,90°ซ,100°ซ คำนวณหาปริมาณความชื้นของชั้นมันกับเวลาที่ทำการอบแห้งจนกระทั่งเหลือความชื้นประมาณ 40 %

(4) การหาระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้งชั้นมันสำปะหลังที่อุณหภูมิต่างๆในเครื่องอบแห้งแบบถาด (tray dryer) และให้ลมร้อนไหลตั้งฉากกับชั้นมัน

นำชั้นมันสำปะหลังที่ต้มแล้วใส่ลงในถาด ในเครื่องอบแห้ง โดยปรับความเร็วลมร้อนคงที่ และให้ลมร้อนไหลตั้งฉากกับชั้นมัน ควบคุมอุณหภูมิลมร้อนคงที่ที่ 70 °ซ , 80 °ซ , 90 °ซ , 100 °ซ คำนวณหาปริมาณความชื้นของชั้นมัน กับเวลาที่ทำการอบแห้งจนกระทั่งเหลือความชื้นประมาณ 40 %

5.5 การดำเนินการทดลองการหมักมันสำปะหลังในกล่องหมักระดับห้องปฏิบัติการ

นำชิ้นมันสำปะหลังไปต้ม และทำการอบแห้งโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 5.4 เติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราและเติมสารอาหารมีปริมาณเท่ากับในผลงานวิจัยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบตรึงชั้น ทำการหมักในกล่องหมักเป็นระยะเวลา 30 ชั่วโมง จึงนำผลผลิตไปอบแห้งในตู้อบ (oven) แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของลอรี (Lowry , Rosenbrough, Farr and Randall 1951) 265-275 (หัวข้อ 5.8)

กล่องหมักระดับห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการทดลองนี้ ดังแสดงในรูปที่ 5.1 และมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ

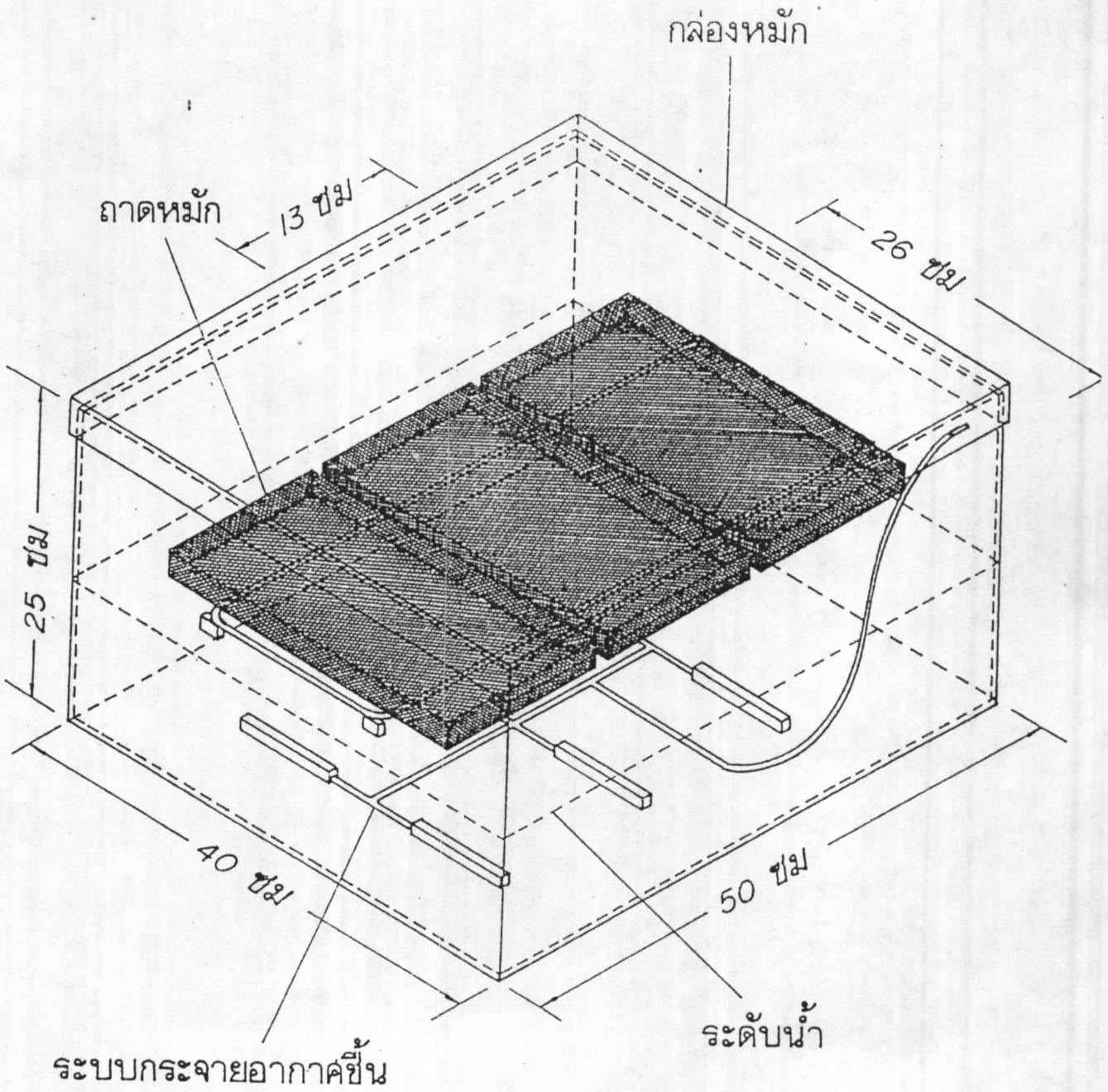
(1) กล่องหมัก มีลักษณะเป็นกล่องสี่เหลี่ยมทำด้วยพลาสติกใส มีขนาด 25x40x50 ซม ตอนบนเป็นฝาครอบเปิดปิดได้ ซึ่งเจาะรูกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 มม จำนวน 3 ช่อง เพื่อระบายอากาศและก๊าซต่าง ๆ ที่เกิดจากกระบวนการหมัก ผนังด้านข้างมีข้อต่อสำหรับเสียบสายยางให้อากาศเข้า

