



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาเครื่องเฟอร์เมนเตอร์สำหรับไส้เดือนฝอย

โดย นาย ญัฐวรธ ชนประดิษฐ์กุล และคณะ

8 สิงหาคม 2546

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาเครื่องเฟอร์นิเจอร์สำหรับใส่เดือนฝอย

คณะผู้ทำการวิจัย

1. นาย ญัฐวรรธ ชนประดิษฐ์กุล ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2. นาย นพพร สระแก้ว ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอพีที ไชยเอนทิฟิค
3. น.ส. กรรติน์ เนรมิตมานสุข ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
4. น.ส. รุ่งอรุณ ขุนณรงค์ บริษัท ยูนิซีดส์ จำกัด

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยโครงการพัฒนาเครื่องเฟอร์นิเจอร์สำหรับใส่เตียงนอน ขอขอบพระคุณ

1. ร.ศ.ดร. วราวุฒิ คุ้มส่ง
2. ร.ศ.ดร. เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ
3. อ.ปราโมทย์ ธรรมรัตน์

งานวิจัยชิ้นนี้มีอาจสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีได้หากปราศจากความอนุเคราะห์ของท่านผู้ทรงคุณวุฒิซึ่งที่ได้กล่าวมานี้

คณะผู้ทำการวิจัย

การพัฒนาถังหมักขนาด 100L สำหรับทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย

S. carpocapsae (Weiser)

The Development of a 100 - liter Fermenter Vessel for Study on the Mass Propagation of Entomopathogenic Nematode *S. carpocapsae* (Weiser)

บทคัดย่อ

การทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (Weiser) ในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่สร้างขึ้นเองภายในประเทศโดยมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้แก่อุณหภูมิ, อัตราการป้อนอากาศ (Air Flow Rate), อัตราเร็วรอบในการกวน พบว่าถังหมักที่สร้างขึ้นสามารถเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยให้เจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ สามารถเก็บผลผลิตได้ 180,000 ตัว/มล. ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย 1 วงจรชีวิต 13 วัน ซึ่งนานการเลี้ยงในถังหมักขนาด 6 ลิตร ประมาณ 1 วัน (ปกติ 9-12 วัน) มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงถึง 65.83%

การทดลองแก้ปัญหาการเกิดฟองล้นภายในถังหมักซึ่งมีผลทำให้ Working Volume ของถังหมักลดลงโดยใช้ใบพัดกวนที่พัฒนาขึ้นเอง โดยใช้ใบพัดกวนทางด้านบนของเครื่องเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และใบพัดทางด้านล่างเป็นใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller แทนการใช้ใบพัดกวนแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) เดิมประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีโดยเฉพาะในถังหมักขนาด 6 ลิตร สามารถลดปัญหาการเกิดฟองและสามารถเพิ่มปริมาณการป้อนอากาศ (เพิ่ม Air Flow Rate) ในช่วงที่ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์-สร้างไข่และออกลูกอ่อน ซึ่งเป็นช่วงที่ไส้เดือนฝอยต้องการปริมาณออกซิเจนสูงได้โดยไม่เกิดฟองล้น

Abstract

A 100-liter fermenter was developed for studying on the mass propagation of Entomopathogenic Nematode *S. carpocapsae* (Weiser). The control parameters were temperature, air flow rate, and stirred speed. The result showed that *S. carpocapsae* could propagate in a 100-liter fermenter in circle life of 13 days, the production yield was 180,000 nematode/ml and the percentage of insect destroying was 65.83%. The used of Silicone impeller and Up-Pumping impeller, instead of a standard impeller showed good results of preventing foam from overflow from the vessel, especially in case of a 6-liter vessel. The installation of new impellers also allowed a vessel to be operated at higher air flow rate, which should increase production yield.

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 เหตุผลและความเป็นมา	1
1.2 วัตถุประสงค์	11
1.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	11
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	13
บทที่ 2 ไล้เดือนฝอยและวิธีการทดลอง	
2.1 ไล้เดือนฝอยและวงจรชีวิต	14
2.2 การศึกษาลักษณะของไบโกลนที่เหมาะสมในถังหมักขนาด 6 ลิตร	16
บทที่ 3 การออกแบบถังหมักขนาด 100L	
3.1 รายละเอียดของเครื่อง Fermenter	28
3.2 ตำแหน่งและอุปกรณ์ของพอร์ต	29
3.3 รายละเอียดของไล้กรองอากาศขาเข้า	30
3.4 ชุดรักษาความดันขณะทำการฆ่าเชื้อ	31
3.5 ชุดส่งกำลังขับเคลื่อนไบโกลน	32
3.6 ขนาดและชนิดของไบโกลนในถังหมักขนาด 100L	33
3.7 ขั้นตอนการใช้งานถังหมักขนาด 100L	36
3.8 รายละเอียดเครื่องทำน้ำเย็น	37
3.9 รายละเอียดเครื่องผลิตไอน้ำ	39
บทที่ 4 การทดสอบการอบนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อตรวจสอบรอยเชื่อมในถังหมักขนาด 100 ลิตร	
4.1 การทดลอง Batch ที่ 1	41
4.2 การทดลอง Batch ที่ 2	42
4.3 การทดลอง Batch ที่ 3	42
4.4 การทดลอง Batch ที่ 4	43
4.5 การทดลอง Batch ที่ 5 & 6	44
4.6 การทดลอง Batch ที่ 7	44
4.7 การทดลอง Batch ที่ 8	45
4.8 การทดลอง Batch ที่ 9	46
4.9 การทดลอง Batch ที่ 10	47

บทที่ 5 การทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร	
5.1 วัสดุอุปกรณ์	48
5.2 วิธีการทดลอง	48
5.3 ผลการทดลอง	51
5.4 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	53
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง อุปสรรคปัญหา และข้อเสนอแนะ บรรณานุกรม	56
 ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. การคำนวณทางกลของถังหมักขนาด 100 ลิตร	i
ภาคผนวก ข. แบบร่างของถังหมักขนาด 100 ลิตร	x
ภาคผนวก ค. รูปถังหมักขนาด 100 ลิตร พร้อมอุปกรณ์ประกอบ	xvii
ภาคผนวก ง. บทความสำหรับเผยแพร่	xxiii

บทที่ 1

บทนำ

1.1 เหตุผลและความเป็นมา

1. การศึกษาและพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอย

ประเทศไทยจัดเป็นประเทศกสิกรรม ปัจจุบันการเกษตรแผนใหม่ได้เปลี่ยนรูปแบบการเพาะปลูกภายในประเทศจากเดิมที่เป็นการเพาะปลูกเพื่อการบริโภคภายในครัวเรือนมาเป็นการเพาะปลูกเพื่อการค้าในระดับอุตสาหกรรมและการส่งออกซึ่งต้องมีการแข่งขันสูงทั้งในด้านของปริมาณและคุณภาพ ส่งผลให้การใช้สารเคมีและยากำจัดศัตรูพืชมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งนอกจากจะมีผลกระทบจากการปนเปื้อนของสารเคมีทั้งในผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อมอันก่อให้เกิดปัญหามลพิษและส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ รวมทั้งมนุษย์แล้ว การใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นระยะเวลานานยังทำให้แมลงศัตรูพืชเกิดการดื้อยาอีกด้วย การนำสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น เชื้อไวรัส เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา รวมทั้งไส้เดือนฝอย มาควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยวิธีชีววิธี (Biological control) ถือเป็นทางออกที่ดีวิธีหนึ่งในการลดอัตราการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย

บริษัท ยูนิซีดส์ จำกัด (Uniseeds Company Limited) เป็นบริษัทที่ดำเนินธุรกิจด้านผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Agrobusiness) โดยบริษัทได้ทำการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ออกสู่ตลาดในหลายลักษณะ ได้แก่ เมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่างๆ (ข้าวโพด, ถั่วเขียว), ผลิตภัณฑ์ผักเพื่อการส่งออก (กระเจี๊ยบมอญ, หัวหอม) และสารเคมีที่ใช้เพื่อการเกษตร โดยผลิตภัณฑ์หลักที่สำคัญ ได้แก่ **ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงยูเนมา (*Steinemema carpocapsae*)** ใช้เป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืช สามารถใช้กำจัดหนอนและแมลงได้หลายชนิด เช่น หนอนกินใต้ผิวเปลือกทองกอง ตัวอ่อนด้วงหมัดผักในหัวผักกาด ด้วงงวงมันเทศ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง เบญจมาศ หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก เป็นต้น

ไส้เดือนฝอยจัดเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดหนึ่ง ลำตัวไม่มีปล้อง ผ่นลำตัวและทางเดินอาหารพัฒนาดี มีชีวิตอยู่ในลักษณะที่เป็น Free-living หรือในลักษณะที่เป็นตัวเบียนอาศัยอยู่ในสัตว์และพืชอื่นๆ ถ้าเข้าไปอยู่ในสัตว์ (animal parasites) มักเรียกว่าเป็นพยาธิ (helminths) สำหรับไส้เดือนฝอยที่เข้าไปอยู่ในแมลง (entomopathogenic nematodes) และมีศักยภาพสูงในการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจและมีการวิจัยพัฒนาการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยเป็นระดับการค้าได้แก่ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในวงศ์ *Steinernematidae* ซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้

- สามารถกำจัดแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิดในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมโดยตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยจะเข้าสู่แมลงศัตรูพืชทางช่องเปิดต่างๆ เช่น ปาก รูหายใจ ทวาร คูคกินน้ำ

เลือด (Haemocoel) ของแมลงศัตรูพืช แล้วจับถ่ายแบคทีเรียในลำไส้ออกมา แบคทีเรียนี้จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสร้างมลพิษ ทำให้แมลงศัตรูพืชตายภายใน 24-48 ชั่วโมง

- สามารถกำจัดแมลงได้มากกว่า 200 ชนิด
- ไม่มีอันตรายต่อคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด รวมทั้งไม่เป็นศัตรูพืช
- ไม่มีกลิ่นเหม็น ไม่มีพิษตกค้างในพืชผล และไม่ก่อให้เกิดมลพิษในสภาพแวดล้อม
- มีความทนทานต่อแรงดันน้ำสูงทำให้สามารถพ่นไส้เดือนฝอยผ่านรูหัวฉีดของเครื่องพ่นสารชนิดต่างๆ ได้ รวมทั้งสามารถทนต่อ สารกำจัดศัตรูพืช (Pesticide) และสารกำจัดวัชพืช (วัชร, 2533)

มีรายงานการนำไส้เดือนฝอยชนิดนี้มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในต่างประเทศมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและผลิตเป็นการค้าในหลายๆประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา อังกฤษ ออสเตรเลีย สาธารณรัฐประชาชนจีน ฯลฯ

การทดลองของ Kaya (1985) รายงานว่า ไส้เดือนฝอย *Steinernema* (= *Neoplectana*) และ *Heterorhabditis* สามารถป้องกันกำจัดแมลงเจาะทำลายไม้ *Prionoxystus robiniae* (Peck) ซึ่งทำลายต้นโอ๊กได้ผล นอกจากนี้ Kaya และคณะ(1993) ยังพบว่าพฤติกรรมของไส้เดือนฝอยมีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดแมลง โดยไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ส่วนใหญ่จะอยู่นิ่งๆใกล้ผิวดินเพื่อรอแมลงมา ขณะที่ไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* จะเคลื่อนที่ค้นหาแมลงอาศัย.

Klein (1990) พบว่า การใช้ไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* สามารถควบคุมหนอนด้วงที่เป็นศัตรูสนามหญ้า *Popillia japonica* ได้นานกว่า 1 ปี และตามรายงานของ Georgis และคณะ (1991) ซึ่งศึกษาความคงทนของไส้เดือนฝอยในสภาพแวดล้อมพบว่า ไส้เดือนฝอยสามารถทำให้หนอนด้วงศัตรูสนามหญ้าตาย 84-98% และหลังจากนั้น 4 สัปดาห์ หนอนจะตายเพียง 17-21% และไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ หากในดินมีปริมาณหนอนพอเพียงที่จะเป็นแหล่งอาหาร

สำหรับงานวิจัยในประเทศไทยได้มีการดำเนินการพัฒนานำไส้เดือนฝอยมาทดลองกำจัดแมลงศัตรูพืชในธรรมชาติ พบว่ามีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญได้หลายชนิด เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนคืบกะหล่ำ หนอนใยผัก หนอนเจาะยอดผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนคืบลำไย Tobacco bud worm หนอนกินรังผึ้ง หนอนกินใต้ผิวเปลือก หนอนกอสีมภู หนอนกอล้วย หนอนห่อใบข้าว ด้วงงวงมันเทศ ปลวก ฯลฯ (วัชร และ คณะ 2534)

วัชร และคณะ(2534) ได้เริ่มดำเนินการวิจัยทดลองเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* เพื่อขยายปริมาณด้วยหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Heliothis armigera*) และได้นำไปทดสอบประสิทธิภาพในธรรมชาติ โดยใช้ทดลองควบคุมหนอนกินผิวใต้เปลือกลองกอง ลางสาด (*Cossus sp.* และ

Microchlora sp.) ในสภาพที่มีความชื้นพอเหมาะ (60-80%) พบว่าไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* อัตรา 2 ล้านตัวในน้ำ 1 ลิตร โดยพ่น 3-5 ลิตรต่อต้น สามารถฆ่าหนอนได้ 80%.

วัชร และคณะ(2537) ได้ทดลองใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนกระทู้หอม (หนอนหนังเหนียว) ในดาวเรืองซึ่งเป็นพืชตัดดอก และหนอนชนิดนี้มีความทนทานต่อยาฆ่าแมลง โดยการทดสอบพบว่า การพ่นไส้เดือนฝอยในอัตรา 2,000 ตัว/มล. หรือไส้เดือนฝอย 40 ล้านตัว/น้ำ 1 ปี๊บ โดยใช้เครื่องพ่นยา โยกสะพายหลังพ่นบนยอดดาวเรืองหลังเพาะเมล็ดดาวเรือง 15 วัน ในตอนเย็นหลังการรดน้ำในแปลง และปรับสภาพหัวพ่นให้ละเอียด ช่วงแรกๆที่มีปริมาณหนอนระบาดมากให้พ่นทุก 5 วัน หลังจากนั้น อาจพ่นทุก 7-10 วัน สามารถลดปริมาณหนอนได้ถึง 80% นอกจากนี้ยังให้ประโยชน์ถึงสองทาง คือ สามารถลดการใช้สารเคมี และมด แมลงปอซึ่งเป็นตัวห้ำสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้และเข้าทำลายแมลง ศัตรูพืชได้อีกทางหนึ่งด้วย

วิโรจน์ และคณะ(2538) ได้ทำการศึกษาการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* กับปลวกงาน *Odonotermes feae* ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า เปอร์เซ็นต์ของไส้เดือนฝอยเข้าสู่ปลวกงานสูงที่สุดที่ความชื้นของดิน 15% และอุณหภูมิ 25°C โดยไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตภายในปลวกงานจนครบวงจรชีวิตใช้เวลา 12 วัน และการพ่นไส้เดือนฝอยที่อัตราความหนาแน่น 10,000-1,000,000 ตัว ลงบนดินในกล่องพลาสติกขนาด 30x12x20 ซม. จะทำให้ปลวกงานตายภายใน 24 ชั่วโมง และไส้เดือนฝอยสามารถทำให้เกิดโรคกับปลวกงานได้นาน 7 สัปดาห์

จากความสำเร็จของงานวิจัยที่ได้กล่าวมา จึงได้มีการศึกษาและพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงธรรมชาติให้ได้ปริมาณมากในระดับการค้า ซึ่งโดยธรรมชาติแล้วไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* จะเจริญเติบโตภายในแมลงอาศัยเท่านั้น แต่ในปัจจุบันสามารถพัฒนาระบบการเลี้ยงแบบใหม่โดยการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียมบนฟองน้ำ(อาหารแข็งกึ่งเหลว) หรืออาหารเหลว

ในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม ทำได้โดยแยกเอาแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* (Poinar and Thomas, 1966) ที่ติดอยู่ที่ลำไส้ของไส้เดือนฝอยและต้องอาศัยการเจริญเติบโตแบบซิงกันและกันออก แล้วนำมาเลี้ยงขยายปริมาณเพื่อนำไปผสมในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอย (วัชร และพิมลพร, 2535) โดยการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียมบนฟองน้ำ(อาหารแข็งกึ่งเหลว) มีวิธีการดังนี้

1. เตรียมอาหาร ซึ่งสูตรอาหารที่ใช้จะแตกต่างกันไปตามเทคนิคของผู้ผลิต
2. นำอาหารมาขยำนขึ้นฟองน้ำสังเคราะห์ที่ตัดเป็นชิ้นขนาดลูกเต๋าแล้วนำมาใส่ถุง ปิดปากถุงให้สนิทจากนั้นนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที
3. หลังอบหนึ่งและทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว นำ stock แบคทีเรียที่เตรียมไว้มาหยดให้ทั่ว

4. นำเข้าเก็บที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 1 วันก่อนนำใส่เดือนฝอยลงเลี้ยงในถุง จากนั้นก็รอเก็บผลผลิตซึ่งกระบวนการนี้จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 21 วัน

วิธีการนี้จะให้ผลผลิตใส่เดือนฝอยประมาณ 8-10 ล้านตัว/ 1 ถุงการผลิต มีต้นทุนการผลิตประมาณ 20 บาท/ใส่เดือนฝอย 4 ล้านตัว(1ถุงจำหน่าย) และถึงแม้วิธีการนี้จะให้ผลผลิตดีและมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการเลี้ยงใส่เดือนฝอยจากแมลงอาศัย ซึ่งมีต้นทุนการผลิตประมาณ 36 บาท/ใส่เดือนฝอย 4 ล้านตัว(1ถุงจำหน่าย) แต่มีข้อเสียที่ใช้ระยะเวลาการเก็บเกี่ยวใส่เดือนฝอยนานทำให้มีข้อจำกัดในการผลิตเป็นปริมาณมากเมื่อเทียบเป็นปริมาณผลผลิตต่อเดือน

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณใส่เดือนฝอยในอาหารเทียมแบบอาหารเหลว มีวิธีการดังต่อไปนี้

1. เตรียมอาหารที่ได้รับการพัฒนาสูตรและทดลองมาเรียบร้อยแล้วใส่เดือนฝอยจะมีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและให้ผลผลิตสูง
2. นำอาหารมาใส่ใน Flask ปิดจุกสำลีแล้วหุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียม แล้วนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที
3. หลังอบหนึ่งทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว นำ stock แบคทีเรียที่เตรียมไว้มาหยดลงในขวดเขย่าให้ทั่วแล้วนำไปวางไว้บนเครื่อง Shaker
4. ต้องควบคุมอุณหภูมิในห้อง Shaker ไว้ที่ 25°C ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 วันก่อนนำใส่เดือนฝอยลงเลี้ยงใน Flask จากนั้นก็รอเก็บผลผลิตซึ่งกระบวนการนี้จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 9-10 วัน

วิธีการนี้จะให้ผลผลิตใส่เดือนฝอยประมาณ 3 แสนตัว/1 มล. และมีต้นทุนการผลิตเพียง 7-8 บาท/ใส่เดือนฝอย 4 ล้านตัว(1ถุงจำหน่าย) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเลี้ยงบนอาหารแข็งกึ่งเหลว วิธีการนี้จะให้ผลผลิตดีกว่าและมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่า ปัจจุบันวิธีการยังนี้เป็นที่นิยมนำมาใช้เพื่อเลี้ยงเพิ่มปริมาณใส่เดือนฝอย แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้มีข้อจำกัดทางด้านพื้นที่เพราะต้องใช้ Flask เป็นจำนวนมาก ใช้แรงงานมาก มีความยุ่งยากในการควบคุมคุณภาพการผลิตในแต่ละ Batch นอกจากนี้ยังไม่สามารถเพิ่มปริมาณการผลิตให้ทันกับความต้องการของตลาดในช่วงที่มีหนอนหรือแมลงศัตรูพืชระบาดหนัก

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่า การเลี้ยงเพิ่มปริมาณใส่เดือนฝอยจะให้ผลผลิตดีที่สุดและไม่มีปัญหาเรื่องการควบคุมคุณภาพสามารถทำได้โดยการเลี้ยงแบบใช้อาหารเหลวในถังหมัก (Fermenter) ซึ่งเหมาะในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โดยอาจารย์วัชรวิ สมสุข และคณะได้ทำการทดลองเลี้ยงเพิ่มปริมาณใส่เดือนฝอยโดยใช้อาหารเหลวในถังหมักขนาด 6 ลิตร พบว่าให้ผลผลิตเป็นที่น่าพอใจและมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการเลี้ยงใน Flask โดยวิธีการเลี้ยงเพิ่มปริมาณใส่เดือนฝอยโดยใช้อาหารเหลวในถังหมักขนาด 6 ลิตร มีวิธีการดังต่อไปนี้

1. เตรียมอาหารเหลวที่ได้รับการพัฒนาสูตรและทดลองมาเรียบร้อยแล้วใส่ในถังหมัก
2. นำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที
3. ติดตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดค่า pH และ DO (Dissolved Oxygen) โดยการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในถังหมักนั้น จะไม่มีการควบคุมค่า pH และ DO แต่จะทำการตรวจวัดค่าเพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH และ DO ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาและวิจัยถึงปัจจัยที่อาจมีผลต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในระดับต่อไป
4. นำ stock แบคทีเรียที่เตรียมไว้มาใส่ลงในถังหมักโดยผ่าน Peristaltic Pump ติดตั้งเครื่องหล่อเย็นควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 28°C
5. กวนของผสมด้วยอัตรา 350 rpm และควบคุมให้อากาศไหลเวียนตลอดเวลาโดยจะป้อนอากาศเข้าทางท่อของ Gas Mixture
6. เมื่อทดลองตรวจนับแบคทีเรียในถังหมักได้ปริมาณตามที่ต้องการ นำไส้เดือนฝอยมาใส่ลงในถังหมักโดยผ่าน Peristaltic Pump และปรับลดอุณหภูมิไว้ที่ 25°C
7. รอกเก็บผลผลิตซึ่งกระบวนการนี้จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 7-10 วัน

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในการผลิตระดับอุตสาหกรรมโดยใช้ถังหมัก โดยอาจารย์ วัชรวิทย์ สมสุข และกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรนั้น การเกิดฟองล้นถือเป็นปัญหาสำคัญในการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักเพราะทำให้ Working Volume ของถังหมักลดลงไม่สามารถใช้ถังหมักให้เต็มประสิทธิภาพได้ และเนื่องจากไส้เดือนฝอยเป็นจุลินทรีย์ที่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อสารเคมีได้เร็วมาก ดังนั้นการควบคุมฟองในถังหมักโดยใช้สารกำจัดฟอง (Antifoam) จึงก่อผลกระทบต่อไส้เดือนฝอยระยะต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะโตเต็มวัยจากผลการทดลองใช้สารกำจัดฟองกว่า 5 ชนิด พบว่า ไส้เดือนฝอยชะงักการเจริญเติบโตและไม่สร้างไข่ถึงแม้ว่าจะใช้สารนั้นๆตามอัตราแนะนำต่ำสุดแล้วก็ตาม ดังนั้นการลดฟองในถังหมักเพื่อลดการสูญเสียอาหารและผลผลิตจึงควรทดลองใช้วิธีทางกลเช่น การออกแบบและเลือกใช้ใบพัดกวนให้มีลักษณะที่เหมาะสม โดยใบพัดกวนดังกล่าวต้องมีคุณสมบัติเด่นคือ สามารถกวนอาหารให้เข้ากันได้ดี ละลายออกซิเจนให้เข้ากับอาหารได้สูง เพื่อลดปริมาณการให้อากาศกับถังหมักที่ความเร็วในการกวนไม่เกิน 400 รอบ/นาที จึงจะสามารถลดฟองในถังหมักลงได้

2. การพัฒนาถังหมักในระดับอุตสาหกรรม

การจะสร้างหรือออกแบบถังหมักเพื่อใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์ใดๆนั้น งานวิจัยหลายชิ้น (J.Y. Oldshue et al, 1978; J.Y. Oldshue et al, 1983; M. Schutte et al, 1992; P. Kaufman et al, 1997; T.A. Post, 1998; R.Carranza, 2000) แสดงให้เห็นว่าการหมักผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกันตัวถังหมักจะมีลักษณะ

ทางกล (Mechanical Design) และปัจจัยเหมาะสม (Optimal Parameters) ที่เป็นตัวควบคุมกระบวนการหมักให้ได้ผลผลิตสูงสุด (Maximum Yield) แตกต่างกันไปซึ่งโดยทั่วไปได้แก่ อัตราการถ่ายโอนของมวลและความร้อน (Mass and Heat Transfer) อัตราการถ่ายโอนของออกซิเจน (Oxygen Transfer Rate) การละลายกลับของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในถังหมัก (Carbon Dioxide Resorption) การกระจายตัวของชีวมลในของเหลว (Solids Suspension) และแรงเฉือนของของเหลว (Fluid Shear Rate) โดยปัจจัยที่กล่าวมาจะขึ้นอยู่กับรูปแบบการไหลในถังหมัก (Flow Patterns) ซึ่งสามารถปรับเปลี่ยนได้ตามชนิดของใบกวน (Impeller Type) ขนาดของใบกวน (Impeller Size) ความเร็วรอบของการกวน (RPM) อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (D/T) จำนวนและระยะการติดตั้งใบกวน อัตราส่วนความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (Z/T)

อัตราการถ่ายโอนของมวลและความร้อน (Mass and Heat Transfer)

อัตราการถ่ายโอนมวลระหว่างสาร (Mass Transfer Rate) ในถังหมักจะเป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญเติบโต (ปฏิกิริยา) ของสารชีวมลเพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตสูงสุด (Maximum Yield) อย่างไรก็ตามค่า maximum yield จะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ (Variable) อื่นๆของถังหมักด้วย J.Y. Oldshue พบว่าถังหมักที่ดูภายนอกคล้ายกันจะมีรายละเอียดขององค์ประกอบที่แตกต่างกันเสมอ ถังหมักที่มีอัตราการถ่ายโอนมวลระหว่างสารเท่ากันจะให้ปริมาณผลผลิตต่างกันถ้าองค์ประกอบอื่นๆของถังหมักแตกต่างกันออกไป (J.Y. Oldshue et al, 1978)

อัตราการถ่ายโอนความร้อน (Heat Transfer) เกิดจากปฏิกิริยาการเจริญเติบโต (Cell Metabolism) ที่เกิดขึ้นในถังและแรงเฉือนของของเหลว (Fluid Shear Rate) กับใบกวนเมื่อกระบวนการหมักผ่านไประยะหนึ่งความหนืดของของเหลวจะเพิ่มขึ้นส่งผลให้แรงเฉือนของของเหลวในถังหมักมีค่าเพิ่มขึ้นและเปลี่ยนไปเป็นพลังงานความร้อน (M. Schutte et al, 1992; P. Kaufman et al, 1997) ดังนั้นถังหมักที่ดีจะต้องมีระบบที่สามารถควบคุมอุณหภูมิให้คงที่และมีความเหมาะสมอยู่เสมอได้

อัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสู่ของเหลว (Gas-Liquid Oxygen Transfer)

อัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสู่ของเหลว (Gas-Liquid Oxygen Transfer) มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของชีวมล (Micro-organisms) โดยทำให้ค่า Maximum yield เปลี่ยนแปลงไปแล้วส่งผลกระทบต่อ Ultimate total yield ที่ได้ในแต่ละ batch โดยทั่วไปถังหมักจะต้องมีอัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสู่ของเหลวสูงกว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของชีวมล (Oxygen Uptake Rate) อยู่เสมอ (J.Y. Oldshue et al, 1978; J.Y. Oldshue et al, 1983; M. Schutte et al, 1992)

อัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสู่ของเหลวสามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยการควบคุมรูปแบบการไหล (Flow Pattern) ปรับความเร็วรอบของใบกวน และอัตราส่วนกำลังของใบกวนต่ออัตรา

การป้อนออกซิเจน (Mixer H.P.: Gas Rate) (J.Y. Oldshue et al, 1978; M. Schutte et al, 1992) ถ้าอัตราส่วน Mixer H.P.: Gas Rate มีค่าเพิ่มขึ้น อัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสู่ของเหลวจะเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การกำหนดอัตราส่วนที่เหมาะสมของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (D/T) จะมีช่วงกว้างขึ้นซึ่งทำให้ง่ายต่อการการออกแบบ อย่างไรก็ตามแรงเฉือนของของเหลวในถังหมักจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเร็วรอบของใบกวนด้วยซึ่งหากชีวโมเลกุลที่ทำการหมักเป็นชนิดที่มีความอ่อนไหวต่อแรงเฉือนก็จะทำให้ปริมาณผลผลิตต่อ Batch ลดลง (J.Y. Oldshue et al, 1978)

เพื่อควบคุมรูปแบบการไหลวนในถังหมักให้ได้ผลผลิตสูงสุด การพัฒนาเริ่มจากการทดลองใช้อากาศผ่านเข้าไปในถังเพียงอย่างเดียว (Air Agitation) โดยยังไม่มี baffles ใบกวน หรือองค์ประกอบอื่นร่วมด้วย การเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสามารถทำได้โดยการพ่นอากาศผ่านเข้าทางด้านล่างของถัง (Sparging Air) หรือใช้ ท่อชักนำการไหล (Draft Tube) (J.Y. Oldshue et al, 1983) รายงานของ Robinson และ Moo-Young แสดงให้เห็นว่า ที่อัตราการป้อนอากาศเท่ากัน ระบบที่ใช้ใบกวนร่วมด้วยจะให้อัตราการถ่ายโอนมวล (Mass Transfer Rate) ดีกว่าระบบที่ป้อนอากาศเพียงอย่างเดียว การควบคุมการไหลวนโดยการป้อนอากาศเพียงอย่างเดียวสามารถทำได้หากกระบวนการหมักไม่ต้องการออกซิเจนมากนัก (low Uptake Rate) นอกจากนั้นการป้อนอากาศเพียงอย่างเดียวยังไม่มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการผสม (Blending) การกระจายตัวของชีวโมเลกุลในของเหลว (Solids Suspension) และการถ่ายโอนของความร้อน (Heat Transfer) ดังนั้นการใช้ใบกวนในระบบจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง (Robinson และ Moo-Young, 1982)

แรงเฉือนของของเหลว (Fluid Shear Rate)

เมื่อกระบวนการหมักผ่านไประยะหนึ่งความหนืดของของเหลว (Relative Viscosity) จะเพิ่มขึ้นส่งผลให้แรงเฉือนของของเหลว (Fluid Shear Rate) ในถังหมักมีค่าเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการถ่ายโอนมวลของออกซิเจนสู่ของเหลวจะลดลง และหากชีวโมเลกุลที่ทำการหมักเป็นชนิดที่มีความอ่อนไหวต่อแรงเฉือนก็จะทำให้ปริมาณผลผลิตต่อ Batch ลดลง Oldshue et al ทดลองแก้ไขโดยการปรับค่าอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (D/T) เพื่อให้แรงเฉือนลดลงผลปรากฏว่าสามารถเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นและมีต้นทุนการผลิตต่อหน่วยน้ำหนักของผลผลิตต่ำลง นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการเปลี่ยน D/T ในถังหมักที่ทำการทดลองไม่เป็น function หรือมีอัตราส่วนที่มีความสัมพันธ์เมื่อปริมาตรถังหมักเพิ่มขึ้น (Scale Up) (การเพิ่มปริมาตรถังหมักจะทำให้อัตราส่วนความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (Z/T) ที่เหมาะสมเปลี่ยนแปลงไป ปัจจุบันจะออกแบบอยู่ในช่วง 2:1 – 4:1 ถ้าเป็น air lift fermenter อัตราส่วนอาจสูงได้ถึง 10:1 (P. Kaufman et al, 1997; T.A. Post, 1998)) ดังนั้นในการออกแบบถังหมักที่มีปริมาตรเพิ่มขึ้นจะต้องมีความระมัดระวังต่ออัตราส่วนของ Variable ต่างๆอยู่เสมอ (J.Y. Oldshue et al, 1978)

ในปี 1983, J.Y. Oldshue et al, แสดงให้เห็นเพิ่มเติมอีกว่า ขนาดของใบกวนจะต้องใหญ่พอที่จะเอาชนะแรงเสียดทานในถังและสามารถทำให้เกิดการถ่ายโอนมวลที่ดีเมื่อความหนืดของของเหลวเพิ่มสูงขึ้น ความเร็วรอบของใบกวนควรจะสามารถปรับเปลี่ยนได้ (เป็นแบบ two-speed motor) โดยที่เวลาเริ่มต้นของกระบวนการหมักจะใช้ความเร็วรอบต่ำ แล้วเพิ่มความเร็วรอบขึ้นเมื่อความหนืดเพิ่มขึ้น ระบบนี้จะให้ปริมาณผลผลิต (Maximum Yield) สูงกว่าระบบที่ใช้ความเร็วรอบของใบกวนคงที่ตลอดกระบวนการหมัก (J.Y. Oldshue et al, 1983)

การกวนและเทคโนโลยีในการออกแบบใบกวน (Mixing Process and Impeller Technology)

นอกเหนือจากการปรับเปลี่ยนความเร็วรอบและเพิ่มกำลังของใบกวนแล้ว การเพิ่มจำนวนใบกวน (Impellers Number) จำนวนของใบพัด (Blades Number) ขนาดของใบกวน (Impeller Size) และระยะการติดตั้งใบกวน (Spacing of Impellers) ก็มีส่วนช่วยในการปรับเปลี่ยนรูปแบบการไหลได้ (M. Schutte et al, 1992; P. Kaufman et al, 1997; T.A. Post, 1998; R.Carranza, 2000)

โดยทั่วไปใบกวนแบ่งได้เป็นสองชนิด คือ

1.) ใบกวนให้ของไหลไหลในแนวแกน (Axial-Flow Impeller) จะเป็นแบบให้กระแสของของไหลไหลในแนวนานกับแกนของใบกวน ใบกวนชนิดนี้ที่ใช้กันมากได้แก่

- Propeller ความเร็วรอบจะสูง เหมาะกับของเหลวที่มีความหนืดต่ำ กระแสการไหลจะเป็นคอลัมน์หมุนวนปั่นป่วน (Turbulent Swirling Column) หรือหมุนเป็นเกลียว(Helix) ออกจากใบพัด

2.) ใบกวนให้ของไหลไหลในแนวรัศมี (Radial-Flow Impeller) เป็นใบกวนแบบที่ก่อให้เกิดกระแสในแนวสัมผัส (Tangential) และแนวรัศมี(Radial) ใบกวนชนิดนี้ได้แก่

- Paddle ลักษณะประกอบด้วยใบพัดเป็นแผ่นแบนวางในแนวตั้ง หมุนด้วยความเร็วรอบต่ำของเหลวจะเคลื่อนในแนวรัศมีและแนวสัมผัสเท่านั้น ไม่มีการเคลื่อนที่ในแนวตั้งยกเว้นจะออกแบบใบกวนให้มีลักษณะเอียง

- Turbine มีลักษณะคล้ายกับ Paddle แต่มีจำนวนใบมากกว่า มีขนาดสั้นกว่า หมุนด้วยความเร็วสูง ให้กระแสของของเหลวจะไหลในแนวรัศมีและแนวสัมผัส ใช้ได้ดีกับของเหลวที่มีความหนืดช่วงกว้างๆ

ในช่วงเริ่มต้นของการศึกษาออกแบบการผสม (Mixing) ในถังหมักนักวิจัยพบว่า ความเร็วแบบรัศมีและตามแนวแกนจะมีประโยชน์มากและจำเป็นในการผสมทำให้ของเหลวผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ใบกวนที่นิยมใช้กันมากจึงเป็นแบบที่ให้ความเร็วตามแนวรัศมี (Radial Flow Flat Blade Impeller) เนื่องจากให้อัตราการถ่ายโอนมวลและการกระจายตัวของออกซิเจนสูง (M. Schutte et al, 1992; P. Kaufman et al, 1997; T.A. Post, 1998) ส่วนความเร็วในแนวสัมผัสไม่ค่อยมีประโยชน์และ

จะชักนำให้เกิดปรากฏการณ์การไหลวนที่ผิวของของเหลว (Vortex) ซึ่งหากมีอนุภาคของแข็ง หรือ อนุภาคนาโนขนาดเล็ก และถึงมีขนาดใหญ่ อนุภาคจะถูกเหวี่ยงออกไปโดยแรงหมุนเหวี่ยง (Centrifugal) และตกอยู่ได้ขอบถังในบริเวณที่ของเหลวไหลวนไปไม่ถึง (Death Zone) ก่อให้เกิดการรวมกัน (Coagulation) แทนที่จะเสริมการผสม ซึ่งปรากฏการณ์การหมุนวนสามารถป้องกันได้โดยการติดตั้ง baffles หรือ ท่อชักนำการไหล (Draft Tube) ซึ่งมีข้อดีคือทำให้แรงเฉือนของของเหลวในถังหมักมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย (W.L. McCabe, 1993)

เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างใบกวนที่ให้ความเร็วตามแนวรัศมี (Radial Flow) และใบกวนที่ให้ความเร็วตามแนวแกน (Axial Flow) พบว่าใบกวนที่ให้ความเร็วตามแนวรัศมีจะมีค่าแรงเฉือนของของเหลวสูงสุด (Maximum Shear Rate) สูงขึ้นตามปริมาตรของถังหมักที่เพิ่มขึ้น (Scale Up) แต่แรงเฉือนของของเหลวในถังที่มีปริมาตรเพิ่มขึ้นจะลดลงถ้าใช้ใบกวนที่ให้ความเร็วตามแนวแกน ดังนั้นสำหรับชีวโมเลกุลที่มีความอ่อนไหวต่อแรงเฉือนถังหมักที่ใช้ใบกวนตามแนวแกนจะให้ผลผลิตที่ดีกว่า (P. Kaufman et al, 1997) นอกจากนี้ในถังขนาดใหญ่ที่ติดตั้งใบกวนมากกว่าหนึ่งใบ การเลือกใช้ใบกวนทั้งทางด้านบน (Upper Impeller) และทางด้านล่าง (Bottom Impeller) เป็นใบกวนตามแนวรัศมี (Radial Flow Flat Blade Impeller) ยังมีข้อดีเนื่องจากใบกวนทางด้านล่างมีหน้าที่ลดขนาดของฟองอากาศ (Air Bubbles) ที่ป้อนเข้ามาทางด้านล่างของถังเพื่อเพิ่มพื้นที่สัมผัสแล้วการกระจายอากาศออก ในขณะที่ใบกวนทางด้านบนจะไม่สามารถลดขนาดของฟองอากาศได้อีกแต่จะทำหน้าที่ควบคุมการไหลวนภายในถังให้มีการผสม (Blending) ได้ดียิ่งขึ้นซึ่งไม่เหมาะกับการเลือกใช้ใบกวนตามแนวรัศมีเนื่องจากจะทำให้ของเหลวเกิดการไหลวนเป็นชั้น อัตราการผสมและการกระจายตัวของออกซิเจนต่ำลง ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักแต่ละ batch จะนานขึ้น (M. Schutte et al, 1992; P. Kaufman et al, 1997; T.A. Post, 1998)

การแก้ไขสามารถทำได้โดยการใช้ใบกวนทางด้านบนเป็นแบบที่ให้ความเร็วตามแนวแกนประสิทธิภาพสูง (High Efficiency Axial Flow Impeller) ใบกวนชนิดนี้จะผลักของเหลวให้ไหลวนลงด้านล่างทำให้การผสมมีประสิทธิภาพดีขึ้น อัตราการเกิดผลผลิตสูงขึ้น หรืออาจเลือกใช้ Hydrofoil Impeller ซึ่งถูกออกแบบให้มีมุมการวางของใบพัดและมีขนาดของใบต่อพื้นที่กวาดใบสูง ใบกวนชนิดนี้นอกจากจะทำให้การผสมมีประสิทธิภาพดีขึ้นแล้วยังมีอัตราการกระจายออกซิเจนสูงกว่า High Efficiency Axial Flow Impeller (P. Kaufman et al, 1997; T.A. Post, 1998) อย่างไรก็ตามการจะเลือกใช้ใบกวนจะต้องมีความระมัดระวังและขึ้นอยู่กับชีวโมเลกุลที่ทำการหมักรวมทั้งองค์ประกอบอื่น ๆ อีกด้วย การเลือกใช้ใบกวนที่แตกต่างกันและมีองค์ประกอบอื่น ๆ แตกต่างกัน อาจจะทำให้ปริมาณผลผลิตที่ใกล้เคียงกันก็ได้ (M. Schutte et al, 1992; P. Kaufman et al, 1997)

ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าการจะสร้างหรือออกแบบถังหมักเพื่อใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์ใด ๆ นั้น ลักษณะทางกลของถังหมักและปัจจัยเหมาะสมที่เป็นตัวควบคุมกระบวนการหมักให้ได้

ผลผลิตสูงสุด (Maximum Yield) จะมีความแตกต่างกันออกไป การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในระดับอุตสาหกรรมโดยใช้ถังหมัก (Fermentor) นั้น ตัวถังหมักยังต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงและถูกออกแบบมาเพื่อใช้กับการหมักโดยทั่วไป มิได้มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงผลิตภัณฑ์ใดๆ โดยเฉพาะ ถังหมักขนาด 6 ลิตร มีราคาสูงถึง 4 ล้านบาท อีกทั้งถังหมักที่นำเข้าจากต่างประเทศมักมีอุปกรณ์เกินกว่าความจำเป็นในการนำมาใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอย (pH and DO controller) นอกจากนี้ยังไม่สามารถจัดปัญหาการเกิดฟองที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิตซึ่งทำให้ Working volume ของถังหมักลดลง ไม่สามารถใช้ถังหมักให้เต็มประสิทธิภาพได้

หากประเทศไทยมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาจนสามารถออกแบบและผลิตถังหมักให้มีราคาถูก มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย ตลอดจนสามารถแก้ไขปัญหาการเกิดฟองในกระบวนการผลิตทำให้สามารถใช้ถังหมักให้เต็มประสิทธิภาพได้ ก็จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อทั้งภาคอุตสาหกรรมและภาคเกษตรกรรม

งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนา ออกแบบและสร้างถังหมักขนาด 100 ลิตรสำหรับใช้ในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *Steinemema carpopapseae* ในระดับอุตสาหกรรมโดยใช้อาหารเหลว โดยถังหมักจะถูกออกแบบและพัฒนาให้มีความเหมาะสมในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย และแก้ไขปัญหาการเกิดฟองในกระบวนการผลิตดังนี้

1. ระบบการฆ่าเชื้อ (Sterilization) ในถังหมักขนาด 100 ลิตรจะใช้ Steam Generator แบบ In-situ แทนการอบฆ่าเชื้อที่ใช้กันอยู่เดิมในถังหมักขนาด 6 ลิตร ซึ่งการใช้ Steam Generator จะมีความสะดวกและรวดเร็วกว่าเพราะจะไม่มีการเคลื่อนย้ายถังหมัก นอกจากนี้ยังไม่จำเป็นต้องถอดและประกอบอุปกรณ์ทุกครั้งเมื่อต้องการทำความสะอาดถังหมัก
2. ลักษณะทางกล (Mechanical Design) และระบบการกวน (Agitation) ภายในถังจะถูกออกแบบให้มีความเหมาะสมต่อการกระจายตัวของออกซิเจนและอัตราการถ่ายโอนของมวล เพื่อควบคุมกระบวนการหมักให้ได้ผลผลิตต่อ Batch สูงสุด (Maximum Yield)
3. ทดลองขจัดปัญหาการเกิดฟองที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิตโดยใช้เทคนิค Up-Pumping หรือออกแบบถังหมักให้มีใบกวนทางด้านบนสุดของถัง ทำให้ค่า Working volume ของถังหมักมีปริมาณเพิ่มขึ้นสามารถใช้ถังหมักให้เต็มประสิทธิภาพได้
4. มีระบบการควบคุมความเร็วของใบกวน (Motor Speed Controller) เพื่อควบคุมให้ความเร็วรอบสัมพันธ์กับความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาการหมัก และสัมพันธ์กับระดับของเหลวในถัง
5. ถังหมักด้านนอกมีลักษณะเป็น jacket มีน้ำหล่อเย็น (Refrigeration System) และระบบการควบคุมอุณหภูมิ (Temperature Control System) สามารถปรับและควบคุมอุณหภูมิภายใน

ถึงหมักให้มีความเหมาะสมทั้งในระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยได้

6. มี computer software เชื่อมต่อกับ pH และ DO indicator ทำการบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงค่า pH และ DO เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาถึงปัจจัยที่อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยในระดับต่อไป
7. หากโครงการนี้ประสบผลสำเร็จ ในอนาคตอาจมีการพัฒนาสร้างถังปั่นแยกและชั้นถาดกรอง สำหรับกระบวนการล้างและกรองเพื่อเก็บผลผลิตไส้เดือนฝอยซึ่งทำให้กระบวนการล้างและกรองมีความสะดวก ลดระยะเวลาในการล้างกรองสามารถรองรับปริมาณการผลิตให้ทันกับความต้องการของตลาดได้

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อการพัฒนา และออกแบบสร้างถังหมัก (Fermenter) ขนาดบรรจุ 100 ลิตร สำหรับการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* ในระดับอุตสาหกรรมโดยใช้อาหารเหลว
2. เพื่อศึกษาและแก้ไขปัญหาการเกิดฟองในกระบวนการผลิตทำให้สามารถใช้ถังหมักได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ
3. เพื่อทดแทนการนำเข้าถังหมักจากต่างประเทศ ทั้งยังเป็นการสนับสนุนผู้ประกอบการในภาคอุตสาหกรรม

1.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

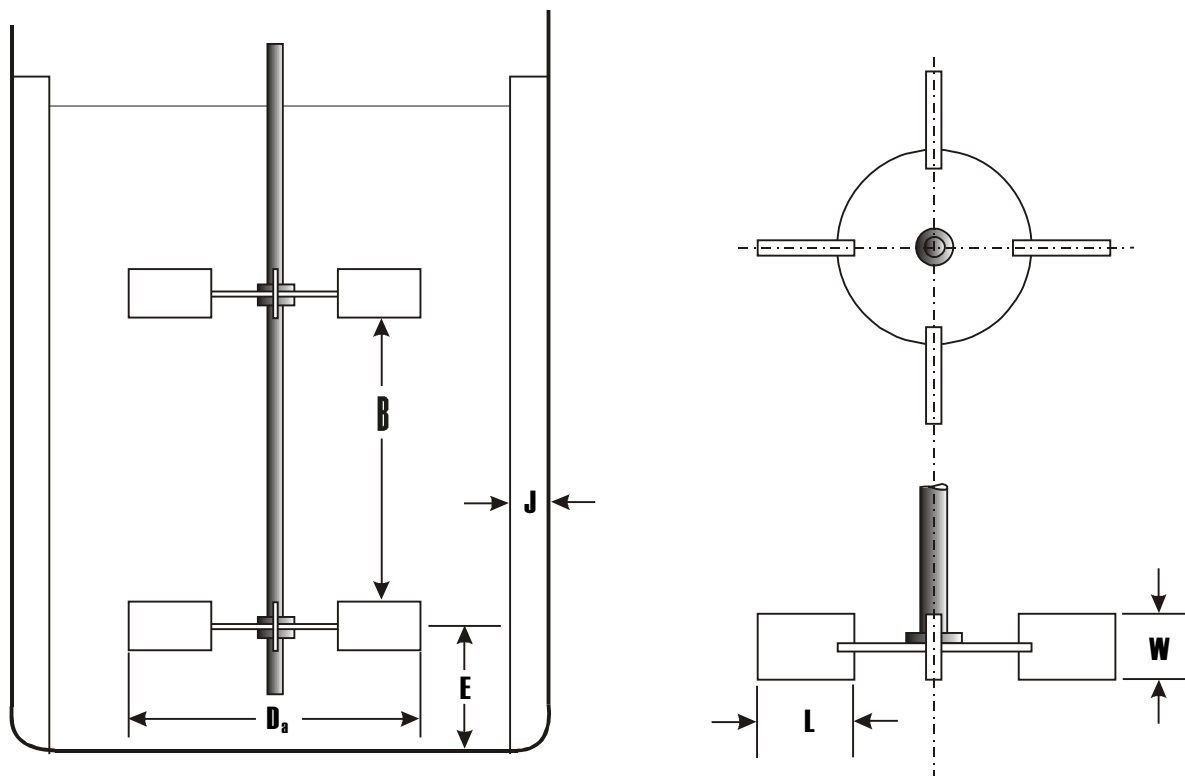
1. สืบค้นและศึกษาเอกสารอ้างอิงที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย ได้แก่ หนังสือ และสิ่งตีพิมพ์ทางวิชาการทั้งในและต่างประเทศ
2. ศึกษากระบวนการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยโดยใช้อาหารเหลวในถังหมักขนาด 6 ลิตรอย่างละเอียด ทั้งการเตรียมอาหาร การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย และการเตรียมไส้เดือนฝอยเพื่อใช้เป็นต้นแบบในการเลี้ยงในถังหมักขนาด 100 ลิตร
3. ออกแบบและสร้างถังหมัก ขนาด 100 ลิตร โดยมีปัจจัยที่ต้องทำการศึกษาดังต่อไปนี้

3.1 ชนิดของใบกวน (Impellers)

- Radial Flow Flat Blade Impeller
- High Efficiency Axial Flow Impeller

- Hydrofoil Impeller

3.2 ระยะการติดตั้งของใบกวน



3.3 เทคนิคการจัดปัญหาการเกิดฟองที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิต

- 1) ออกแบบและใช้เทคนิคการติดตั้ง Hydrofoil Impeller ในลักษณะผลักของเหลวให้มีการไหลวนขึ้นทางด้านบนของถัง (Up-Pumping) วิธีการนี้จะป้องกันปรากฏการณ์รวมตัวกันของฟองขนาดเล็กให้มีขนาดใหญ่ขึ้น (Coalescence) (P. Kaufman et al, 1997; P. Kaufman et al, 1998)
- 2) ติดตั้งใบกวน (Paddle หรือ Turbine) สำหรับกวาดหรือตีฟองทางด้านบนของถังหมัก หรืออาจใช้ใบกวนเป็นซิลิโคนแบบเส้นเพื่อตีฟองทางด้านบนของถังหมักให้แตก การใช้ใบกวนเป็นซิลิโคนแบบเส้นมีข้อดีที่จะไม่รบกวนรูปแบบการไหลในถังกวนเมื่อใช้ความเร็วรอบสูง

3.4 การป้องกันการปรากฏการณ์การหมุนวน(Prevention of Swirling)

โดยการติดตั้ง Baffles เพื่อกำจัดการไหลในแนวสัมผัส ลักษณะของ baffles จะเป็นแผ่นตั้งในแนวตั้งติดให้ตั้งฉากกับผนังของถัง ขนาดและจำนวนของ baffles จะมีผลต่อรูปแบบการไหลในถังกวน

4. ทดลองเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยโดยใช้อาหารเหลือในถังหมักขนาด 100 ลิตรที่สร้าง
ขึ้น
 5. สรุปผลและเขียนรายงานการวิจัย
- สถานที่ศึกษา
1. กรมวิชาการเกษตร บางเขน
 2. บริษัท ยูนิซีดีส์ จำกัด
 3. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการวิจัย

- 1 เป็นการเริ่มต้นการพัฒนาโครงการวิจัยออกแบบและสร้างเครื่อง FERMENTER สำหรับการผลิตเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่มีประโยชน์ต่อภาคเกษตรกรรมในระดับอุตสาหกรรม โดยวิธีการหมัก
- 2 ได้เทคนิควิธีการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* ที่มีความสามารถในการควบคุมศัตรูพืชสามารถป้องกันกำจัดหนอนและแมลงได้หลายชนิด เช่น หนอนกินได้ผิวเปลือกกลองกอง ตัวอ่อนด้วงหมัดผักในหัวผักกาด ด้วงวงวงมันเทศ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง เบญจมาศ หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก เป็นต้น เพื่อเผยแพร่แก่เกษตรกร และผู้ประกอบการที่สนใจ
- 3 ได้พัฒนาดังหมัก (Fermenter) สำหรับเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* ที่ใช้ควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพ ให้มีราคาถูกลง และมีค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงต่ำ
- 4 ได้ตั้งหมักต้นแบบสำหรับเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* ที่ใช้ควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพ และเผยแพร่แก่เกษตรกรและผู้ประกอบการที่สนใจลงทุน
- 5 ได้ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการควบคุมศัตรูพืชของเกษตรกรโดยใช้วิธีการทางชีวภาพ
- 6 สามารถนำเทคนิควิธีการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinemema carpocapsae* และถังหมักที่ได้พัฒนาขึ้นไปใช้ในการออกแบบและพัฒนาถังหมักเพื่อผลิตเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ปุ๋ยน้ำชีวภาพจากอินทรีย์วัตถุทางการเกษตรและอุตสาหกรรม เพื่อประโยชน์แก่เกษตรกรอีกด้วย

- เดือนที่ 1-6
- เสร็จสิ้นการศึกษากระบวนการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย
 - เสร็จสิ้นการออกแบบและคำนวณรายละเอียดทางกลของถังหมัก

บทที่ 2

ไส้เดือนฝอยและวิธีการทดลอง การศึกษาการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย โดยใช้อาหารเหลวในถังหมักขนาด 6 ลิตร

