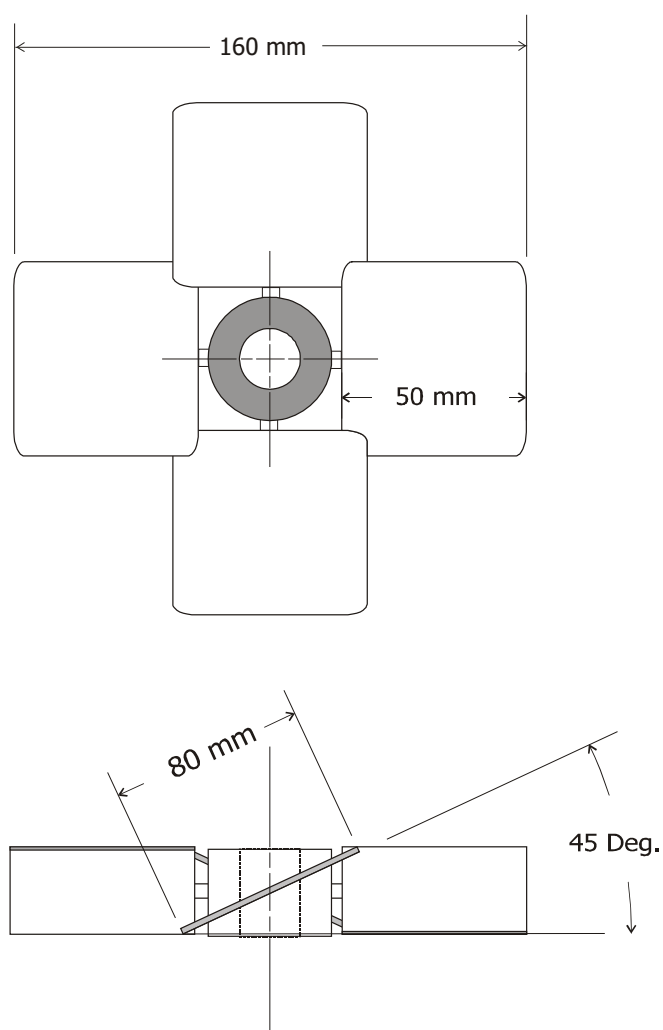




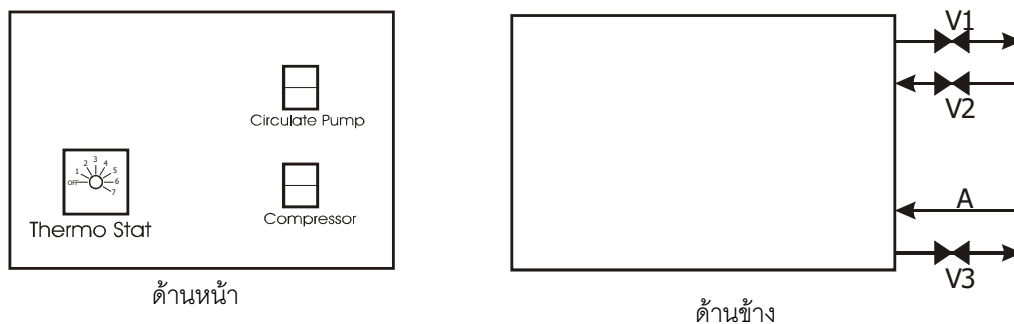
รูปที่ 3.7 Dimension ใบพัดแบบ Up-Pumping Impeller (Bottom Impeller)
ของถังหมักขนาด 100L

ขั้นตอนการใช้งานถังหมักสำหรับเลี้ยงไส้เดือนฝอย

1. ตรวจสอบภายในถังหมักว่าอุปกรณ์ต่างๆอยู่ในตำแหน่งหรือไม่
2. ปิดฝาถังหมักโดยใส่ปะเก็นและขันน็อตยึดให้แน่น
3. ใส่อุปกรณ์ต่างๆให้ถูกต้องตามรูปที่ 3.1
4. ตรวจสอบการรั่วโดยการปิดวาล์วเก็บตัวอย่างและวาล์วระบายน้ำควบแน่นที่ตัวกรองอากาศเข้า และปิดสายยางที่ต่อกับไส้กรองอากาศออก 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. เมื่อไม่พบการรั่วให้ทำการปิดมอเตอร์ส่งกำลังใบกวนและเปิดวาล์วระบายน้ำควบแน่นที่ตัวกรองอากาศเข้าตามรูปที่ 3.2 เพื่อระบายลมออก
6. ให้เติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงสู่ถังหมัก
7. เปิดมอเตอร์ส่งกำลังใบกวนและให้ตั้งความเร็วรอบไว้ที่ประมาณ 150-200 รอบต่อนาที เปิดสวิตช์ Main Breaker ที่แผงหน้าปัทม์ หน้าจอแสดงผล อุณหภูมิ พีเอช และ ดีไอ จะปรากฏตัวเลขขึ้น
8. เปิดสวิตช์หม้อผลิตไอน้ำ 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

