บทที่ 4

อภิปรายผลการทดลอง

4.1 การหาชนิดของสารอาหารและปริมาณความชื้นที่เหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ของ R. oligosporus TISTR 3001

เนื่องจากในการหมักอาหารแข็งนั้นปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งคือ การเตรียมเชื้อเริ่มต้นที่บริสุทธิ์ในปริมาณที่มากพอกับความต้องการ ดังนั้นจึงศึกษาถึงวิธีการเตรียมสปอร์ของ R. oligosporus เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักจากสารอาหารที่มีราคาถูก หาได้ง่าย วิธีการเตรียมทำได้ง่าย และมีความเหมาะสมกว่าการเตรียมจากอาหารวุ้นแข็งเอียง โดยใช้อาหารแข็ง 3 ชนิดคือ ปลายข้าวเจ้าผสมรำหยาบ ปลายข้าวเจ้าผสมรำละเอียด และปลายข้าวเจ้าผสมกากถั่วเหลือง ซึ่งใช้อัตราส่วนของอาหารคงที่ ที่ 9:1 แต่ผันแปรความชื้นของอาหารระหว่าง 24-50% ผลการทดลองพบว่าอาหารแข็งทั้ง 3 ชนิดนี้จะให้สปอร์สูงสุดใกล้เคียงกันประมาณ $4.8-4.9\times10^{8}$ สปอร์/กรัมของอาหาร เมื่อความชื้นของอาหารดังกล่าวมีค่า 34.7, 33.1 และ 34.7% ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการสร้างสปอร์ต้องการความชื้นที่เหมาะสม เมื่อความชื้นของอาหารแต่ละชนิดต่ำกว่าค่าที่เหมาะสมการสร้างสปอร์จะลดลง และเมื่อความชื้นของอาหารแต่ละชนิดสูงกว่าค่าที่เหมาะสม การสร้างสปอร์จะลดลงเช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากราจะสร้างเส้นใยแทนการสร้างสปอร์ แต่ในปลายข้าวผสมรำหยาบการสร้างสปอร์จะไม่ลดลงมากเหมือนในอาหารชนิดอื่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากรำหยาบมีแกลบผสมอยู่ ทำให้มีความพรุนสูงกว่าอาหารอีก 2 ชนิด ดังนั้นเมื่อความชื้นของอาหารเพิ่มขึ้น อาจจะทำให้ความพรุนไม่ลดลงมาก ซึ่งทำให้มีอากาศเหลือพอแก่การสร้างสปอร์ ซึ่ง Wang, Swain และ Hesseltine (1975) ได้รายงานว่า ความชื้นของอาหารและปริมาณอากาศจะมีผลต่อการสร้างสปอร์ในอาหารแข็ง

4.2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของอาหารแข็งในการสร้างสปอร์ของ R. oligosporus

จากผลการเตรียมสปอร์ในอาหารแข็งทั้ง 3 ชนิดคือ ปลายข้าวเจ้าผสมรำหยาบ ปลายข้าวเจ้าผสมรำละเอียด และปลายข้าวเจ้าผสมกากถั่วเหลือง โดยใช้ความชื้นของอาหารเป็น 34.7, 33.1 และ 34.7% ตามลำดับ แต่ผันแปรปริมาณของปลายข้าวเจ้า รำหยาบ รำละเอียด และกากถั่วเหลืองต่าง ๆ กัน พบว่าอาหารแข็งทั้ง 3 ชนิดนี้จะให้สปอร์สูงสุดใกล้เคียงกันเมื่ออัตราส่วนของส่วนผสมมีค่า 9:1 เมื่ออัตราส่วนของอาหารแต่ละชนิดมีค่าน้อยกว่า 9:1 นั้น พบว่าปริมาณสปอร์ที่ได้จากปลายข้าวเจ้า ผสมกากถั่วเหลืองจะลดลงมากกว่าในอาหารอีก 2 ชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากกากถั่วเหลืองจะมีไนโตรเจนสูงกว่ารำหยาบและรำละเอียดประมาณ 2 เท่า (พิเชษฐ อิฐกอ, 2528) และอาจมีสารอาหารบางอย่างที่ส่งเสริมการเจริญ ดังนั้นเมื่อเพิ่มกากถั่วเหลืองในปริมาณเท่ากับรำหยาบ และรำละเอียด อาจจะทำให้ปริมาณไนโตรเจนในอาหารเพิ่มมากกว่าเมื่อเทียบกับการเพิ่มรำหยาบและรำละเอียด เป็นผลให้ราเมีการเจริญและสร้างเส้นใยแทนการสร้างสปอร์ ซึ่งจะเห็นได้จากการทดลองที่ใช้อัตราส่วนของปลายข้าวผสมกากถั่วเหลืองตั้งแต่ 15:5 ถึง 10:10 พบว่าราจะสร้างเฉพาะเส้นใย แต่อย่างไรก็ตามปลายข้าวเจ้าผสมรำหยาบจัดเป็นอาหารแข็งที่เหมาะสมต่อการเตรียมสปอร์เนื่องจากมีลักษณะร่วน จึงแยกสปอร์ออกจากอาหารได้ง่าย และจะทำให้สปอร์กระจายอย่างสม่ำเสมอเมื่อผสมกับมันก่อนทำการหมัก