2.1 ไส้เดือนฝอยและวงจรชีวิต

2.1.1 ชีวิตวิทยาของไส้เดือนฝอย

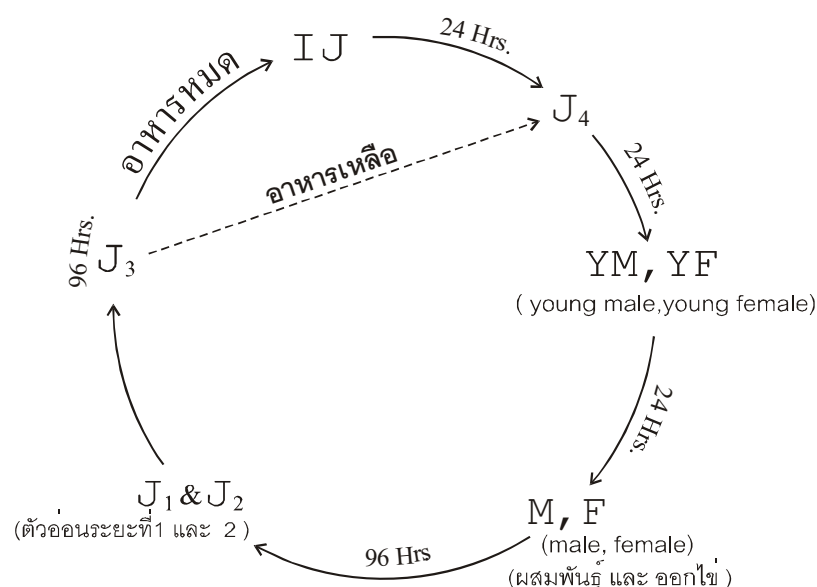
ไส้เดือนฝอย *Steinernema Carpocapsae* เป็นไส้เดือนฝอยที่ทำให้เกิดโรคกับแมลงหลายชนิด และมีลักษณะเด่นตรงที่ไม่มีอันตรายต่อมนุษย์หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งถือเป็นสิ่งดึงดูดใจให้นำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทางชีววิทยาทดแทนการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและยังเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและเกษตรกรผู้ใช้ ไส้เดือนฝอย *Steinernema Carpocapsae* จัดอยู่ใน ไฟล์ม นิมาโทด (Phylum Nematoda) วงศ์ Steinernematidae ปกติจะเฉพาะเจาะจงอยู่ร่วมกับ Symbiotic Bacteria ที่มีชื่อว่า *Xenorhabdus nematophilus* จัดเป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นรูป rod shape ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีระยะต้านทาน (Resistant stage) จึงไม่สามารถดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมในธรรมชาติทั่วไปได้ ปกติจะพบแบคทีเรียชนิดนี้จะอาศัยอยู่ในผนังลำไส้ของไส้เดือนฝอยวงศ์ Steinernematidae เท่านั้น (วัชรวิ, 2533; วิไลวรรณ, 2540) ความสัมพันธ์ของแบคทีเรียกับไส้เดือนฝอยจะเป็นแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน กล่าวคือไส้เดือนฝอยทำหน้าที่ช่วยป้องกันอันตรายและเป็นพาหะพาแบคทีเรียเข้าสู่ตัวแมลง ในขณะที่แบคทีเรียทำหน้าที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่อาศัยอยู่ในช่องว่างลำตัวแมลง และเป็นแหล่งธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการสืบพันธุ์ของไส้เดือนฝอย (Akhurst, 1983; Poinar and Thomas, 1966)

2.1.2 วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย

ลักษณะวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Steinernema Carpocapsae* จะประกอบด้วยระยะตัวอ่อน (Juvenile) ซึ่งมีทั้งหมด 4 ระยะ (J1 – J4) ระยะตัวเต็มวัยเพศผู้ และเพศเมีย (Adult) ซึ่งไส้เดือนฝอยระยะนี้จะผสมพันธุ์ และวางไข่ จากนั้นจะฟักเป็นตัวอ่อนตามลำดับ สำหรับระยะเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยจะเป็นตัวอ่อนวัยที่ 3 (J3) เรียกไส้เดือนฝอยระยะนี้ว่า Infective Juvenile หรือระยะ IJ ไส้เดือนฝอยระยะนี้จะมีการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาให้มีความสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้เป็นอย่างดีจนรอเข้าทำลายแมลงที่อาศัย (วิไลวรรณ, 2540) นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophilus* ซึ่งปกติจะต้องอาศัยอยู่ในลำไส้ของไส้เดือนฝอยและรอให้ไส้เดือนฝอยเป็นตัวพาหะนำเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายแมลงที่อาศัยก็จะมีคุณสมบัติทางสรีรวิทยาโดย

ธรรมชาติที่พิเศษกว่าระยะอื่นๆเช่นกัน โดยแบคทีเรียในระยะนี้จะมีความสามารถทนอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นานแม้จะไม่มีแมลงอาศัยถ้ามีสภาพอากาศและความชื้นที่เหมาะสม (วัชรวิ, 2538)

สำหรับการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตรนั้น สามารถอธิบายวงจรชีวิตได้ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตไส้เดือนฝอย *Steinernema Carpocapsae* สำหรับการเลี้ยงขยายพันธุ์ในถังหมักขนาด 6 ลิตร

ไส้เดือนฝอยในวัย Infective Juvenile (IJ) ซึ่งเป็นวัยที่มีความสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อม และถือเป็นวัยที่มีความแข็งแรงมากที่สุดจะถูกนำมา Inoculate ใส่ลงในถังหมัก ไส้เดือนฝอยระยะ IJ จะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 4 (J4) ภายใน 24 ชั่วโมง และพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย (Male, Female) ภายใน 48 ชั่วโมง ตัวเต็มวัยจะเริ่มผสมพันธุ์และสร้างไข่ โดยไข่จะฟักเป็นตัวอ่อนภายในเวลา 24 ชั่วโมง ได้ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนซึ่งจะพัฒนาเข้าสู่ตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 (J1 และ J2) ในเวลา 96 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยระยะ J1 และ J2 จะพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 (J3) จนกระทั่งเป็น Infective Juvenile ตั้งแต่ 90% ขึ้นไปใช้ระยะเวลาประมาณ 96 ชั่วโมง การพัฒนาของไส้เดือนฝอยจากระยะ J3 ไปเป็น IJ นั้นมีความสำคัญมากเพราะการเตรียมอาหารนั้นจะต้องมีการคำนวณให้อาหารหมดในระยะนี้พอดี เมื่ออาหารหมดไส้เดือนฝอยจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ IJ คือปากและทวารของไส้เดือนฝอยจะปิด การทำงานของระบบย่อยอาหารจะลดลง และจะมีการสะสมสารอาหารไว้ในร่างกายบริเวณ hypodermal glands และ intestinal cell (Poinar and Himsworth, 1967) ทำให้ไส้เดือนฝอยในระยะนี้มี

ความแข็งแรงและอดทนต่อสภาพแวดล้อมมากกว่าปกติ สามารถนำมาเลี้ยงกรองและบรรจุในฟองน้ำส่งขายให้แก่เกษตรกรได้ แต่ถ้าหากเมื่อถึงระยะนี้แล้วอาหารในถังที่ใช้เลี้ยงยังไม่หมดไส้เดือนฝอยจะพัฒนาเข้าสู่ระยะ J4 และเข้าสู่วงจรชีวิตระยะอื่นๆต่อไป ซึ่งไส้เดือนฝอยที่นอกเหนือจากระยะ II จะไม่สามารถนำมาบรรจุขายให้แก่เกษตรกรได้เนื่องจากมีความอดทนต่ำไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้

2.2 การศึกษาลักษณะของไบโวกวที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตร

2.2.1 วัสดุ อุปกรณ์

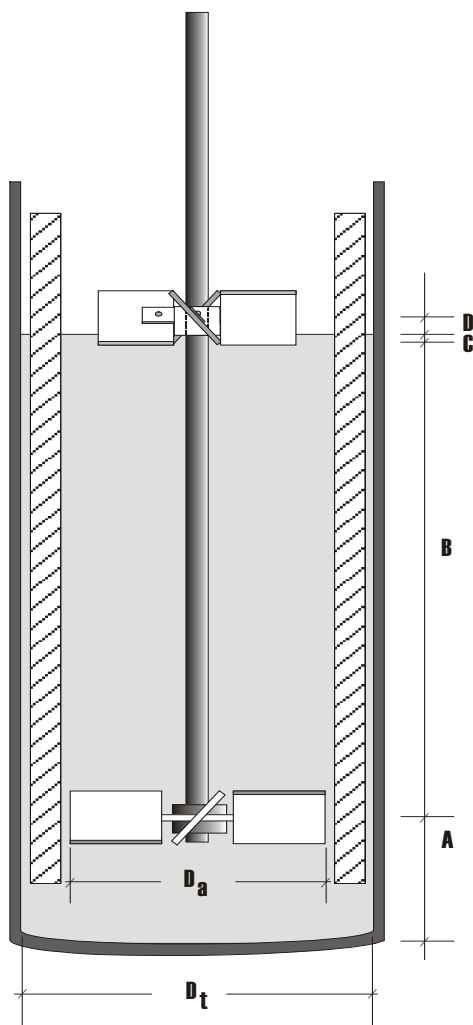
- ชุดทดลองการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตร จำนวน 2 ชุด สำหรับไบโอดแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) 1 ชุด และไบโอดทดลอง 1 ชุด ซึ่งประกอบไปด้วย;
 - control unit
 - cooling unit
 - culture vessels
 - gasmix unit
 - air pump
- ไบโอดกวน 4 แบบ และไบโอดสำหรับตีฟองทำด้วยซิลิโคน 1 แบบ (ตารางที่ 2.1)
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Tsb₃ NBTA และ YS broth
- สารเคมีต่างๆ ได้แก่;
 - คลอโรกซ์ 0.1%
 - โซเดียม 0.1%
 - ฟอรั่มาลีน 0.1% และ
 - แอลกอฮอล์ 75%
- ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* พ่อแม่พันธุ์ระยะ II
- แบคทีเรีย *X. nematophilus*
- หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*
- อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ สำลี ทรายอูมินัม ปากคีบ ถาดสำหรับทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง

2.2.2 ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

- ศึกษาลักษณะการกวนเบื้องต้นของใบพัดกวนแบบต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร Tsb₃ เพื่อคัดเลือกหาใบพัดที่มีความเหมาะสม ก่อนนำไปทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตร (Pre-Experiment) โดยใบพัดที่ดีจะต้องมีลักษณะดังนี้
 - สามารถกวนอาหารให้เข้ากันได้ดี
 - สามารถละลายออกซิเจนให้เข้ากับอาหารได้สูง ในช่วงความเร็วในการกวน 400 รอบ/นาที
 - สามารถลดฟองได้เมื่อให้อากาศกับถังหมักในอัตราสูงสุดที่ 8 ลิตร/นาที
- นำใบพัดกวนที่คัดเลือกได้จากข้อ 1 มาใช้ทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตร โดยเตรียมปริมาณอาหารขนาด 3 ลิตร ทำการติดตั้งใบพัดแบบต่างๆ และใบพัดแบบดีฟอง (Silicone) เข้าด้วยกัน โดยจะติดใบพัดกวนทางด้านล่างของถังและใบพัดแบบใช้ดีฟองอยู่ด้านบนให้ขอบใบพัดด้านล่างของใบพัดดีฟองสัมผัสกับผิวหน้าของอาหารพอดี (ขอบใบพัดจมอยู่ในอาหารประมาณ 1 mm.) เพื่อป้องกันไม่ให้ฟองล้น ดังแสดงในรูปที่ 2.2 และในการทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยโดยใช้ใบพัดแบบต่างๆ ที่ได้รับการคัดเลือกแต่ละ Batch จะต้องทำการเลี้ยงควบคู่กับการใช้ใบพัดแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) เพื่อใช้เปรียบเทียบผลการทดลองเสมอ

ชื่อของใบกวน	ชนิดของใบกวน	ขนาดใบ			Da/Dt	จำนวนใบ	มุมของใบ
		Diameter	W (mm)	L (mm)			
Silicone (ดีฟองด้านบน)	Axial Flow Impeller	110.0	45.0	45.0	0.70	4	50°
BIOSTAT B	Bladed Disc Turbine	63.5	12.7	19.1	0.40	6	-
แบบที่ 1	Axial Flow Impeller	64.0	40.0	40.0	0.40	4	35°
แบบที่ 2	Impeller	55.0	20.0	50.0	0.34	3	50°
แบบที่ 3	Up-Pumping Impeller	64.0	18.0	30.0	0.40	4	30°
แบบที่ 4	Up-Pumping Impeller	95.0	34.0	42.0	0.60	4	20°

ตารางที่ 2.1 แสดงขนาด และมิติ (Dimensions) ของใบพัดแบบต่างๆ

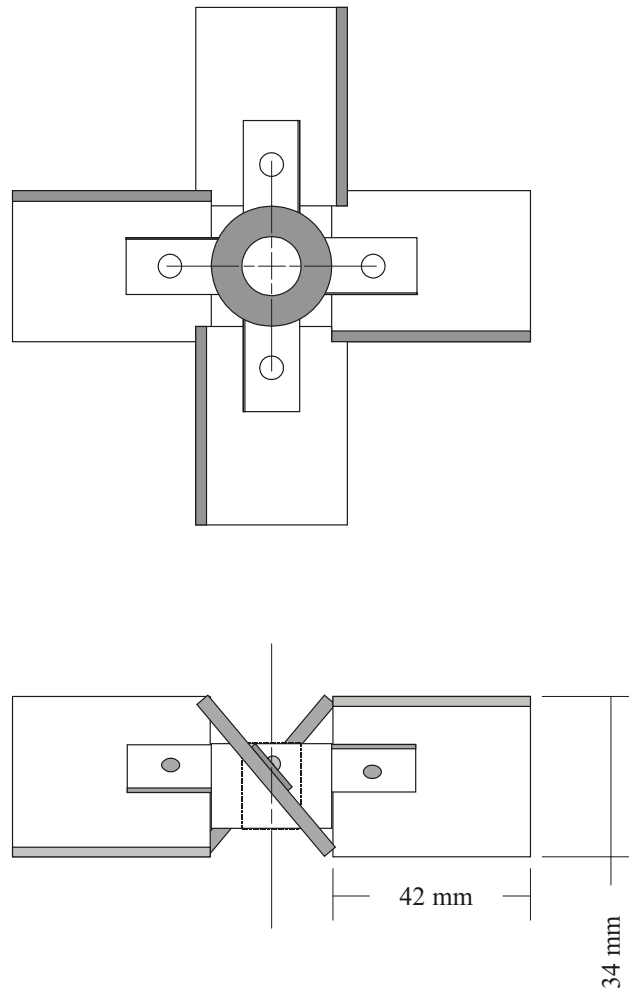


D_t = Diameter of Tank = 160 mm D_a = Diameter of Impeller (Table 2.1)

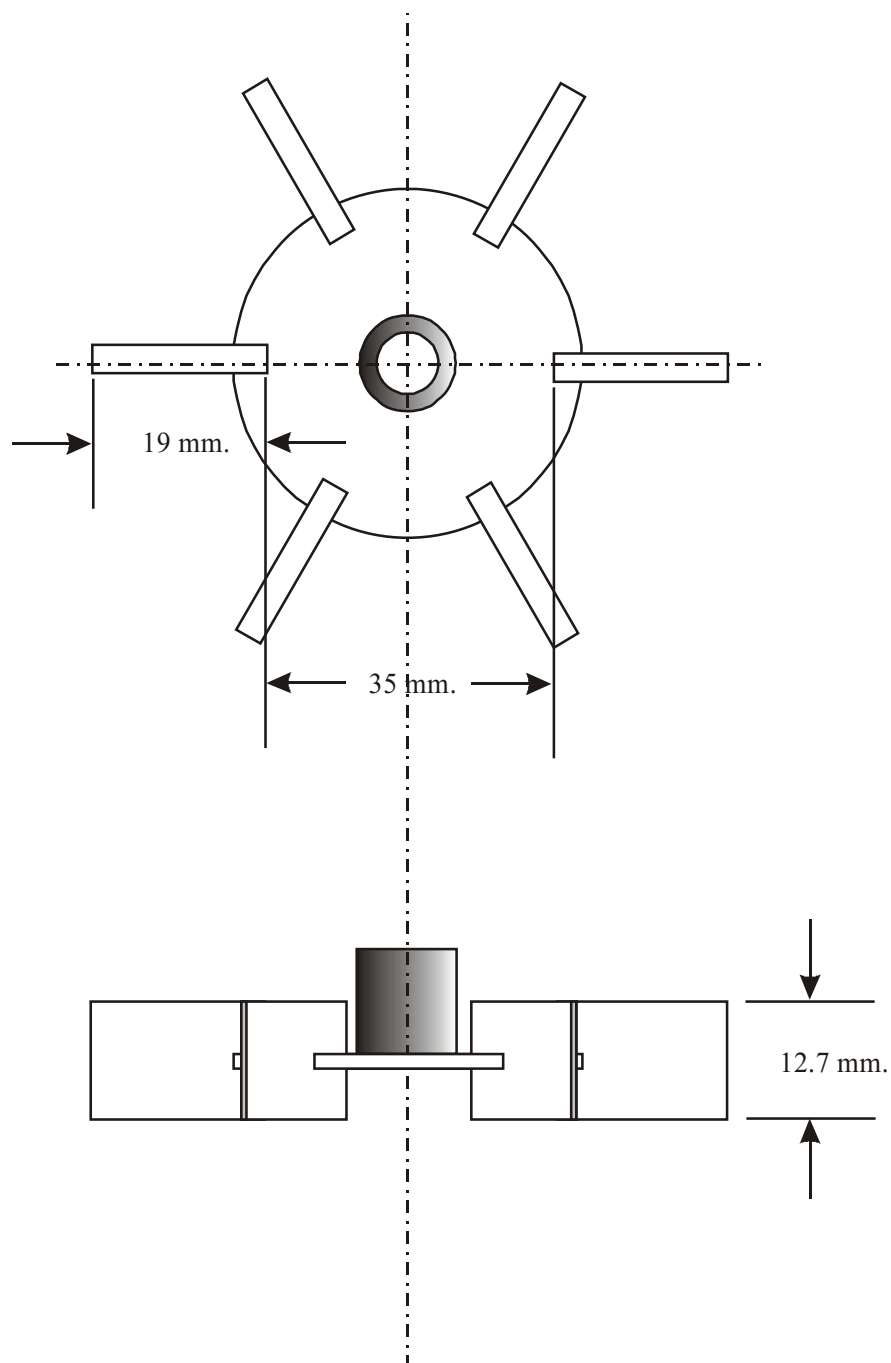
A ~ 50 mm B ~ 10 mm C = 1-2 mm D = 15 mm

ระยะห่างระหว่างใบ = 120 mm

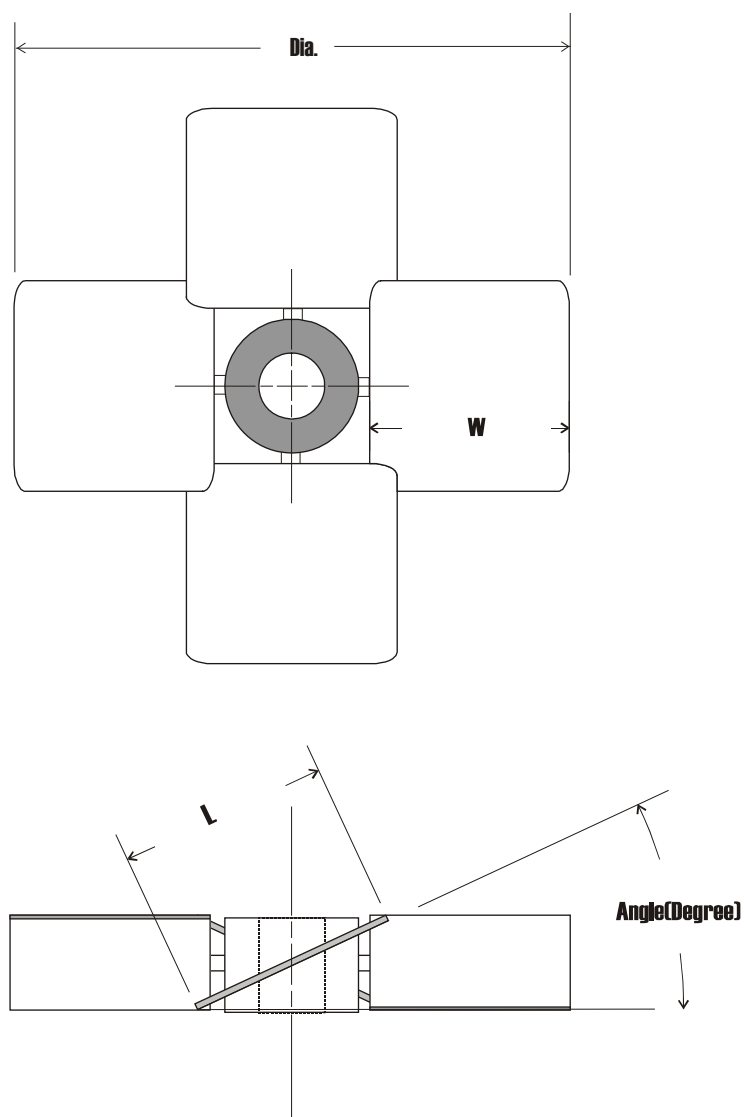
รูปที่ 2.2 แสดง Dimension และการติดตั้งใบกวนในถังหมักขนาด 6 ลิตร (เตรียมอาหาร 3 ลิตร)



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะและ Dimension ของใบพัดที่ใช้ดีฟองแบบ Silicone (Upper Impeller)



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะและ Dimension ของใบพัดแบบมาตรฐาน BIostat[®] R (Bottom Impeller)



รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะและ Dimension ของใบพัดที่แบบ Up-Pumping Impeller (Bottom Impeller)

2.2.3 วิธีการทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตร

1. เตรียมอาหารเหลวสูตร Tsb_3 ที่มีการพัฒนาและทดลองมาเรียบร้อยแล้วว่าสามารถใช้เลี้ยงและขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยได้ใส่ลงในถังหมัก
2. นำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที
3. ติดตั้งอุปกรณ์ตรวจวัดค่า pH และ DO (Dissolved Oxygen)

Calibrate pH indicator = 6 - 9.5

Calibrate DO indicator = 0 – 100%

โดยการพัฒนาการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในถังหมักในปัจจุบันนี้ ทางกรมวิชาการเกษตรยังไม่มีการควบคุมค่า pH และปริมาณ DO แต่จะทำการตรวจวัดค่าเพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH และ DO ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาและวิจัยถึงปัจจัยที่อาจมีผลต่อการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในระดับต่อไป

4. นำ stock แบคทีเรีย (500 mL) ที่เตรียมไว้มา Inoculate ใส่ลงในถังหมักโดยผ่าน Peristaltic Pump ติดตั้งเครื่องหล่อเย็นควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 28°C กวนของผสมด้วยอัตรา 350 rpm และควบคุมให้มีอากาศไหลเวียนตลอดเวลาโดยจะป้อนอากาศเข้าทางท่อของ Gas Mixture
5. ทดลองตรวฉับแบคทีเรียในถังหมักหลังจากเลี้ยงแบคทีเรียในถังหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าได้ปริมาณแบคทีเรียตามที่ต้องการแล้ว จึงนำไส้เดือนฝอย (500 mL) มา Inoculate ใส่ลงในถังหมักโดยผ่าน Peristaltic Pump และปรับลดอุณหภูมิมาไว้ที่ 25°C โดยการ feed จะต้อง feed แบคทีเรียและไส้เดือนฝอยให้หมดภายในเวลา 20 นาที เนื่องจากแบคทีเรียจะขาดออกซิเจนได้ไม่เกิน 30 นาที
6. รวเก็บผลผลิตและตรวฉับปริมาณไส้เดือนฝอย (yield) ที่เลี้ยงขยายพันธุ์ได้ ซึ่งกระบวนการนี้จะใช้เวลาทั้งหมดประมาณ 10 - 12 วัน

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกฤษฎีและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือน พฤษภาคม – กรกฎาคม 2544

2.2.4 ผลการทดลอง

2.2.4.1 ผลการทดลองเบื้องต้น

Batch	ชนิดของใบกวน		ความเร็วรอบ ในการกวน (รอบ/นาที)	อัตราการให้อากาศ สูงสุดโดยที่ฟองไม่ ล้น (ลิตร/นาที)	ผลการทดลองเบื้องต้น
	ด้านบน	ด้านล่าง			
1	Silicone	BIOSTAT [®] B	400	8	อาหารเข้ากันได้ดี เกิดฟองเต็มถังแต่ไม่ล้น
2	แบบที่ 1 Axial Flow Impeller	BIOSTAT [®] B	400	3	ฟองล้น
3	Silicone	แบบที่ 2 (Impeller)	400	4	ฟองล้น
4	Silicone	แบบที่ 3 Up-Pumping	400	8	อาหารเข้ากันได้ดี ฟองน้อยมาก
5	Silicone	แบบที่ 4 Up-Pumping	400	8	อาหารเข้ากันได้ดี ฟองน้อยมาก

ตารางที่ 2.2 ผลการทดลองเบื้องต้น โดยใช้ใบพัดกวนแบบต่างๆ ในอาหารเหลวสูตร Ts_{b3}

2.2.4.2 ผลการทดลองเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในในถังหมัก เปรียบเทียบผลผลิตระหว่างใบพัด แบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) กับใบพัดทดลอง

ชนิดของใบกวน	ผลผลิต (ตัว/มล.)	ประสิทธิภาพ การทำลายแมลง (%)	ระยะเวลาในการเลี้ยง ขยายพันธุ์ 1 วงจร (วัน)
แบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT [®] B)	254,000	41.83	12
แบบที่ 3	251,000	40.0	12
แบบที่ 4	ไม่ได้ผลผลิต	-	-

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบผลผลิต (Yield) และประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ที่เลี้ยงขยายในถังหมักเป็นเวลา 1 วงจรด้วยอาหารเหลวสูตร Ts_{b3} โดยใช้ใบพัดกวนแบบต่างๆ

2.2.5 วิเคราะห์ผลการทดลอง

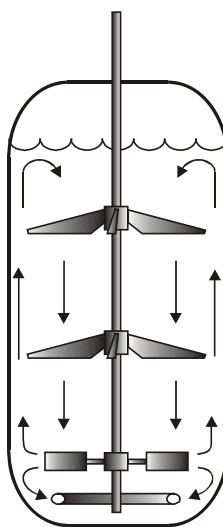
2.2.5.1 วิเคราะห์ผลการทดลองเบื้องต้น

การเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 6 ลิตร โดยใช้อาหารเพียง 3 ลิตร นั้นแต่เดิม กรมวิชาการเกษตรเลือกใช้ใบพัดกวนทั้งทางด้านบน (Upper Impeller) และทางด้านล่าง (Bottom Impeller) ของถังเป็นแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) หรือ 6 Bladed Disc Turbine ขนาด Diameter = 6.35 cm (2.5 inch.) มีระยะห่างระหว่างใบ (B) = 10.5 cm ที่ อัตราการป้อนอากาศ = 8-10 ลิตร/นาที่ ที่ความเร็วรอบของใบกวนเริ่มต้น = 350-400 รอบ/นาที่ ซึ่งมักจะเกิดปัญหาฟองล้นภายหลัง จากที่ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์ สร้างไข่และออกลูกอ่อน (หลัง 120 ชั่วโมง เป็นต้นไป) ทำให้ปริมาณผลผลิต (Yield) ที่ควรจะได้ลดลงเนื่องจากไส้เดือนฝอยจะไหลล้นออกตาม ฟองด้วย นอกจากนี้ยังสร้างความยุ่งยากต่อผู้ควบคุมการผลิต (Operator) เพราะจะต้องทำการควบคุม และปรับความเร็วรอบของใบพัด กับอัตราการป้อนอากาศให้สัมพันธ์กันอยู่ตลอดเวลาหากมีปริมาณ ฟองมากเกินไปหรืออัตราการละลายของออกซิเจน (Dissolve Oxygen) น้อยจนเกินไป

