

บทที่ 2

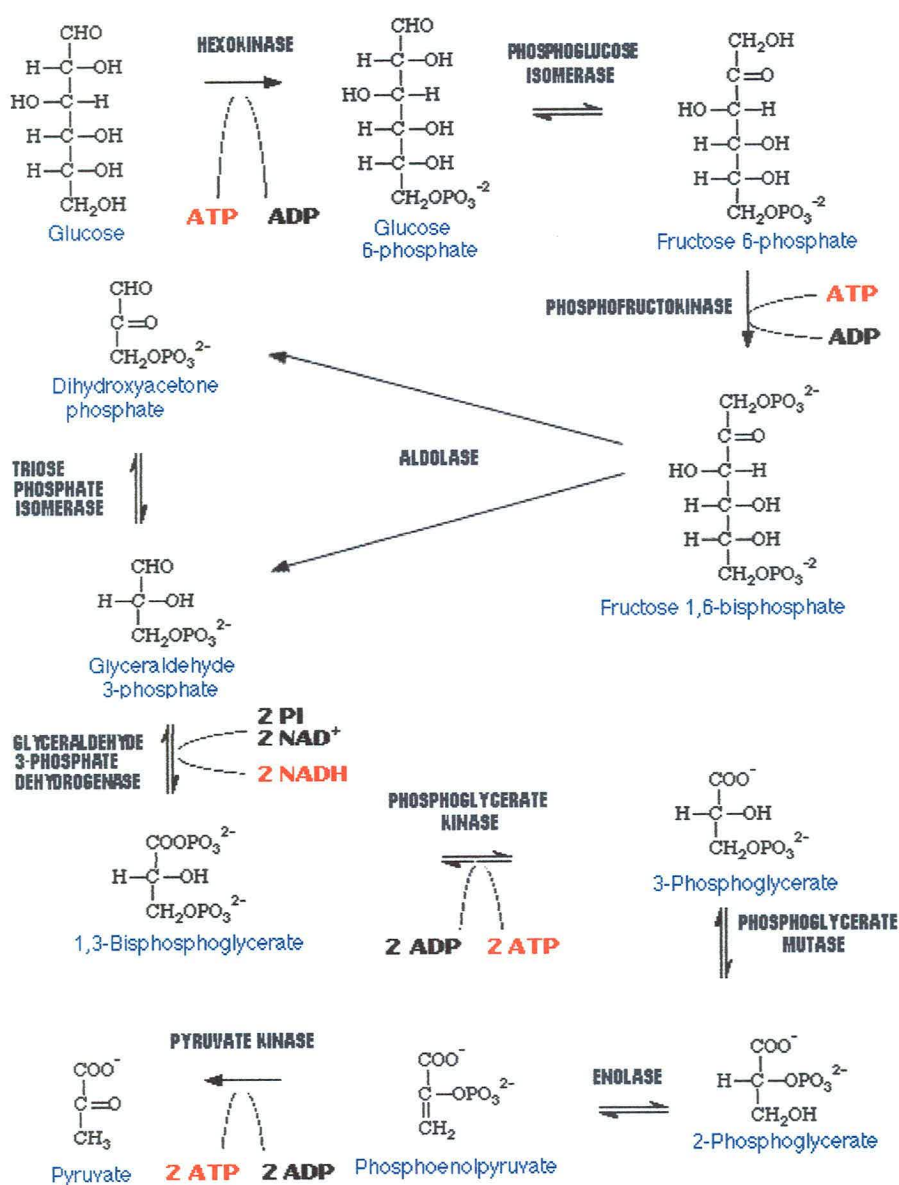
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การหมักเอทานอล

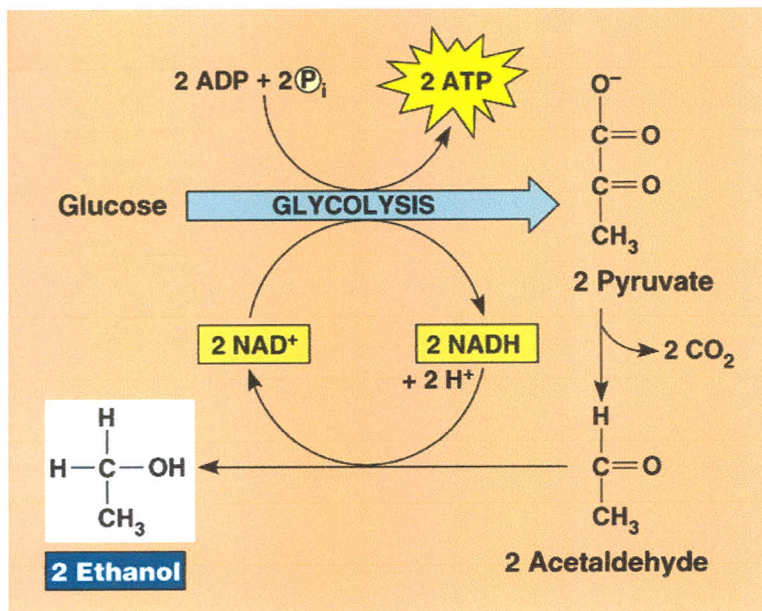
การหมักในทางจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม หมายถึงกระบวนการผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จำนวนมาก รวมทั้งกระบวนการแบบใช้และไม่ใช้ออกซิเจน การหมักแบ่งตามจุดประสงค์ของการหมักออกเป็น 4 ประเภทใหญ่ คือ การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์, การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์, การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสารเมตาบอไลต์ และการหมักเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบ นอกจากนี้การหมักยังสามารถแบ่งตามความต้องการอากาศได้เป็น 2 ประเภทได้แก่ การหมักที่ต้องการออกซิเจน และการหมักที่ไม่ต้องการออกซิเจน นอกจากนี้ยังแบ่งการหมักตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อ ได้เป็น 3 ประเภท คือ การหมักในสภาพเปิด (Septic fermentation), การหมักในสภาพปิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจากภายนอก (Semi-septic fermentation) และการหมักในสภาพปิดซึ่งต้องทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักปราศจากเชื้อปนเปื้อน (Aseptic fermentation) นอกจากนี้ยังแบ่งการหมักตามลักษณะปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้เป็น 2 ประเภท คือ การหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) และการหมักโดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลว (Submerged fermentation) หรือยังแบ่งการหมักตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ออกเป็น 3 ประเภท คือ การหมักแบบครั้งคราวหรือแบบกะ (Batch fermentation), การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) และ การหมักที่มีการเติมสารอาหารเพิ่มลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นระยะๆ หรือการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Fed-batch fermentation)

เมื่อพิจารณาในเชิงของวิศวกรรมเคมี การหมักเป็นการดำเนินไปของปฏิกิริยาเคมีซึ่งเกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่จำเพาะกับอาหารเลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะควบคุม การควบคุมสภาวะของการหมักเป็นการสนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และผลิตสารเมตาบอไลต์ได้แก่การควบคุมอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของสารอาหาร ความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ อัตราการให้อากาศและการกวนผสม เป็นต้น สำหรับการผลิตเอทานอลโดยการหมักกากน้ำตาลอ้อยด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. เช่น *S. carlsbergensis*, *S. cerevisiae* และ *S. bayanus* โดยมีคุณสมบัติการเจริญที่รวดเร็ว มีความสามารถในการผลิตและทนทานเอทานอลได้สูง

การหมักเป็นกระบวนการทางชีวเคมีอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการเปลี่ยนแปลงสับสเตรด (Substrate) เช่น น้ำตาลกลูโคส ภายใต้สภาวะปราศจากออกซิเจนทำให้ได้เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ การหมักโดยผ่านกระบวนการ Glycolysis ด้วยการเปลี่ยน Glucose ไปเป็น Pyruvate ดังรูปที่ 2.1 จากนั้น Pyruvate จะถูก Decarboxylation โดยมีเอนไซม์ Pyruvate decarboxylase ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้เป็น Acetaldehyde ซึ่งถูกรีดิวซ์ต่อไปเป็นเอทานอล โดยเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase ที่อาศัย NADH_2 (NADH_2 dependent alcohol dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.1 Glycolysis path way