(2) ส่วนประกอบของกล่องหมัก ประกอบด้วย

- โครงเหล็กสำหรับวางถาดหมัก วางอยู่บนบ่าที่ติดอยู่กับผนังด้านในของกล่องหมัก ที่ระดับความสูง 20 ซม จากพื้นกล่อง ทำหน้าที่รองรับถาดหมัก 3 ถาด
- ถาดหมัก ทำด้วยตะแกรงอะลูมิเนียมปลอดสนิมขนาด 10 ช่องต่อนิ้ว กว้าง 13 ซม ยาว 26 ซม สูงตั้งแต่ 2--5 ซม ทำหน้าที่บรรจุมันที่จะใช้ในการหมัก
- ระบบกระจายอากาศชั้น ติดตั้งที่พื้นกล่องหมัก ทำหน้าที่จ่ายอากาศชั้นให้ถาดหมัก ประกอบด้วยท่อกระจายอากาศหลัก ตรงปลายทั้งสองและตรงกลางของท่ออากาศหลักจะมีท่อแขนงต่อตั้งฉากออกมาทั้ง 2 ด้าน มีหัวจ่ายอากาศ (air stone) ติดตั้งอยู่ที่ปลาย

(3) การให้อากาศชื้นร้อนในกล่องหมักระดับห้องปฏิบัติการ

เติมน้ำลงในกล่องหมักสูง 4.5 นิ้ว ต่อท่อทางเดินอากาศจากเครื่องอัดอากาศ (air pump) ขนาดกลาง 1 เครื่อง ซึ่งมีอัตราการไหลของอากาศ 0.79 x 10^{-4} $ม^3$/วินาที /กก มันแห้ง โดยต่อเข้ากับระบบกระจายอากาศชั้น มีขดลวดความร้อนจุ่มอยู่ในน้ำในกล่องหมักที่ถูกควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 40 °ซ



รูปที่ 5.1 แสดงกล่องหมักระดับห้องปฏิบัติการ

5.6 <u>การสร้างเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่อง และประกอบอุปกรณ์ควบคุมสภาวะต่าง ๆ</u>

5.6.1 <u>เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพชุดแรก</u> นี้มีส่วนประกอบดังรูปที่ 5.2 โดยแบ่งเป็นส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญ 8 ส่วนคือ

(1) ถังป้อนชิ้นมันสำปะหลังอย่างต่อเนื่อง มีลักษณะเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาดกว้าง 20 ซม ยาว 20 ซม และสูง 25 ซม ทำด้วยอลูมิเนียม ที่ปลายด้านล่างมีตัวป้อนวัตถุดิบแบบหมุน (Rotary feeder) ซึ่งขับเคลื่อนด้วยมอเตอร์ วัตถุดิบจะถูกป้อนลงบนสายพานลำเลียง โดยสายพานมีความกว้าง 20 ซม และสายพาน 2 เส้นจะประกบกัน ก่อนที่จะไปยังถังทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนและเปลี่ยนสภาพของวัตถุดิบ

(2) ถังทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนและเปลี่ยนสภาพของวัตถุดิบให้อยู่ในสภาพที่จุลินทรีย์จะใช้เป็นอาหารได้ง่ายขึ้น ถังมีขนาดกว้าง 25 ซม ยาว 45 ซม และสูง 80 ซม ทำด้วยอลูมิเนียม และหุ้มฉนวนกันความร้อนรอบถัง ภายในบรรจุน้ำที่ถูกควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 90 °ซ โดยมีการเติมน้ำร้อนเข้าทางด้านบน และปล่อยไหลออกทางด้านล่าง โดยรักษาระดับน้ำให้มีความสูงคงที่

(3) หน่วยอบแห้งมีลักษณะเป็นถังที่มีขนาดและรูปร่างเหมือนในข้อ (2) แต่ที่ด้านข้างภายในถัง จะมีท่ออลูมิเนียมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 2 ซม เจาะรูขนาด 5 มม ระยะห่างระหว่างรู 1 ซม ลมร้อนที่สัมผัสกับวัตถุดิบมีอุณหภูมิ 90°ซ

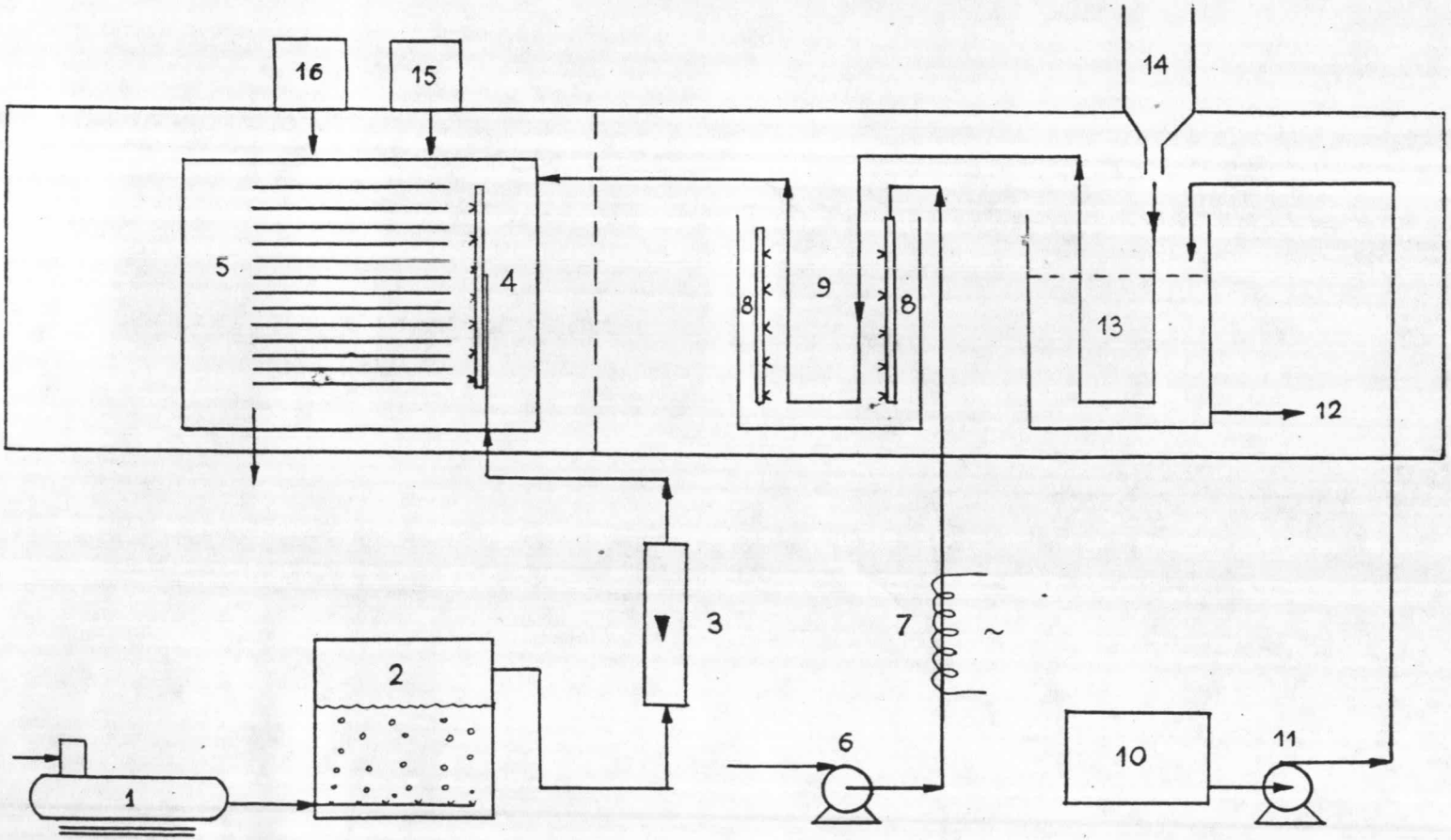
(4) การเติมสารอาหาร โดยการพ่นลงบนสายพานลำเลียงนั้น