จากการทดลองเบื้องต้น (Pre-Experiment) โดยทำการเปลี่ยนใบพัดตามตารางที่ 2.1 ที่ความเร็ว รอบของใบกวนเริ่มต้น = 400 รอบ/นาที่ พบว่า

1. การเปลี่ยนใบพัดทางด้านบนของถัง (Upper Impeller) เป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และ ใบพัดทางด้านล่างถัง (Bottom Impeller) ยังคงเป็นแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) เช่นเดิม เปรียบเทียบกับการใช้ใบพัดแบบมาตรฐานเครื่องทั้งทางด้านบนและด้านล่าง การใช้ใบพัดตีฟองแบบ Silicone เข้าช่วยจะให้ผลดีกว่า รูปแบบการไหลวนของอาหารใน ถังจะเข้ากันได้ดี เกิดฟองเต็มถังแต่จะไม่ล้นออกนอกถังเพราะฟองจะถูกใบพัด Silicone กวาดและดึงกลับลงมาละลายผสมในอาหารเช่นเดิม ซึ่งหากเปรียบเทียบกับใช้ใบพัดแบบ มาตรฐานเครื่องทางด้านบน ฟองที่เกิดขึ้นจะไหลล้นออกนอกถังทางท่อระบายอากาศ เนื่องจากใบพัดแบบมาตรฐานเครื่อง (6 Bladed Disc Turbine) จะให้กระแสไหลวนใน แนวรัศมี (Radial-Flow Impeller) ก่อให้เกิดกระแสในแนวสัมผัส (Tangential) และแนว รัศมี (Radial) ร่วมกับใบพัดแบบมาตรฐานเครื่องทางด้านล่าง รูปแบบการไหลวนของ อาหารในถังจะเข้ากันได้ดีก็จริงแต่จะทำให้เกิดฟองมากและใบพัดไม่ได้มีลักษณะที่จะ กวาดฟองลงมาทางด้านล่างได้
2. การใช้ใบพัดทางด้านบนของเครื่องเป็นแบบ Axial Flow Impeller (แบบที่ 1) และใบพัด ทางด้านล่างยังคงเป็นแบบมาตรฐานเครื่อง พบว่าทำให้เกิดฟองค่อนข้างมาก ที่อัตราการ ป้อนอากาศเพียง 3-4 ลิตร/นาที่ ฟองจะไหลล้นออกทางด้านบนของถังซึ่งอาจเนื่องมาจาก ใบพัดแบบ Axial Flow Impeller จะก่อให้เกิดกระแสของของไหลไหลในแนวแกน (แนว

ขนานกับแกนของใบกวน) และใบพัดแบบมาตรฐานเครื่อง (6 Bladed Disc Turbine) ให้กระแสไหลวนในแนวรัศมี (Radial-Flow Impeller) ของเหลวจะถูกผลักให้ไหลลงทางด้านล่างแล้ววนขึ้นสู่ทางด้านบนถึง การไหลวนของอาหารเข้ากันได้ดีแต่ที่ผิวหน้าของของเหลวจะไม่เรียบ ทำให้เกิดฟองอากาศ (Air Bubble) ทางด้านบนของถังมาก การดึงให้ของไหลไหลวนลงมาด้านล่างของ Axial Flow Impeller ทำได้ไม่ทันกับการเกิดฟอง ฟองจึงล้นออกที่ทางด้านบนของท่ออากาศ



Axial Flow Upper Impeller

รูปที่ 2.6 แสดงรูปแบบการไหลของใบพัดแบบ Axial Flow Impeller

3. การใช้ใบพัดกวนทางด้านบนของเครื่องเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และใบพัดทางด้านล่างเป็นใบพัดกวนแบบ Impeller (แบบที่ 2) พบว่าเกิดฟองมาก ที่อัตราการป้อนอากาศเพียง 3-4 ลิตร/นาที ฟองจะไหลล้นออกทางด้านบนของถังเช่นเดียวกับการทดลอง Batch ที่ 2 อาจเนื่องมาจากใบพัดกวนแบบที่ 2 มีลักษณะกึ่งกั้นกั้นน้ำซึ่งก่อให้เกิดกระแสน้ำปั่นป่วน (Turbulent Flow) ทางด้านล่างของถังไหลวนขึ้นไปรวมกับกระแสน้ำปั่นป่วนทางด้านบนของถังที่เกิดจากใบพัดตีฟองแบบ Silicone ทำให้การไหลวนของของไหลในถังเป็นแบบปั่นป่วนสูง (Complete Turbulent Flow) อัตราการกระจายของออกซิเจนสู่ของเหลวสูงแม้ที่อัตราการป้อนอากาศต่ำแต่ไม่สามารถควบคุมปัญหาการเกิดฟองได้
4. การใช้ใบพัดกวนทางด้านบนของเครื่องเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และใบพัดทางด้านล่างเป็นใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller (แบบที่ 3 และ 4) ให้ผลการทดลองดีที่สุด

ใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller จะก่อให้เกิดกระแสของของไหลไหลในแนวแกน (แนวขนานกับแกนของใบกวน) เช่นเดียวกับใบพัดแบบ Axial Flow Impeller แต่มุมใบพัดของ Up-Pumping Impeller จะมีลักษณะเอียงขึ้นและดึงให้กระแสของของเหลวไหลวนขึ้นตามแนวแกนของใบพัดแทนที่จะไหลวนลงด้านล่างของถัง เมื่อกระแสของของเหลวที่ไหลขึ้นทางด้านบนตามแนวแกนของใบพัดมาพบกับแรงผลักให้ของเหลวไหลลงของใบพัดตีฟองแบบ Silicone ของเหลวจะถูกผลักให้ไหลลงด้านล่างทางด้านข้างถังแล้วไหลวนขึ้นสู่ทางด้านบนดังใหม่ตามแรงดึงของ Up-Pumping Impeller ลักษณะกระแสไหลวนเช่นนี้ทำให้อาหารในถังจะเข้ากันได้ดีและลดปัญหาการเกิดฟองไหลล้นออกนอกถังลงได้

2.2.5.2 วิเคราะห์ผลการทดลองเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในในถังหมักระหว่างใบพัดแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) กับใบพัดทดลอง

เมื่อนำใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller (แบบที่ 3 และ 4) มาทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยเปรียบเทียบกับใบพัดกวนแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) ในถังหมักขนาด 6 ลิตร โดยเตรียมอาหารเพียง 3 ลิตร โดยใช้ใบพัดกวนทางด้านบนถึงเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone พบว่าใบพัดกวนแบบที่ 3 สามารถนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยได้จริง เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตและประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยกับ Batch ที่ใช้ใบพัดกวนแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) พบว่าสามารถให้ผลผลิตและประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงได้สูงใกล้เคียงกัน แต่ใบพัดกวนแบบที่ 3 ลดฟองในถังหมักได้ดีกว่าโดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยจนถึงอายุ Batch ที่ 120 ชั่วโมงเป็นต้นไปอาหารจะเริ่มหนืดเนื่องจากไส้เดือนฝอยย่อยสลายโปรตีนไปบางส่วน และเริ่มเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์-สร้างไข่และออกลูกอ่อน ซึ่งเป็นช่วงที่ไส้เดือนฝอยต้องการออกซิเจนสูงต้องให้อากาศมาก (เพิ่ม Air Flow Rate) ดังนั้นจึงเกิดฟองมากตามไปด้วย ในระยะนี้จึงพบว่าใบพัดกวนแบบที่ 3 สามารถใช้งานได้ดีกว่าแบบอื่นๆ (ให้อากาศได้มากโดยที่ฟองไม่ล้น) แต่เนื่องจากใบพัดแบบที่ 3 มีมุมระหว่างใบพัดน้อยเกินไป (30°) ทำให้ระบบการกวนไม่ดีนัก ไส้เดือนฝอยจึงตกตะกอน (เกิด Dead Zone) เป็นเหตุให้ได้ผลผลิตและประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงต่ำกว่าแบบมาตรฐานเครื่องเล็กน้อย ส่วนใบพัดแบบที่ 4 มีขนาดใหญ่และมุมระหว่างใบพัดแคบเกินไปไม่สามารถกวนให้ไส้เดือนฝอยกระจายตัวในอาหารได้ทั่วถึงเมื่อไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตมากขึ้นมีความต้องการอากาศมากขึ้น ใบพัดแบบที่ 4 ไม่สามารถละลายอากาศได้เพียงพอกับความต้องการทำให้การเลี้ยงขยายพันธุ์ไม่ประสบผลสำเร็จ ไส้เดือนฝอยตายและไม่สามารถเก็บผลผลิตได้

จากการทดลองทั้งสองส่วนสามารถสรุปได้ว่า การลดปัญหาการเกิดฟองล้นในถังหมักสามารถทำได้โดยใช้ใบพัดทางด้านบนของถังหมัก (Upper Impeller) เป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicon และใบพัดทางด้านล่าง (Bottom Impeller) เป็นแบบมาตรฐานเครื่อง (6 Bladed Disc Turbine) หรือเป็น Up-Pumping Impeller (แบบที่ 3) ใบพัดแบบที่ 3 มีมุมระหว่างใบน้อยเกินไป (30°) ดังนั้นจึงควรทดลองเพิ่มมุมระหว่างใบขึ้นเป็นประมาณ $40-45^\circ$ เพื่อป้องกันการเกิด Dead Zone ซึ่งมีผลทำให้ผลผลิตต่อ Batch ลดลง

2.2.6 อุปสรรคและปัญหา

1. ทำการทดลองต่อเนื่องได้ล่าช้าเนื่องจากไฟฟ้าขัดข้องบ่อยครั้งเพราะเป็นฤดูฝนและที่ห้องปฏิบัติการไม่มีเครื่องสำรองไฟ ซึ่งจัดเป็นอุปสรรคสำคัญอย่างหนึ่งสำหรับการทดลองเกี่ยวกับ Fermentor โดยเฉพาะกับการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการอากาศตลอดเวลาโดยเฉพาะในระยะผสมพันธุ์ สร้างไข่และออกลูกอ่อน เมื่อไฟฟ้าขัดข้องช่วงนี้ไส้เดือนฝอยจะตายทั้งหมด
2. เนื่องจากในห้องปฏิบัติการมีการศึกษาไส้เดือนฝอยหลายชนิด และช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาเกิดการปนเปื้อนขึ้น จึงไม่สามารถผลิตขยายพ่อแม่พันธุ์สำหรับทดลองได้

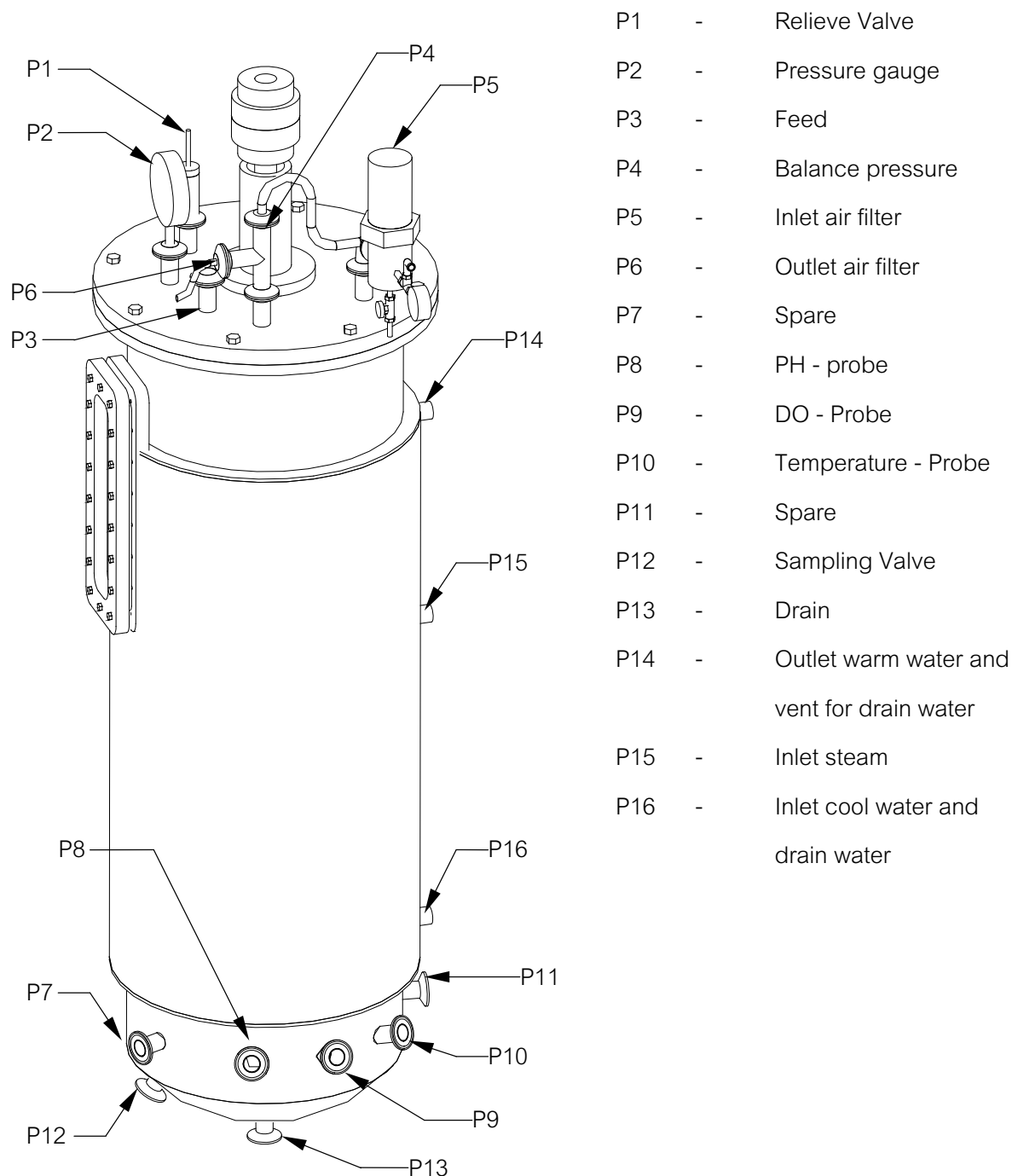
บทที่ 3

การออกแบบถังหมัก (FERMENTER) ขนาด 100L

รายละเอียด

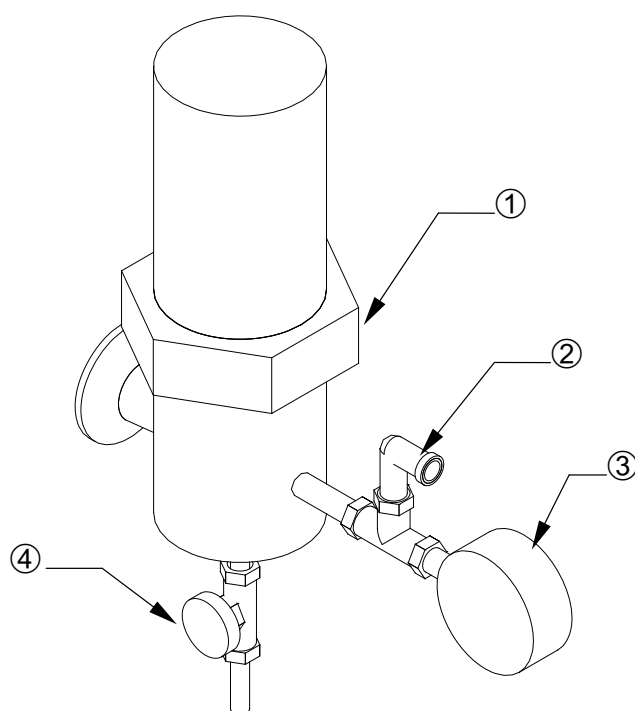
1. ถังหมักทำจากวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 316 ขนาดผิวขนาด 150 กิต ความจุของถัง 130 ลิตร
2. แจ็คเก็ตทำจากวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 304 หุ้มรอบตัวถังเพื่อถ่ายเทความร้อนให้กับถัง
3. Baffle ทำจากวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 316 เพื่อช่วยให้การกวนมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น
4. พอร์ต ทำจากวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 316 จำนวน 12 พอร์ต
5. ช่องมองกระจก ทำจากวัสดุกระจกนิรภัยหนา 10 มม.
6. เพลาใบกวนทำจากวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 316
7. ใบกวน 3 แบบทำจากวัสดุเหล็กกล้าไร้สนิมเกรด 316 และ 1 แบบทำจากวัสดุซิลิโคน
8. Mechanical Seal สำหรับป้องกันการติดเชื้อที่เพลาใบกวน
9. ชุดส่งกำลังจากมอเตอร์
10. มอเตอร์ขนาด 3 แรงม้า(ใช้ไฟฟ้า 3 เฟส 4 สาย)

ตำแหน่งและอุปกรณ์ของพอร์ต(Port Description)



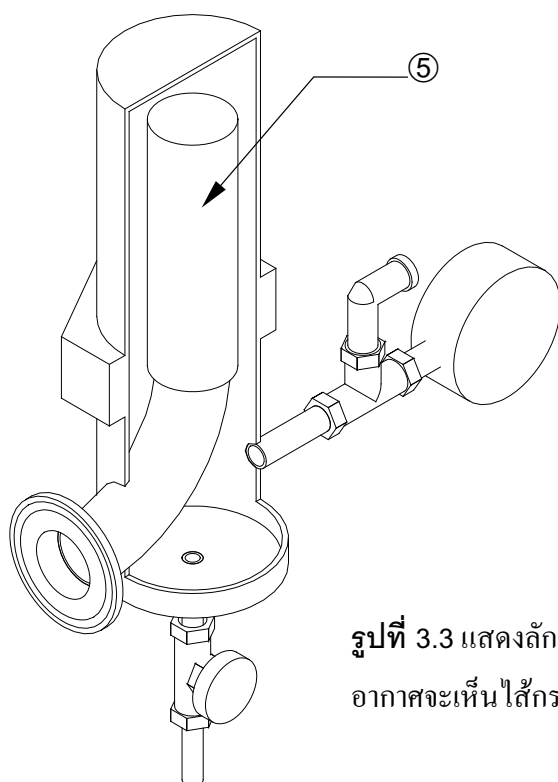
รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะภายนอกของถังหมัก

รายละเอียดของไส้กรองอากาศขาเข้า(Inlet air filter)



- | | | |
|---|---|--|
| 1 | - | เสื้อของไส้กรอง(Filter Casing) |
| 2 | - | ข้อต่อสายยางลมเข้าถึงหมัก
ขนาด ϕ 8 มม.(Quick connect for
air inlet) |
| 3 | - | Pressure gauge 0 - 2 bar |
| 4 | - | Drain valve(Condensate) |
| 5 | - | ไส้กรองอากาศ(Air filter) |

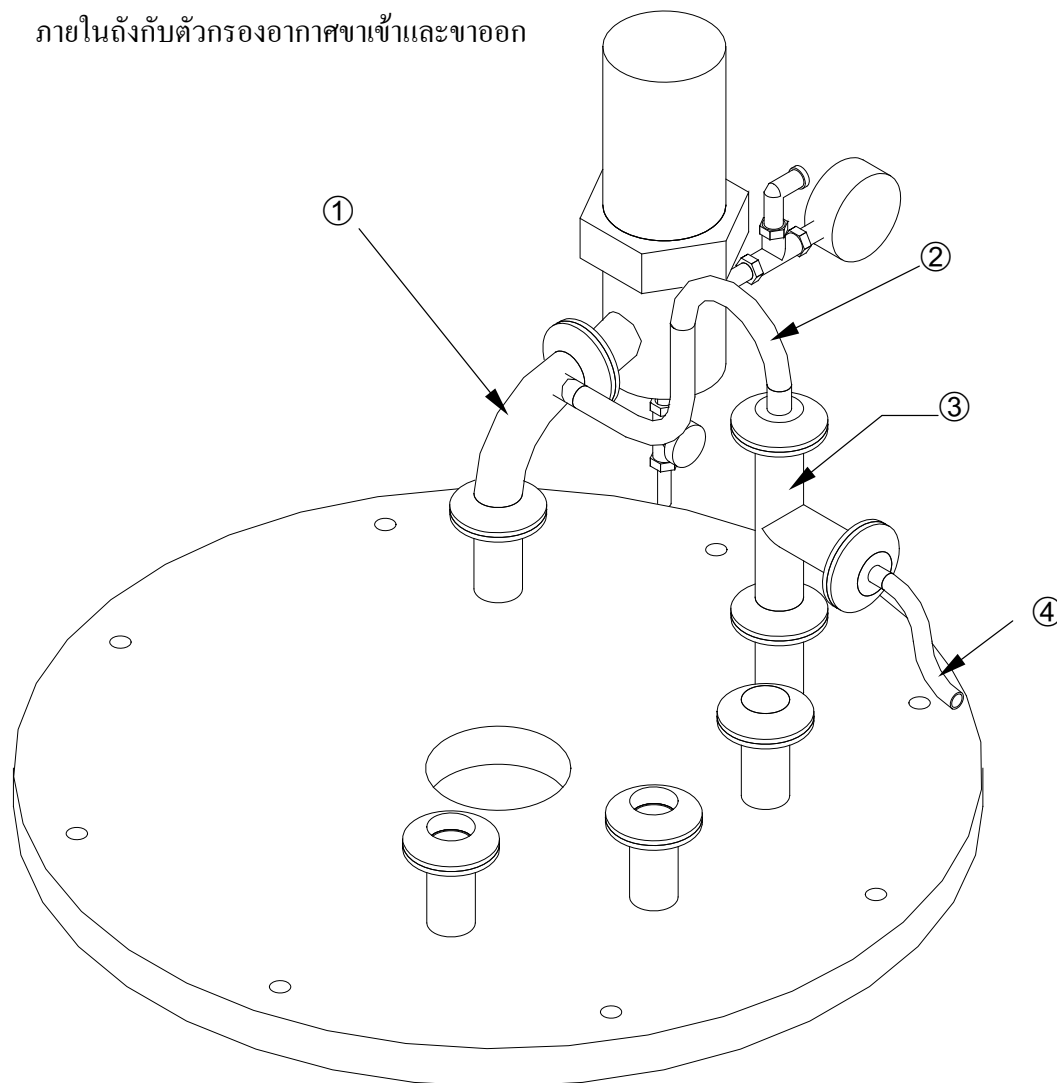
รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะของตัวกรองอากาศขาเข้า



รูปที่ 3.3 แสดงลักษณะภายในของตัวกรอง
อากาศจะเห็นไส้กรองอากาศซึ่งอยู่ภายใน

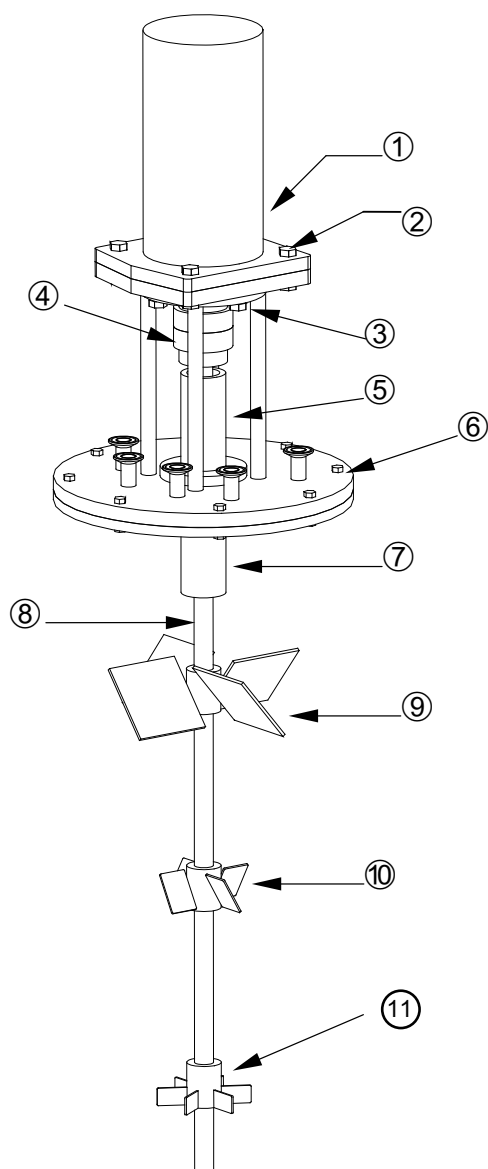
ชุดรักษาความดันขณะทำการฆ่าเชื้อ(Balance pressure set)

รูปที่ 3.4 แสดงลักษณะการต่อระหว่างตัวรักษาความดัน
ภายในถังกับตัวกรองอากาศเข้าและขาออก



1. ข้องอ 90 สำหรับต่อกับด้านความดันของของเหลวส่วนล่างในถัง
2. สายยางซิลิโคนขนาด $\frac{1}{2}$ นิ้ว สำหรับต่อเพื่อปรับความดัน ปกติอยู่ในสภาพปิด จะเปิดตอนทำการฆ่าเชื้อเท่านั้น
3. ข้อต่อสามทาง สำหรับต่อกับด้านความดันของไอน้ำส่วนบนเหนือระดับของเหลวในถัง
4. สายยางซิลิโคนขนาด $\frac{3}{8}$ นิ้ว สำหรับต่อกับไส้กรองอากาศขาออก ปกติอยู่ในสภาพเปิด จะปิดตอนทำการฆ่าเชื้อเท่านั้น