รูปที่ 2.2 Alcohol fermentation

2.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยทั่วไปยีสต์เจริญได้ดีในช่วง pH 3.5-7.0 สำหรับกระบวนการหมักเอทานอลต้องมีค่า pH เริ่มต้นและความสามารถในการรักษาสภาวะกรด-ด่าง (Buffer capacity) อยู่ในระดับที่ทำให้ยีสต์ผลิตเอทานอลได้ตลอดการหมัก ในระหว่างการหมักจะมีการผลิตกรดอินทรีย์และแบคทีเรียบางชนิดที่ยีสต์ปะปนอยู่ด้วย จึงต้องมีการปรับค่า pH เพื่อให้ยีสต์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ต้องการและเพื่อเป็นการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ดังนั้นจึงต้องปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 4.0 - 4.5 หรือ 4.0 – 5.0 หรือ 4.8 – 5.0 อย่างไรก็ตาม pH ที่ให้การหมักเอทานอลสูงที่สุดยังขึ้นกับคุณภาพของกากน้ำตาลที่ใช้และการหมักน้ำตาลซูโครสมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลง pH มากกว่าการหมักน้ำตาลกลูโคส

2.1.2 อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของยีสต์และการผลิตเอทานอลเป็นอุณหภูมิเดียวกันซึ่งเท่ากับ 30-38°C สำหรับยีสต์ (*S. cerevisiae*) นอกจากนั้นการหมักที่อุณหภูมิสูง 55-70°C สำหรับยีสต์บางสายพันธุ์จะช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนได้ (จันทร์พร, 2547) ยีสต์ส่วนใหญ่จะเจริญได้รวดเร็วที่อุณหภูมิ 20 – 30 °C ช่วงอุณหภูมิสูงสุดที่ยีสต์ทั่วไปสามารถเจริญได้คือ 30 – 40 °C นอกจากนั้นมียีสต์บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่านี้เล็กน้อย Torija *et.al.* (2003) กล่าวว่าในอุตสาหกรรมผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มักให้ความสำคัญกับการหมักที่อุณหภูมิต่ำ (10-15°C) โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* และ *S. bayanus* เพื่อพัฒนากลิ่นรสของไวน์ได้ประสิทธิภาพดีกว่าแต่อาจจะทำให้กระบวนการหมักหยุดชะงักได้ สำหรับ Cazetta *et.al.*

(2007) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการหมักเอทานอลแบบกะด้วยกากน้ำตาลย่อยโดยใช้เชื้อ *Zymomonas mobilis* พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับ 30°C และใช้เวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง และสามารถรักษาค่าความเป็นกรด-ด่างให้คงที่ได้ตลอดการหมัก

2.1.3 อัตราการกวน (Agitation) Sajc *et.al.* (2000) พบว่าการกวนผสมเป็นปัจจัยสำคัญทำให้เกิดการกระจายตัวของเซลล์จุลินทรีย์, สารอาหารและผลิตภัณฑ์ในวัฏภาคของเหลว โดยทั่วไปการผสมเกิดขึ้นจากการปล่อยฟองอากาศ (Sparging) และการกวนเชิงกล (Mechanical agitation) เพื่อทำให้เกิดลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเข้มข้นขององค์ประกอบทางเคมีเท่ากันทั่วทั้งระบบ เช่น ค่า pH, ปริมาณก๊าซและสารอาหาร นอกจากนั้นยังเป็นการเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลและแรงก้ำกึ่งของเหลว (Hydrodynamics force) ที่ทำให้เกิดการผสมกันซึ่งจะต้องมีค่าต่ำพอที่จะไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์จุลินทรีย์จนเป็นสาเหตุทำให้เซลล์ตายและการกวนผสมจะต้องมีความแรงมากพอที่จะทำให้เกิดการกระจายของเซลล์ Lapin *et.al.* (2004) ได้ทำการศึกษากลศาสตร์เชิงคุณลักษณะประชากรของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการกวนผสม โดยใช้วิธีของ Euler-Lagrange : Traveling along the Lifelines of Single Cells ในแบบจำลอง พบว่าวิธีของ Euler-Lagrange สามารถประยุกต์ใช้แสดงคุณลักษณะของประชากรของจุลินทรีย์ในระบบที่เป็นลักษณะเนื้อแตกต่างกัน (Heterogeneous) ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีการกวนผสมที่ไม่เป็นอุดมคติ (Non-ideal mixing) ในการอธิบายเป็นในเชิงปริมาณ (Outcome) ของอันตรกิริยาระหว่างภายในแต่ละเซลล์ ซึ่งอยู่ภายใต้สภาวะการไหลแบบปั่นป่วนในถังปฏิกรณ์ ความสามารถของแบบจำลองและวิธีการเชิงตัวเลขบนฐานของวิธี Euler-Lagrange ร่วมกับ Fraction-step สามารถใช้ได้กับ Stable, Accurate, Numerically efficient solution ของสมการ วิธีการนี้เหมาะสมสำหรับระบบที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน Heterogeneity present ในถังปฏิกรณ์จริงทั้งในของเหลว (Fluid) และในวัฏภาคของเซลล์ (Cellular phases)

Davidson *et.al.* (2003) ศึกษาการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ด้านการคำนวณทางกลศาสตร์ของไหลในการหาค่าเวลาที่ใช้ในการหมุนเวียนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Circulation time distribution, CTD) พบว่าในกระบวนการหมักส่วนใหญ่เกิดการผสมแบบไม่เป็นอุดมคติซึ่งทำให้เกิดสภาพความแตกต่างกันของความเข้มข้นของสารอาหาร ออกซิเจนและความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งมีผลต่อลักษณะของเซลล์ได้แก่ การเจริญเติบโต ผลิตภัณฑ์ของการหมัก บ่อยครั้งพบว่าความแตกต่างดังกล่าวแสดงในเทอมค่าเวลาที่ใช้ในการหมุนเวียน ซึ่งสามารถใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการคำนวณค่าดังกล่าวเพื่อแสดงผลที่เกิดจากใบกวนเดียวได้

Yopez and Filho (2005) ได้ศึกษาการกวนผสมโดยให้อากาศและความเค้นเฉือนที่เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ Inulinase โดยเชื้อ *Kluyveromyces marxianus*. ด้วยการใช้น้ำตาล

ชูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าผลของการให้อากาศและการกวนรวมถึงชนิดของใบกวน (Disk turbine, marine, pitched blade) ที่ศึกษาในถังปฏิกรณ์แบบกะ พบว่าความเร็วในการกวนมีค่าในช่วง 50 – 550 rpm อัตราการให้อากาศในช่วง 0.5 – 2.0 vvm (air volume/broth volume.minute) แสดงด้วยค่าการผลิตเอนไซม์ซึ่งได้รับอิทธิพลจากสภาวะการผสมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการให้อากาศไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นการเพิ่มความเร็วในการกวนผสมจะถูกจำกัดด้วยอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งพบว่าอัตราการตายจะมีค่าสูงและอัตราการผลิตเอนไซม์มีค่าต่ำเมื่อใช้ความเร็วสูงในการกวนผสม นอกจากนั้นชนิดของใบกวนยังมีผลต่ออัตราการผลิตเอนไซม์ โดยใบกวนแบบ Disk impeller ที่ความเร็ว 450 rpm และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ทำให้เกิดเอนไซม์ที่ 121 UI/ml, ในขณะที่ Pitched blade เป็นใบกวนที่ดีที่สุดให้เอนไซม์ 176 UI/ml ที่ความเร็ว 450 rpm และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm. สำหรับความเค้นเฉือนสูงสุดที่ใช้ได้มีค่าเท่ากับ 0.22 Pa เนื่องจากค่าความเค้นเฉือนสูงทำให้อัตราการตายของเซลล์สูง ทั้งนี้ยังส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์และส่งผลเหมือนกันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยส่วนใหญ่จุลินทรีย์จะไวต่อความเค้นเฉือนดังนั้นผลสรุปในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการศึกษาขนาดถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะต้องพิจารณาอันตรกิริยาระหว่างการถ่ายโอนมวลและความเค้นเชิงกล

2.1.4 ปริมาณเชื้อตั้งต้น (Inoculum) มีความสำคัญต่อกระบวนการหมักทั้งหมด, ระยะเวลาการหมักและต้นทุนการผลิต คุณสมบัติของเชื้อตั้งต้นที่ต้องมีสภาพที่แข็งแรงและว่องไวเพื่อให้ระยะ Lag phase สั้นที่สุดและมีปริมาณมากพอสำหรับกระบวนการหมัก มีรูปแบบโครงสร้าง (Morphological form) ที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิต ปราศจากจุลินทรีย์ปนเปื้อนและคงความสามารถในการผลิตได้ดี