4.3 ขนาดของมันที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีน เมื่อหมักด้วย R. oligosporus ในกล่องหมัก

เนื่องจากมันที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากการบดมันเส้นด้วยเครื่องบดแบบแฮมเมอร์มิล (hammer mill) ซึ่งไม่สามารถควบคุมขนาดได้ ดังนั้นจึงได้มันบดหลายขนาดตั้งแต่ผงมันจนถึงมันขนาดใหญ่ หลังจากร่อนแยกขนาดแล้ว จึงทดลองหมักมันขนาดต่าง ๆ เพื่อหาขนาดที่เหมาะสม เพราะขนาดของวัตถุดิบจัดเป็นปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญประการหนึ่งในการหมักในอาหารแข็ง (Nagai, 1979) จากผลการทดลองที่ใช้มันขนาดต่าง ๆ กันพบว่ามันขนาด 3 มม. เป็นขนาดที่เหมาะสมกว่ามันขนาดอื่น เพราะจะให้อัตราการเพิ่มของโปรตีนสูงที่สุด

เมื่อใช้มันขนาดเล็กกว่า 3 มม. จะได้โปรตีนต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากถ้ามันมีขนาดเล็กเกินไปอาจจะลดช่องว่างระหว่างอนุภาค (Void fraction) ทำให้ความพรุนของชั้นหมักลดลง ยังผลให้ความสามารถในการถ่ายเทออกซิเจนให้กับราภายในชั้นหมักต่ำ นอกจากนี้อาจจะเกิดการสะสมของความร้อนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อันเนื่องจากการเจริญของราภายใน

ชั้นหมัก ซึ่งสามารถยับยั้งกิจกรรมและการเจริญของราได้ (Bajracharya & Mudget, 1980; Ulmer et al., 1981) ส่วนในกรณีที่ใช้ผงมันขนาดเล็กกว่า 1 มม. นั้นอาจทำให้อนุภาคของมันเกาะติดกันจนทำให้ชั้นหมักทึบ (Hesseltine, 1972) ดังนั้นราจะเจริญเฉพาะที่ผิวหน้าและไม่สามารถแทรกเข้าไปภายในชั้นหมักได้ จึงทำให้โปรตีนของมันหมักมีค่าต่ำกว่าเมื่อใช้มันขนาด 3 มม.

ส่วนการใช้มันขนาดใหญ่กว่า 3 มม. ถึงแม้ว่าจะทำให้ความพรุนเพิ่มขึ้น แต่จะทำให้โปรตีนต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการใช้มันขนาด 3 มม. ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อขนาดของมันเพิ่มขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการใช้วัตถุดิบต่ำ กล่าวคือประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาหารหรือการถ่ายเทมวลภายในอนุภาค (intraparticle mass transfer) จะลดลงเมื่อมันที่ใช้ในการหมักมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้การถ่ายเทมวลของธาตุอาหารที่ย่อยสลายแล้วเข้าสู่ราจะเกิดน้อยลง (Suga, Van Dedem & Moo-Young, 1975)

4.4 <u>ความชื้นเริ่มต้นของมันหมักที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีนเมื่อหมักด้วย R. oligosporus ในกล่องหมัก</u>