(5) การเติมเชื้อจุลินทรีย์ โดยการพ่นสารแขวนลอยของสปอร์ <u>Rhizopus oligosporus</u> TISTR 3001 ที่มีความเข้มข้น 2.5 x 10^6 สปอร์/กรัมมันแห้ง ลงบนสายพานลำเลียง

(6) การหมัก ชั้นหมักจะอยู่ในสายพานนั้น ซึ่งเคลื่อนที่ด้วยการหมุนของลูกกลิ้งที่ถูกขับเคลื่อนด้วยมอเตอร์ ตัวลูกกลิ้งถูกจัดเรียงตัวสลับกันไปมา โดยมีระยะห่างระหว่างลูกกลิ้งที่อยู่ถัดไปในแนวระดับ 100 ซม และในแนวดิ่ง 8 ซม จำนวนชั้นหมัก 13 ชั้น

(7) การให้อากาศชื้น โดยการอัดอากาศชื้นเข้าไปในท่อพลาสติคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2 ซม ยาว 80 ซม วางตั้งอยู่ระหว่างหน่วยอบแห้งกับชั้นหมัก ที่ผนังท่อด้านที่อยู่ติดกับชั้นหมักถูกเจาะรูขนาด 5 มม โดยมีระยะห่างระหว่างรูในแนวดิ่ง 1 ซม

(8) ถังรองรับผลผลิต มีรูปร่างและลักษณะคล้ายกรวยที่ด้านบนของกรวยมีใบมีดสำหรับ



รูปที่ 5.2 แสดงแผนผังการทำงานเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่องชุดแรก

คำอธิบายรูปที่ 5.1

1. เครื่องอัดอากาศ (air compressor)
2. ถังเพิ่มความชื้นให้อากาศ
3. เครื่องวัดอัตราการไหลอากาศ (rotameter)
4. ท่อให้อากาศชื้น
5. ห้องหมัก
6. พัดลมเป่าอากาศ (blower)
7. ขดลวดความร้อน
8. ท่อให้ลมร้อน
9. ถังอบแห้ง
10. เครื่องทำน้ำร้อน
11. ปั๊ม (pump)
12. ท่อระบายน้ำทิ้ง
13. ถังทำลายเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน
14. ถังป้อนวัตถุดิบ
15. ถังเก็บสารอาหาร
16. ถังเก็บสารแขวนลอยของสปอร์

ขูดผลผลิตออกจากสานพานทั้งสองเส้น ผลผลิตที่ได้จะตกลงไปยังด้านล่างของกรวยซึ่งเป็นทางออก แล้วจะถูกส่งไปยังกระบวนการอบแห้งต่อไป

ทั้งหมดนี้จะบรรจุอยู่ในกล่องอลูมิเนียมที่ปิดทุกด้านซึ่งมีขนาดกว้าง 50 ซม ยาว 200 ซม และสูง 150 ซม

<u>การดำเนินการทดลองการหมักมันสำปะหลังในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพชุดแรกมีดังนี้</u>

- นำชิ้นมันขนาด 3 มม ใส่ลงในถังป้อนชิ้นมัน (หมายเลข 14) เมื่อชิ้นมันออกจากถังป้อนจะถูกลำเลียงลงบนสายพานที่ประกบกัน 2 เส้น

- สายพานจะเคลื่อนที่นำชิ้นมันลงมายังถังทำลายจุลินทรีย์ปนเปื้อน และเปลี่ยนสภาพวัตถุดิบ (หมายเลข 13) ใช้ปั๊มพ์ (หมายเลข 11) ดูดน้ำร้อนจากถังน้ำร้อน (หมายเลข10) เติมเข้าไปด้านบนถัง และมีท่อปล่อยน้ำไหลออกจากถัง (หมายยเลข 12)

- หลังจากนั้นเคลื่อนที่ไปยังถังอบแห้ง (หมายเลข 9) เพื่อลดปริมาณความชื้นของชิ้นมัน โดยใช้พัดลม (หมายเลข 6) เป่าอากาศผ่านท่อที่มีขดลวดความร้อน (หมายเลข 7) พร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิพ่นลงบนชิ้นมันโดยผ่านท่อพ่นฝอย (หมายเลข 8) จนชิ้นมันมีความชื้นเหลือ 50-55 % (wet basis)