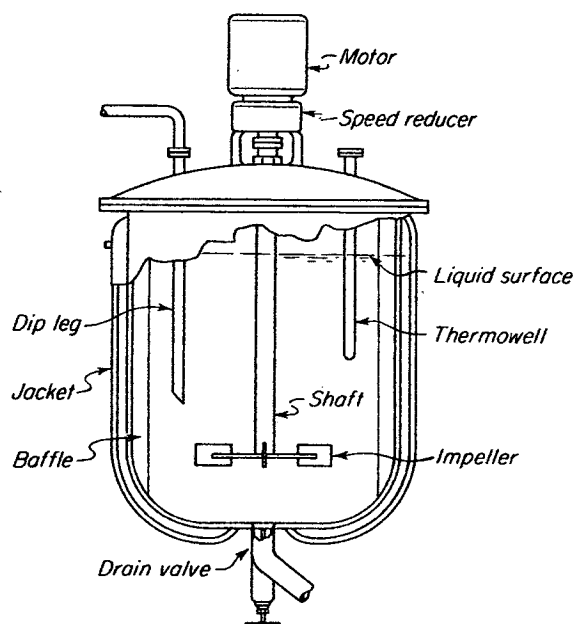
2.1.5 ความเข้มข้นของเอทานอล เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอล โดยส่งผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์และปริมาณการผลิตเอทานอลที่ได้ โดยจะมีผลยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ลดลง สำหรับความทนทานต่อเอทานอลขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นลักษณะประจำสายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces* และ *Schizosaccharomyces* ที่สามารถทนเอทานอลได้ 10%(w/v) และ 20%(w/v) ตามลำดับ

2.1.6 ชนิดและความเข้มข้นของสับสเตรท สับสเตรทที่สามารถนำมาผลิตเอทานอล ได้แก่ ประเภ่น้ำตาล (กากน้ำตาล อ้อย น้ำอ้อย) ประเภทแป้ง (แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง) ประเภทเซลลูโลส (ฟางข้าว วัชพืช เศษไม้) เป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่พบว่ามีผลต่อการผลิตเอทานอลแตกต่างกัน การใช้สับสเตรทที่มีความเข้มข้นสูงจะเป็นการลดปริมาณน้ำที่ใช้ในการเจือจางสับสเตรทลง แต่สับสเตรทที่มีความเข้มข้นสูงซึ่งมีน้ำตาลเข้มข้นสูงจะส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และส่งผลต่อปริมาณการผลิตเอทานอล การยับยั้งเกิดจากแรงดันออสโมซิสซึ่ง

เซลล์ของยีสต์จะเกิด Plasmolysis เมื่ออยู่ในน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 14%(w/v) จึงส่งผลให้อัตราการหมักลดลง แต่ผลการยับยั้งที่เกิดจากความเข้มข้นของน้ำตาลจะมีผลน้อยกว่าผลของความเข้มข้นของเอทานอล หรืออาจจะเป็นผลร่วมกันระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลและความเข้มข้นของเอทานอล

2.2 ถังหมัก (Fermenter)

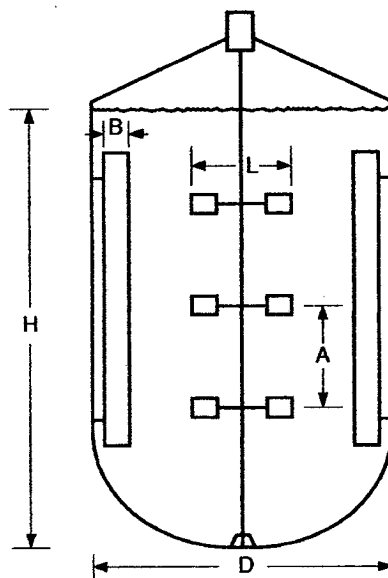
ถังหมักสามารถพิจารณาให้เป็นถังปฏิกรณ์เคมีได้ ดังรูปที่ 2.3 ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนสารตั้งต้นให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ปัจจัยต่างๆ ที่ต้องการในการทำปฏิกิริยาจะถูกติดตั้งในถังปฏิกรณ์ สถานะในการทำปฏิกิริยาได้แก่ อุณหภูมิ, ตัวกลางการถ่ายเทความร้อน, อุณหภูมิของสารตั้งต้น, ความดันและดัชนีการกวนผสม อย่างไรก็ตามปัจจัยทั้งหมดอยู่บนฐานความเหมาะสมทางเศรษฐศาสตร์ การออกแบบถังหมักแบบกะมีความคล้ายคลึงกับการออกแบบถังปฏิกรณ์แบบกะ (Batch reactor) โดยปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นทันทีที่เติมสารตั้งต้น มีการผสมเป็นเนื้อเดียวกันอย่างสมบูรณ์ มีการควบคุมอุณหภูมิโดยการควบคุมอุณหภูมิของตัวกลางถ่ายเทความร้อนและปฏิกิริยาเคมีสิ้นสุดลงเมื่อการดำเนินไปของปฏิกิริยาเคมีถึงจุดที่ต้องการ ในทำนองเดียวกันสำหรับถังหมักซึ่งมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อและหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทำให้เกิดการหมักและมีการกวนผสมเพื่อให้เกิดการกระจายตัวของอาหารและจุลินทรีย์อย่างทั่วถึง มีการควบคุมอุณหภูมิการหมักและการหมักจะสิ้นสุดลงเมื่ออาหารถูกใช้หมด



รูปที่ 2.3 ถังปฏิกรณ์แบบกะ (McCabe, Smith and Harriott, 1993)

2.2.1 ถังหมักแบบกะ (Batch bioreactor)

ปริมาตรใช้งาน (Working volume) หมายถึงปริมาตรรวมของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งรวมทั้งจุลินทรีย์และก๊าซที่แทรกตัวอยู่ จะเหลือเนื้อที่ว่างด้านบนไว้สำหรับกักอากาศและฟองที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักซึ่งปริมาตรใช้งานของถังหมักแบบมีการกวนจะมีค่าเท่ากับ 80% ของปริมาตรทั้งหมด โดยปกติขนาดของถังหมักจะมีอัตราส่วนระหว่างความสูง (H) ต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (D) เท่ากับ 1:1 ถึง 3.5:1 ถ้าอัตราส่วนดังกล่าวต่ำกว่า 2:1 มักใช้ใบกวนชุดเดียว รูปทรงของตัวถังหมักมักเป็นทรงกระบอกสูงมีก้นถึงเป็นแอ่งทรงกลมทำให้การถ่ายเทน้ำหมักออกทำได้ง่าย



รูปที่ 2.4 รูปแบบของถังหมักแบบมีใบกวนหลายชุด (McNeil and Harvey, 1990)

- เมื่อ H = ความสูงของถังหมัก
 D = เส้นผ่านศูนย์กลางของถังหมัก
 L = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน
 A = ระยะห่างระหว่างใบกวน
 B = ความกว้างของแผ่นกั้น

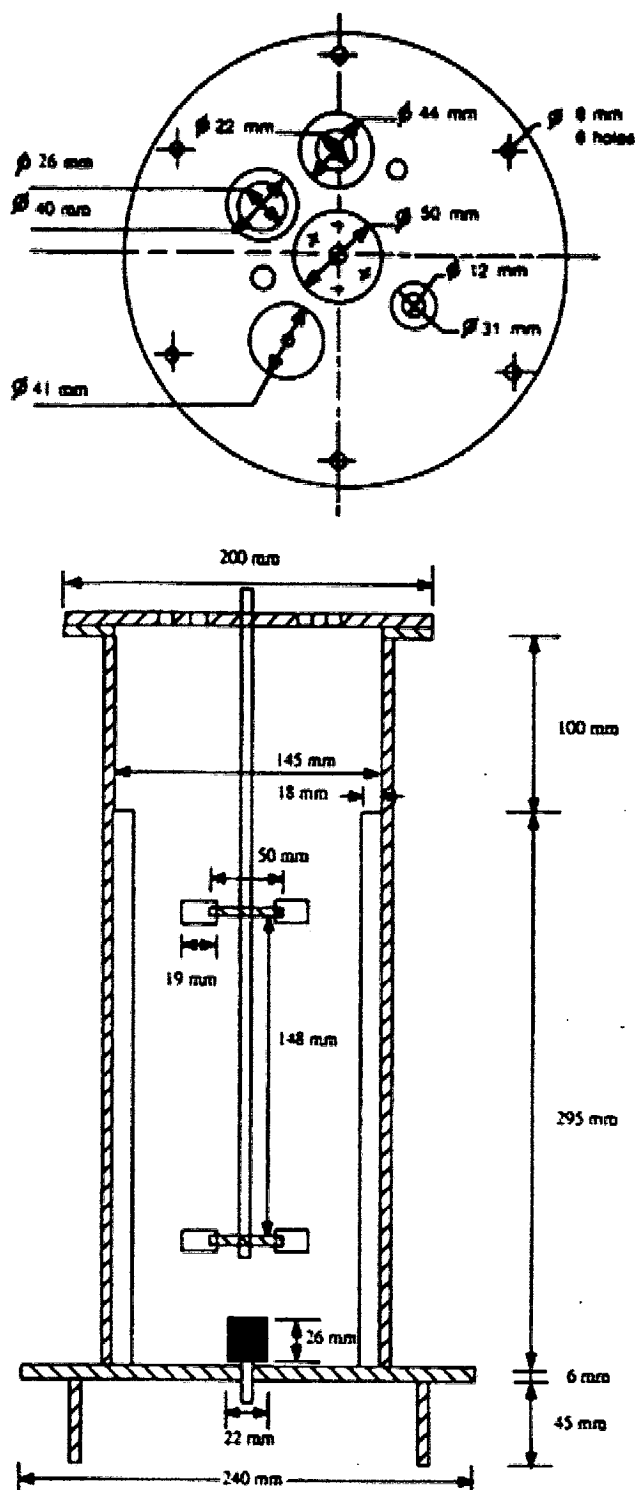
อัตราส่วนของความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (H/D) ของถังหมัก = 1:1 ถึง 3.5:1

อัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนและถังหมัก (L/D) = 0.25:1 ถึง 0.5:1

อัตราส่วนของระยะห่างระหว่างใบกวนต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน (A/L) = 1:1 ถึง 1:1.2

อัตราส่วนของความกว้างของแผ่นกั้นต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของถังหมัก (B/D) = 0.1:1 ถึง 0.2:1

Tango and Ghaly (1999) ใช้ถังหมักแบบกะที่มีการกวนผสมอย่างต่อเนื่องขนาด 5 ลิตร
 ดังรูปที่ 2.5 เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus helveticus* และการผลิต
 Lactic acid จาก Lactose



รูปที่ 2.5 ถังหมักขนาด 5 ลิตร (Tango and Ghaly, 1999)

2.2.2 การกวนผสม (Fluid Mixing in Reactors) (Vogel and Todaro, 1997)

เป็นการทำให้ระบบที่มีความแตกต่างกัน (Non-uniform) กลายเป็นระบบที่ไม่มี ความแตกต่างกันหรือกลายเป็นรูปแบบเดียวกัน (Uniform) ได้แก่ การกระจายตัวขององค์ประกอบสอง ชนิด การกวน (Agitation) เป็นการให้แรงเชิงกลไปยังของไหลเพื่อให้เกิดการไหลเวียนเป็นวงกลม หรือเกิดการไหลรูปแบบต่างๆ ในถังหมัก การผสมเป็นการรวมกระบวนการทางเคมีและทาง กายภาพ ได้แก่ การผสม (Blending) สำหรับของเหลวสองชนิดที่ไม่ละลายด้วยกัน, การละลาย (Dissolving) สำหรับละลายของแข็งในของเหลว, การกระจายตัว (Dispersion) สำหรับฟองก๊าซ ขนาดเล็กในของเหลว และ เซลล์จุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อและตะกอนเร่ง (Activated sludge) ใน ระบบบำบัดน้ำเสีย, การทำให้เกิดการแขวนลอย (Suspension) สำหรับอนุภาคของแข็งในของเหลว เช่น แคตตาลิสต์ (Catalyst) ในของเหลว, การทำให้เกิดอิมัลชัน (Emulsification), การถ่ายเทความร้อน (Heat transfer) ระหว่างของเหลวกับขดลวดความร้อนหรือ Jacket, การเกิดปฏิกิริยาเคมี (Chemical reaction)

การผสมมีทั้งในการหมักแบบใช้อากาศและการหมักแบบไร้อากาศ ตารางที่ 2.1 แบ่งกลุ่มของการกวนผสมออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ Liquid-Solid, Liquid-Gas, Liquid-Liquid, Miscible liquid และ Fluid motion โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกด้านซ้ายแสดงการประยุกต์ใช้ทางกายภาพ ส่วนที่สองด้านขวาคือรูปแบบของความต้องการการถ่ายโอนมวลที่เกิดขึ้น หรือปฏิกิริยาเคมีที่ต้องการ

ตารางที่ 2.1 การจำแนกการกวนผสม

กระบวนการทางกายภาพ	ประเภทการใช้งาน	กระบวนการทางเคมี
Suspension	Liquid-Solid	Dissolving
Dispersions	Liquid-Gas	Absorption
Emulsions	Immiscible Liquids	Extraction
Blending	Miscible Liquid	Reactions
Pumping	Fluid Motion	Heat Transfer

สิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาในการกวนผสมคือรูปแบบการไหล (Flow patterns) และอัตราการสูบ (Pumping capacity) เมื่อพิจารณาอัตราการสูบ จากกำลังทั้งหมด (Power, P) ที่ป้อนให้แก่ระบบ (System) ซึ่งทำให้เกิดอัตราการสูบ (Pumping capacity, Q) มีความสัมพันธ์กับค่า Head ใบกวน (Impeller head, H) ดังสมการ

$$P \propto QH$$

เมื่อ Q มีหน่วยเป็น kg/s , H มีหน่วยเป็น Nm/s , P มีหน่วยเป็น W

ค่ากำลัง P ที่ให้กับใบกวนในช่วงความหนืดต่ำและความหนืดปานกลาง มีความสัมพันธ์ดังสมการ