ทั้งนี้จากรายงานของ Stanton และ Wallbridge (1972) ที่ว่าในการหมักมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักอาหารแข็งโดยใช้ราพวก Rhizopus นั้นจะต้องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศให้มีค่าอย่างน้อย 95% จึงจะทำให้การหมักได้ผลดีที่สุด ถ้าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศมีค่าต่ำกว่า 93% จะมีสปอร์เกิดขึ้นและถ้าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศมีค่าต่ำกว่า 83% แล้ว จะยับยั้งการเจริญของราได้ จึงทดลองหมักในกล่องหมักซึ่งจะให้อากาศที่มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 100% แก่ชั้นหมักตลอดเวลา และจากรายงานของ Nagai (1979) ที่ว่าความชื้นเริ่มต้นของวัตถุดิบจะเป็นปัจจัยทางกายภาพที่มีอิทธิพลต่อการหมักในอาหารแข็ง ดังนั้นจึงศึกษาถึงความชื้นเริ่มต้นของมันหมักที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีน โดยใช้ความชื้นเริ่มต้นตั้งแต่ 45% ถึง 70% จากผลการทดลองพบว่า ความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมมีค่าประมาณ 64.9% ซึ่งจะให้โปรตีนสูงที่สุด (0.12 กรัม/กรัม.มันแห้งเริ่มต้น) โดยใช้เวลาน้อยที่สุดคือ ในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก นอกจากนี้น้ำหนักแห้งสัมพัทธ์และความชื้นของมันหมักจะมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดเช่นกัน

เมื่อความชื้นเริ่มต้นของมันหมักมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 70.7% พบว่าอัตราการเพิ่มของโปรตีนจะลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อความชื้นเริ่มต้นมีค่าสูงเกินไป น้ำส่วนที่เหลือจากส่วนที่ซึมติด

กับชิ้นมันอาจ แทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาค (void fraction) ซึ่งอาจจะลดความพรุนของชั้นหมัก ทำให้ประสิทธิภาพของการถ่ายเทมวลและความร้อนลดลง ราอาจจะเจริญไม่ดีเท่าที่ควร นอกจากนี้ถ้ามีน้ำส่วนที่เหลือ (free water) มากเกินไปอาจจะทำให้ชั้นหมักทึบ ดังนั้นราอาจจะเจริญได้เฉพาะที่ผิวหน้าเท่านั้น

เมื่อความชื้นเริ่มต้นของมันหมักมีค่าต่ำกว่า 64.9% พบว่าการเจริญของราและโปรตีนของมันหมักที่ได้จะลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการที่วัตถุดิบอาจมีอัตราการพองตัวต่ำ และการที่มี water tension สูง หรือกิจกรรมของเอนไซม์และประสิทธิภาพของการลำเลียงสารอาหารที่ย่อยแล้วไปยังราอาจจะลดลง (Laukeivcs, Apsite & Viesturs, 1984) นอกจากนี้เมื่อความชื้นเริ่มต้นต่ำอาจจะยับยั้งการงอกของสปอร์ และยับยั้งการเจริญของราได้ (Ayerst, 1969) ส่วนในการทดลองที่ความชื้นเริ่มต้นของมันหมักมีค่าต่ำมาก (50.7% และ 45.1%) พบว่าจะให้ปริมาณโปรตีนต่ำมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดสปอร์ เป็นเหตุให้การเจริญของรา รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ โดยเฉพาะการสร้างโปรตีนของมันหมักลดลง ซึ่งปรากฏการณ์เช่นนี้พบในการหมักอาหารแข็งหลาย ๆ ชนิด (Chahal & Moo-Young, 1981; Ulmer et al., 1981 & Viesturs et al., 1981) รวมทั้งการหมักมันสำปะหลังในอาหารแข็ง (Raimbault & Alazard, 1980)

4.5 <u>ความสูงของชั้นหมักที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีนของมันเมื่อหมักด้วย R. oligosporus ในกล่องหมัก</u>