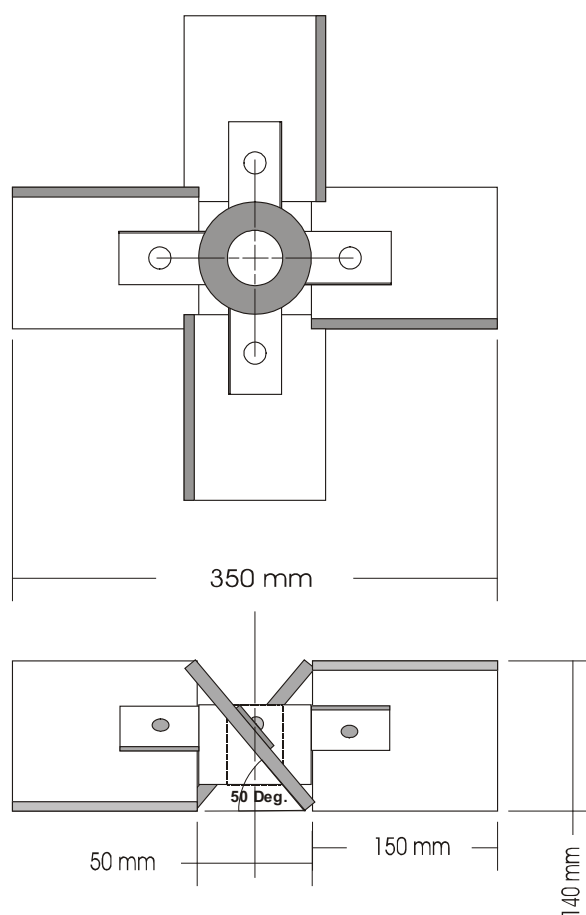
ชุดส่งกำลังขับเคลื่อนใบกวน



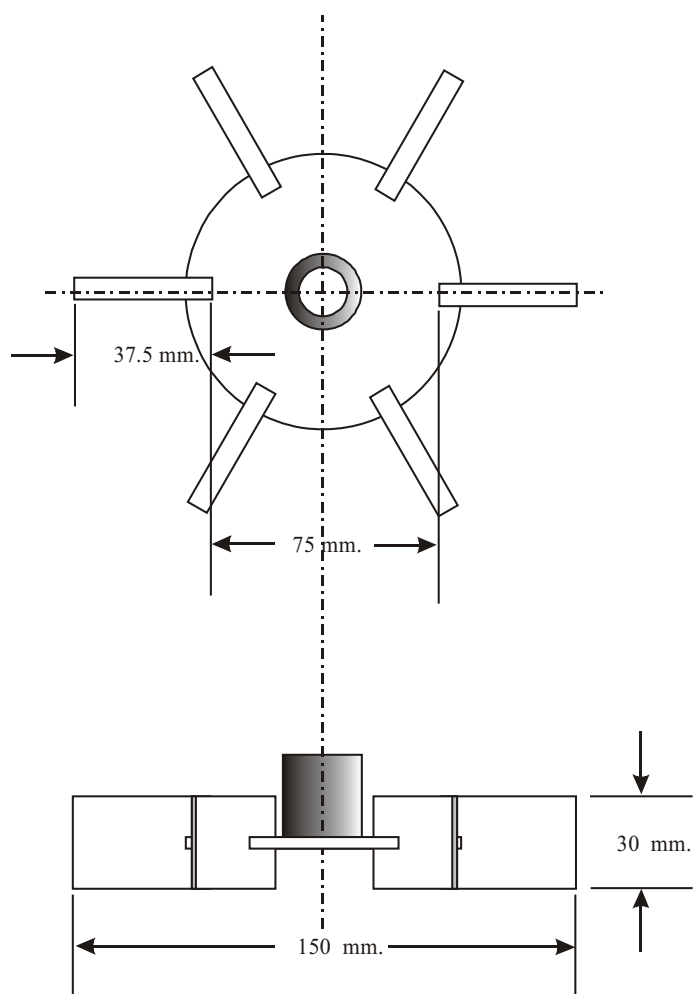
- 1 - มอเตอร์มีเกียร์ทดรอบในตัวขนาด 3 แรงม้าใช้กับไฟฟ้า 380 โวลต์ 3 เฟส (3เส้น)
- 2 - Bolt สแตนเลส เกรด 304 size M x 65 mm จำนวน 4 ตัว สำหรับยึดมอเตอร์ กับแท่นรองมอเตอร์
- 3 - Nut สแตนเลส เกรด 304 size M จำนวน 8 ตัว
- 4 - Coupling(ขอย) สำหรับส่งกำลังจากมอเตอร์สู่เพลา
- 5 - Housing สแตนเลส เกรด 316 สำหรับ ลูกปืน(bearing) ของหน้าแปลนด้านบน
- 6 - Bolt and Nut สแตนเลส เกรด 316 size M8 x 60 mm จำนวน 8 ชุด
- 7 - Housing สแตนเลส เกรด 316 สำหรับ ลูกปืน(bearing) ของหน้าแปลนด้านล่าง
- 8 - เฟลาสสแตนเลส เกรด 316 ขนาด 30 มม. ยาว 142 ซม.
- 9 - ใบกวนซิลิโคน สำหรับปิดฟองที่เกิดที่ผิวน้ำในถังหมัก
- 10 - ใบกวนแบบ Up-Pumping Impeller เพื่อดึงให้กระแสของเหลวไหลขึ้นในแนวแกน
- 11 - ใบกวนแบบมาตรฐาน BIOMASTER[®] R

รูปที่ 3.5 แสดงลักษณะของชุดส่งกำลังในการกวน

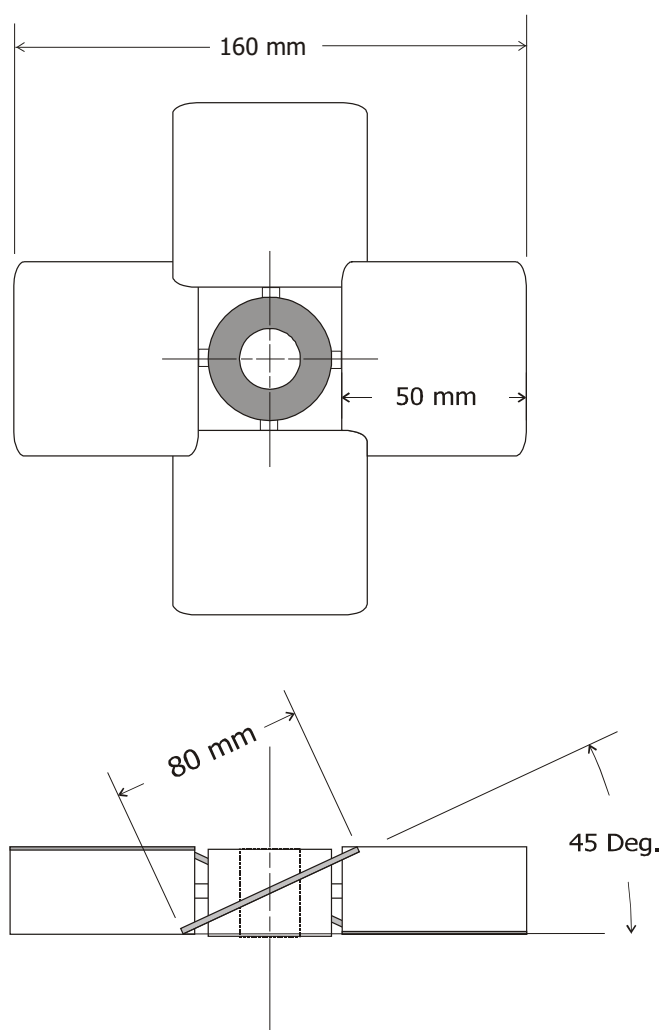
ขนาดของใบกวนในถังหมักขนาด 100L



รูปที่ 3.6 Dimension ใบพัดตีฟองแบบ Silicone (Upperv Impeller) ของถังหมักขนาด 100L



รูปที่ 3.7 Dimension ใบพัดตีฟองแบบมาตรฐาน BIOSTAT® R (Bottom Impeller)
ของถังหมักขนาด 100L



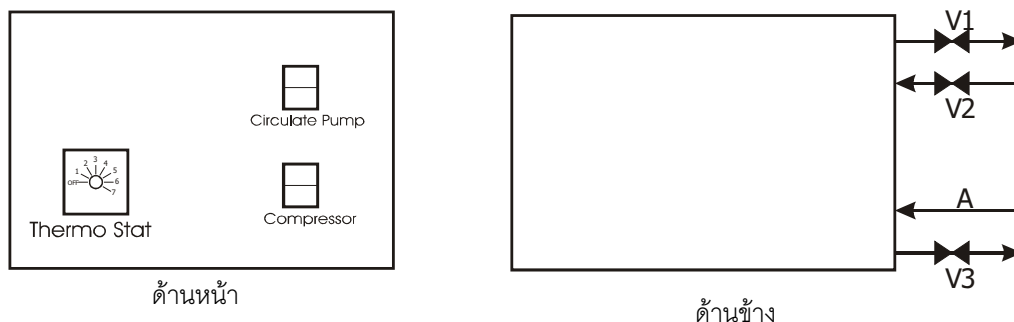
รูปที่ 3.7 Dimension ใบพัดแบบ Up-Pumping Impeller (Bottom Impeller)
ของถังหมักขนาด 100L

ขั้นตอนการใช้งานถังหมักสำหรับเลี้ยงไส้เดือนฝอย

1. ตรวจสอบภายในถังหมักว่าอุปกรณ์ต่างๆอยู่ในตำแหน่งหรือไม่
2. ปิดฝาถังหมักโดยใส่ปะเก็นและขันน็อตยึดให้แน่น
3. ใส่อุปกรณ์ต่างๆให้ถูกต้องตามรูปที่ 3.1
4. ตรวจสอบการรั่วโดยการปิดวาล์วเก็บตัวอย่างและวาล์วระบายน้ำควบแน่นที่ตัวกรองอากาศขาเข้า และปิดสายยางที่ต่อกับไส้กรองอากาศขาออก จากนั้นทำการต่อสายยางลมจากปั๊มลมเข้าที่ข้อต่อที่ตัวกรองขาเข้าตามรูปที่ 3.2 และเปิดลมจากปั๊มลมเข้าถังหมักจนความดันที่ฝาถังหมักอ่านได้ประมาณ 1.5 บาร์ จึงทำการปิดวาล์วที่ปั๊มลม
 - 4.1 ให้เตรียมผสมผงซักฟอกหรือน้ำยาล้างจานแล้วตีให้เกิดฟองเพื่อจะนำไปใช้ในการตรวจสอบการรั่ว
 - 4.2 ให้นำฟองที่ได้ไปดัดไปตามรอยต่อ ข้อต่อ ของอุปกรณ์ ถ้ามีการรั่วจะปรากฏฟองขึ้น พร้อมทั้งสังเกตความดันที่ฝาถังหมักด้วยถ้าความดันลดลงแสดงว่ายังมีการรั่วอยู่ให้หาตำแหน่งที่รั่วให้พบ
 - 4.3 เมื่อไม่พบการรั่วให้ทำการเปิดมอเตอร์ส่งกำลังใบกวน พร้อมทั้งสังเกตความดันที่ฝาถังหมักถ้าความดันลดลงแสดงว่ามีการรั่วที่ Mechanical Seal ให้ติดต่อช่วงเพื่อทำการเปลี่ยนหรือแก้ไขต่อไป
5. เมื่อไม่พบการรั่วให้ทำการปิดมอเตอร์ส่งกำลังใบกวนและเปิดวาล์วระบายน้ำควบแน่นที่ตัวกรองอากาศขาเข้าตามรูปที่ 3.2 เพื่อระบายลมออก
6. ให้เติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงสู่ถังหมัก
7. เปิดมอเตอร์ส่งกำลังใบกวนและให้ตั้งความเร็วรอบไว้ที่ประมาณ 150-200 รอบต่อนาที เปิดสวิตซ์ Main Breaker ที่แผงหน้าปัทม์ หน้าจอแสดงผล อุณหภูมิ พีเอช และ ดีไอ จะปรากฏตัวเลขขึ้น
8. เปิดสวิตซ์หม้อผลิตไอน้ำ และทำตามขั้นตอนการใช้หม้อผลิตไอน้ำ

เครื่องทำน้ำเย็น(Chiller)

ลักษณะของสวิทช์และตำแหน่งของวาล์ว



สวิทช์

1. Thermo Stat ทำหน้าที่ควบคุมการเปิด/ปิด Compressor เมื่ออุณหภูมิสูง/ต่ำเกินกำหนด
2. Compressor ทำหน้าที่อัดไอน้ำยาทำความเย็นในระบบทำความเย็นให้แก่น้ำหล่อเย็น
3. Circulate Pump ทำหน้าที่ปั้มน้ำหล่อเย็นให้หมุนเวียนในระบบ

วาล์ว

V1-สำหรับเปิด/ปิด น้ำหล่อเย็นเข้าที่ส่วนล่างของ Jacket

V2-สำหรับเปิด/ปิด น้ำจากแหล่งจ่ายน้ำเพื่อเข้าถังเก็บ

V3-สำหรับเปิด/ปิด ถายนํ้าทิ้ง(Drain)

A-เป็นท่อทางกลับน้ำที่ผ่านการหล่อเย็นที่ Jacket แล้วกลับเข้าถัง

ระบบควบคุมอัตโนมัติ

เมื่อ Thermo Stat ตัดการทำงาน Compressor แล้วจะมีตัวควบคุมสั่งการให้ Circulate Pump หยุดการทำงานด้วยเพื่อป้องกันทำงานเกินกำลังและจะเริ่มทำงานเมื่อ Thermo Stat ทำงาน

Solenoid Valve จะปิดเมื่อถึงอุณหภูมิที่กำหนดไว้ที่ และจะเปิดเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเกินอุณหภูมิที่กำหนด

การใช้งานเครื่องทำน้ำเย็น

1. ตรวจสอบวาล์ว ข้อต่อ สายยาง ว่ามีการรั่วซึมหรือไม่
2. ตรวจสอบสวิทช์
 - 2.1 Thermo stat ต้องอยู่ในตำแหน่ง OFF
 - 2.2 Circulate Pump และ Compressor ต้องอยู่ที่ปิดการทำงาน
3. ตรวจสอบวาล์ว V1 และ V3 ต้องอยู่ที่ตำแหน่งปิด V2 อยู่ที่ตำแหน่งเปิด
4. เปิดสวิทช์ Compressor และ Circulate Pump ป้อนน้ำหมุนเวียนจะทำงานจากนั้นให้หมุนสวิทช์ Thermo Stat ให้อยู่ที่ตำแหน่ง 1 Compressor จะทำงาน(สังเกตพัดลมระบายอากาศจะหมุน)
5. เมื่อต้องการจะหล่อเย็นถึงเลี้ยงเชื้อ(Fermenter) ให้เปิดวาล์ว V1

หมายเหตุ

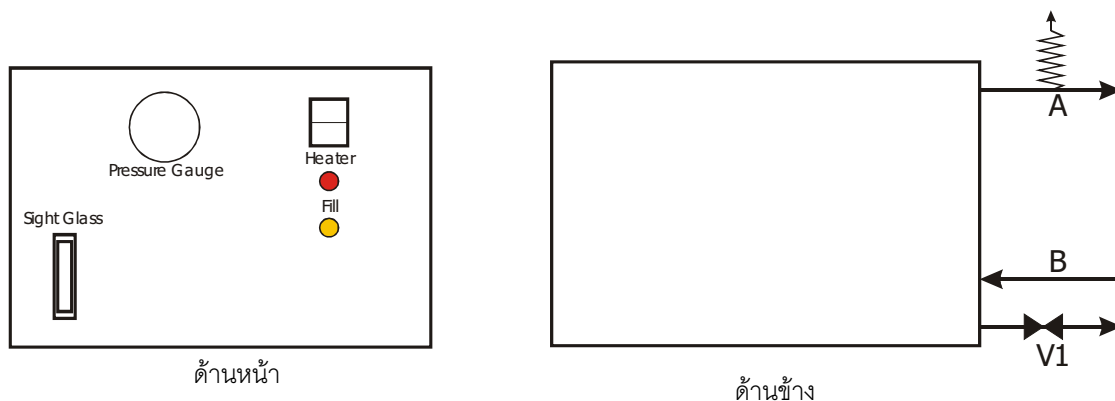
การเปิดใช้เครื่องทุกครั้งต้องทำการเปิดสวิทช์ป้อนน้ำหมุนเวียนด้วยไม่เช่นนั้นอาจเกิดความเสียหายกับ Compressor ได้

เมื่อมีการฆ่าเชื้อ(Sterilization)ทุกครั้งต้องปิดวาล์ว V1 เพื่อป้องกันการรั่วของไอน้ำเข้าระบบหล่อเย็น

ควรเปิดใช้เครื่องสัปดาห์ละ 2-3 ครั้ง เพราะปั๊ม (Circulate Pump) ทำจากวัสดุเหล็กหล่อ น้ำที่ค้างอยู่ในปั๊มจะทำให้เกิดสนิมได้ซึ่งจะทำให้เมื่อเปิดใช้เครื่องปั๊มจะทำงานหนักเนื่องจากสนิมที่เกิดขึ้น

เครื่องผลิตไอน้ำ(Steam Generator)

ลักษณะของสวิตช์และตำแหน่งของวาล์ว



สวิตช์

1. Heater ทำหน้าที่ให้ความร้อนแก่น้ำในถังต้ม(Boiler)

วาล์ว

A-เป็นท่อไอน้ำที่ออกจาก Boiler ซึ่งต่อกับท่ออ่อนเข้าที่ส่วนบนของ Jacket

B-เป็นท่อสำหรับน้ำจากแหล่งจ่ายน้ำ

V1-สำหรับเปิด/ปิด ถ่ายน้ำทิ้ง(Drain)

↑
วาล์วนิรภัย(Safety Valve)

มาตรวัด(Gauge)

1. มาตรวัดความดัน(Pressure Gauge) สำหรับวัดความดันภายในถังต้ม 0-4 บาร์
2. มาตรวัดระดับน้ำ(Sight Glass) สำหรับสังเกตระดับน้ำภายในถังต้ม

ไฟบอกสถานะการทำงาน

1. สีแดง หมายถึง Heater กำลังทำงาน
2. สีเหลือง หมายถึง High Pressure Pump กำลังทำงานเติมน้ำเข้าถังต้ม

ระบบควบคุมอัตโนมัติ

1. สวิตช์ลูลอย(Floating Switch) เมื่อระดับน้ำในถังเต็มต่ำกว่าที่กำหนดสวิตช์ลูลอยจะสั่งให้ปั๊มแรงดันสูงทำการเติมน้ำเข้าถังเต็มและหยุดการทำงาน Heater จนกว่าจะถึงระดับที่กำหนดจึงหยุดการทำงานและสั่งการให้ Heater ทำงานอีกครั้ง
2. สวิตช์ความดัน(Pressure Switch) เมื่อความดันในถังเต็มสูงถึงความดันค่าสูงที่กำหนด สวิตช์ความดันจะสั่งการให้ Heater หยุดการทำงาน จนกว่าความดันในถังเต็มต่ำถึงความดันค่าต่ำที่กำหนดสวิตช์ความดันจะสั่งการให้ Heater ทำงานอีกครั้ง
3. สวิตช์อุณหภูมิ(Thermal Switch) เมื่ออุณหภูมิของถังเต็มสูงเกินค่าที่กำหนดสวิตช์อุณหภูมิจะสั่งการให้ Heater หยุดการทำงาน และ Heater จะทำงานอีกครั้งเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่าค่าที่กำหนด

การใช้งานเครื่องผลิตไอน้ำ

1. ตรวจสอบวาล์ว ข้อต่อ สายยาง ว่ามีการรั่วซึมหรือไม่
2. ตรวจสอบวาล์ว V1 ต้องอยู่ที่ตำแหน่งปิด
3. เปิดสวิตช์ Heater หลังจากเปิดไว้สักระยะเวลาหนึ่งมาตรวัดความดันจะชี้ที่ค่าความดันที่สูงขึ้นจนถึงความดันค่าสูงที่กำหนดไว้ (ประมาณ 2.8 บาร์) จากนั้น Heater จะหยุดการทำงาน
4. ให้เปิดวาล์วที่ทางเข้าไอน้ำที่ Jacket
5. ให้เปิดวาล์วตัวที่อยู่หน้า Steam Trap ของ Jacket
6. ให้ปิดวาล์วที่ใช้กับการหล่อเย็นทั้งหมด

หมายเหตุ

วาล์วนิรภัยจะทำการเปิดระบายไอน้ำออกเมื่อความดันของถังเต็มเกิน 3.2 บาร์

คุณสมบัติของไอน้ำ

ความดัน(บาร์;เกจ)	อุณหภูมิ(°C)
1	121
1.6	130
2.6	140

บทที่ 4

การทดสอบการนึ่งอบฆ่าเชื้อ

เพื่อตรวจสอบรอยเชื่อมในถังหมักขนาด 100 ลิตร

เนื่องจากถังหมักขนาด 100 ลิตร มีส่วนประกอบของถังหมักและระบบการอบนึ่งฆ่าเชื้อแตกต่างจากถังหมักขนาด 6 ลิตรที่ใช้ทำการทดลองอยู่ที่กรมวิชาการเกษตรโดยสิ้นเชิง ส่วนประกอบต่างๆ ของถัง รอยเชื่อมเล็กๆ รวมทั้งความเรียบของผิวภายในถังหมักล้วนมีความสำคัญต่อความสำเร็จในกระบวนการอบนึ่งฆ่าเชื้อทั้งสิ้น ดังนั้นเพื่อทดสอบความพร้อมของถังหมักและอุปกรณ์ต่อเชื่อมต่างๆ ว่าอยู่ในสภาพพร้อมใช้งานไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อปนเปื้อนเมื่อนำไปทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย จึงต้องทำการทดสอบระบบการนึ่งอบฆ่าเชื้อก่อนการทดลองเลี้ยงจริง โดยได้ทำการทดสอบรวมทั้ง 10 Batches และได้ทำการปรับปรุงแก้ไขความบกพร่องที่เกิดขึ้น ดังนี้

4.1 การทดลอง Batch ที่ 1

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสูตร Ys-broth ปริมาณ 100 ลิตร โดยอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีลักษณะใสสีเหลืองอ่อนและราคาค่อนข้างถูก เมื่อเกิดการติดเชื้ออาหารจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนเป็นขุ่นขึ้น
- 1.2 อบฆ่าเชื้อนาน 30 นาทีที่อุณหภูมิ 125°C ความดัน 1.1 Bar (15.6 ปอนด์/ตารางนิ้ว)
- 1.3 หลังจากอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปรับอุณหภูมิภายในถังหมักให้คงที่ที่ 25°C ควบคุมความเร็วในการกวนที่ 70 rpm. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 1.4 ไซตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมักไปตรวจสอบด้วยการย้อมแกรม

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

จากการตรวจสอบด้วยการย้อมแกรมพบว่าอาหารเกิดการปนเปื้อน ทั้งนี้เนื่องจากขณะทำการอบนึ่งฆ่าเชื้อพบว่าท่อ Balance Pressure มีขนาดเล็กเกินไปทำให้ไม่สามารถปรับสมดุลความดันภายในถังได้ อาหารเลี้ยงเชื้อภายในถังหมักถูกดันออกทาง Filter และตกค้างอยู่ภายใน Filter ทำให้เกิดการปนเปื้อน

3. วิธีการแก้ไข

เพิ่มขนาดของท่อ Balance Pressure

4.2 การทดลอง Batch ที่ 2

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสูตร Ys-broth ปริมาณ 70 ลิตร
- 1.2 อบฆ่าเชื้อนาน 35 นาทีที่อุณหภูมิ 126°C ความดัน 1.2 Bar (17 ปอนด์/ตารางนิ้ว)
- 1.3 หลังจากอบนิ่งฆ่าเชื้อแล้วปรับอุณหภูมิภายในถังหมักให้คงที่ที่ 25°C ควบคุมความเร็วในการกวนที่ 70 rpm. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 1.4 ตรวจสอบการปนเปื้อนทุก 6 ชั่วโมงด้วยการย้อมแกรมและ streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

พบว่าอาหารเกิดการปนเปื้อนที่ 24 ชั่วโมง สันนิษฐานว่าสาเหตุของการปนเปื้อนเกิดได้จาก 3 สาเหตุดังนี้

1. การปนเปื้อนอาจเกิดจาก Filter อุณหภูมิ ความดัน หรือระยะเวลาที่ใช้ในการอบนิ่งฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ ทั้งนี้เพราะส่วนของ Filter ยื่นออกมาห่างจากตัวถังทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนกับอากาศภายนอกได้ง่าย
2. การปนเปื้อนอาจเกิดจากในตัวถังหมักเอง เนื่องจากอุณหภูมิ ความดัน หรือระยะเวลาที่ใช้ในการอบนิ่งฆ่าเชื้อไม่นานเพียงพอที่จะฆ่าเชื้อตามรอยเล็กๆ ภายในถังหมัก รวมทั้งรอยต่อเชื่อมของ Port ต่างๆ
3. การปนเปื้อนอาจเกิดจากมีเชื้อปนเปื้อนสะสมในรอยต่อเชื่อมภายในถังหมัก เนื่องจากการล้างทำความสะอาดถังหมักไม่สะอาดเพียงพอ เพราะไม่สามารถถอดฝาถัง แคนและใบพัดออกมาล้างทำความสะอาดได้ เนื่องจากยังไม่ได้ทำการติดตั้ง jet pump ทำความสะอาดรวมทั้งวาล์วไฟฟ้าและโครงสร้างสำหรับยกฝาถัง

3. วิธีการแก้ไข

ทดสอบสมมุติฐานข้อ 1,2 และ 3 ดังกล่าว

4.3 การทดลอง Batch ที่ 3

เพื่อทดสอบว่าการปนเปื้อนเกิดจากส่วนของ Filter หรือไม่

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสูตร Ys-broth ปริมาณ 3 ลิตร ในถังหมักขนาด 6 ลิตร นำเข้าอบนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 1.1 Bar (15.6 ปอนด์/ตารางนิ้ว) เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงที่ 25°C
- 1.2 เตรียมถังหมักขนาด 100 ลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นแทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Ys-broth

- 1.3 อบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 126°C ความดัน 1.2 Bar (17 ปอนด์/ตารางนิ้ว) ปลอ่ยไอน้ำฆ่าเชื้อที่ Filter เป็นเวลา 35 นาที หลังจากนั้นควบคุมอุณหภูมิให้ที่ 25°C
- 1.4 นำถังหมักขนาด 6 ลิตรที่เตรียมในขั้นตอนที่ 1 ต่อท่อให้อากาศผ่าน Filter ของถังหมัก 100 ลิตร โดยพ่นอากาศในอัตรา 20 ลิตร/นาที จากถังหมักขนาด 100 ลิตร ผ่านถังหมักขนาด 6 ลิตร ตลอดเวลา สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ Ys-broth ในถังหมักขนาด 6 ลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

จากผลการทดลองไม่พบการปนเปื้อน อาหารเลี้ยงเชื้อ Ys-broth ใส่ไม่พูน จึงสรุปได้ว่าการปนเปื้อนไม่ได้เกิดจาก Filter จึงมาพิจารณาที่ port และข้อต่อต่างๆ พบว่าส่วนที่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้มากที่สุดน่าจะเป็น drain valve เนื่องจากขณะถอดล้างพบว่ามีตะกอนสีขาวและลักษณะของ drain valve เป็นช่องอีย่นยาวออกมาจากตัวถังไม่สามารถปลอ่ยไอน้ำออกมาเพื่อฆ่าเชื้อได้เนื่องจากเป็นท่อปิดและเชื่อมต่อกับภายในตัวถังโดยตรงขณะอบนึ่งจึงไม่สามารถเปิดท่อนี้ได้ ลักษณะดังกล่าวอาจมีผลให้ความร้อนและความดันบริเวณช่องอีย่นไม่เพียงพอที่จะฆ่าเชื้อได้ เมื่อนำตะกอนสีขาวที่พบมาละลายน้ำสามารถละลายน้ำได้ จึงสันนิษฐานว่าตะกอนที่พบอาจเป็นเกลือชนิดหนึ่งที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Ys-broth ที่ตกตะกอนและไม่ละลายขณะทำการอบนึ่ง

3. วิธีการแก้ไข

ตัดช่องดังกล่าวออกให้เหลือเป็นท่อตรงชิดกับตัวถังหมักแล้วจึงทำการทดสอบ batch ต่อไป

4.4 การทดลอง Batch ที่ 4

เพื่อทำการทดสอบ drain valve หลังจากทำการแก้ไขแล้ว

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสูตร Ys-broth ปริมาณ 70 ลิตร
- 1.2 อบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 126°C ความดัน 1.2 Bar (17 ปอนด์/ตารางนิ้ว) เป็นเวลา 30 นาที ควบคุมให้อุณหภูมิลดลงที่ 25°C
- 1.3 ไข่ตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรวจสอบการปนเปื้อนทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