$$P \propto N^3 D^5$$

เมื่อ D คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน

N คือ ความเร็วรอบของใบกวน

ค่าอัตราการสูบของใบกวน Q เป็นสัดส่วนกับเทอม ND^3

$$Q \propto ND^3$$

เมื่อนำทั้ง 3 สมการมารวมกันจะให้ความสัมพันธ์ ดังนี้

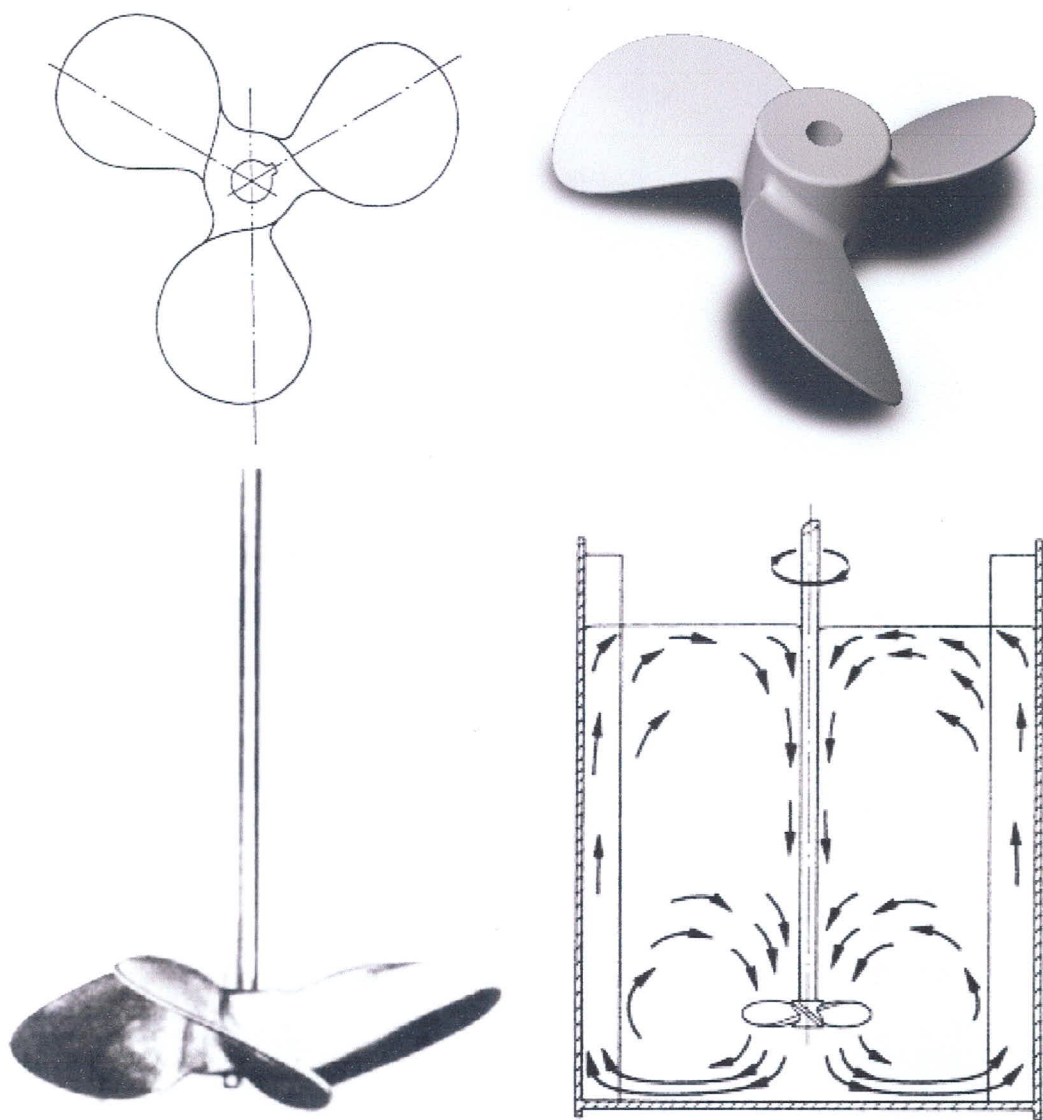
$$(Q/H)_p \propto D^{8/3}$$

เมื่อ $(Q/H)_p$ คือ อัตราการไหล ต่อ Head ใบกวน (Flow to head ratio) ที่สภาวะกำลังงานคงที่ กรณีนี้ชี้ว่าใบกวนขนาดใหญ่หมุนที่ความเร็วรอบต่ำจะมีความสามารถในการสูบและอัตราเฉือนต่ำเนื่องจาก Impeller head หรือ Velocity work มีความสัมพันธ์กับอัตราเฉือนรอบใบกวน อัตราการสูบที่มีค่าสูงนั้นได้จากการใช้ใบกวนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดใหญ่ที่ความเร็วในการหมุนต่ำ แต่อัตราเฉือนสูงที่ได้จากการใช้ใบกวนขนาดเล็กและใช้ความเร็วรอบในการหมุนสูง รูปแบบของการไหลที่เกิดจากการทำงานของอุปกรณ์กวนผสมเป็นตัวกำหนดผลที่เกิดจากกระบวนการผสม โดยทั่วไปต้องการทำให้เกิดอัตราการสูบอย่างสูง (High pumping capacity) มากกว่าการทำให้เกิดอัตราเฉือนของไหล (Fluid shear rate) และพิจารณาค่าอัตราการสูบที่เหมาะสมของใบกวน (Impellers) ที่สัมพันธ์กับการใช้พลังงาน ยังมีกระบวนการอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องและซับซ้อนซึ่งส่งผลต่ออัตราการเฉือนของไหลและการหาค่าตัวแปรที่สำคัญของกระบวนการผสม ในการทดลองเพื่อวัดค่าตัวแปรเหล่านั้นกระทำได้ยากในเทอมของ Fluid mechanics

ใบกวน เป็นอุปกรณ์ผสม (Agitation equipment) ที่สำคัญและมีหลายแบบขึ้นกับขนาด และรูปร่างของถังหมักและจุดประสงค์ในการกวนผสม สำหรับใช้ในถังหมักทรงกระบอกตั้งปิด ด้านบนและด้านล่าง โดยทั่วไปกันถังด้านล่างนิยมทำเป็นรูปโค้งเพื่อป้องกันมุมอับที่อาจจะไม่เกิดการผสม ความลึกของของเหลวเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางของถังหมัก ใบกวนยึดกับแกนหมุน ด้านบนต่อกับมอเตอร์ไฟฟ้า ซึ่งอาจจะต่อตรงกับก้านใบกวนแต่โดยทั่วไปจะผ่านอุปกรณ์ลดความเร็ว (Speed-reducing gearbox) เพื่อให้ได้ความเร็วที่ต้องการ ใบกวน (Impeller) จะทำให้เกิดการไหลเป็นวงกลม ของเหลวจะไหลออกจากใบกวน และไหลกลับเข้าสู่ใบกวนอย่างต่อเนื่อง ใบกวนสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามลักษณะการไหลที่เกิดขึ้น ชนิดแรกทำให้เกิดการไหลขนานไปกับแกนหมุนของใบกวน เรียกว่า Axial-flow impellers ชนิดที่สองทำให้เกิดการไหลตามแนวรัศมี เรียกว่า Radial-flow impellers ใบกวนที่นิยมใช้ในงานถังหมัก ได้แก่ Marine Propeller, Turbine, Open Turbine

Marine Propellers มีลักษณะคล้ายใบพัดเรือ ทำให้เกิดการไหลขนานตามแกนหมุนของใบกวน ดังรูปที่ 2.6 ใช้สำหรับของเหลวที่มีความหนืดต่ำ ใบกวนชนิด Marine Propellers นี้มีขนาดเล็กและมีความเร็วในการหมุนสูงสุดเท่ากับความเร็วของมอเตอร์ขับเคลื่อน เท่ากับ 1150-1750 rpm และสำหรับใบกวนที่มีขนาดใหญ่มีความเร็วในการหมุนเท่ากับ 400-800 rpm ของเหลวที่ออกจากใบกวนจะมีทิศทางการไหลทิศเดียวจนกระทั่งของเหลวกระทบกับก้นหรือผนังของถังหมักจึงทำให้เปลี่ยนทิศทางการไหล ของเหลวเกิดการไหลแบบปั่นป่วน (Turbulent) อย่างสูงออกจากใบกวน นั่นคือใบกวนทำให้เกิดการตัดเฉือนของของเหลวอย่างแรงและเนื่องจากการไหลของของเหลวมีลักษณะพุ่งไปข้างหน้าจึงเหมาะสำหรับใช้ในถังหมักขนาดใหญ่

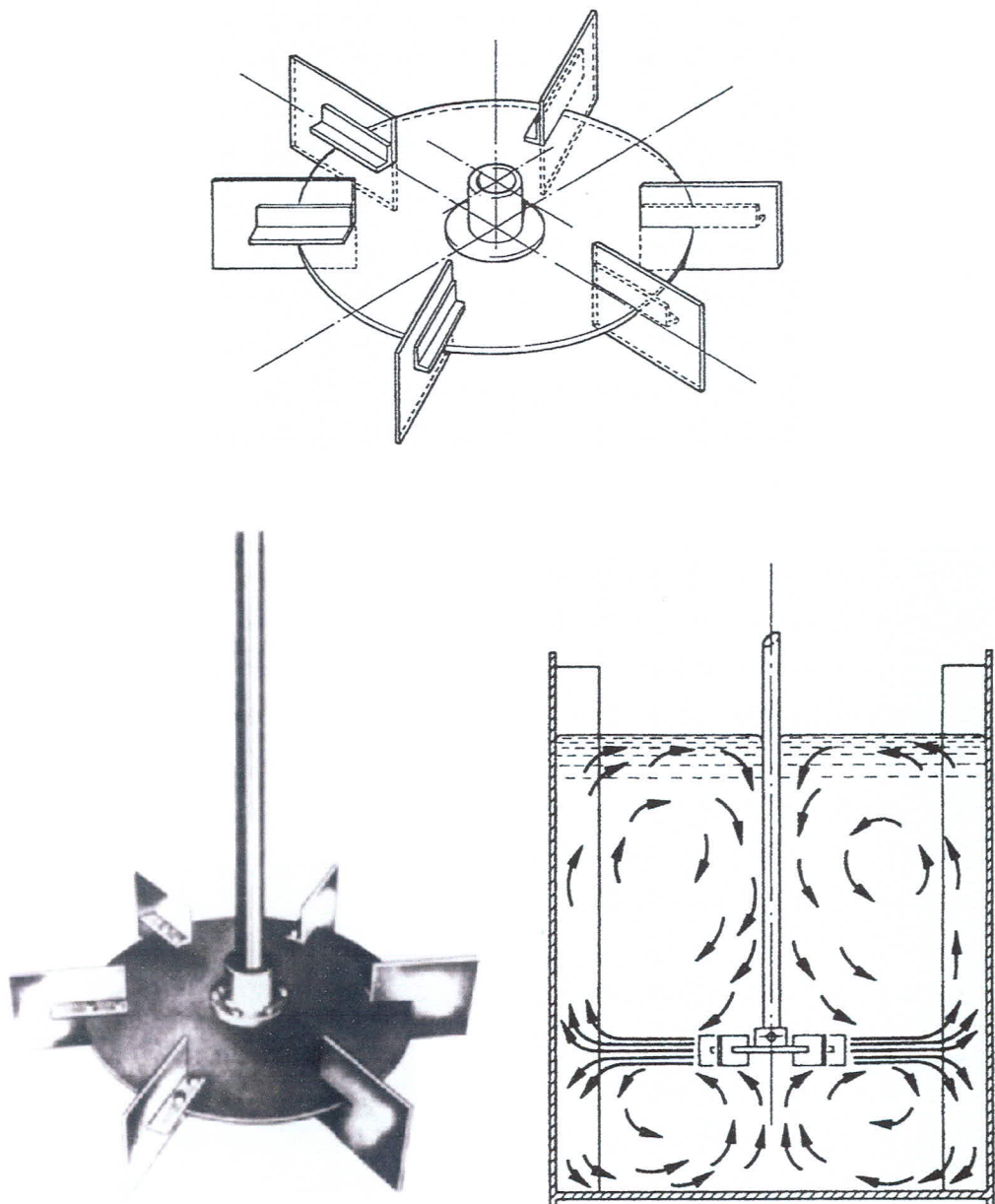
การหมุนของใบกวนชนิด Marine Propellers จะทำให้เกิดเป็นรูปเกลียว (Helix) ขึ้นในของเหลว และถ้าไม่มีการลื่นไถล (Slip) ระหว่างใบกวนกับของเหลวแล้วการหมุนของใบกวน 1 รอบ จะทำให้ของเหลวถูกผลักไปตามยาวเป็นระยะทางคงที่ค่าหนึ่งซึ่งขึ้นกับมุมเอียงของใบกวน อัตราส่วนระหว่างระยะทางนี้กับเส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนเรียกว่า Pitch ของใบกวน ซึ่งใบกวนที่มี Pitch เท่ากับ 1.0 เรียกว่า Square pitch ใบกวนชนิด Marine Propellers สามารถมีเส้นผ่านศูนย์กลางได้ถึง 18 นิ้ว โดยไม่ต้องคำนึงถึงขนาดของถัง สามารถติดตั้งใบกวนได้ 2 ใบหรือมากกว่าได้บนแกนหมุนอันเดียวกันซึ่งทิศทางการไหลของของเหลวที่ออกจากใบกวนจะต้องมีทิศทางเดียวกัน ในบางกรณีทิศทางการไหลของของเหลวที่ออกจากใบกวนมีทิศทางตรงกันข้ามกัน เรียกว่า Push-Pull ในเหมาะสำหรับกรณีที่ต้องการให้เกิดการไหลอย่างปั่นป่วนระหว่างใบกวนทั้งสอง