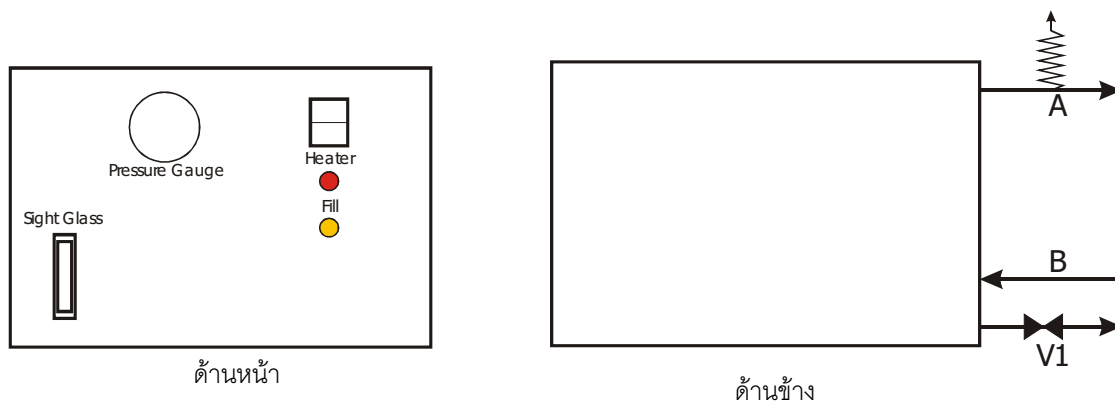
การเปิดใช้เครื่องทุกครั้งต้องทำการเปิดสวิทช์ป้อนน้ำหมุนเวียนด้วยไม่เช่นนั้นอาจเกิดความเสียหายกับ Compressor ได้

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 โดยได้ทำการทดสอบรวมทั้งหมด 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 ไซตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรวจสอบการปนเปื้อนทุก 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

ไม่สามารถตรวจสอบผลการทดลองได้เนื่องจากฝนตกหนักสายฟ้าเข้ามายกเครื่องเฟอว์เมนเตอร์ และกระแสไฟฟ้าขัดข้องไม่สามารถควบคุมการทำงานของเครื่องเฟอว์เมนเตอร์ได้

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 คลอโรกซ์ 0.1 % ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
2. ปลอ่ยน้ำยาฆ่าเชื้อทิ้งแล้วเติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 ลิตร (ท่วมใบกววนใบบนสุด) อบนึ่งฆ่าเชื้อภายในถังที่ ความดัน 1.1 Bar อุณหภูมิ 121°C นาน 35 นาที เป็นอย่างน้อย หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถังเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25°C
3. เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อเปปโตน 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 เติมหาหารเลี้ยงเชื้อเปปโตน 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 หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถึงเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมให้คงที่ที่ 25°C ที่ไว้ 24 ชั่วโมง
- 1.5 เติมน้ำเลี้ยงเชื้อเปปโตน 0.1% ลงไปรวมกับน้ำกลั่นในถังโดยละลายเปปโตนในน้ำกลั่นปริมาณ 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 หลังจากนั้นทำการหล่อเย็นถึงเพื่อลดอุณหภูมิและควบคุมให้คงที่ที่ 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 วัสดุอุปกรณ์

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 Tsb₃ เพื่อใช้เลี้ยงขยายได้เดือนฝอย

2.1 ละลายส่วนประกอบต่างๆของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Tsb₃ 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 มากรองเพื่อคัดเลือกไส้เดือนฝอยที่แข็งแรงและมีชีวิตด้วยถาดกรองขนาด 50 u

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 คูดตัวอย่างไส้เดือนฝอยนำมาใส่ใน 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 และโรงเรือนปฏิบัติการเป็นโรงเรือนเปิดการสูมตัวอย่างอาหารจากถังหมักออกมาตรวจผลต้องทำอย่างระมัดระวังยิ่งเพราะสามารถเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาดังกล่าวในช่วงระยะที่มีความเสี่ยงสูงต่อการปนเปื้อนจึงงดการสูมอาหารจากถังหมักออกมาตรวจผล 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 หากเกิดการติดเชื้อปนเปื้อนในระยษนี้ไส้เดือนฝอยจะตายทั้งหมด จึงต้องรอนจนกระทั่งไส้เดือนฝอยออกลูกแล้ว 2 วัน หรืออายุ batch ที่ 144 ชั่วโมง ตัวอ่อน J_1 จะเจริญเติบโตและแข็งแรงขึ้นเป็น J_2 ระยะนี้ต้องระวังการตกตะกอนและการขาดอากาศหายใจเนื่องจากประชากรไส้เดือนฝอยอัตราการขยายพันธุ์เพิ่มขึ้นสูงมาก โดยอาจสูงถึง 250 – 350 เท่า แต่ลูกอ่อนที่ได้ก็ค่อนข้างบอบบางต้องจัดปัจจัยต่างๆที่ให้กับถังหมักอย่างเหมาะสมจึงจะมีชีวิตรอดได้สูง โดยเฉพาะปริมาณการให้อากาศและความเร็วในการกวน ปัญหาที่พบเสมอในระยษนี้คือเกิดฟองมากเนื่องจากอาหารเริ่มหนืด 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 เนื่องจากไส้เดือนฝอยวัยนี้จะมีความแข็งแรงทนทานต่อสภาพ