- แล้วเคลื่อนที่ไปยังห้องหมัก (หมายเลข 5) มีการเติมสารอาหาร (หมายเลข15) และเติมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา (หมายเลข 16) พร้อมทั้งเป็นการปรับสภาวะเริ่มต้นการหมักให้พอเหมาะ คือ 60-65 % (Wet basis)

- ภายในห้องหมักมีการให้อากาศชื้นพ่นฝอยจากท่อ (หมายเลข 4) ซึ่งถูกผลิตขึ้นจากการอัดอากาศเข้าเครื่องอัดอากาศ (หมายเลข 1) ผ่านเข้าไปในถังผลิตความชื้น พร้อมกับมีการปรับอัตราการให้อากาศให้เหมาะสม โดยใช้เครื่องวัดอัตราการไหล (หมายเลข 3)

- ชิ้นมันอยู่ในห้องหมัก 30 ชั่วโมง ก็จะถูกนำออกมาจากเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

เมื่อสร้างเครื่องปฏิกรณ์ชุดแรกเสร็จแล้ว ดำเนินการทดลอง ปรากฏว่ามีปัญหาเกี่ยวกับชิ้นมันสำปะหลังหล่นออกจากสายพาน ในช่วงที่สายพานเคลื่อนที่ในแนวดิ่งคือ เคลื่อนที่ลงในถังทำลายจุลินทรีย์ปนเปื้อนและถังอบแห้ง จึงทำให้ต้องเปลี่ยนการออกแบบใหม่เป็นเครื่องปฏิกรณ์ชุดที่สอง

5.6.2 <u>เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพชุดที่สอง</u> นี้มีส่วนประกอบดังรูปที่ 5.3, 5.4, 5.5, 5.6 โดยแบ่งเป็นส่วนต่าง ๆ ที่สำคัญ 6 ส่วนคือ

(1) การเตรียมวัตถุดิบ

เมื่อได้ขนาดของชิ้นมันที่ต้องการแล้ว นำมาป้อนเข้าสู่ถังป้อนชิ้นมันสำปะหลังอย่างต่อเนื่อง มีลักษณะเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดกว้าง 20 ซม ยาว 20 ซม และสูง 25 ซม ทำด้วยเหล็ก ที่ปลายด้านล่างมีตัวป้อนวัตถุดิบแบบหมุน (Rotary feeder) วัตถุดิบจะถูกป้อนลงบนสายพานลำเลียงด้วยอัตราเร็ว 0.1 กก มันแห้ง/ชั่วโมง บนสายพานที่มีความกว้าง 20 ซม และความหนาของชั้นหมัก 6 มม

(2) การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับชิ้นมัน และการเปลี่ยนสภาพชิ้นมันจากมันดิบให้เป็นมันสุก

โดยการพ่นไอน้ำ (steam) ไปที่สายพานสองเส้นประกบกันที่มีชิ้นมันอยู่ตรงกลาง เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ติดมากับชิ้นมัน ในการหมักต้องการให้มีจุลินทรีย์ที่เติมลงไปเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่เจริญเติบโต ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสร้างโปรตีนได้และไม่มีโทษกับมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้การพ่นไอน้ำลงบนชิ้นมันยังเป็นการเปลี่ยนสภาพมันดิบให้เป็นมันสุก เพื่อให้จุลินทรีย์ใช้เป็นอาหารได้ ส่วนนี้จะกั้นเป็นห้องด้วยแผ่นสแตนเลส ภายในห้องมีท่อไอน้ำทำด้วยพีวีซีขนาด 1.25 ซม เจาะรูตามขวางท่อขนาด 1 มม ยาว 5 มม ระยะห่างระหว่างรู 1 ซม ท่อไอน้ำออกเรียงเป็นแถวจำนวน 6 แถว วางอยู่ใต้สายพานด้านพื้นห้อง และอยู่เหนือสายพานด้านเพดานห้องเรียงเป็นแถวจำนวน 6 แถว โดยที่แต่ละแถวให้ไอน้ำออกยาว 25 ซม ไอน้ำที่ถูกพ่นออกมามีปริมาณ 0.03 กก/วินาที /กก มันแห้งจะกระจายไปทั่วห้อง และจะทำลายเชื้อปนเปื้อนที่ติดมากับชิ้นมัน และทำให้ชิ้นมันสุก ไอน้ำที่ใช้เป็นไออิ่มตัว(saturated steam) ที่ความดัน 25 ปอนด์/ตารางนิ้ว

(3) การอบแห้ง

ชิ้นมันที่ได้จากการพ่นไอน้ำมีปริมาณความชื้นประมาณ 80 % จึงลดความชื้นลงด้วยการใช้ลมร้อนพ่นไปที่สายพานที่มีชิ้นมัน ส่วนนี้จะกั้นเป็นห้องด้วยแผ่นสแตนเลส การลดความชื้นทำได้โดยใช้พัดลม(blower)เป่าอากาศ ไปตามท่อเหล็กที่มีขดลวดความร้อน(heating coil) อยู่ภายใน ส่วนภายนอกท่อมีฉนวนหุ้มอยู่ เมื่ออากาศผ่านท่อเหล็กนี้ก็จะกลายเป็นลมร้อนนี้มีอุณหภูมิ 90 °ซ (มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิติดอยู่) โดยมีอัตราการไหลของลมร้อน 1.15

$ม^3$/ วินาที /กก มันแห้ง ลมร้อนนี้จะไหลต่อไปยังท่อพีวีซีขนาด 2 นิ้ว จำนวน 2 ท่อ แล้วต่อไปยังท่อพีวีซีขนาด 1.25 ซม ที่เจาะรูไว้ไหลพ่นลงสู่สายพานที่มีชิ้นมันอยู่ ท่อปล่อยลมร้อนนี้มีลักษณะเช่นเดียวกับท่อไอน้ำ และเรียงเป็นแถวจำนวน 6 แถว จำนวน 2 สาย โดยส่วนที่พ่นลมร้อนออกมีความยาว 25 ซม ส่วนนี้จะลดปริมาณความชื้นของชิ้นมันให้เหลือประมาณ 50 - 55 % (wet basis)