รูปที่ 2.6 ใบกวนชนิด Marine Propellers และลักษณะการไหลขนานไปกับแกนใบกวนที่เกิดจาก Marine Propellers (Coker, 2001)

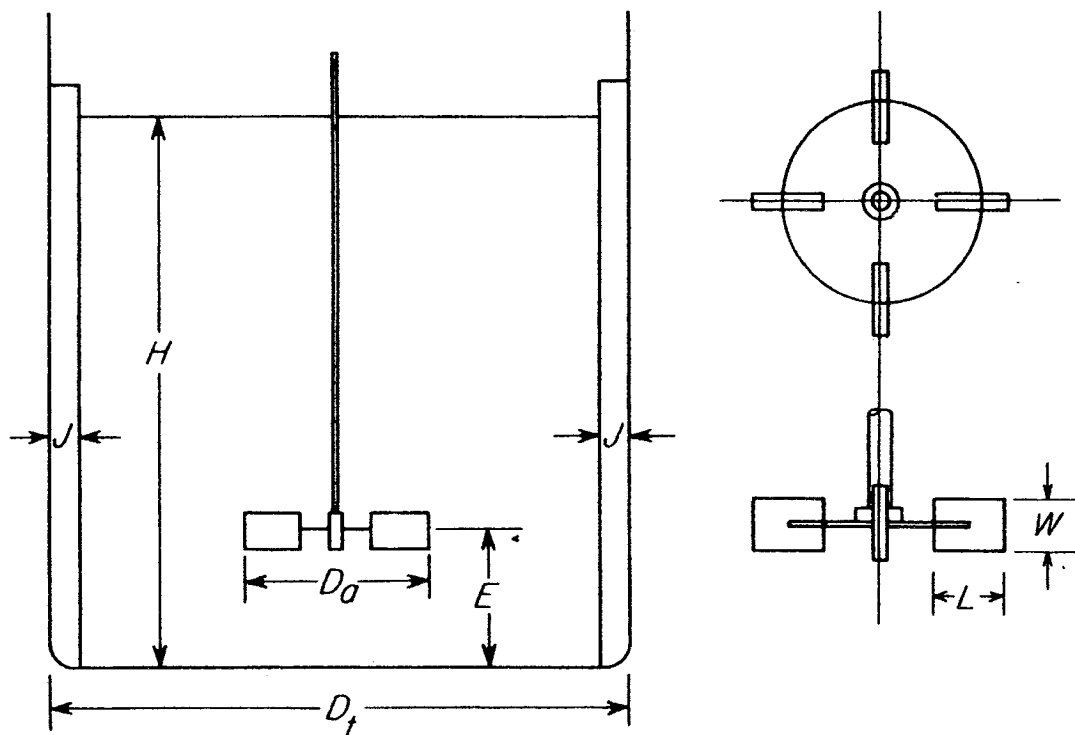
Turbines ใบกวนชนิดนี้ประกอบด้วยใบกวนขนาดเล็กและสั้นหลายใบอยู่บนจานกลมแบนและหมุนด้วยความเร็วสูง บนก้านใบกวนที่ติดตั้งตำแหน่งจุดศูนย์กลางของถังหมัก ปลายของใบกวนอาจจะมีลักษณะตรงหรือคดโค้ง ทำมุมเปิดหรือวางตรงในแนวตั้ง เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวนมีขนาดระหว่าง 30-50% ของเส้นผ่านศูนย์กลางถังหมัก ใบกวนแบบ Turbine สามารถใช้งานกับของเหลวที่มีความหนืดในช่วงกว้าง สำหรับการใช้งานในของเหลวที่มีความหนืดต่ำใบ Turbine จะทำให้เกิดกระแสการไหลอย่างรุนแรงออกจากปลายใบกวน ทำให้สภาพการหยุดนิ่งในของเหลวหมดไป บริเวณใกล้กับใบกวนจะมีกระแสการไหลอย่างปั่นป่วนและมีความเฉือนสูง

การไหลที่เกิดขึ้นเป็นการไหลตามแนวรัศมีและตามแนวเส้นสัมผัสวงกลม ซึ่งการไหลตามแนวเส้นสัมผัสวงกลมจะทำให้เกิดการหมุนวน (Vertex) ซึ่งสามารถทำให้ลักษณะการหมุนวนที่เกิดขึ้นหายไปได้ด้วยแผ่นกั้นหรือวงแหวนกระจายการไหลในกรณีที่ผลของใบกวนมีมาก



รูปที่ 2.7 ใบกวนชนิด Turbine และลักษณะการไหลตามแนวรัศมีที่เกิดจาก Turbine ร่วมกับแผ่นกั้น (Coker, 2001)

ลักษณะของใบกวนชนิด Turbine ตามแบบมาตรฐานซึ่งมีสัดส่วนสัมพันธ์กับถังหมัก ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 ขนาดของใบกวนชนิด Turbine ที่สัมพันธ์กับถังหมัก (McNeil and Harvey, 1990)

$$\begin{array}{ccc} \frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3} & \frac{H}{D_t} = 1 & \frac{J}{D_t} = \frac{1}{12} \\ \frac{E}{D_t} = \frac{1}{3} & \frac{W}{D_a} = \frac{1}{5} & \frac{L}{D_a} = \frac{1}{4} \end{array}$$

D_a = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบกวน

D_t = เส้นผ่านศูนย์กลางของถังหมัก

H = ความสูงของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

E = ความสูงของใบกวนจากก้นถังหมัก

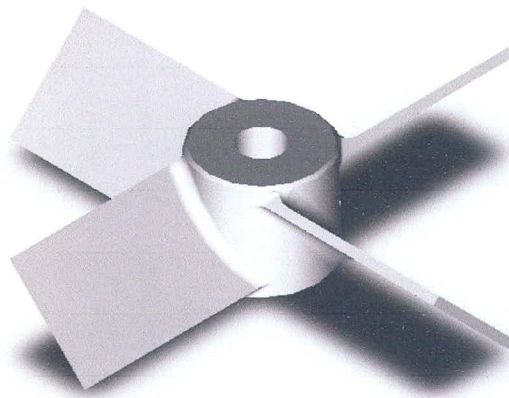
J = ความกว้างของแผ่นกั้นป้องกันการหมุนวน

L = ความยาวของใบกวน

W = ความกว้างของใบกวน

ขนาดและระยะความยาว มีหน่วยเดียวกัน เช่น เมตร (m)