การหมักในอาหารแข็งนั้นความสูงของชั้นหมักจัดเป็นปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญและควบคุมได้ ทั้งนี้ความสูงจะต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการไหลเวียนของอากาศ (Nagai, 1979) และในการหมักครั้งนี้กระทำในลักษณะของถาดหมักซึ่งไม่มีการกวนหรือพลิกกลับชั้นหมัก ดังนั้นประสิทธิภาพของการถ่ายเทมวลและความร้อนจะเกิดจากผลของการให้อากาศแก่ชั้นหมัก และความสูงของชั้นหมักที่เหมาะสมประกอบกัน จึงทดลองหมักโดยใช้ความสูงของชั้นหมักต่าง ๆ กัน คือ 5, 15, 30 และ 50 มม. ผลการทดลองพบว่าความสูงของชั้นหมักที่เหมาะสมมีค่าประมาณ 15 มม. เมื่อเพิ่มความสูงของชั้นหมัก การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนของมันหมักจะลดลง ผลการทดลองอาจเนื่องจากความพรุนของชั้นหมักอาจจะลดลงเพราะน้ำหนักที่กดทับชั้นหมักจะเพิ่มขึ้นประกอบกับน้ำที่เกิดจากกระบวนการเมตาโบลิสซึมของคาร์โบไฮเดรทอาจสะสมภายในชั้นหมัก ทำให้ประสิทธิภาพของการถ่ายเทออกซิเจนเข้าสู่ชั้นหมักลดลง นอกจากนี้

ความร้อนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการเจริญของราภายในชั้นหมักอาจจะสะสมอยู่ในปริมาณที่สูงพอที่จะยับยั้งการเจริญของราได้ ซึ่งจะเห็นได้จากรายงานของ Rathbun และ Shuler (1983) ที่ออกแบบกล่องหมัก (fermentation chamber) เพื่อศึกษาความแตกต่างของอุณหภูมิและองค์ประกอบของก๊าซที่ระดับต่าง ๆ ภายในชั้นหมัก โดยทดลองหมักเทมเป้ (Tempeh) ด้วย R. oligosporus ที่อุณหภูมิ 38 °ซ และให้อากาศชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 95%) ตลอดเวลา ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ความสูงของชั้นหมัก 6.35 ซม. ในขณะที่รามีอัตราการเจริญสูงนั้นอุณหภูมิตรงกลางชั้นหมักจะเพิ่มสูงถึง 47 °ซ และจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สะสมอยู่สูงถึง 21% นอกจากนี้เมื่อทดลองใช้ชั้นหมักสูง 5.1 ซม. อุณหภูมิจะเพิ่มสูงถึง 49.6 °ซ เช่นกัน ซึ่งอุณหภูมิและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณนี้อาจจะสามารถยับยั้งการเจริญของราภายในชั้นหมักได้ ดังนั้นในการทดลองที่ใช้ชั้นหมักสูง การให้อากาศชื้นแต่อย่างเดียวอาจจะไม่ช่วยแก้ปัญหาของการถ่ายเทมวลและความร้อนได้ดีเท่าที่ควร และการแก้ปัญหาโดยใช้การกวนหรือพลิกกลับชั้นหมักเข้ามาเสริมนั้น อาจจะมีข้อเสียสำหรับราที่ไม่มีผนังระหว่างเซล (non septate fungi) คือทำให้เส้นใยขาด ซึ่งจะยับยั้งการเจริญได้ (Silman, 1980) และทำให้ชั้นหมักอัดตัวแน่น ทำให้ความพรุนลดลง ดังนั้นวิธีการหมักอาหารแข็งชนิดนี้ความหนาของชั้นหมักควรมีค่าประมาณ 15 มม. และมีการให้อากาศชื้นแก่ชั้นหมักเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลและความร้อน

4.6 ปริมาณสปอร์เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีนของมันเมื่อหมักด้วย R. oligosprus ในกล่องหมัก

ในการหมักอาหารแข็งส่วนใหญ่จะประสพปัญหาในการเตรียมสปอร์เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น ในขณะเดียวกับที่ปริมาณสปอร์เริ่มต้นจะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์และการเพิ่มโปรตีน (Stanton & Wallbridge, 1972; Raimbault & Alazard, 1980 and Ramos-Valdivia et al., 1983) จึงทดลองหาปริมาณสปอร์เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มของโปรตีนโดยใช้สปอร์เริ่มต้นในปริมาณต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 2.5×10^3 สปอร์/กรัม มันแห้ง ถึง 2.5×10^7 สปอร์/กรัม มันแห้ง ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสปอร์เริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 2.5×10^6 สปอร์/กรัม มันแห้ง ทั้งนี้เพราะการใช้สปอร์ในปริมาณนี้จะให้อัตราการเพิ่มของโปรตีนสูงที่สุดโดยการเพิ่มของโปรตีนจะเกิดเร็วกว่า และจะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเร็วกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ปริมาณสปอร์เริ่มต้นต่ำ (2.5×10^3-2.5×10^5 สปอร์/กรัม มันแห้ง) ดังนั้นการใช้ปริมาณสปอร์เริ่มต้นในปริมาณนี้จะมีข้อดีในแง่ที่ว่าจะมีอัตราการเจริญสูงเพื่อแข่งขันกับจุลชีพปนเปื้อนอื่น ๆ ที่อาจจะเข้าสู่ระบบการหมักได้ดีกว่าการ