(4) การเติมเชื้อเริ่มต้นและการเติมสารอาหาร

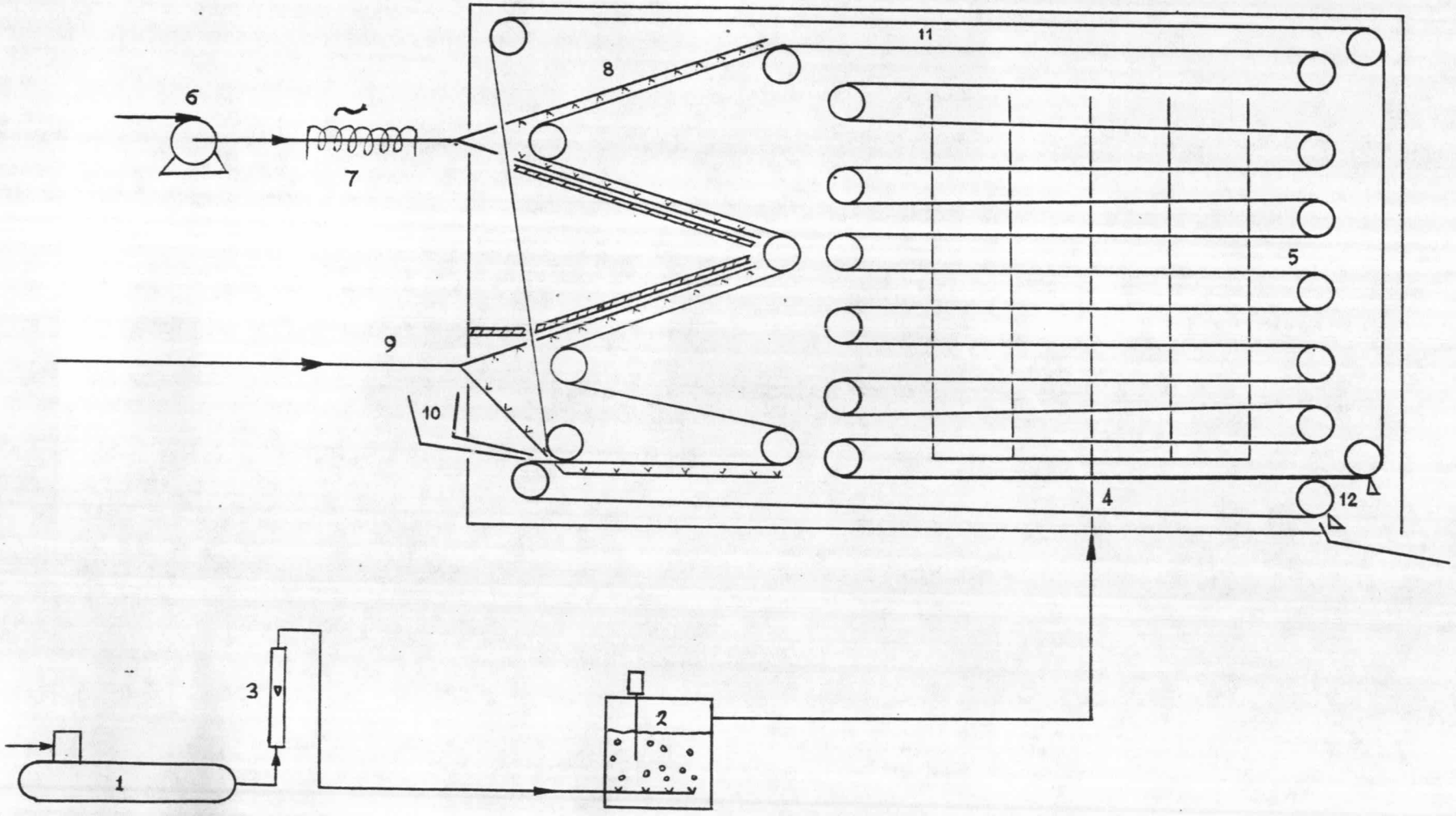
นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ได้จากการเตรียมเชื้อเริ่มต้น และสารอาหารใส่ลงในขวดน้ำเกลือ แล้วให้ไหลไปตามสายน้ำเกลือและพ่นลงบนชิ้นมันด้วยอัตรา 0.4 มล ต่อกรัมมันแห้ง โดยมีสปอร์ $2.5x10^6$ สปอร์ต่อกรัมมันแห้ง การเติมสารอาหารลงไปเพื่อให้เชื้อราสามารถเจริญเติบโตบนมันสำปะหลังได้ดี และเป็นการปรับสภาวะความชื้นเริ่มต้นการหมักที่เหมาะสมมีค่าอยู่ระหว่าง 60 - 65 % (wet basis)

(5) การหมักมีการให้อากาศชื้น และให้มีความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศภายใน 100 %

ห้องหมักมีขนาดกว้าง 50 ซม ยาว 120 ซม สูง 150 ซม มีการให้อากาศชื้นตลอดเวลา ชั้นหมักจะอยู่ในสายพานนั้น ซึ่งเคลื่อนที่ด้วยการหมุนของลูกกลิ้ง ตัวลูกกลิ้งถูกจัดเรียงตัวสลับกันไปมา โดยมีระยะห่างระหว่างลูกกลิ้งที่ อยู่ถัดไปในแนวระดับ 100 ซม และในแนวดิ่ง 8 ซม จำนวนชั้นหมัก 13 ชั้น การให้อากาศชื้นโดยใช้เครื่องอัดอากาศ (air compressor) อัดอากาศเข้าไปทางด้านล่างของถังผลิตความชื้น ด้วยอัตราการไหล 0.79 x 10^{-4} $ม^3$ วินาที / กก มันแห้ง ซึ่งทำด้วยสแตนเลสรูปทรงกระบอกปิดหัว - ท้าย มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 40 ซม สูง 44 ซม วางในแนวดิ่งภายในเติมน้ำให้สูงประมาณ 30 ซม และมีขดลวดความร้อนจุ่มอยู่ภายในถังนี้ พร้อมทั้งติดตั้งเครื่องควบคุมอุณหภูมิด้วย โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 50 °ซ ต่อท่อด้านบนให้อากาศชื้นเข้าไปในห้องหมัก ภายในห้องหมักจะมีท่อให้อากาศชื้นทำด้วยท่อพีวีซีขนาด 1.25 ซม ยาว 80 ซม เรียงเป็นแถวในแนวตั้งจำนวน 5 แถว ระยะเวลาในการหมักในห้องหมักนี้ใช้เวลาประมาณ 30 ชั่วโมง