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 เป็นทำการ 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

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

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

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

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

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)

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

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

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

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

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

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

(Chem. Eng. Vol 6 หน้า 708)

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

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

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

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

หว่า $h_j = h_c$ 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

$\therefore$ หว่า 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 °C, E (stainless) = 186.85 kN/mm² = 1.8685x10¹¹ N/m²

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

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 bars = 0.55 N/mm²

D_i = 45 cm. = 0.45 m = 0.45 x 10³ mm.

F = 130 N/mm²

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

= 0.9539 mm.

Add corrosion allowance 2+0.9539 = 2.9539 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 : $\rho_{H_2O} = 1000 \text{ kg/m}^3$

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

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

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

$$= 3.3 \text{ hp}$$

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

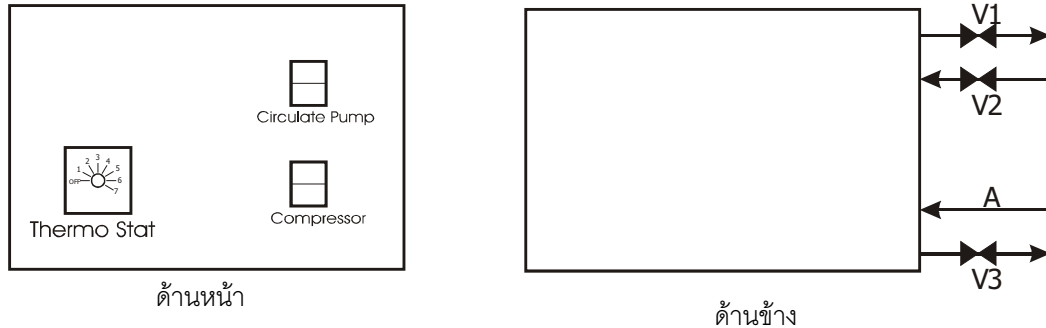
ภาคผนวก ข.

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

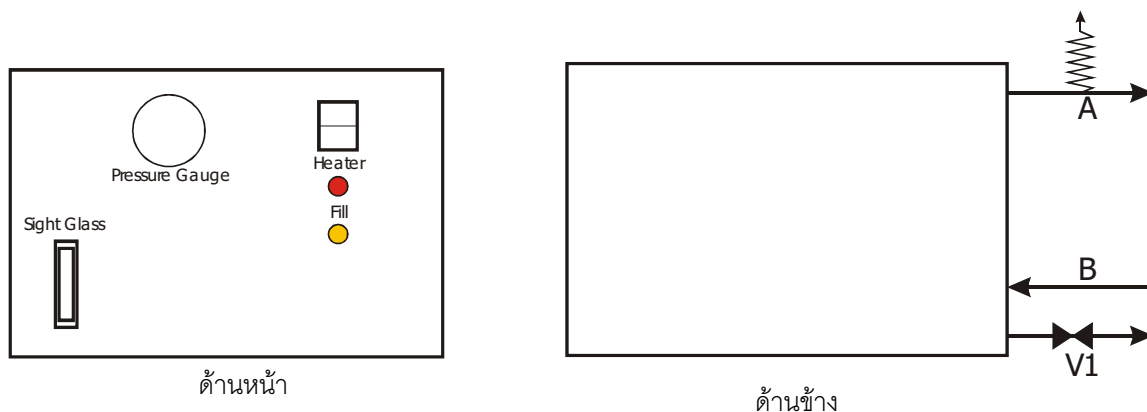
การเปิดใช้เครื่องทุกครั้งต้องทำการเปิดสวิตช์ปั้มน้ำหมุนเวียนด้วยไม่เช่นนั้นอาจเกิดความเสี่ยงภัยกับ Compressor ได้

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 ถ่าน้ำทิ้ง(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 และเนื่องจากไส้เดือนฝอยเป็นจุลินทรีย์ที่มีปฏิกริยาตอบสนองต่อสารเคมีได้เร็วมาก 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 นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มปริมาณการป้อนอากาศในช่วงที่ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตจนเข้าสู่ระยะผสมพันธุ์-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