ใช้สปอร์เริ่มต้นในปริมาณที่ต่ำ เพราะการหมักในอาหารแข็งนี้ไม่สามารถกระทำในสภาพปลอดเชื้ออย่างสมบูรณ์ได้ นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่าอาจไม่จำเป็นต้องใช้สปอร์เริ่มต้นในปริมาณ 2.5×10^{7} สปอร์/กรัม มันแห้ง เพราะจะให้อัตราการเพิ่มของโปรตีนและปริมาณโปรตีนสูงสุดใกล้เคียงกับเมื่อใช้สปอร์เริ่มต้นในปริมาณที่เหมาะสม ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้สปอร์เริ่มต้นในปริมาณสูงนั้น อาจจะทำให้เกิดการจำกัดของสารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโตและอาจมีสปอร์ที่ไม่งอกเหลืออยู่เป็นจำนวนมาก (Bajracharya & Mudget, 1980)

4.7 ปริมาณการไหลของอากาศที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีนเมื่อหมักด้วย R. oligosporus ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบตรึงชั้น

หลังจากได้หาวิธีการเตรียมสปอร์เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น และศึกษาปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีนของมันในระดับห้องปฏิบัติการแล้ว จึงนำผลที่ได้มาขยายขนาดการหมักในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบตรึงชั้น โดยศึกษาถึงปริมาณการไหลของอากาศที่เหมาะสมต่อการเพิ่มโปรตีนของมันและการเจริญของราการหมักกระทำในลักษณะของถาดหมัก และให้อากาศขึ้นแก่ชั้นหมักตลอดเวลา โดยคาดว่าจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทมวลของออกซิเจนให้กับราภายในชั้นหมัก และประสิทธิภาพของการถ่ายเทมวลความร้อน เนื่องจากในการหมักอาหารแข็งนี้จะมีปริมาณน้ำต่ำทำให้การถ่ายเทความร้อนเกิดได้น้อย และถังปฏิกิริยาที่ใช้ในการหมักอาหารแข็งจะไม่มีอุปกรณ์ถ่ายเทความร้อนโดยเฉพาะเหมือนในถังหมักกวน ดังนั้นการถ่ายเทความร้อนจะขึ้นกับปริมาณการไหลของอากาศที่ให้กับชั้นหมัก

ผลการทดลองเมื่อมีการให้อากาศในปริมาณต่าง ๆ กัน พบว่าปริมาณการไหลของอากาศที่เหมาะสมต่อการเพิ่มของโปรตีนคือ 0.76×10^{-4} m^3/วินาที/กก.มันแห้ง เพราะจะทำให้โปรตีนสูงที่สุด (0.12 กรัม/กรัมของมันแห้งเริ่มต้น) ในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก ในขณะเดียวกันน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์และความชื้นของมันหมักจะมีอัตราการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดเช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากในระหว่างการเจริญเติบโตนั้นราอาจ ใช้น้ำหนักแห้งบางส่วน โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยง่ายเพื่อเปลี่ยนเป็นโปรตีนของเส้นใย พร้อมทั้งผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำออกมา ทำให้น้ำหนักแห้งสัมพัทธ์ลดในขณะที่ปริมาณโปรตีนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่ม

เมื่อพิจารณาอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการเจริญของราเมื่อหมักในอาหารแข็ง (Carrizalez, Rodriguez & Sardina, 1981;