(6) การนำผลผลิตออกจากตู้หมัก จะใช้ใบมีดวางที่ตำแหน่งทางออกของผลผลิต ซึ่งใบมีดนี้ทำด้วยแผ่นยางโดยต่อกับแผ่นสังกะสีและให้ปลายของแผ่นยางติดอยู่กับสายพาน ในขณะที่สายพานเคลื่อนไปแผ่นยางนี้จะขูดกับสายพาน เมื่อผลผลิตซึ่งติดกับสายพานมายังตำแหน่งนี้ก็จะถูกเขี่ยให้ตกลงบนถาดรองรับผลผลิต ซึ่งวางเอียงทำให้ผลผลิตไหลออกจากเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

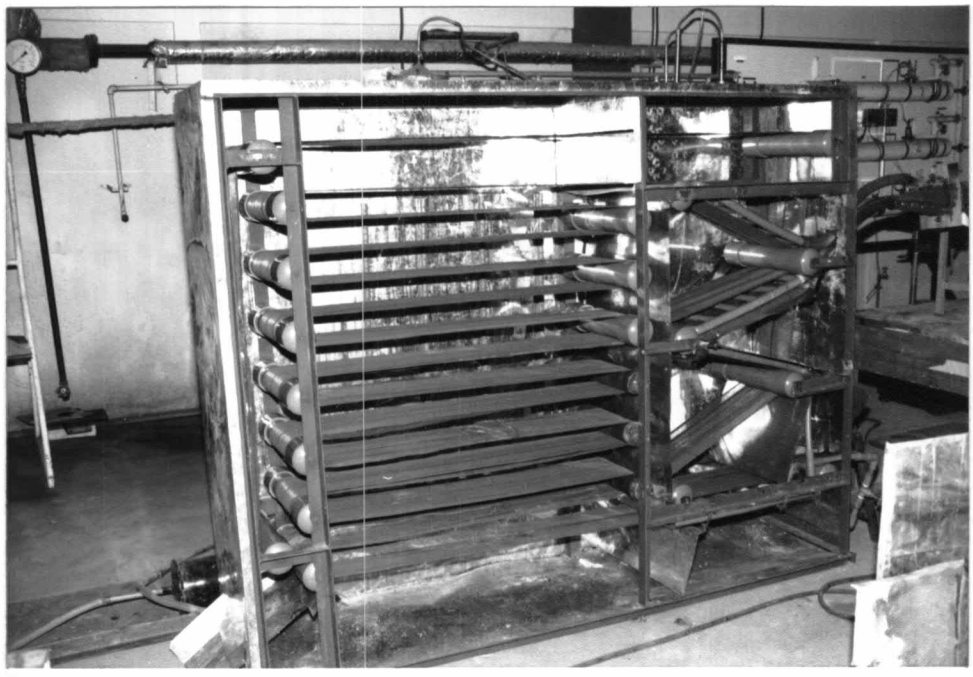
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่องนี้มีลักษณะเป็นกล่องสี่เหลี่ยม กล่องมีขนาดกว้าง 50 ซม ยาว 200 ซม และสูง 150 ซม ปิดทุกด้านด้วยสังกะสี ด้านหน้าตรงชั้นหมักแรกทำเป็นหน้าต่างเลื่อนเปิด – ปิดได้ ทำด้วยพลาสติกใสขนาดกว้าง 15 ซม และยาว 25 ซม เพื่อเลื่อนให้เติมสารแขวนลอยของสปอร์และสารอาหารได้



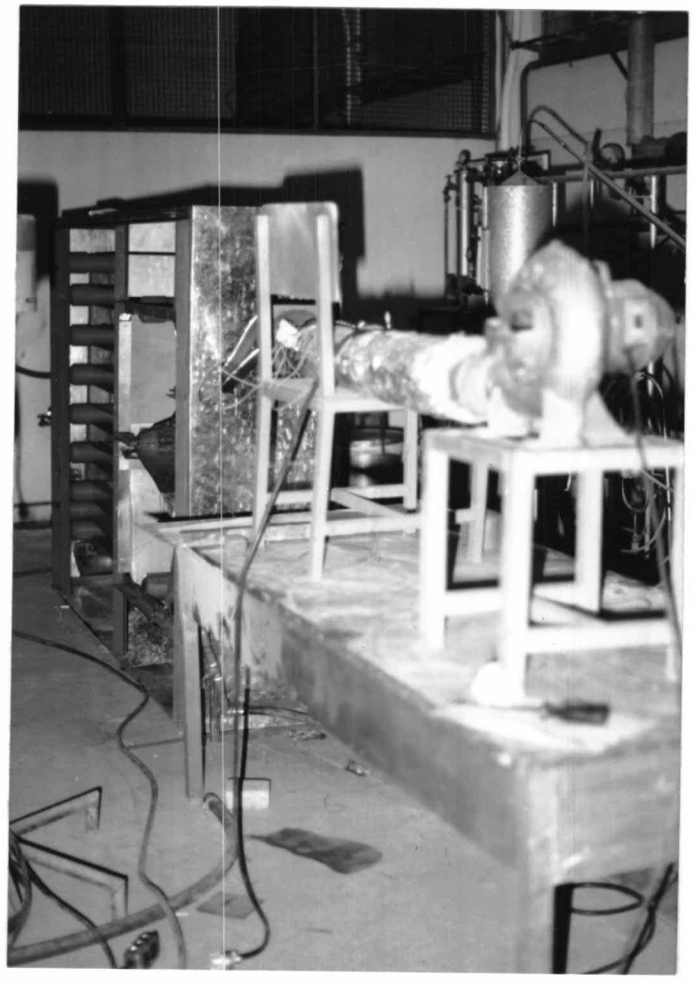
รูปที่ 5.3 แสดงแผนผังการทำงานเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่องชุดที่สอง