ไม่พบการปนเปื้อน หลังจากนี้ได้ทำการทดลองเพื่อยืนยันผลอีก 2 batch

4.5 การทดลอง Batch ที่ 5 และ 6

เพื่อยืนยันผลการทดลอง Batch ที่ 4

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสูตร Ys-broth ปริมาณ 70 ลิตร
- 1.2 อบนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 126°C ความดัน 1.2 Bar (17 ปอนด์/ตารางนิ้ว) เป็นเวลา 30 นาที ควบคุมให้อุณหภูมิลดลงที่ 25°C
- 1.3 ไซตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรวจสอบการปนเปื้อน

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

ไม่สามารถตรวจสอบผลการทดลองได้เนื่องจากฝนตกหนักสายฟ้าเข้ามายกเครื่องเฟอร์เมนเตอร์ และกระแสไฟฟ้าขัดข้องไม่สามารถควบคุมการทำงานของเครื่องเฟอร์เมนเตอร์ได้

3. วิธีการแก้ไข

ทำการต่อเติมหลังคาและชายคาเพื่อบังแดดและกันฝน

4.6 การทดลอง Batch ที่ 7

ทำการทดลองเพื่อยืนยันผลการแก้ไขและปรับปรุงส่วนประกอบต่างๆ ของถังหมัก

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสูตร Ys-broth ปริมาณ 70 ลิตร
- 1.2 อบนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 126°C ความดัน 1.2 Bar (17 ปอนด์/ตารางนิ้ว) เป็นเวลา 35 นาที ควบคุมให้อุณหภูมิลดลงที่ 25°C
- 1.3 ไซตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรวจสอบการปนเปื้อนที่ 24 ชั่วโมง

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

ไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิและความดันให้คงที่ได้ เนื่องจาก Mechanical seal รั่ว ความดันอยู่ระหว่าง 0.8 – 1.1 Bar อุณหภูมิอยู่ระหว่าง $117 - 122^{\circ}\text{C}$ จึงเพิ่มระยะเวลาการอบนิ่งจาก 35 นาที เป็น 45 นาที เมื่อไซอาหารมาตรวจสอบการปนเปื้อนที่ 24 ชั่วโมง พบการติดเชื้อปนเปื้อนซึ่งคาดว่าเกิดจากการที่ Mechanical seal รั่ว

3. วิธีการแก้ไข

แก้ไข Mechanical seal

4.7 การทดลอง Batch ที่ 8

เพื่อตรวจสอบ Mechanical seal

1. วิธีการทดลอง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับ Batch ที่ 7

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

พบการติดเชื้อมีปนเปื้อนเช่นเดียวกับ Batch ที่ 7 และ Mechanical seal ยังคงรั่วอยู่

3. วิธีการแก้ไข

เปลี่ยน Mechanical seal ตัวใหม่ และได้มีการประชุมเพื่อหาแนวทางแก้ปัญหาาร่วมกันโดยสรุปได้ดังต่อไปนี้

3.1 การติดเชื้อมีปนเปื้อนอาจเกิดจากความบกพร่องของอุปกรณ์ต่างๆ เนื่องจากเมื่อถอดฝาถังเพื่อทำความสะอาดพบว่าที่แกนกววนและใบกววนมีสนิม ท่อ Sampling valve มีขนาดยาวเกินไป จึงได้ทำการถอดแกนใบเพื่อขัดสนิมและล้างทำความสะอาด และตัดท่อ Sampling valve ให้สั้นลง

3.2 การติดเชื้อมีปนเปื้อนอาจเกิดเนื่องมาจากกระบวนการฆ่าเชื้อในถังไม่สมบูรณ์ หรือกระบวนการอบนึ่งอาหารไม่เหมาะสม ดังนั้นเพื่อลดปัญหาการอบนึ่งฆ่าเชื้อจึงควรทำการทดลองตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. ล้างทำความสะอาดถังหมัก ใบกววนและอุปกรณ์ทุกส่วนทุกครั้งก่อนการทดลอง แล้วแช่อุปกรณ์ด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ คลอรีน 0.1 % ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
2. ปล่อน้ำยาฆ่าเชื้อทิ้งแล้วเติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 ลิตร (ท่วมใบกววนใบบนสุด) อบนึ่งฆ่าเชื้อภายในถังที่ ความดัน 1.1 Bar อุณหภูมิ 121°C นาน 35 นาที เป็นอย่างน้อย หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25°C
3. เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อเปปโตน 0.1% (ใช้แทน Ys-broth เนื่องจากงบประมาณอาหารเลี้ยงเชื้อมีจำกัด) โดยคำนวณตามปริมาณที่ใช้รวมกับน้ำกลั่นที่ใช้อบนึ่งฆ่าเชื้อตามข้อที่ 2 แล้วจึงอบนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อทดสอบการปนเปื้อน หลังจากอบนึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงคัดตัวอย่างอาหารมาตรวจสอบการปนเปื้อน

4.8 การทดลอง Batch ที่ 9

เพื่อตรวจสอบการทำงานของ Mechanical seal

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 ทำความสะอาดอุปกรณ์ภายในและฝาถังหมัก โดยถอดฝาถังหมักมาล้างและขัดทำความสะอาด แกนกวน ใบกวน และประเก็นต่างๆ เสร็จแล้วจึงประกอบอุปกรณ์ทั้งหมดเข้ากับตัวถังหมักตามเดิม
- 1.2 ผสมน้ำยาฆ่าเชื้อคลอโรกซ์ 0.1 % ปริมาณ 100 ลิตร แช่ฆ่าเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 1.3 ใช้น้ำยาฆ่าเชื้อคลอโรกซ์ 0.1 % ที่จุ่มแล้วเติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 ลิตร จึงเริ่มทำการทดลอง
- 1.4 อบนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ไอน้ำร้อนจากน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 130°C ความดัน 1.5 Bar เป็นเวลา 90 นาที น้ำในถังจะลดระดับลงประมาณ 20 ลิตร จากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิลงมาที่ 25 °C และควบคุมให้อุณหภูมิคงที่ 25°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
- 1.5 เติมหอาหารเลี้ยงเชื้อเปปโตน 0.1% ลงไปรวมกับน้ำกลั่นในถังแล้วอบนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C ความดัน 1.1 Bar เป็นเวลา 35 นาที

2. ผลการทดลอง

- 2.1 หลังจากเปิด Steam อบอาหารไปนาน 10 นาทีขณะความดันในถังอยู่ที่ 1.0 Bar อุณหภูมิ 120°C และความเร็รรอบในการกวน 70 รอบ/นาที ท่ออากาศ (inlet airflow) เกิดแตกและส่วนโคนขาดติดอยู่ในตัวล้อไม่สามารถถอดออกมาได้ ทำให้อิอน้ำพุ่งออกมาเป็นปริมาณมาก
- 2.2 นาทีที่ 25 ความดันภายในถังลดลงเหลือ 0.9 Bar อุณหภูมิค่อยๆลดลงเหลือ 116.6°C ความเร็รรอบคงที่
- 2.3 นาทีที่ 32 ความดันภายในถังลดลงเหลือ 0.8 Bar อุณหภูมิค่อยๆลดลงเหลือ 115°C ความเร็รรอบคงที่
- 2.4 นาทีที่ 34 ความดันภายในถังคงที่ที่ 0.8 Bar อุณหภูมิค่อนข้างคงที่ที่ 114.5°C ความเร็รรอบคงที่จนถึงนาทีที่ 45 จึงหยุดการอบนึ่งฆ่าเชื้อ (เพิ่มเวลาการอบฆ่าเชื้อจากที่กำหนดไว้ 35 นาที เป็น 45 นาที เนื่องจากไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิและความดันได้ตามมาตรฐาน) จากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิจาก 114.5°C มาที่ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงตรวจการปนเปื้อนของอาหาร พบว่าไม่มีการปนเปื้อน
- 2.5 หลังจากนั้นนำอาหารที่อบนึ่งฆ่าเชื้อและตรวจไม่พบการปนเปื้อนไปตั้งทิ้งไว้ในห้องโล่ง 1 คืน พบว่ามีเชื้ออื่นเกิดขึ้น แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาการอบนึ่งไม่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเสียสภาพ แสดงว่า Mechanical seal ใช้งานได้

3. อุปสรรคและวิธีการแก้ไข

อย่างไรก็ตามการที่ท่อ inlet airflow แตกขณะทำการอบนิ่งทำให้อิอน้ำรั่วออกมามากเกินไปไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิและความดันให้อยู่ในมาตรฐานได้ ดังนั้นจึงควรเปลี่ยนท่อดังกล่าวเป็นท่อที่ทนต่ออุณหภูมิและแรงดันขณะอบนิ่งได้

4.9 การทดลอง Batch ที่ 10

เพื่อทดสอบยืนยันขั้นตอนและวิธีการที่ใช้ในการอบนิ่งฆ่าเชื้อในถังหมักระดับ 100 ลิตร รวมทั้งตรวจสอบการทำงานของอุปกรณ์ต่างๆที่ได้รับการแก้ไขแล้ว ได้แก่ Balance pressure, Drain valve, Sampling valve, Mechanical seal, และ ท่อ Inlet airflow

1. วิธีการทดลอง

- 1.1 ทำความสะอาดอุปกรณ์ภายในและฝาถังหมัก โดยถอดฝาถังหมักมาล้างและขัดทำความสะอาด แกนกวน ใบกวน และประเก็นต่างๆ เสร็จแล้วจึงประกอบอุปกรณ์ทั้งหมดเข้ากับตัวถังหมักตามเดิม
- 1.2 ผสมน้ำยาฆ่าเชื้อคลอโรกซ์ 0.1 % ปริมาณ 100 ลิตร แช่ฆ่าเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- 1.3 ใช้น้ำยาฆ่าเชื้อคลอโรกซ์ 0.1 % ที่แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 ลิตร จึงเริ่มทำการทดลอง
- 1.4 อบนิ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ไอน้ำร้อนจากน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 130°C ความดัน 1.5 Bar เปิดไอน้ำร้อนเพื่อฆ่าเชื้อตามท่อต่างๆที่ละท่อ ได้แก่ Filter, ท่อ feed อาหารเข้า, outlet air filter, Sampling valve ท่อละ 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมให้คงที่ที่ 25°C ที่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง
- 1.5 เติมน้ำเลี้ยงเชื้อเปปโตเน 0.1% ลงไปรวมกับน้ำกลั่นในถังโดยละลายเปปโตเนในน้ำกลั่นปริมาณ 20 ลิตร เติมน้ำในถังหมักขนาด 6 ลิตร แล้ว feed เข้าถังหมักขนาด 100 ลิตร โดยใช้ Peristaltic pump
- 1.6 อบนิ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C ความดัน 1.1 Bar เป็นเวลา 35 นาที โดยขณะทำการอบนิ่งปล่อยไอน้ำร้อนฆ่าเชื้อที่ท่อ feed อาหารไปพร้อมกัน หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมให้คงที่ที่ 25°C
- 1.7 ตรวจสอบผลการทดลองทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

2. ผลการทดลองและอุปสรรค

ไม่พบการติดเชื้อปนเปื้อน สามารถสรุปได้ว่าถังหมักอยู่ในสภาพพร้อมใช้งาน

บทที่ 5

การทดลองการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย *S. capocapsae* (Weiser)

ในถังหมักขนาด 100 ลิตร โดยเตรียมอาหาร 50 ลิตร

หลังจากผู้วิจัยได้ทำการทดสอบความพร้อมของถังหมักและอุปกรณ์ต่อเชื่อมต่างๆ และได้ทำการปรับปรุงแก้ไขความบกพร่องที่เกิดขึ้น รวมทั้งได้ศึกษาวิธีการอบนึ่งฆ่าเชื้อที่เหมาะสมกับเฟอร์เมนเตอร์ขนาด 100 ลิตร จนประสบความสำเร็จไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อปนเปื้อน จึงได้ทำการทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย

5.1 วัสดุ อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องมือ ได้แก่ ชุดทดลองถังหมักขนาด 100 ลิตรและขนาด 6 ลิตรพร้อมอุปกรณ์บันทึกข้อมูลและอุปกรณ์อำนวยความสะดวกในการทำงานต่างๆ เครื่องทำน้ำกลั่น ตู้อบนึ่งฆ่าเชื้อ กล้องจุลทรรศน์ โถปั่นอาหารขนาด 1 ลิตร auto pipette
2. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ สไลด์นับปากปิด สไลด์ตรวจแบคทีเรีย ขวดสำหรับ feed ตันเชื้อแบคทีเรีย
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อาหารเหลวสูตร Tsb₃ อาหารเลี้ยงขยายแบคทีเรียสูตร Ys-broth
4. ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (Weiser) วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (IJ)
5. แบคทีเรีย *X. nematophilus*
6. หนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella*
7. สารเคมีต่างๆ ได้แก่ ไฮยามีน, ฟอร์มาลินและคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 0.1% แอลกอฮอล์ 75%
8. วัสดุอื่นๆ ได้แก่ ลูกแก้วสำลี สายซิลิโคน coupling filter รูกรองขนาด 0.22 u ทิปตะเกียง แอลกอฮอล์ ไม้ขีดไฟ cell wall plates ถาดนับไส้เดือนฝอย

5.2 วิธีการทดลอง

5.2.1 การเตรียมถังหมักขนาด 100 ลิตร ให้ปลอดเชื้อก่อนทำการอบนึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Tsb₃ มี 2 ขั้นตอน ดังนี้

1.1 ขั้นตอนการล้างทำความสะอาดถังหมัก

- ถอดส่วนประกอบต่างๆของชุดฝาถังหมัก ใบกวน แขนกวน ออกล้างทำความสะอาดเสร็จแล้วประกอบเข้าตามเดิม ตรวจสอบต่อและปะเก็นให้ปิดสนิท
- เติมน้ำยาฆ่าเชื้อคลอโรกซ์ 0.1% ลงไปให้เต็มถัง แช่ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จึงไขทิ้ง

1.2 ขั้นตอนการอบนิ่งเพื่อฆ่าเชื้อภายในถังหมักด้วยไอน้ำร้อน

- เติมน้ำกลั่นลงในถังหมักปริมาณ 100 ลิตร อบนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 130°C ความดัน 17 ปอนด์/ตารางนิ้ว เปิดไอน้ำฆ่าเชื้อตามท่อเปิดต่างๆ นาน 1 ชั่วโมง
- เสร็จแล้วทำการลดอุณหภูมิลงทันทีและควบคุมให้คงที่ 25°C

5.2.2 การเตรียมอบนิ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Ts_b เพื่อใช้เลี้ยงขยายได้เดือนฝอย

2.1 ละลายส่วนประกอบต่างๆของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Ts_b เติมน้ำกลั่นในถังหมัก 100 ลิตร ซึ่งประกอบด้วย

Tryptic soy broth 0.75%

Yeast cell 0.50%

Egg yolk 6.67%

Corn oil 2.50%

Distill water

เสร็จแล้วอบนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 35 นาที หลังจากนั้นลดอุณหภูมิลงทันทีและควบคุมให้คงที่ 25°C

2.2 ปรับปัจจัยต่างๆให้กับถังหมัก ดังนี้

- ความเร็วในการกวน 180 รอบ/นาที
- ให้อากาศในอัตรา 75 ลิตร/นาที
- อุณหภูมิคงที่ 25 °C

5.2.3 การเตรียม Inoculum แบคทีเรียสำหรับเลี้ยงขยายในถังหมัก 100 ลิตร โดยเลี้ยงขยายต้นเชื้อด้วยถังหมักขนาด 6 ลิตร

3.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Ys-broth ในถังหมักขนาด 6 ลิตร เข้าอบนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที เสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็น

3.2 นำถังหมักจากข้อ 3.1 ประกอบเข้ากับ control unit แล้วปรับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

- ความเร็วในการกวน 180 รอบ/นาที
- ให้อากาศในอัตรา 8 ลิตร/นาที
- อุณหภูมิคงที่ 25 °C

เสร็จแล้ว feed แบคทีเรียต้นเชื้อลงไปปริมาณ 30 มล. เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้แบคทีเรียเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 1×10^7 เซลล์/มล.

3.3 นำแบคทีเรียที่ได้จากข้อ 3.2 feed ลงเลี้ยงขยายในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่ปรับปัจจัยต่างๆไว้แล้วตามข้อ 2.2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงใส่ไส้เดือนฝอยลงเลี้ยงขยายร่วมกันในอัตรา 1,000 ตัว/อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มล

5.2.4 การเตรียม Inoculum ไส้เดือนฝอยพ่อแม่พันธุ์สำหรับเลี้ยงขยายในถังหมัก 100 ลิตร

4.1 นำถังหมักขนาด 6 ลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 2 ลิตร นำเข้าอบนิ่งที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 30 นาที เสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็น

4.2 นำไส้เดือนฝอยพ่อแม่พันธุ์ที่เพาะขยายด้วยวิธีการทำ pure line นับจำนวนให้ได้ตามที่ต้องการ ล้างด้วยไฮยามีน 0.1% 3 ครั้ง โดยตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนแล้วรินน้ำทิ้ง ครั้งละ 15 นาที เสร็จแล้วล้างน้ำกลั่นที่ผ่านการอบนิ่งฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที จึงนำไส้เดือนฝอยดังกล่าวเทลงในถังหมักข้อ 4.1

4.3 นำไส้เดือนฝอยจากข้อ 4.2 feed ลงในถังหมักขนาด 100 ลิตรที่เลี้ยงขยายแบคทีเรียแล้ว 24 ชั่วโมงตามข้อ 3.2

5.2.5 การเก็บผลผลิต

5.1 เมื่อเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยได้ระยะเข้าทำลายแมลง (IJ) 100% แล้ว เติมน้ำลงไปในถังหมักเพื่อเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อให้ความเข้มข้นและความหนืดลดลงประมาณ 50%

5.2 กวนให้อาหารเจือจางกับน้ำที่เติมลงไปนานประมาณ 30 นาที

5.3 เสร็จแล้วหยุดใบกวนให้ไส้เดือนฝอยตกตะกอนนานประมาณ 30 นาที

5.4 ไขเอาตะกอนไส้เดือนฝอยออกจากถังหมักใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำลงไปเจือจางตะกอนให้ความเข้มข้นลดลงประมาณ 50% เสร็จแล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง จะได้ไส้เดือนฝอยที่สะอาดมีเศษอาหารเจือปนน้อยลง

5.5 นำตะกอนไส้เดือนฝอยที่ได้จากข้อ 5.4 มากรองเพื่อคัดเลือกไส้เดือนฝอยที่แข็งแรงและมีชีวิตด้วยตากรองขนาด 50 μ

5.6 นำไส้เดือนฝอยที่ผ่านการกรองมานับและบรรจุในฟองน้ำสังเคราะห์แล้วนำเข้าเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 7°C

5.2.6 การทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง (Q.C.)

6.1 หลังจากเก็บรักษาไส้เดือนฝอยไว้ที่อุณหภูมิ 7°C ไม่น้อยกว่า 48 ชั่วโมงจึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพ โดยค่ามาตรฐานของการทดสอบต้องไม่ต่ำกว่า 40%

6.2 สุ่มตัวอย่างไส้เดือนฝอยออกมา 3% ของผลผลิต(ของ) นำฟองน้ำมาขยำเอาไส้เดือนฝอยออก ป้อนอากาศนาน 15 นาที

6.3 กวนไส้เดือนฝอยให้กระจายสม่ำเสมอ คัดตัวอย่างไส้เดือนฝอยนำมาใส่ใน cell wall plates ช่องละ 1 ตัว (cell wall plate 1 ถาด มีทั้งหมด 24 ช่อง ทำการทดลอง 5 ถาด (ซ้ำ))

6.4 ใส่หนอนกินรังผึ้งตามลงไปช่องละ 1 ตัว ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25°C นาน 48 ชั่วโมง เสร็จแล้วนำมานับจำนวนหนอนกินรังผึ้งที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยแล้วจึงคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายแมลง (Q.C.)

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองที่เรือนปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่าง มกราคม – กุมภาพันธ์ 2546

5.3 ผลการทดลอง

การปรับสภาพภายในถังหมัก	ผลการทดลอง
<u>ช่วงที่ 1 (0 – 24 ชั่วโมง)</u> - เป็นระยะการเลี้ยงขยายแบคทีเรีย - กำหนดความเร็วในการกวน 180 รอบ/นาที - ให้อากาศเข้าถังหมักสม่ำเสมอ 75 ลิตร/นาที - อุณหภูมิคงที่ 25°C	ไข่ตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อออกมาวัดค่า pH ภายนอกถังหมักที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 8.28 ไม่พบการปนเปื้อนและนับปริมาณแบคทีเรียมีชีวิตได้ 1.14×10^{14} เซลล์/มล. มีฟองมาก
<u>ช่วงที่ 2 (24 – 48 ชั่วโมง)</u> - ใส่ไส้เดือนฝอยพ่อแม่พันธุ์ลงเลี้ยงขยายร่วมกับแบคทีเรียที่ 24 ชั่วโมงในอัตรา 1,000 ตัว/มล. - ควบคุมปัจจัยที่ให้กับถังหมักเช่นเดียวกับการเลี้ยงขยายแบคทีเรียที่ 24 ชั่วโมงแรก	ไข่ตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อออกมาวัดค่า pH ภายนอกถังหมักที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 8.22 ไม่พบการปนเปื้อน ตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยมีเปอร์เซ็นต์พัฒนาจากระยะ II เป็น J_4 เท่ากับ 54.55% ฟองลดลง ไม่สามารถสังเกตเห็นสภาพภายในถังหมักได้เนื่องจากคราบไขมันติดที่กระจกภายในถังหมักทำให้เป็นฝ้าขาว

ตารางที่ 5.1 ผลการทดลองเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่เตรียมอาหารเหลวสูตร Tsb₃ ปริมาณ 50 ลิตร ที่อุณหภูมิคงที่ 25°C (ระหว่างอายุ batch ที่ 0 – 48 ชั่วโมง)

การปรับสภาพภายในถังหมัก	ผลการทดลอง
<u>ช่วงที่ 3 (48 – 120 ชั่วโมง)</u> - ลดความเร็วในการกวนลงไปที่ 130 รอบ/นาที - ให้อากาศเข้าถังหมักเพิ่มเป็น 100 ลิตร/นาที - อุณหภูมิคงที่ 25 °C	คาดว่าไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตปกติและอยู่ในระยะผสมพันธุ์และสร้างไข่ซึ่งต้องการอากาศมากขึ้นและลดการกวนให้ช้าลงเพื่อให้ไส้เดือนฝอยจับคู่ผสมพันธุ์ไม่ได้ไข่ตัวอย่างอาหารออกมาตรวจเนื่องจากระยะนี้จะเกิดการปนเปื้อนได้ง่ายมีฟองมาก
<u>ช่วงที่ 4 (120 – 144 ชั่วโมง)</u> - เพิ่มความเร็วในการกวนเป็น 150 รอบ/นาที - ให้อากาศเข้าถังหมักเพิ่มเป็น 120 ลิตร/นาที - อุณหภูมิคงที่ 25 °C	ไข่ตัวอย่างอาหารออกมาตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย พบว่า ไส้เดือนฝอยให้ลูกอ่อนระยะ J ₁ และ J ₂ จำนวน 280,000 ตัว/มล.(เพิ่มความเร็วในการกวนเพื่อป้องกันการตกตะกอนและให้อากาศกระจายอย่างทั่วถึงทั้งถังหมัก) pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7.68 มีฟองมากเกือบถึงฝาถังหมัก
<u>ช่วงที่ 5 (144 – 168 ชั่วโมง)</u> - ลดความเร็วในการกวนมาที่ 130 รอบ/นาที - ให้อากาศเข้าถังหมักเพิ่มเป็น 150 ลิตร/นาที - อุณหภูมิคงที่ 25 °C	ไข่ตัวอย่างอาหารออกมาตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย พบว่า ลูกอ่อนตายเป็นจำนวนมาก (อาจเกิดจากความเร็วในการกวนสูงเกินไปจึงลดความเร็วในการกวนลงแล้วเพิ่มอัตราการให้อากาศมากขึ้น) เหลือลูกอ่อนที่เข้าสู่ระยะ J ₃ จำนวน 198,000 ตัว/มล. pH เท่ากับ 7.78 ฟองลดลง

ตารางที่ 5.1 (ต่อ) ผลการทดลองเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่เตรียมอาหารเหลวสูตร Tsb₃ ปริมาณ 50 ลิตร ที่อุณหภูมิคงที่ 25 °C (ระหว่างอายุ batch ที่ 48 – 168 ชั่วโมง)

การปรับสภาพภายในถังหมัก	ผลการทดลอง
<u>ช่วงที่ 6 (168 – 336 ชั่วโมง)</u> - เพิ่มความเร็วในการกวนเป็น 180 รอบ/นาที ที่ 216 ชั่วโมง - ลดการให้อากาศเข้าถังหมักมาที่ 70 ลิตร/นาที ที่ 216 ชั่วโมง - อุณหภูมิคงที่ 25 °C	ไข่ตัวอย่างอาหารออกมาตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยที่อายุ batch 336 ชั่วโมง พบว่า ไส้เดือนฝอยเข้าสู่ระยะ II 100% จึงเก็บผลผลิต, pH อาหารเท่ากับ 8.42
ปริมาณอาหารที่เหลือในถังหมัก	30 ลิตร
ระยะเวลาในการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย 1 วงจรชีวิต	13 วัน
ผลผลิต	180,000 ตัว/มล.
ประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง (Q.C.)	65.83%

ตารางที่ 5.1 (ต่อ) ผลการทดลองเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่เตรียมอาหารเหลวสูตร Tsb₃ ปริมาณ 50 ลิตร ที่อุณหภูมิคงที่ 25 °C (ระหว่างอายุ batch ที่ 168 – 336 ชั่วโมง)

5.4 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

เนื่องจากส่วนประกอบการทำงานบางส่วนของถังหมักยังทำงานได้ไม่สมบูรณ์นัก โดยเฉพาะในส่วนของการเก็บบันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆภายในถังหมักเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อบันทึกผลการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยในถังหมักยังไม่สามารถบันทึกและอ่านข้อมูลได้ การวัดข้อมูลต่างๆจึงต้องใช้อุปกรณ์ที่มีในห้องปฏิบัติการเข้าช่วย ทำให้สามารถวัดได้เพียงบางช่วงเท่านั้นซึ่งได้แก่ตัววัดการละลายของออกซิเจนภายในถังหมัก (D.O.- Probe) ยังทำการ calibrate ไม่ได้ ตัววัดการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH - probe) ขณะทำการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยภายในถังหมักชำรุด ท่อวัดปริมาณการให้อากาศ (Rotameter) รั่วซึม และโรงเรือนปฏิบัติการเป็นโรงเรือนเปิดการสู่มตัวอย่างอาหารจากถังหมักออกมาตรวจผลต้องทำอย่างระมัดระวังยิ่งเพราะสามารถเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาดังกล่าวในช่วงระยะที่มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนจึงงดการสู่มอาหารจากถังหมักออกมาตรวจผล ดังนั้นการทดลองดังกล่าวจึงมุ่งหวังผลการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยในถังหมักแบบ Stirred Tank ขนาด 100 ลิตรให้ได้ผลผลิตก่อนเป็นจุดมุ่งหมายแรก