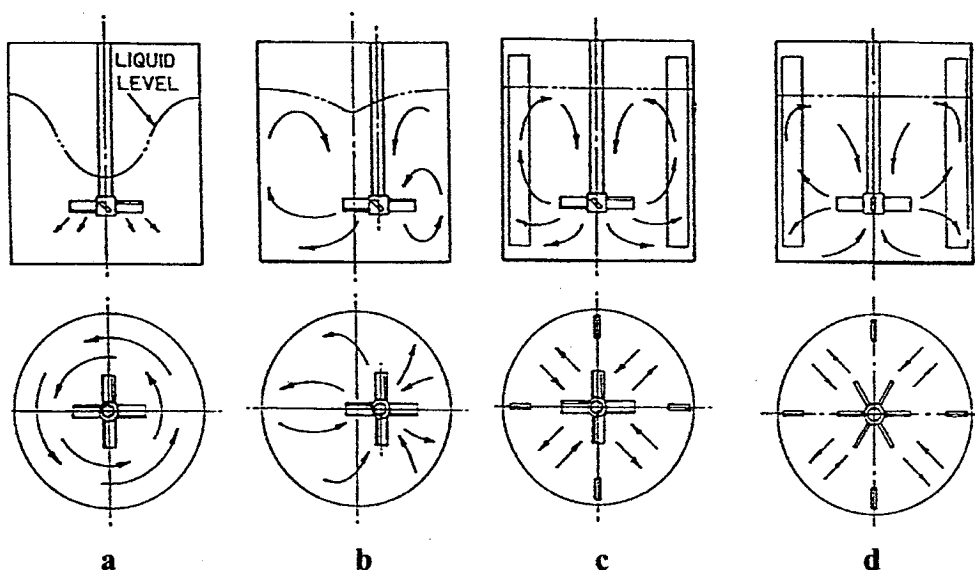
Open Turbine ประกอบด้วยใบกวนรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวน 4 ใบ ติดตั้งกับแกนใบกวนทำมุมเปิด 45° ความกว้างของใบกวนเท่ากับ 0.2 เท่า ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ทิศทางการหมุนของใบกวนมีทั้งทำให้ของไหลไหลลงด้านล่าง (Down-pumping) หรือไหลขึ้นด้านบน (Up-pumping) การจัดชนิดการไหลของใบกวนขึ้นกับค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางใบกวน (D_a) ต่อ เส้นผ่านศูนย์กลางของถัง (D_T) นั่นคือถ้า D_a / D_T มีค่าต่ำพิจารณาให้เป็นใบกวนแบบไหลตามแกนหมุน ถ้า D_a / D_T มีค่าสูงพิจารณาเป็นใบกวนแบบไหลตามแนวรัศมี



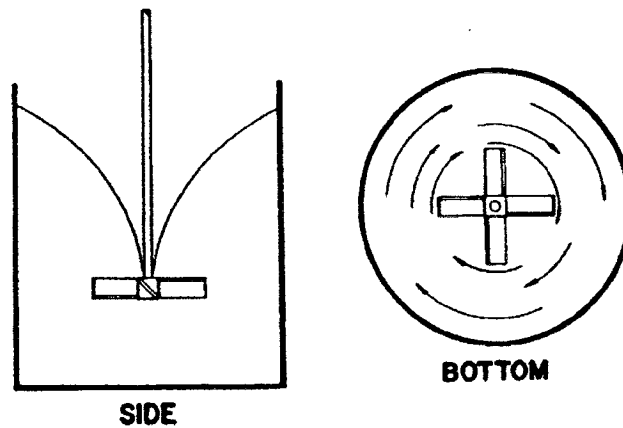
รูปที่ 2.9 ใบกวนชนิด Open Turbine

รูปแบบการไหลเกิดขึ้นจากความเร็วของไหลที่เกิดจากการทำงานของอุปกรณ์กวนผสม ซึ่งรูปแบบการไหลประกอบด้วยค่าเวกเตอร์ของความเร็วจึงประกอบด้วยทั้งขนาดและทิศทาง ถ้าในระบบที่มีความหนืดและอยู่ในช่วงการไหลแบบปั่นป่วนและมีการกระจายของความเร็วที่มีค่าคงที่จะทำให้รูปแบบการไหลมีลักษณะคงที่ด้วย ในขณะที่มีการกวนผสมของไหลจะต้องไม่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของมวลของไหลขนาดใหญ่หรือเกิดการไหลวนที่จุดศูนย์กลางถังหมัก เนื่องจากเมื่อเกิดการเคลื่อนที่ของมวลของไหลขนาดใหญ่จะทำให้ไม่เกิดการผสมเกิดขึ้นเนื่องจากของไหลเคลื่อนที่วนรอบถังหมักเป็นมวลเดียว (Single mass) ดังรูปที่ 2.11 อีกทั้งแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifugal force) ของของไหลเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการไหลวนซึ่งพบได้ในการกวนผสมด้วยใบกวน โดยของไหลจะถูกผลักรอกจากใบกวนและเกิดการเข้าผสมด้วยอากาศจะเกิดขึ้นเมื่อกระแสไหลวนมีความลึกถึงใบกวนและยังส่งผลให้ลดสภาพการผสมของไหลแก้ปัญหาด้วยการติดตั้งแผ่นกั้นการไหลวนในถังหมัก

แผ่นกั้น (Baffle) เป็นแผ่นโลหะติดตั้งทำมุมฉากกับเส้นรอบวงของถังหมักที่บริเวณผนังด้านในของถังหมักตลอดความลึกของถัง มีจุดประสงค์เพื่อไม่ให้เกิดกระแสหมุนวน (Vortex) จากการหมุนของใบกวนโดยเฉพาะเมื่อใช้ใบกวนชนิด Turbine

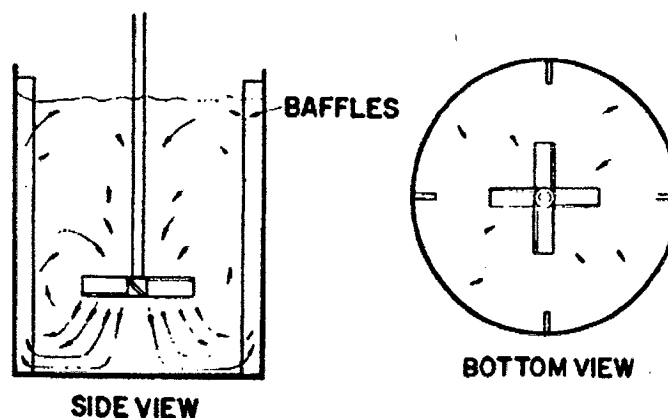


รูปที่ 2.10 รูปแบบการไหล (a) การใช้ใบกวนแบบ Axial หรือ Radial โดยไม่มีแผ่น Baffle ทำให้เกิดกระแสหมุนวน (b) การวางตำแหน่งใบกวนเอียงศูนย์โดยทำให้เกิดการไหลที่ไม่สมดุล (Unbalance) เพื่อลดกระแสหมุนวนแต่การใช้พลังงานเพิ่มสูงขึ้น การติดตั้งใบกวนในตำแหน่งที่ถูกต้องมีความสำคัญมากเนื่องจากการติดตั้งใบกวนที่คลาดเคลื่อนจากตำแหน่งศูนย์กลางเพียงเล็กน้อยเป็นสาเหตุทำให้เกิดลักษณะการไหลวนที่รุนแรงขึ้นและทำให้เกิดความเครียดต่อแกนใบกวน (c) แสดงการใช้ใบกวนแบบ Axial ร่วมกับแผ่นกั้น (d) แสดงการใช้ใบกวนแบบ Radial ร่วมกับแผ่นกั้น การไหลที่เกิดขึ้นแบ่งออกเป็นสองส่วน โดยส่วนหนึ่งของไหลออกจากใบกวนไปยังผนังของถังหมักแล้วไหลไปด้านล่างของถังหมักแล้วไหลกลับเข้าสู่ศูนย์กลางของใบกวนจากด้านล่าง อีกส่วนหนึ่งไหลออกจากใบกวนไปยังผนังแล้วไหลไปด้านบนของถังหมักแล้วไหลกลับเข้าสู่ศูนย์กลางของใบกวนจากด้านบน (Coker, 2001)