คำอธิบายรูปที่ 5.2

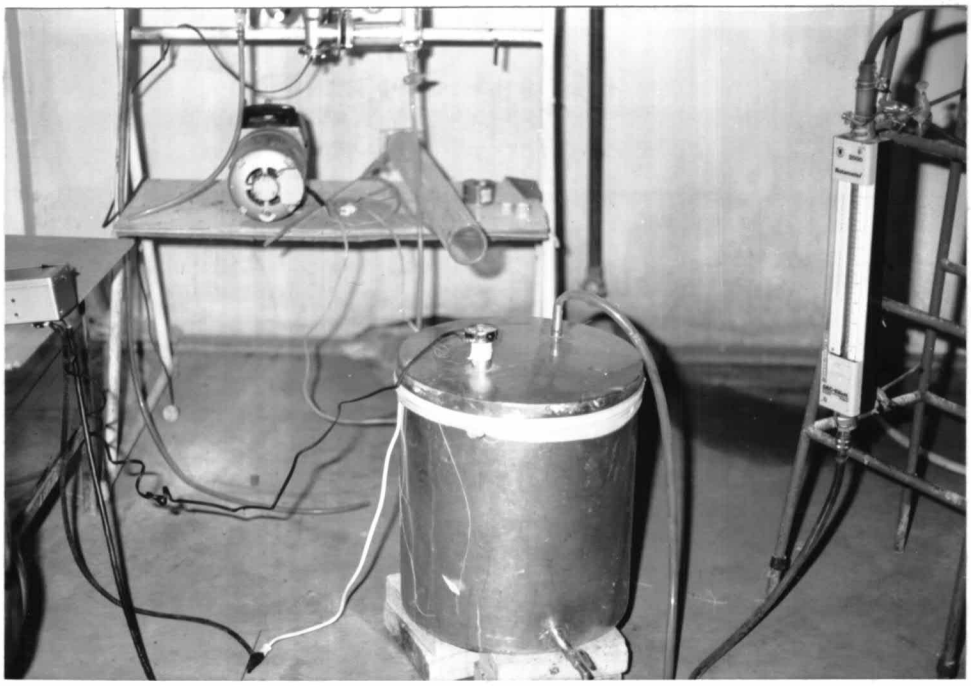
1. เครื่องอัดอากาศ (air compressor)
2. เครื่องวัดอัตราการไหลอากาศ (rotameter)
3. ถังเพิ่มความชื้นให้อากาศ
4. ท่อให้อากาศชื้น
5. ชั้นหมัก
6. พัดลมเป่าอากาศ (blower)
7. ขดลวดความร้อน
8. ท่อให้ลมร้อน
9. ท่อให้ไอน้ำ (steam)
10. ถังบ่อนวัตถุดิบ
11. ขวดน้ำเกลือ
12. ใบมีดและที่รองรับผลผลิต



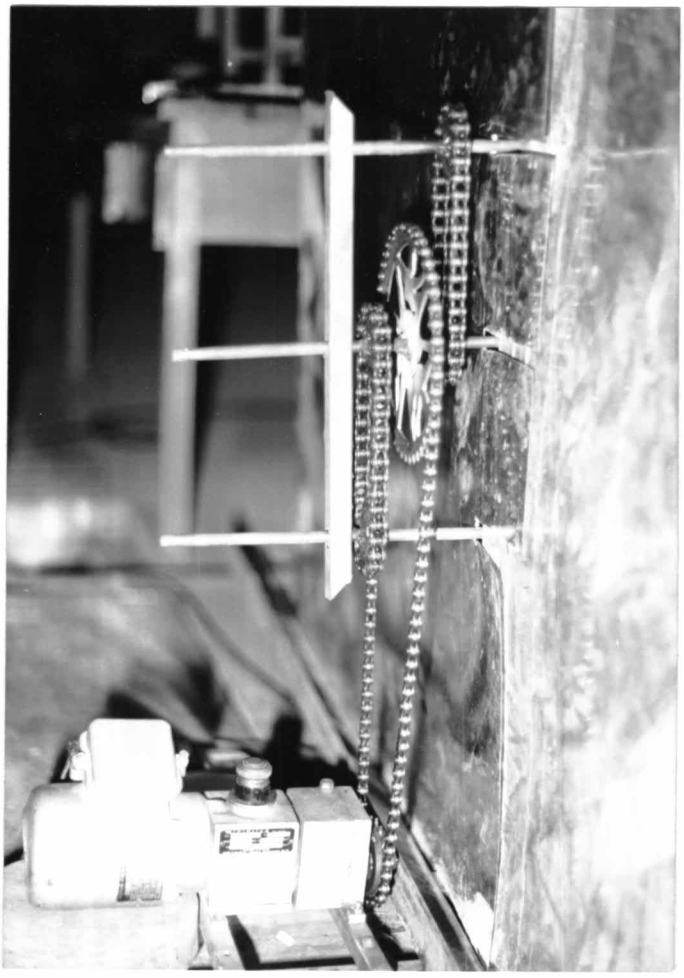
รูปที่ 5.4 แสดงเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่อง



รูปที่ 5.5 แสดงพัดลมเป่าอากาศร้อน



รูปที่ 5.6 แสดงเครื่องผลิตอากาศร้อนชื้นและเครื่องควบคุมอัตราการไหลของอากาศ



รูปที่ 5.7 แสดงมอเตอร์และเฟืองทดรอบ

5.7 การดำเนินการทดลองการหมักมันสำปะหลังในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่อง

- นำชิ้นมันขนาด 3-5 มม ป้อนเข้าไปในถังป้อนวัตถุดิบ (หมายเลข 10) โดยมีสายพานรองรับ ชิ้นมันจะถูกลำเลียงเข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ สายพานที่ใช้ประกอบด้วยสายพานประกบกันสองเส้น ชิ้นมันนี้จะอยู่ระหว่างสายพานทั้งสอง โดยที่สายพานเส้นล่างทำหน้าที่รองรับชิ้นมัน ส่วนสายพานเส้นบนทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้ชิ้นมันหล่นออกจากสายพาน