จากตารางที่ 5.1 พบว่า การปรับสภาพภายในถังหมักในช่วงที่ 1 ขณะทำการเลี้ยงขยายแบคทีเรียที่ความเร็วรอบในการกวน 180 รอบ/นาที อัตราการป้อนอากาศที่ 75 ลิตร/นาที และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 25°C นั้นค่อนข้างมีความเหมาะสม เนื่องจากเมื่อเลี้ยงขยายแบคทีเรียแล้ว 24 ชั่วโมง วัด pH ได้

8.28 และนับจำนวนแบคทีเรียได้ 1.14×10^{14} เซลล์/มล. นั้นใกล้เคียงกับการเลี้ยงขยายในถังหมัก 6 ลิตร (วัชรและสุทธิชัย, 2542) ในช่วงที่ 2 เมื่อใส่ไส้เดือนฝอยลงเลี้ยงขยายร่วมกับแบคทีเรียแล้ว 24 ชั่วโมง หรืออายุ batch ที่ 48 ชั่วโมง จึงไขอาหารออกมาตรวจการพัฒนของไส้เดือนฝอยพบว่าไส้เดือนฝอยมีการเจริญเติบโตพัฒนาจากระยะ IJ เป็น J_4 ได้ 54.55 % ซึ่งถือว่าค่อนข้างต่ำ โดยอัตราการพัฒนาจากระยะ IJ เป็น J_4 ปกติจะอยู่ระหว่าง 70 – 90% อัตราการพัฒนาที่ค่อนข้างน้อยนี้อาจเกิดจากอิทธิพลของความเร็วในการกวนที่ก่อให้เกิดความรุนแรงมากเกินไป (Turbulent Flow) และเนื่องถังหมักขนาด 100 ลิตร เป็นถังตีบและมีฝาซึ่งเกิดจากไขมันจับที่กระจกจึงทำให้เป็นอุปสรรคต่อการสังเกตรูปแบบการหมุนวนของอาหารภายในถังหมักได้ ดังนั้นผู้ทำการทดลองจึงลดความเร็วรอบในการกวนลงจากที่อัตรา 150 รอบ/นาที มาที่ 130 รอบ/นาที

การทดลองในช่วงที่ 3 หรืออายุ batch ที่ 48-120 ชั่วโมง ผู้ทำการทดลองได้งดการไขอาหารออกมาตรวจเนื่องจากไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์สร้างไข่และออกลูกอ่อน ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 96 ชั่วโมงหลังเลี้ยงขยายร่วมกับแบคทีเรีย หากเกิดการติดเชื้อปนเปื้อนในระยหานี้ไส้เดือนฝอยจะตายทั้งหมด จึงต้องรอนจนกระทั่งไส้เดือนฝอยออกลูกแล้ว 2 วัน หรืออายุ batch ที่ 144 ชั่วโมง ตัวอ่อน J_1 จะเจริญเติบโตและแข็งแรงขึ้นเป็น J_2 ระยะนี้ต้องระวังการตกตะกอนและการขาดอากาศหายใจเนื่องจากประชากรไส้เดือนฝอยอัตราการขยายพันธุ์เพิ่มขึ้นสูงมาก โดยอาจสูงถึง 250 – 350 เท่า แต่ลูกอ่อนที่ได้ก็ค่อนข้างบอบบางต้องจัดปัจจัยต่างๆที่ให้กับถังหมักอย่างเหมาะสมจึงจะมีชีวิตรอดได้สูง โดยเฉพาะปริมาณการให้อากาศและความเร็วในการกวน ปัญหาที่พบเสมอในระยหานี้คือเกิดฟองมากเนื่องจากอาหารเริ่มหนืด หากให้อากาศมากอาหารจะล้นออกตามท่อต่างๆที่ฝาถังหมักและเกิดการติดเชื้อปนเปื้อนได้ จากผลการทดลองตามตารางที่ 5.1 ในช่วงที่ 4 ไส้เดือนฝอยออกลูกอ่อนถึง 280,000 ตัว/มล. แต่เนื่องในถังหมักไม่มีตัววัดการละลายของออกซิเจน (DO-Probe) จึงไม่สามารถทราบได้ว่าควรเพิ่มหรือลดปัจจัยใด ผู้ทำการทดลองได้ทดลองเพิ่มความเร็วรอบมากขึ้นเป็น 150 รอบ/นาที เพื่อป้องกันอาหารล้นและไส้เดือนฝอยตกตะกอน หลังจากนั้นอีก 24 ชั่วโมง หรืออายุ batch ที่ 168 ชั่วโมง จึงไขอาหารออกมาตรวจอีกครั้งพบว่า ลูกอ่อนไส้เดือนฝอยตายไปถึง 29.3% คาดว่าอาจเกิดเนื่องจากความรุนแรงของการกวนที่ปรับให้ความเร็วรอบสูงเกินไป จึงลดอัตราการกวนลงมาที่ 130 รอบ/นาที และเพิ่มปริมาณการให้อากาศมากขึ้นจาก 120 ลิตร/นาที เป็น 150 ลิตร/นาที เพราะปริมาณฟองในถังหมักเริ่มลดลง

เมื่อเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยจนถึงอายุ batch ที่ 216 ชั่วโมง จึงเพิ่มความเร็วรอบมากขึ้นและลดปริมาณการให้อากาศลง (ความเร็วรอบในการกวน 180 รอบ/นาที และ อัตราการป้อนอากาศ 70 ลิตร/นาที) เนื่องจากไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะ J_3 และเตรียมเข้าสู่ระยะ IJ ซึ่งต้องการอากาศน้อยมากและอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมักจะหมดลงพอดีระยะนี้เพียงระวังไม่ให้ไส้เดือนฝอยตกตะกอนทับถมกันเท่านั้นก็จะสามารถเก็บผลผลิตได้ เนื่องจากไส้เดือนฝอยวัยนี้จะมี ความแข็งแรงทนทานต่อสภาพ

แวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้มากกว่าวัยอื่นๆ และจากตารางที่ 5.1 ในช่วงที่ 6 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อเหลือในถังหมักเพียง 30 ลิตร เนื่องจากต้องไขอาหารออกเพื่อตรวจนับการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยและบางส่วนระเหยไปขณะทำการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย อย่างไรก็ตามสามารถเก็บผลผลิตได้ 180,000 ตัว/มล. ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย 1 วงจรชีวิต 13 วัน ซึ่งนานกว่าปกติ 1 วัน (ปกติ 9-12 วัน) เนื่องจากไส้เดือนฝอยบางส่วนตายขณะเป็นลูกอ่อน (พัฒนาจากระยะ J_2 เข้าสู่ระยะ J_3) ทำให้อาหารในถังหมักมีสัดส่วนที่เหลือมากขึ้นไส้เดือนฝอยจึงเข้าสู่ระยะ II ช้าลงและจากสัดส่วนของอาหารที่เหลือมากขึ้นนี้เองจึงส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงถึง 65.83%

5.5 ปัญหาอุปสรรคและแนวทางแก้ไข

การเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยด้วยถังหมักนั้น มีขั้นตอนในการทดลองและเตรียมการทดลองหลายขั้นตอน จำเป็นต้องมีอุปกรณ์ที่อำนวยความสะดวกและป้องกันการติดเชื้อปนเปื้อนในแต่ละขั้นตอนเป็นอย่างดี จากการทดลองดังกล่าวได้นำอุปกรณ์เครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการมาประยุกต์ใช้ซึ่งปฏิบัติงานได้อย่างยากลำบากและอุปกรณ์บางอย่างไม่เหมาะสมกับงาน เช่น ใช้กระป๋องน้ำมันแทนถังสำหรับ feed อาหารเข้าถังหมัก ใช้ coupling และขวดสำหรับ feed ไส้เดือนฝอยของถังหมักขนาด 6 ลิตรซึ่งมีขนาดเล็กเกินไป ไม่สามารถเปิดฝาถังหมักสำหรับล้างทำความสะอาดเนื่องจากไม่มีแท่นรองรับการ feed แบบที่เรีย ไส้เดือนฝอยและสุมตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากถังหมัก รวมทั้งการล้างกรองไส้เดือนฝอยและถ่ายอาหารออกจากถังหมักตกตะกอนเพื่อเก็บผลผลิตไม่สามารถทำตอนกลางวันได้เนื่องจากโรงเรือนปฏิบัติการเป็นโรงเรือนเปิดและอยู่ติดทางสัญจร มีฝุ่นผงและลมแรง อากาศร้อนเสี่ยงต่อการปนเปื้อนและทำให้ไส้เดือนฝอยตายได้สูงขณะเก็บผลผลิต จึงจำเป็นต้องออกแบบอุปกรณ์ที่เหมาะสมและใช้เฉพาะงานในขั้นตอนต่างๆ รวมทั้งปรับปรุงเรือนปฏิบัติการให้เหมาะแก่การปฏิบัติงานต่อไป

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง – อุปสรรคและปัญหา และข้อเสนอแนะ โครงการวิจัยการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย *S. capocapsae* (Weiser) ในถังหมักขนาด 100 ลิตร

การทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย *S. capocapsae* (Weiser) ในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่สร้างขึ้นเองภายในประเทศถือว่าประสบความสำเร็จในระดับหนึ่ง ถังหมักที่สร้างขึ้นสามารถเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและเก็บผลผลิตได้ การทดลองใช้ใบพัดกวนทางด้านบนของเครื่องเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และใบพัดทางด้านล่างเป็นใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller แทนการใช้ใบพัดกวนแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT® B) เดิมเพื่อแก้ปัญหาการเกิดฟองล้นภายในถังหมักซึ่งมีผลทำให้ Working Volume ของถังหมักลดลงประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีสามารถลดปัญหาการเกิดฟองและสามารถเพิ่มปริมาณการป้อนอากาศ (เพิ่ม Air Flow Rate) ในช่วงที่ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์สร้างไข่และออกลูกอ่อน ซึ่งเป็นช่วงที่ไส้เดือนฝอยต้องการปริมาณออกซิเจนสูงได้โดยไม่เกิดฟองล้น อย่างไรก็ตามโครงการวิจัยนี้ยังมีอุปสรรคและปัญหาอีกมากซึ่งสามารถอภิปรายได้ดังนี้

1. เนื่องจากถังหมักที่สร้างขึ้นถือเป็นถังหมักต้นแบบ กระบวนการสร้างและการออกแบบถังหมักประสบปัญหาหลายประการ อภิปรายได้ดังนี้
 - 1.1 ขั้นตอนการประกอบถังและวัสดุทุกชิ้นจะต้องทำอย่างละเอียด ระวังระวังเพื่อให้ได้ตามมาตรฐานที่กำหนด ทุกรอยเชื่อม ข้อต่อ ข้องอ connection ระหว่าง Probe และ มาตรวัดต่างๆ ฯลฯ เมื่อนำมาประกอบเข้าด้วยกันแล้วจะต้องทำการขัดหยาบแล้วขัดละเอียดทุกครั้ง และเมื่อตรวจรายละเอียดของงานแล้วพบว่าอาจไม่ได้ตามมาตรฐานก็จะต้องรื้อแล้วทำการประกอบใหม่ เฉพาะเวลาที่ใช้สำหรับงานขัด จะใช้เวลากว่า 70% ของระยะเวลาในการทำงานทั้งหมด
 - 1.2 อุปกรณ์บางชิ้นที่มีงบประมาณจำกัด เช่น Peristaltic Pump หากสั่งซื้อโดยตรงแบบสำเร็จรูปจะมีราคาสูง จำเป็นจะต้องประยุกต์ทำเองภายในประเทศซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กระบวนการสร้างเกิดความล่าช้า
 - 1.3 การเขียน Software ที่ใช้ในการแสดงผลข้อมูลต่างๆ เช่น อุณหภูมิ, pH, รอบของใบกวน ซึ่งต้องทำการเขียนควบคู่กับ Hardware แต่ Hardware ที่ใช้มีปัญหาการเข้ากันได้กับเครื่อง computer ทำให้เครื่อง computer ที่ใช้ในการทดสอบโปรแกรมเสียหยาใช้การไม่ได้ไปแล้วถึง 2 เครื่อง ทางคณะผู้ดำเนินการวิจัยต้องเสียเวลาตรวจสอบและแก้ไขตัวโปรแกรมอยู่หลายครั้ง

2. การทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร ช่วงแรกประสบปัญหาการติดเชื้อในถังหมัก เนื่องมาจากปัญหาหลายประการ เช่น Production Outlet เป็นข้อผิดพลาดทำให้การทำ Sterilization ไม่ประสบผลสำเร็จ ปัญหาอื่นเนื่องมาจากอุปกรณ์บางตัวมีคุณภาพไม่ดีเท่าที่ควรทั้งนี้เนื่องมาจากค่าใช้จ่ายของโครงการเกินกว่าที่คาดการณ์ไว้ ต้องเสียเวลาทำการทดลอง Trial and Error เพื่อหาข้อบกพร่องว่ามาจากแหล่งใด ทำให้การทดลองในช่วงสุดท้ายล่าช้ากว่าแผนการที่กำหนดไว้
3. นอกจากนี้ปัญหาลำคัญอีกประการที่ทำให้กระบวนการทำ Sterilization ในช่วงแรกไม่ประสบผลสำเร็จ ก็เนื่องมาจากการใช้ถังหมักผิดรูปแบบ โดยการทำ Sterilization ในช่วง Batch แรกๆ จะใช้ไอน้ำร้อนจากอาหารเลี้ยงเชื้อภายในถังทำการอบนิ่งฆ่าเชื้อ port และท่อต่างๆ แทนที่จะใช้ไอน้ำร้อนจากน้ำกลั่น ทำให้การทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร ช่วงแรกประสบปัญหาการติดเชื้อในถังหมัก แต่หลังจากที่มีการปรับปรุงแก้ไขขั้นตอนการทำ Sterilization จากการทำ Sterilization เพียงครั้งเดียวโดยใช้ไอน้ำร้อนจากอาหารเลี้ยงเชื้อภายในถัง เป็นการทำการ Sterilization 2 ครั้ง โดยครั้งแรกใช้ไอน้ำร้อนจากน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 130°C ความดัน 1.5 Bar เปิดไอน้ำร้อนเพื่อฆ่าเชื้อตามท่อต่างๆ ทีละท่อ ได้แก่ Filter, ท่อ feed อาหารเข้า, outlet air filter, Sampling valve ท่อละ 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมให้คงที่ที่ 25°C ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อทำการ feed อาหารเลี้ยงเชื้อโดยผ่านท่อ feed อาหารจึงจะทำการ Sterilization อีกครั้ง โดยไอน้ำร้อนจากอาหารเลี้ยงเชื้อภายในถัง อบนิ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C ความดัน 1.1 Bar เป็นเวลา 35 นาที โดยขณะทำการอบนิ่งปล่อยไอน้ำร้อนฆ่าเชื้อที่ท่อ feed อาหาร เพียงอย่างเดียว พบว่ากระบวนการทำ Sterilization ประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดี
4. กระบวนการทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร มีความยุ่งยากมากกว่าการทดลองเลี้ยงในถังหมักขนาด 6 ลิตร เนื่องจากถังมีขนาดใหญ่จำเป็นต้องมีอุปกรณ์อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน เช่น กว้านไฟฟ้าเพื่อยกฝาถัง ปั๊มน้ำแรงดันสูงเพื่อฉีดทำความสะอาดถัง เครื่องช่วยในการล้างกรองไส้เดือนฝอยและถ่ายอาหารออกจากถังหมักตกตะกอนเพื่อเก็บผลผลิต ฯลฯ ซึ่งถือเป็นปัญหาที่มิได้มีการคาดการณ์ไว้ล่วงหน้า และสิ่งที่ได้กล่าวข้างต้นแล้วว่าถังหมักที่สร้างขึ้นถือเป็นถังหมักต้นแบบและเนื่องจากงบประมาณที่ค่อนข้างจำกัดทำให้ถังหมักไม่ได้ถูกออกแบบมาเพื่ออำนวยความสะดวกแก่ผู้ใช้งาน การปฏิบัติงานทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร จึงค่อนข้างละเอียดอ่อนมีขั้นตอนที่ซับซ้อนต้องใช้ผู้ปฏิบัติงานที่มีความรู้ทั้งทางด้านวิศวกรรมและชีวภาพผสมผสานกันการทดลองจึงจะประสบผลสำเร็จ ดังนั้นหากต้องการเผยแพร่โครงการนี้แก่เกษตรกรและผู้ประกอบการที่สนใจลงทุนควรจะมีการพัฒนาดังหมักให้มีรูปแบบการใช้งานที่ง่ายขึ้น

บรรณานุกรม

- วัชรีย์ สมสุข วินัย รัชตปกรณชัย และพิมลพร นันทะ. 2534. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ควบคุมด้วงหมัดผักในหัวผักกาด. วารสารกีฏและสัตววิทยา 4(13) : 183-188.
- วัชรีย์ สมสุข สุชน สุวรรณบุตร และพิมลพร นันทะ. 2534. ศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema* (=Neoplectana) *carpocapsae* (Weiser) ในการควบคุมด้วงงวงมันเทศในสภาพธรรมชาติ, ในรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2534. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ. กองกีฏและสัตววิทยา.
- วัชรีย์ สมสุข พิมลพร นันทะ และเอนก บุตรรัตน์. 2537. การควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ในดาวเรืองด้วยไส้เดือนฝอย, หน้า 55-62. ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและศัตรูศัตรูพืช ครั้งที่ 9. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- วิโรจน์ ขลิบสุวรรณ ยนต์ สุตะภักดี และวิไลวรรณ เวชยันต์ 2540. การศึกษาการทำให้เกิดโรคของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ในปลวกงาน *Odontotermes feae* (Wasmann) รายงานผลการวิจัยประจำปี 2538 มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วัชรีย์ สมสุข และพิมลพร นันทะ. 2535 การผลิตไส้เดือนฝอยปราบแมลงศัตรูพืชด้วยอาหารเทียม. วารสารวิชาการเกษตร 1(10) : 1-4.
- Georgis, R., and R.A. Gaugler. 1991. *Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes*. Journal of Economic Entomology 84: 713-720.
- Georgis, R., H.K. Kaya, and R.A. Gaugler. 1991. *Effect of Steinernematid and Heterorhabditid nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) on nontarget arthropods*. Environmental Entomology 20: 815-822.
- Kaya, H.K. 1985. *Susceptibility of early larval stages of Pseudaletia unipuncta and Spodoptera exigua (Lepidoptera: noctuidae) to the entomogenous nematode Steinernema feltiae (Rhabditida: Steinernematidae)*. Journal of Invertebrate Pathology 46: 58-62.
- Kaya, H.K. 1990. *Soi ecology*, pp. 93-111. In : Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton, Florida CRC Press.
- Kaya, H.K., T.M. Burlando, G.S. Thurston. 1993. *Two entomopathogenic nematode species with different search strategies for insect suppression*. Environmental Entomology 22: 859-864.

Klein, M.G. 1990. *Field efficacy against soil insects*, pp. 195-210. In: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton, Florida CRC Press.

Mecabe, W.L., J.C. Smith, and P. Harriott: *Unit Operations of Chemical Engineering*, 5th ed., McGraw-Hill, New York, 1993.

Poinar, G.O. and G.M. Thomas. 1966. *Significance of Achromobacter nematophilar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD 136 (Neoplectana sp., Steinernematidae)*. *Parasitology* 56: 385-390.

ภาคผนวก ก.

การคำนวณทางกลของถังหมักขนาด 100 ลิตร

(Calculation Sheet)

Calculation Sheet

Operating condition

- Steam inlet @ $T = 135^{\circ}\text{C}$, $P = 3.5$ bars
- Internal Pressure (in tank),
 - Operating Pressure @ 1- 3 bars
 - Design Pressure @ 4.5 bars
- External Pressure (in jacket),
 - Operating Pressure @ 3.5 bars
 - Design Pressure @ 5.5 bars

Heat Transfer Calculation

Steam @ $P = 3$ bars $\rightarrow T_b = 133.5^{\circ}\text{C}$

$$Q = mC_p\Delta T$$

$$= \frac{100 \text{ kg} \cdot 10^3}{18 \text{ (MW)}} \times 75.4 \frac{\text{J}}{\text{mol}^{\circ}\text{C}} \times (130 - 30)^{\circ}\text{C}$$

$$= 4.1888 \times 10^7 \text{ J}$$

Electric (ไฟฟ้าให้ Boiler) = 6,000 J/s

$$\therefore 6,000 \frac{\text{J}}{\text{s}} \times \Delta t = 4.1888 \times 10^7 \text{ J}$$

$$\Delta t = 6981.5 \text{ S} = 116.36 \text{ mins (Sterilization heating time)}$$

เวลาที่ใช้ในการทำให้อุณหภูมิอาหารเพิ่มจาก $30^{\circ}\text{C} \rightarrow 130^{\circ}\text{C}$

Jacketed Vessel. Isothermal Heating Medium (สั้มนมาจาก Perry's 10-38)

$$\frac{\ln(T_1 - t_1)}{(T_1 - t_2)} = \frac{UA\theta}{Mc}; \quad \text{where } A = \text{Heat-Transfer surface}$$

C, c = Specific Heat of Hot and Cold fluid

M = Weigh of fluid in Tank

T, t = Temp of hot & cold fluid

1 = Temp of beginning period/inlet.

2 = Temp of end period/outlet.

3 = liquid add to Tank.

$$T_1 = T_{\text{steam}} @ \text{beginning} = 135^\circ\text{C}$$

$$t_1 = T_{\text{liq}} (\text{อาหาร} \sim \text{H}_2\text{O}) @ \text{beginning} = 30^\circ\text{C}$$

$$t_2 = T_{\text{liq}} (\text{อาหาร} \sim \text{H}_2\text{O}) @ \text{end} = 121^\circ\text{C}$$

$$A = 2\pi rh = 2\pi \cdot x \frac{20}{100} m \cdot x 0.8 m$$

$$= 1 \text{ m}^2$$

$$M = 100 \text{ kg} = 100 \times 10^3 = 5555.55 \text{ mol.}$$

$$C_p (\text{H}_2\text{O}) = 75.4 \text{ J/mol } ^\circ\text{C}$$

$$\therefore \ln \frac{(135 - 30)}{(135 - 121)} = \frac{Ux(1 \text{ m}^2) \cdot (120 \cdot x 60 \text{ S})}{5555.55 \text{ mol} \times 75.4 \text{ J/mol } ^\circ\text{C}}$$

$$U = 117.23 \text{ J/s m}^2 ^\circ\text{C} = \text{W/m}^2 ^\circ\text{C} \text{ (U ที่เครื่องต้องทำให้ได้)}$$

Note: ΔT_{lm} ในสมการนี้มาจาก

$$Q = \frac{mC_p \Delta T}{\theta} = UA \Delta T_{\text{lm}}$$

$$\frac{mC_p (t_2 - t_1)}{\theta} = UA \Delta T_{\text{lm}} \text{ (สำหรับ Jacketed Vessel.)}$$

$$\text{ปกติ } \Delta T_{\text{lm}} = \frac{(T_1 - t_2) - (T_2 - t_1)}{\ln \frac{(T_1 - t_2)}{(T_2 - t_1)}}$$

$$\text{ในกรณีนี้ } \Delta T_{\text{lm}} = \frac{(T_2 - t_1)}{\ln \frac{(T_1 - t_1)}{(T_1 - t_2)}}$$

Ureal หาจาก 1) หา h_j = Heat transfer coefficient at the outside wall of the reactor

2) หา h_v = Heat transfer coefficient at the vessel wall

3) หา heat transfer of stainless steel

4) หา U = Overall coefficient

Spiral channel : section 25x80 mm

No. of spiral = Height of jacket/pitch

$$= \frac{80 \text{ cm} \times 10(\text{mm})}{80 \text{ mm}} = 10$$

Length of channel = L ที่ Steam ต้องไหลผ่าน

$$= \text{No. of spiral} \times \pi D$$

$$= 10 \times \pi \times 0.4 = 12.56 \text{ m}$$

Cross-sectional area of channel = $(25 \times 80) \times 10^{-6} \text{ (m}^2\text{)}$

$$= 2 \times 10^{-3} \text{ m}^2$$

Hydraulic mean diameter, d_e = $4 \times \text{cross-sectional area} / \text{Wetted perimeter}$.

$$= \frac{4 \times (25 \times 80)}{2 \times (25 + 80)} = 38.10 \text{ mm}$$

Physical properties of liq in reactor @ $T = \frac{30 + 121}{2} = 75.5^\circ \text{C}$

$$- \rho_{\text{H}_2\text{O}} = 974.55 \text{ kg/m}^3$$

$$- \mu_{\text{H}_2\text{O}} = 0.4 \text{ mNs/m}^2$$

$$- k_f \sim 0.6728 \text{ W/m}^\circ\text{C}$$

$$- C_p = 4.185 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C}$$

Agitator Type = Flat Blade disc Turbine (just for calculation)

$$- \phi \text{ ควร} > \frac{1}{2} \phi_{\text{Tank}} > 20 \text{ cm}$$

$$- \text{Aestimate } \phi_{\text{turbine}} = 20 \text{ cm (D)}$$

$$- \text{Agitator speed (N)} = 30 \text{ rpm} = \frac{30}{60} = 0.5 \text{ s}^{-1}$$

$$\text{Re} = \frac{\rho N D^2}{\mu} = \frac{974.55 \times 0.5 \times 0.2^2}{0.4 \times 10^{-3}} = 48727.5$$

$$\text{Pr} = \frac{C_p \mu}{k_f} = \frac{4.185 \times 10^3 \times 0.4 \times 10^{-3}}{0.6728} = 2.488$$

สมการ Flat blade disc turbine, baffled vessel, transfer to vessel wall, $\text{Re} > 400$

(Chem. Eng. Vol 6 หน้า 708)

$$\text{Nu} = 0.74 \text{ Re}^{0.67} \text{ Pr}^{0.33} \left(\frac{\mu}{\mu_w} \right)^{0.14}$$

$$\frac{h_v D}{k_f} = 0.74 \times (48727.5)^{0.67} (2.488)^{0.33}$$

$$\frac{h \times 0.2}{0.6728} = 1382.52$$

$$h_v = 4650.8 \text{ W/m}^2\text{ }^{\circ}\text{C} \text{ ****}$$

หาค่า $h_j = h_c$ Condensation inside the tube (Horizontal) (Chem. Eng. Vol. 6 หน้า 656)

Assume flow patterns in condensation is "Annular flow"

From Boyko-kruzhilin eq.

$$h_c = h_i' \left[\frac{1 + \sqrt{\rho_L / \rho_v}}{2} \right]; h_i' = \text{the tube side coefficient}$$

$$h_i' = 0.021 \left(\frac{k_L}{d_i} \right) \text{Re}^{0.8} \text{Pr}^{0.43}$$

$$\text{Re} = \frac{4T_v}{\mu_L}$$

$$\Gamma_v = \frac{W_c}{N_t \pi d_e}$$

; where $k_L @ 133.5^{\circ}\text{C} = 0.6827 \text{ w/m}^{\circ}\text{C}$

$d_i = d_e = 38.10 \text{ mm} = 38.10 \times 10^{-3} \text{ m}$

$\mu_L @ 133.5^{\circ}\text{C} = 0.18 \text{ cp (mNs/m}^2\text{)}$

$\Gamma_v =$ Vertical Tube loading

$N_t =$ Number of tube = 1

$W_c =$ Total condensate flow

$\therefore$ หาค่า W_c ก่อน (Steam Flow rate)

$$Q = mC_p \Delta T + mL + mC_{p \text{ steam}} \Delta T \text{ (negligible)}$$

$$6000 \frac{J}{s} = m \left(4.188 \frac{J}{g^{\circ}\text{C}} \times (133.5 - 30)^{\circ}\text{C} + 2258.66 \frac{J}{g} \right)$$

$$6000 \frac{J}{s} = 2692.118 \frac{J}{g} \times m$$

$$m = 2.228 \text{ g/s} = 2.228 \times 10^{-3} \text{ kg/s}$$

$$\therefore \Gamma_v = \frac{W_c}{N_i \pi d_e} = \frac{2.228 \times 10^{-3}}{1 \times \pi \times 38.1 \times 10^{-3}} = 0.018614 \text{ kg/s.m}$$

$$\text{Re} = \frac{4\tau_4}{\mu_L} = \frac{4 \times 0.018614}{0.18 \times 10^{-3}} = 413.65$$

$$\begin{aligned} \text{Pr} &= \frac{C_p \mu_L}{k_f} ; C_p = 4.185 \text{ kJ/kg}^\circ\text{C} \\ &= \frac{4.185 \times 10^3 \times 0.18 \times 10^{-3}}{0.6827} = 1.103 \end{aligned}$$

$$\therefore h'_i = 0.021 \left(\frac{k_L}{d_i} \right) \text{Re}^{0.8} \text{Pr}^{0.45} = 0.021 \left(\frac{0.6827}{38.1 \times 10^{-3}} \right) (413.65)^{0.8} (1.103)^{0.45}$$

$$= 48.656 \text{ W/m}^{20}\text{C}$$

$$h_c = h'_i \left[\frac{1 + \sqrt{\rho_L / \rho_v}}{2} \right] ; \quad \rho_L = 932.836 \text{ kg/m}^3$$

$$\rho_v = 1.5576 \text{ kg/m}^3$$

$$= 48.656 \left[\frac{1 + \sqrt{932.836 / 1.5576}}{2} \right]$$

$$= 619.70 \text{ W/m}^{20}\text{C}$$

Taking the thermal conductivity of Stainless Steel = 16 W/m°C

Stainless Steel Thickness = 4 mm

$$\frac{1}{U} = \frac{1}{619.70} + \frac{4 \times 10^{-3}}{16} + \frac{1}{4650.8}$$

$$U = 481 \text{ W/m}^{20}\text{C} > 117.23 \quad \therefore \text{O.K.}!$$

Mechanic Design

1) Tank : - Internal Design Pressure = 4.5 bars

- External Design Pressure = 5.5 bars

- Temp max = 150°C

Note : Normally, Design Pressure take as 10% above operating Pressure

(3x1.1 = 3.3 bars)

Internal : @ T = 150°C, SS 304 Design stress = 130 N/mm².