Rathbun & Shuler; Tasakorn et al., 1979) พบว่าในการทดลองที่ใช้ปริมาณการไหลของอากาศ 0.76×10^{-4} m^3/วินาที/กก.มันแห้ง จะให้อัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงที่สุดเช่นกัน (3.83×10^{-7} กก./วินาที/กก.มันแห้ง) ในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะมีลักษณะใกล้เคียงกับการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนของมันหมัก กล่าวคือในช่วงแรกของการหมักโปรตีนและคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้นตลอดเวลา ทั้งนี้อาจเนื่องจากราอยู่ในระยะการเจริญแบบทวีคูณ (log phase) ซึ่งจะมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และจะมีกิจกรรมสูงทำให้ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นกัน และจะเพิ่มสูงสุดพร้อมกันในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก หลังจากนั้นโปรตีนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะคงที่ในช่วงเวลาสั้น ก่อนที่จะลดลง ทั้งอาจเนื่องจากการเจริญของราเข้าสู่สภาวะคงที่ (stationary phase) ซึ่งจะมีกิจกรรมและการย่อยสลายสารอาหารเพื่อการดำรงชีวิต (maintenance) ต่อไปอีกระยะหนึ่ง แต่กิจกรรมดังกล่าวจะลดลง ซึ่งจะเห็นได้จากการที่การลดของน้ำหนักแห้งจะยังคงเกิดขึ้น ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากค่าอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้วอาจจะสนับสนุนผลการทดลองที่ว่าปริมาณการไหลของอากาศที่เหมาะสมควรจะเป็น 0.76×10^{-4} m^3/ วินาที/กก.มันแห้ง เนื่องจากราจะสามารถดำเนินกิจกรรมได้ดีที่สุด ทำให้ได้ปริมาณโปรตีนและอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุด

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการถ่ายเทมวลออกซิเจนเข้าสู่เชื้อราในเครื่องปฏิกรณ์นี้พบว่าราจะใช้ออกซิเจนจากอากาศที่ให้กับเครื่องปฏิกรณ์ ออกซิเจนจะถ่ายเทเข้าสู่ชั้นของจุลินทรีย์ภายในชั้นหมัก หลังจากเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีแล้วจะกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปล่อยออกมาสู่กระแสอากาศที่ไหลผ่าน ถ้ากำหนดว่าปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ไปนั้นเท่ากับปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตขึ้น

ในการทดลองได้วัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตขึ้น เพื่อนำไปคำนวณหาการใช้ออกซิเจนของจุลินทรีย์ ซึ่ง Tasakorn และคณะ (1979) ได้เสนอสมการที่แสดงการถ่ายเทมวลผ่านผิวสัมผัสระหว่างชั้นของจุลินทรีย์และอากาศดังนี้

$$F = \frac{C_{A_o}}{C_{A_i}} = \exp\left[k_s a_s . V_s/Q\right]$$

เมื่อ F เป็นอัตราส่วนของความเข้มข้นของออกซิเจนที่ออก (C_{A_o}) กับความเข้มข้น

ของออกซิเจนที่เข้า (C_{A_i})

V_s เป็นปริมาตรของชั้นหมัก

Q เป็นปริมาณการไหลของอากาศผ่านชั้นหมัก

$k_s a_s$ เป็นผลคูณระหว่างสัมประสิทธิ์ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาและพื้นที่ผิวสัมผัส เรียก ว่า "ความถี่ในการถ่ายเทมวล" ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของชั้นหมักและชนิดของจุลินทรีย์ มีหน่วยเป็น 1 /วินาที (k_s มีหน่วยเป็น ม./วินาที และ a_s มีหน่วยเป็น $ม.^2/ม.^3$)

จากการทดลองทราบความเข้มข้นของออกซิเจนที่ทางเข้าและออก ปริมาตรของชั้นหมักและปริมาณการไหลของอากาศ ทำให้สามารถคำนวณค่า $k_s a_s$ ได้ ซึ่งค่า $k_s a_s$ จะบอกถึงการถ่ายเทมวลออกซิเจนว่ามีมากหรือน้อย โดยที่ค่า $k_s a_s$ มีมากก็หมายถึงมีการถ่ายเทมวลออกซิเจนมากด้วย เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลกับการเปลี่ยนแปลงโปรตีนเมื่อมีการให้อากาศในปริมาณต่าง ๆ กัน พบว่าในการทดลองที่ให้อากาศในปริมาณ 0.76×10^{-4} $ม.^3$/วินาที/กก.มันแห้ง ซึ่งให้โปรตีนของมันหมักสูงที่สุดนั้นจะให้ค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลสูงที่สุดเช่นกัน โดยจะให้ค่าสูงสุดพร้อมกันในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก

การเปลี่ยนแปลงของค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลนี้จะมีความสัมพันธ์กับการเจริญของราและการเปลี่ยนแปลงโปรตีนของมันหมัก กล่าวคือเมื่อเริ่มต้นการทดลองนั้นเป็นช่วงที่สปอร์เริ่มจะงอก และพร้อมที่จะดำเนินกิจกรรมเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมในเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นในช่วงนี้ค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลจะคงที่ต่อมา เมื่อราอยู่ในระยะการเจริญแบบทวีคูณ (log phase) จะมีการใช้ออกซิเจนจากอากาศ ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีในการย่อยสลายมันเส้น ทำให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และมีกิจกรรมต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น ซึ่งในช่วงนี้จะมีการถ่ายเทมวลออกซิเจนเข้าสู่ราภายในชั้นหมักมากขึ้น ยังผลให้ปริมาณโปรตีนและค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และจะเพิ่มสูงสุดพร้อมกันในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก หลังจากนั้นเมื่อเชื้อราเจริญถึงที่สุดแล้ว การเจริญของเชื้อราอาจจะเข้าสู่สภาวะคงที่หรือมีการตาย ทำให้การใช้ออกซิเจนจะลดลง ซึ่งจะทำให้ค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลลดลงด้วย ดังนั้นถ้าพิจารณาจากค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลแล้วอาจจะสนับสนุนผลการทดลองที่ว่า ปริมาณการไหลของอากาศที่เหมาะสมที่สุดนั้นควรจะเป็น 0.76×10^{-4} $ม.^3$/วินาที/กก.มันแห้ง เนื่องจากราสามารถจะดำเนินกิจกรรมต่าง ๆ ได้มากที่สุด และจะมีการแบ่งตัวเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูงที่สุด

4.8 การหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนให้กับมันในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพโดยใช้ถาดหมัก 3 ถาดซ้อนกัน

การหมักมันโดยหมัก 3 ถาดซ้อนกันในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพนี้จะให้อากาศขึ้นจากทางตอนล่างของถังปฏิกรณ์ไหลผ่านถาดหมักทั้ง 3 ถาด ก่อนที่จะไหลออกทางท่ออากาศออกซึ่งจะสอดผ่านตรงกลางถาดของแต่ละถาด โดยมีการให้อากาศในปริมาณ 0.79×10^{-4} และ 0.97×10^{-4} $ม^3$/วินาที/กก.มันแห้ง จากผลการทดลองเมื่อมีการให้อากาศในปริมาณ 0.79×10^{-4} $ม^3$/วินาที/กก.มันแห้ง พบว่าการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน น้ำหนักแห้งสัมพัทธ์ และความชื้นของมันหมักในแต่ละถาดจะใกล้เคียงกัน และผลการทดลองที่ได้จะใกล้เคียงกับเมื่อหมัก 1 ถาด ซึ่งมีการให้อากาศในปริมาณเท่ากัน เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงโปรตีนของมันหมักทั้ง 3 ถาด อัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และค่าความถี่ในการถ่ายเทมวล พบว่าในช่วงแรกของการหมักนั้น ค่าทั้ง 3 จะเพิ่มขึ้นตลอดเวลา และจะเพิ่มสูงสุดในช่วงเวลาใกล้เคียงกันคือในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก โดยจะได้ปริมาณโปรตีน อัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และค่าความถี่ในการถ่ายเทมวลในปริมาณ 0.11 กรัม/กรัม มันแห้งเริ่มต้น, 3.79×10^{-7} กก./วินาที/กก.มันแห้ง และ 1.46×10^{-4} หน่วย/วินาที ตามลำดับ หลังจากนั้นค่าทั้ง 3 จะลดลง ส่วนในการทดลองที่มีการให้อากาศในปริมาณ 0.97×10^{-4} $ม^3$/วินาที/กก.มันแห้งนั้น ผลการทดลองที่ได้จะไม่แตกต่างจากเมื่อมีการให้อากาศในปริมาณ 0.79×10^{-4} $ม^3$/วินาที/กก.มันแห้ง ดังที่ได้กล่าวข้างต้น