- สายพานเคลื่อนที่มายังหน่วยปฏิบัติการทำลายจุลินทรีย์ปนเปื้อน และเปลี่ยนสภาพวัตถุดิบจากมันดิบเป็นมันสุก โดยการพ่นไอน้ำ (steam) (หมายเลข 9) ลงบนสายพาน ชิ้นมันอยู่ในหน่วยปฏิบัติการนี้ 30 นาที

- หลังจากนั้นสายพานเคลื่อนที่ไปยังหน่วยอบแห้ง ทำการอบแห้งโดยใช้ลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 90 °ซ (หมายเลข 8) ชิ้นมันอยู่ในหน่วยนี้ 30 นาที

- ต่อจากนั้นสายพานเคลื่อนที่ไปยังห้องหมัก (หมายเลข 5) ชั้นหมักชั้นแรก (หมายเลข 9) จะเป็นชั้นที่พ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา และมีการเติมสารอาหารด้วยอัตราที่เหมาะสม ชิ้นมันใช้เวลาในการเคลื่อนที่มาถึงชั้นหมักชั้นสุดท้ายประมาณ 6 ชั่วโมง แล้วหยุดมอเตอร์รอให้การหมักครบ 30 ชั่วโมงจึงเดินเครื่องต่อ เพื่อให้ชิ้นมัน ถูกใบมีดเขี่ยออกจากสายพานตกลงมาบนถาดรองรับผลผลิตแล้วนำไปอบแห้งเพื่อทำการวิเคราะห์ หาปริมาณโปรตีน

5.8 การวิเคราะห์โปรตีน และ ปริมาณความชื้นของชิ้นมันสำปะหลัง

5.8.1 การวิเคราะห์โปรตีนทำตามวิธีการของ Lowry ,1951 :265-275)

การวิเคราะห์โปรตีนตามวิธีการของ Lowry เป็นการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างรีเอเจนท์กับไทโรซีนและทริบโตเฟนของตัวอย่าง วัดปริมาณสารที่มีสีได้ โดยการเปรียบเทียบกับโปรตีนอัลบูมินที่ได้จากซีรัมของวัวเป็นมาตรฐาน โดยถือว่าปริมาณไทโรซีนและทริบโตในโปรตีนทั่วไปจะมีอัตราส่วนใกล้เคียงกัน

(1) การเตรียมตัวอย่าง นำตัวอย่างไปอบแห้งที่ 80°ซ เป็นเวลา 2 วัน นำมาบดให้ละเอียด โดยใช้เครื่องปั่นความเร็วสูงเป็นเวลา 30 วินาที จึงนำไปวิเคราะห์ต่อไป

(2) การเตรียมสารละลายลอรี่ เตรียมสารละลายดังนี้

(2.1) สารละลาย ก

โซเดียมคาร์บอเนต 2 กรัม

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล 100 มล

(2.2) สารละลาย ข

คอปเปอร์ซัลเฟต 1 กรัม

น้ำกลั่น 100 มล

(2.3) สารละลาย ค

โซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรท 2 กรัม

น้ำกลั่น 100 มล

ผสมสารละลาย ข 1 มล กับสารละลาย ค 1 มล เขย่าให้เข้ากัน แล้วจึงผสมสารละลาย ก 100 มล เขย่าให้เข้ากัน ได้เป็นสารละลายลอรี่ นำไปใช้ในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง

(3) การวิเคราะห์โปรตีน ชั่งตัวอย่างแห้ง 0.1 กรัมใส่ในหลอดทดลองเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มัล ปริมาณ 0.5 มล แล้วเติมน้ำกลั่น 0.5 มล นำไปต้มที่อุณหภูมิน้ำ 100°ซ นาน 15 นาที เพื่อให้ผนังเซลแตกและโปรตีนออกมาอยู่ในสารละลาย เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้เป็น 50 มล ใช้ตัวอย่าง 1.0 มล ผสมกับสารละลายลอรี่ 3 มล เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที เติมฟีนอลรีเอเจนต์ 0.3 มล(ฟีนอลรีเอเจนต์ 1 ส่วน ผสมน้ำกลั่น 1 ส่วน) เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตร อ่านค่าโปรตีนกับกราฟมาตรฐานอัลบูมิน (20 - 200 ไมโครกรัม) คำนวณเป็นเปอร์เซนต์โปรตีนของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

5.8.2 <u>การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของชิ้นมันสำปะหลัง</u>

การวิเคราะห์ความชื้น โดยอบกระจกนาฬิกาที่อุณหภูมิ 110°ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในเดสิกเคเตอร์(dessicator) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างใส่ในกระจกนาฬิกาแล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักที่แท้จริง นำไปอบที่อุณหภูมิ 110°ซ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่แล้วปล่อยให้เย็นในเดสิกเคเตอร์ นำมาชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน หลังจากนั้นนำไปเปรียบเทียบกับน้ำหนักก่อนอบ โดยน้ำหนักที่ลดลงคือปริมาณความชื้นที่หายไป โดยคำนวณได้ดังนี้

ปริมาณความชื้นคิดเป็นร้อยละ=$\frac{\text{(น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ - น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ)x100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$

5.9 <u>การคำนวณเชิงเศรษฐศาสตร์สำหรับการเพิ่มโปรตีนให้กับมันสำปะหลัง โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบต่อเนื่อง</u>

การคำนวณประกอบด้วยต้นทุน 2 ส่วนคือ

(1) ต้นทุนคงที่ (fixed cost) ในการสร้างเครื่องปฏิกรณ์พร้อมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ประกอบการหมัก อาทิเช่น เครื่องควบคุมอุณหภูมิ , พัดลม(blower) และเครื่องวัดอัตราการไหลของอากาศ(rotameter)

(2) ต้นทุนแปรผัน (variable cost) ได้แก่ ค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการเดินเครื่อง, ค่าน้ำมันเชื้อเพลิงที่ใช้เดินเครื่องหม้อต้มน้ำ(boiler)

5.10 <u>อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง</u>

แสดงไว้ในภาคผนวก ข