(Table 13.2 Chem. Eng. Vol. 6)

$$\text{For Cylinder (13.52)} \quad e = \frac{P_i D_i}{2f - P_i}$$

Where; P_i = int. Pressure = 4.5 bars = 0.45 N/mm²

D_i = int. $\phi \simeq 40$ cm = 0.4 m = 0.4x10³ mm

f = Design Stress (Table 13.2)

= 130 N/mm²

e = minimum thickness required

$$\therefore e = \frac{0.45 \times 0.4 \times 10^3}{2 \times 130 - 0.45}$$

$$= 0.6935 \text{ mm.}$$

add corrosion allowance 2+ 0.6935 = 2.6935 mm.

Say 3 mm is O.K.!

Take wall thickness = 4 mm.****

External : For jacketed vessels.

max. pressure difference (occur when we loss pressure intake) = full jacket pressure

= 5.5 bars

$$\text{For short closed vessel : } P_c = K_c E \left(\frac{t}{D_o} \right)^3 ;$$

Where; K_c = function of ϕ and thickness (Fig 13.16)

E = Yong's modulus

t = wall thickness

B = external diameter

$$\text{หา } \frac{L'}{D_o} \text{ และ } \frac{D_o}{t} ;$$

where; L' = effective length

t = Let it about 4 mm.

$$\frac{L'}{D_o} = \frac{95}{40} = 2.375 ; \quad \frac{D_o}{t} = \frac{400}{4} = 100$$

From Fig 13.16 , K_c (collapse coeff.) $\simeq 12$

@ $T150^\circ\text{C}$, E (stainless) = $186.85 \text{ kN/mm}^2 = 1.8685 \times 10^{11} \text{ N/m}^2$

$$\begin{aligned} P_c &= 12 \times 1.8685 \times 10^{11} \left(\frac{4}{400} \right)^3 \\ &= 2.2422 \times 10^6 \text{ N/m}^2 = 22.422 \text{ bars} \text{ **** O.K!} \end{aligned}$$

2) Jacket : - Internal Design Pressure = 5.5 bars

- Temp max = 150°C

Take Data from Tank calculation

$$\text{as } e = \frac{P_i D_i}{2f - P_i}$$

Where; $P_i = 5.5 \text{ bars} = 0.55 \text{ N/mm}^2$

$D_i = 45 \text{ cm.} = 0.45 \text{ m} = 0.45 \times 10^3 \text{ mm.}$

$F = 130 \text{ N/mm}^2$

$$\therefore e = \frac{0.55 \times 0.45 \times 10^3}{2 \times 130 - 0.55}$$

= 0.9539 mm.

Add corrosion allowance $2 + 0.9539 = 2.9539 \text{ mm.}$

Say 3 mm is OK ! But take 4mm as Tank thickness.

Motor Power Consumption.

$$D_t = 40 \text{ cm.}$$

$$D_a = (\geq 0.5D_t) = 20\text{-}30 \text{ cm.}$$

$$H = 80\text{-}100 \text{ cm.}$$

$$J = 4 \text{ cm.}$$

$$E = 0.5D_t + 4 = (20 + 4) \text{ cm.}$$

$$W = 8 \text{ cm.}$$

$$L = 6.4 \text{ cm.}$$

For Baffled Tank : Fig 9.12 Unit Operation (McCabe) หน้า 250

The corresponding shape Factor.

$$S_1 = D_a/D_t = 30/40 = 0.75$$

$$S_2 = E/D_t = 24/40 = 0.60$$

$$S_3 = L/D_a = 6.4/30 = 0.2133$$

$$S_4 = J/D_t = 8/40 = 0.2$$

$$S_5 = H/D_t = 90/40 = 2.25$$

$$S_6 = H/D_t = 90/40 = 2.25$$

Agitator Type= Flat Blade Disc Turbine (just for calculation)

In baffled tank, where the flow is fully turbulent the power number is independent on Re and viscosity is not a factor

Then $N_p = K_T$ (Table 9.3 Unit หน้า 254)

$$P = \frac{K_T N^3 D_a^5 \rho}{g_c}$$

Where; K_T = Magnitudes of constant = 5.75

$$N = \text{Agitator speed} = 300 \text{ rpm} = \frac{300}{60} = 5 \text{ s}^{-1}$$

$$D_a = \text{Agitator diameter} = 30 \text{ cm.} = 1 \text{ ft.}$$

$$\rho = \text{Lig solution density}$$

$$= 1.3 \text{ g/cm}^3$$

$$= 1300 \text{ kg/m}^3 = 81.17 \text{ lbm/ft}^3$$

Note : $\rho_{H_2O} = 1000 \text{ kg/m}^3$

$$\rho_{egg} = 1200 - 1300 \text{ kg/m}^3$$

$$\therefore P = \frac{5.75 \times 5^3 \times 1^5 \times 81.17}{32.17} = 1813.52 \frac{\text{ft} - \text{lb}_f}{\text{s}}$$

$$= \frac{1813.52}{0.7376} = 2458.68 \simeq 2500 \text{ W}$$

$$= 3.3 \text{ hp}$$

$$\text{Note if } Da = 25 \text{ cm} = 0.8202 \text{ ft} , P = 673.2 \frac{\text{ft} - \text{lb}_f}{\text{s}} = 912.7 \text{ W}$$

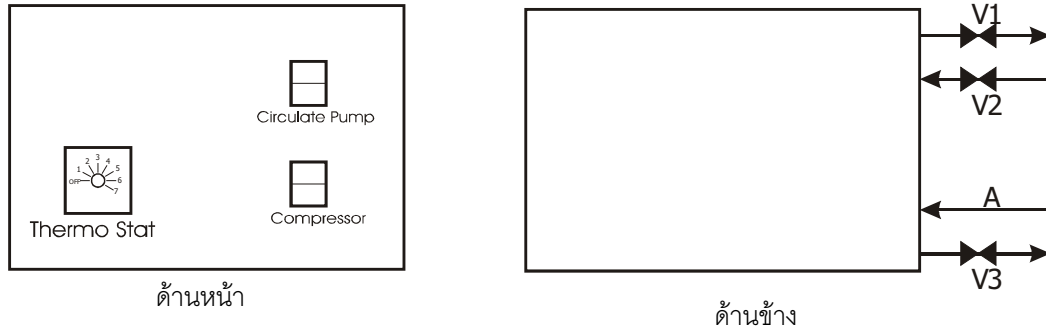
ภาคผนวก ข.

แบบร่างถังหมักขนาด 100 ลิตร

(Mechanical Drawing)

เครื่องทำน้ำเย็น(Chiller)

ลักษณะของสวิตช์และตำแหน่งของวาล์ว



สวิตช์

1. Thermo Stat ทำหน้าที่ควบคุมการเปิด/ปิด Compressor เมื่ออุณหภูมิสูง/ต่ำเกินกำหนด
2. Compressor ทำหน้าที่อัดไอน้ำยาทำความเย็นในระบบทำความเย็นให้แก่น้ำหล่อเย็น
3. Circulate Pump ทำหน้าที่ปั้มน้ำหล่อเย็นให้หมุนเวียนในระบบ

วาล์ว

- V1-สำหรับเปิด/ปิด น้ำหล่อเย็นเข้าที่ส่วนล่างของ Jacket
- V2-สำหรับเปิด/ปิด น้ำจากแหล่งจ่ายน้ำเพื่อเข้าถังเก็บ
- V3-สำหรับเปิด/ปิด ถ่านน้ำทิ้ง(Drain)
- A-เป็นท่อทางกลับน้ำที่ผ่านการหล่อเย็นที่ Jacket แล้วกลับเข้าถัง

ระบบควบคุมอัตโนมัติ

เมื่อ Thermo Stat ตัดการทำงาน Compressor แล้วจะมีตัวควบคุมสั่งการให้ Circulate Pump หยุดการทำงานด้วยเพื่อป้องกันทำงานเกินกำลังและจะเริ่มทำงานเมื่อ Thermo Stat ทำงาน Solenoid Valve จะปิดเมื่อถึงอุณหภูมิที่กำหนดไว้ที่ และจะเปิดเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเกินอุณหภูมิที่กำหนด

การใช้งานเครื่องทำน้ำเย็น

- 1.ตรวจสอบวาล์ว ข้อต่อ สายยาง ว่ามีการรั่วซึมหรือไม่
- 2.ตรวจสอบสวิตช์
 - 2.1 Thermo stat ต้องอยู่ในตำแหน่ง OFF
 - 2.2 Circulate Pump และ Compressor ต้องอยู่ที่ปิดการทำงาน
- 3.ตรวจสอบวาล์ว V1 และ V3 ต้องอยู่ที่ตำแหน่งปิด V2 อยู่ที่ตำแหน่งเปิด

4.เปิดสวิตช์ Compressor และ Circulate Pump ป้อนน้ำหมุนเวียนจะทำงานจากนั้นให้หมุนสวิตช์ Thermo Stat ให้อยู่ที่ตำแหน่ง 1 Compressor จะทำงาน(สังเกตพัดลมระบายอากาศจะหมุน)

5.เมื่อต้องการจะหล่อเย็นถึงเลี้ยงเชื้อ(Fermenter) ให้เปิดวาล์ว V1

หมายเหตุ

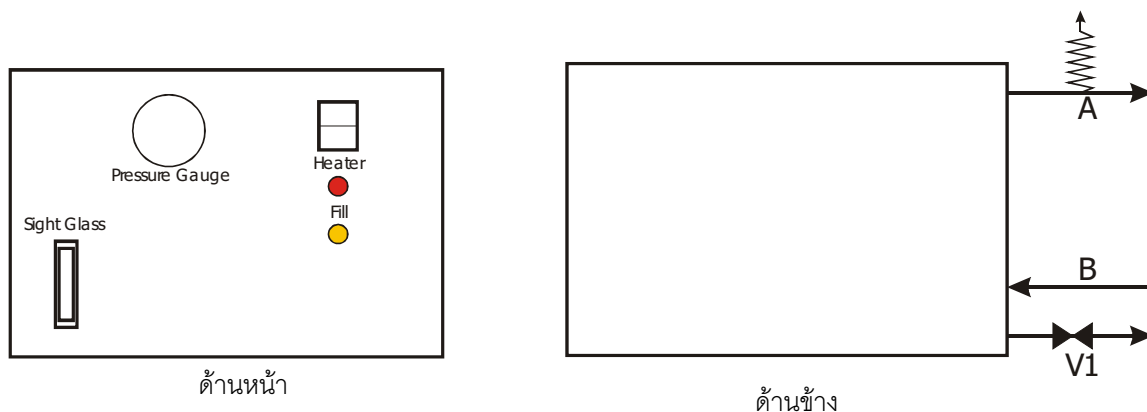
การเปิดใช้เครื่องทุกครั้งต้องทำการเปิดสวิตช์ปั้มน้ำหมุนเวียนด้วยไม่เช่นนั้นอาจเกิดความเสี่ยงภัยกับ Compressor ได้

เมื่อมีการฆ่าเชื้อ(Sterilization)ทุกครั้งต้องปิดวาล์ว V1 เพื่อป้องกันการรั่วของไอน้ำเข้าระบบหล่อเย็น

ควรเปิดใช้เครื่องสัปดาห์ละ 2-3 ครั้ง เพราะปั้ม(Circulate Pump) ทำจากวัสดุเหล็กหล่อ น้ำที่ค้างอยู่ในปั้มจะทำให้เกิดสนิมได้ซึ่งจะทำให้เมื่อเปิดใช้เครื่องปั้มจะทำงานหนักเนื่องจากสนิมที่เกิดขึ้น

เครื่องผลิตไอน้ำ(Steam Generator)

ลักษณะของสวิตช์และตำแหน่งของวาล์ว



สวิตช์

1. Heater ทำหน้าที่ให้ความร้อนแก่น้ำในถังต้ม(Boiler)

วาล์ว

A-เป็นท่อไอน้ำที่ออกจาก Boiler ซึ่งต่อกับท่ออ่อนเข้าที่ส่วนบนของ Jacket

B-เป็นท่อสำหรับน้ำจากแหล่งจ่ายน้ำ

V1-สำหรับเปิด/ปิด ถ่ายน้ำทิ้ง(Drain)

↑ วาล์วนิรภัย(Safety Valve)

มาตรวัด(Gauge)

- 1.มาตรวัดความดัน(Pressure Gauge) สำหรับวัดความดันภายในถังต้ม 0-4 บาร์
- 2.มาตรวัดระดับน้ำ(Sight Glass) สำหรับสังเกตระดับน้ำภายในถังต้ม

ไฟบอกสถานะการทำงาน

- 1.สีแดง หมายถึง Heater กำลังทำงาน
- 2.สีเหลือง หมายถึง High Pressure Pump กำลังทำงานเติมน้ำเข้าถังต้ม

ระบบควบคุมอัตโนมัติ

1.สวิตช์ลุ่มลอย(Floating Switch) เมื่อระดับน้ำในถังต้มต่ำกว่าที่กำหนดสวิตช์ลุ่มลอยจะสั่งให้ปั๊มแรงดันสูงทำการเติมน้ำเข้าถังต้มและหยุดการทำงาน Heater จนกว่าจะถึงระดับที่กำหนดจึงหยุดการทำงานและสั่งการให้ Heater ทำงานอีกครั้ง

2.สวิตช์ความดัน(Pressure Switch) เมื่อความดันในถังต้มสูงถึงความดันค่าสูงที่กำหนด สวิตช์ความดันจะสั่งการให้ Heater หยุดการทำงาน จนกว่าความดันในถังต้มต่ำถึงความดันค่าต่ำที่กำหนดสวิตช์ความดันจะสั่งการให้ Heater ทำงานอีกครั้ง

3.สวิตช์อุณหภูมิ(Thermal Switch) เมื่ออุณหภูมิของถังต้มสูงเกินค่าที่กำหนดสวิตช์อุณหภูมิจะสั่งการให้ Heater หยุดการทำงาน และ Heater จะทำงานอีกครั้งเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่าค่าที่กำหนด

การใช้งานเครื่องผลิตไอน้ำ

- 1.ตรวจสอบวาล์ว ข้อต่อ สายยาง ว่ามีการรั่วซึมหรือไม่
- 2.ตรวจสอบวาล์ว V1 ต้องอยู่ที่ตำแหน่งปิด
- 3.เปิดสวิตช์ Heater หลังจากเปิดได้สักระยะเวลาหนึ่งมาตรวัดความดันจะชี้ที่ค่าความดันที่สูงขึ้นจนถึงความดันค่าสูงที่กำหนดไว้(ประมาณ 2.8 บาร์) จากนั้น Heater จะหยุดการทำงาน
- 4.ให้เปิดวาล์วที่ทางเข้าไอน้ำที่ Jacket
- 5.ให้เปิดวาล์วตัวที่อยู่หน้า Steam Trap ของ Jacket
- 6.ให้ปิดวาล์วที่ใช้กับการหล่อเย็นทั้งหมด

หมายเหตุ

วาล์วนิรภัยจะทำการเปิดระบายไอน้ำออกเมื่อความดันของถังต้มเกิน 3.2 บาร์

คุณสมบัติของไอน้ำ

ความดัน(บาร์;เกจ)	อุณหภูมิ(°C)
1	121
1.6	130
2.6	140

ภาคผนวก ค.

ถังหมักขนาด 100L พร้อมอุปกรณ์

(A 100-liter fermenter with accessory)



รูปที่ ค.1 ถังหมักขนาด 100L



รูปที่ ค.2 ถังหมักขนาด 100L และแผงควบคุม



รูปที่ ค.3 เครื่องทำน้ำเย็น (ซ้าย) และเครื่องผลิตไอน้ำ (ขวา)



รูปที่ ค.4 ชุดอุปกรณ์ทั้งหมด



รูปที่ ค.5 ถังหมักขนาด 100L พร้อมมอเตอร์

	PROBE TYPE	Scale(%)	Actual	Current(mA)
2	TEMP.(°C)	36.19	121.08	9.79
3	pH(0-14)	0.00		4.00
4	DO(0-100%)	0.00	No response	4.00

รูปที่ ค.6 ระบบบันทึกข้อมูลและแสดงผลผ่านคอมพิวเตอร์

ภาคผนวก ง.

บทความสำหรับเผยแพร่

บทความสำหรับเผยแพร่

ไส้เดือนฝอยจัดเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดหนึ่ง ลำตัวไม่มีปล้อง ผันงลำตัวและทางเดินอาหาร พัฒนาคี มีชีวิตอยู่ในลักษณะที่เป็น Free-living หรือในลักษณะที่เป็นตัวเบียนอาศัยอยู่ในสัตว์และพืชอื่นๆ ถ้าเข้าไปอยู่ในสัตว์ (animal parasites) มักเรียกว่าเป็นพยาธิ (helminths) สำหรับไส้เดือนฝอยที่เข้าไปอยู่ในแมลง (entomopathogenic nematodes) และมีศักยภาพสูงในการนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชซึ่งกำลังเป็นที่สนใจและมีการวิจัยพัฒนาการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยเป็นระดับการค้าได้แก่ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในวงศ์ *Steinernematidae* การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยจะให้ผลผลิตดีที่สุดและไม่มีปัญหาเรื่องการควบคุมคุณภาพสามารถทำได้โดยการเลี้ยงแบบใช้อาหารเหลวในถังหมัก (Fermenter) ซึ่งเหมาะในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม

อย่างไรก็ตามการเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในการผลิตระดับอุตสาหกรรมโดยใช้ถังหมัก มักจะพบปัญหาการเกิดฟองล้นที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีนในกระบวนการผลิต ซึ่งถือว่าเป็นปัญหาสำคัญในการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักเพราะทำให้ Working Volume ของถังหมักลดลงไม่สามารถใช้ถังหมักให้เต็มประสิทธิภาพได้ และเนื่องจากไส้เดือนฝอยเป็นจุลินทรีย์ที่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อสารเคมีได้เร็วมาก ดังนั้นการควบคุมฟองในถังหมักโดยใช้สารกำจัดฟอง (Antifoam) จึงก่อผลกระทบต่อไส้เดือนฝอยระยะต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะโตเต็มวัยจากผลการทดลองใช้สารกำจัดฟองกว่า 5 ชนิด พบว่าไส้เดือนฝอยชะงักการเจริญเติบโตและไม่สร้างไข่ถึงแม้ว่าจะใช้สารนั้นๆ ตามอัตราแนะนำต่ำสุดแล้วก็ตาม ดังนั้นการลดฟองในถังหมักเพื่อลดการสูญเสียอาหารและผลผลิตจึงควรทดลองใช้วิธีทางกลเช่น การออกแบบและเลือกใช้ใบพัดกวนให้มีลักษณะที่เหมาะสม โดยใบพัดกวนดังกล่าวต้องมีคุณสมบัติเด่นคือสามารถกวนอาหารให้เข้ากันได้ดี ละลายออกซิเจนให้เข้ากับอาหารได้สูง และสามารถเพิ่มปริมาณการให้อากาศ (Air flow rate) ได้โดยไม่เกิดปัญหาฟองล้น

โครงการพัฒนาเครื่องเฟอร์เมนเตอร์สำหรับไส้เดือนฝอยได้ทำการออกแบบและพัฒนาถังหมักขนาด 100 ลิตร สำหรับการเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยรวมทั้งได้ทำการออกแบบและพัฒนาใบกวนเพื่อใช้ทดลองขจัดปัญหาการเกิดฟองล้นในถังหมัก โดยทดลองใช้ใบพัดกวนทางด้านบนของเครื่องเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และใบพัดทางด้านล่างเป็นใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller แทนการใช้ใบพัดกวนแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) เดิม จากการทดลองศึกษาเทคนิคนี้ในถังหมักระดับ 6 ลิตร พบว่า การเปลี่ยนใบพัดทางด้านบนของถัง (Upper Impeller) เป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และ ใบพัดทางด้านล่างถัง (Bottom Impeller) ยังคงเป็นแบบมาตรฐานเครื่อง (BIOSTAT[®] B) เช่นเดิม เปรียบเทียบกับการใช้ใบพัดแบบมาตรฐานเครื่องทั้งทางด้านบนและด้านล่าง การใช้ใบพัดตีฟองแบบ Silicone เข้าช่วยจะให้ผลดีกว่า

รูปแบบการไหลวนของอาหารในถังจะเข้ากันได้ดี เกิดฟองเต็มถังแต่จะไม่ล้นออกนอกถังเพราะฟองจะถูกใบพัด Silicone กวาดและดึงกลับลงมาละลายผสมในอาหารเช่นเดิม ซึ่งหากเปรียบเทียบกับใช้ใบพัดแบบมาตรฐานเครื่องทางด้านบน ฟองที่เกิดขึ้นจะไหลล้นออกนอกถังทางท่อระบายอากาศเนื่องจากใบพัดแบบมาตรฐานเครื่อง (6 Bladed Disc Turbine) จะให้กระแสไหลวนในแนวรัศมี (Radial-Flow Impeller) ก่อให้เกิดกระแสในแนวสัมผัส (Tangential) และแนวรัศมี (Radial) ร่วมกับใบพัดแบบมาตรฐานเครื่องทางด้านล่าง รูปแบบการไหลวนของอาหารในถังจะเข้ากันได้ดีก็จริงแต่จะทำให้เกิดฟองมากและใบพัดไม่ได้มีลักษณะที่จะกวาดฟองลงมาทางด้านล่างได้

การใช้ใบพัดกวนทางด้านบนของเครื่องเป็นใบพัดตีฟองแบบ Silicone และใบพัดทางด้านล่างเป็นใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller แทนใบพัดแบบมาตรฐานเครื่องจะให้ผลการทดลองดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากใบพัดกวนแบบ Up-Pumping Impeller จะก่อให้เกิดกระแสน้ำของเหลวไหลในแนวแกน (แนวขนานกับแกนของใบกวน) เช่นเดียวกับใบพัดแบบ Axial Flow Impeller แต่มุมใบพัดของ Up-Pumping Impeller จะมีลักษณะเอียงขึ้นและดึงให้กระแสน้ำของเหลวไหลวนขึ้นตามแนวแกนของใบพัดแทนที่จะไหลวนลงด้านล่างของถัง เมื่อกระแสน้ำของเหลวที่ไหลขึ้นทางด้านบนตามแนวแกนของใบพัดมาผสมกับแรงผลักดันของเหลวไหลลงของใบพัดตีฟองแบบ Silicone ของเหลวจะถูกผลักให้ไหลลงด้านล่างทางด้านข้างแล้วไหลวนขึ้นสู่ทางด้านบนดังใหม่ตามแรงดึงของ Up-Pumping Impeller ลักษณะกระแสไหลวนเช่นนี้ทำให้อาหารในถังจะเข้ากันได้ดีและลดปัญหาการเกิดฟองไหลล้นออกนอกถังได้ นอกจากนั้นยังสามารถเพิ่มปริมาณการป้อนอากาศในช่วงที่ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์-สร้างไข่และออกลูกอ่อน ซึ่งเป็นช่วงที่ไส้เดือนฝอยต้องการปริมาณออกซิเจนสูงได้โดยไม่เกิดฟองล้น

การทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่พัฒนาขึ้นเองโดยมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิ, อัตราการป้อนอากาศ, อัตราเร็วรอบในการกวน พบว่าถังหมักที่สร้างขึ้นสามารถเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยให้เจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ สามารถเก็บผลผลิตได้ 180,000 ตัว/มล. ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย 1 วงจรชีวิต 13 วัน ซึ่งนานการเลี้ยงในถังหมักขนาด 6 ลิตร ประมาณ 1 วัน (ปกติ 9-12 วัน) มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงถึง 65.83% อย่างไรก็ตาม กระบวนการทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร มีความยุ่งยากมากกว่าการทดลองเลี้ยงในถังหมักขนาด 6 ลิตร เนื่องจากถังมีขนาดใหญ่จำเป็นต้องมีอุปกรณ์อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน และเนื่องจากถังหมักที่พัฒนาขึ้นถือเป็นถังหมักต้นแบบการปฏิบัติงานทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอยในถังหมักขนาด 100 ลิตร จึงค่อนข้างละเอียดอ่อนมีขั้นตอนที่ซับซ้อนต้องใช้ผู้ปฏิบัติงานที่มีความรู้ทั้งทางด้านวิศวกรรมและชีวภาพผสมผสานกันการทดลองจึงจะประสบผลสำเร็จ ดังนั้นหากต้องการเผยแพร่โครงการนี้แก่เกษตรกรและผู้ประกอบการที่สนใจลงทุนควรจะมีการพัฒนาถังหมักให้มีรูปแบบการใช้งานที่ง่ายขึ้น