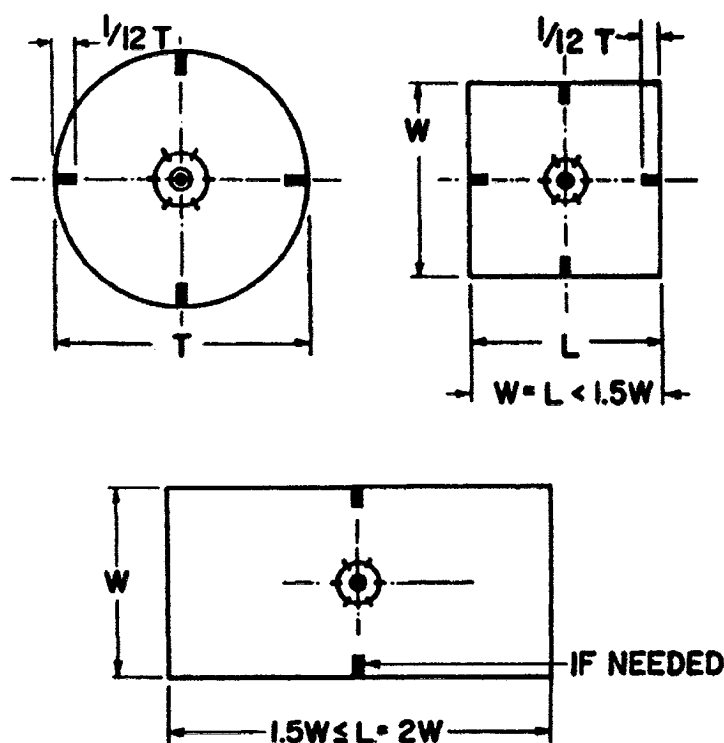


รูปที่ 2.11 ลักษณะกระแสมวนวนที่เกิดจากใบกวนที่ไม่มีการติดตั้งแผ่น Baffle มุมมองจากด้านข้างและด้านล่างตามลำดับ

ในรูปที่ 2.11 แสดงการไหลที่เกิดขึ้นในถังที่ไม่มี Baffle พบว่ามีกระแสมวนวน เมื่อติดตั้งแผ่น Baffle 4 ตำแหน่งลงในถังดังรูปที่ 2.12 ซึ่งสามารถทำได้ทุกๆ ระดับของกำลังในหน่วยแรงม้าของระบบโดยไม่เกิดกระแสมวนวน สามารถใช้ Baffle ได้ทั้งแบบ 3, 6 และ 8 อัน โดยมีข้อกำหนดคือใช้ Baffle ที่มีลักษณะเหมือนกัน เช่น ใช้ Baffle จำนวน 4 อัน ติดตั้งในถัง แต่ละอันมีความกว้างเท่ากับ $1/12$ ของเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง สำหรับถังเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส จะมีการติดตั้ง Baffle ดังรูปที่ 2.13 เมื่อกำลังที่ใส่เข้าไปมีระดับต่ำกว่า 1 hp/1000 gal มุมในสี่เหลี่ยมหรือมุมของสี่เหลี่ยมจัตุรัสทำให้เกิดลักษณะ Baffling ที่สูงเพียงพอโดยไม่ต้องติดตั้ง Baffle ที่ผนัง



รูปที่ 2.12 ลักษณะการไหลซึ่งได้จากการติดตั้งแผ่นกั้น



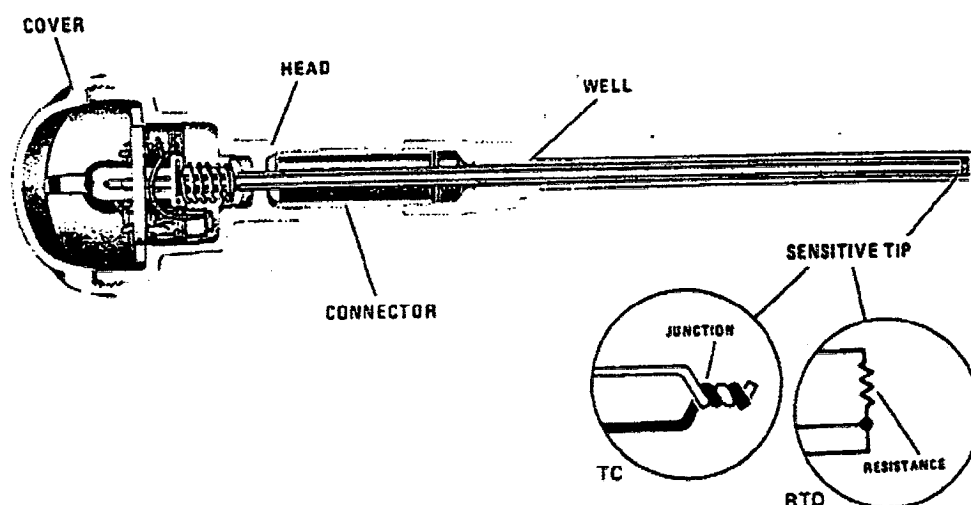
รูปที่ 2.13 ลักษณะติดตั้งแผ่นกันสำหรับถังกลมและถังเหลี่ยม

ปัจจุบันคอมพิวเตอร์ได้รับความนิยมในการแก้ปัญหาและคำนวณกลศาสตร์ของไหล (Computation Fluid dynamic, CFD) เพื่อคำนวณเปรียบเทียบผลของใบกวนประกอบด้วยโปรแกรม (Software) สำหรับใช้คำนวณโดยผู้ใช้สามารถกำหนดขอบเขต (Boundary condition) ของการไหล, คุณสมบัติของไหล, อุณหภูมิ, อัตราการไหลของกระแสไหลเข้า-ออก เป็นต้น สำหรับการศึกษาผลของใบกวนนิยมใช้คอมพิวเตอร์ในการจำลองการไหลที่เป็นผลจากใบกวนเพื่อให้ได้รูปแบบของใบกวนที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์การกวนผสมมากที่สุด

2.2.3 การควบคุมอุณหภูมิ (Temperature control)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญต่อการหมัก โดยการควบคุมอุณหภูมิที่แม่นยำและเส้นกราฟของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของชีวมวล อุณหภูมิที่เหมาะสมของการหมักมักอยู่ในช่วงแคบๆ โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 30-36°C ซึ่งต้องควบคุมการเปลี่ยนแปลงให้อยู่ในช่วง 0.5°C ซึ่งสามารถทำได้แม้ในถังหมักขนาดใหญ่ การควบคุมอุณหภูมิของถังหมักโดยระบบทำความร้อนและทำความเย็น ความร้อนที่เกิดขึ้นในการหมักเกิดจากการใช้พลังงาน การกวนผสมและความร้อนที่ถ่ายเทจากปฏิกิริยาชีวเคมีของการหมัก ดังนั้นโดยทั่วไปการหมักต้องการการทำความเย็น จากจุดเริ่มต้นถึงจุดสิ้นสุดของการหมักความร้อนเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยระบบจะ

ถูกทำให้ร้อนขึ้นจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการ สำหรับวิธีการวัดและควบคุมอุณหภูมิของถังหมัก ได้แก่ การวัดอุณหภูมิของถังหมักวัดโดยเทอร์โมมิเตอร์แบบแก้ว, เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple), เทอร์มิสเตอร์ (Thermistor), เทอร์โมมิเตอร์แบบค่าต้านทานการนำไฟฟ้า (Resistance thermometers) และ วงจรไฟฟ้าตรวจจับอุณหภูมิ (Miniature Integrate Circuit) ซึ่งอุปกรณ์นี้ทำหน้าที่ตรวจวัดความร้อนแล้วส่งสัญญาณไฟฟ้าเพื่อให้หน่วยควบคุมทำการควบคุมอุณหภูมิ



รูปที่ 2.14 ภาพตัดขวางของเทอร์โมคัปเปิล (TC) และเทอร์โมมิเตอร์แบบค่าต้านทานการนำไฟฟ้า (RTD)

สำหรับเทอร์โมคัปเปิล (TC) ดังรูปที่ 2.14 เป็นอุปกรณ์วัดแบบอิเล็กทรอนิกส์ที่ได้รับความนิยม มีราคาถูกและใช้งานง่ายแต่มีความละเอียดต่ำ พื้นฐานของ Thermoelectric อ้างอิงกับ Seebeck Effect คือมีโลหะสองชนิดที่ต่างกันต่อกันเป็นวงจรปิด (Closed circuit) เมื่อป้อนกระแสไฟฟ้าซึ่งเป็นแรงเคลื่อนไฟฟ้า (Electro motive force) เมื่อรอยเชื่อมต่อของโลหะสองชนิดนี้ได้รับอุณหภูมิ โลหะเกิดการตอบสนองต่ออุณหภูมิแตกต่างกัน เปลี่ยนพลังงานความร้อนไปเป็นพลังงานไฟฟ้า เกิดเป็นกระแสไฟฟ้า (Electric current) ดังนั้น ถ้าทราบค่าอุณหภูมิของจุดเชื่อมหนึ่ง (Cold junction) แล้วอุณหภูมิอีกด้านหนึ่ง (Hot junction) คืออุณหภูมิที่วัดค่าด้วยกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านวงจร ขึ้นกับโลหะผสมที่เลือกใช้ Thermocouple สามารถวัดอุณหภูมิได้ในช่วงกว้าง (ตั้งแต่ -200 ถึง $+350^{\circ}\text{C}$) สำหรับ Copper, Constantan (Copper-nickel alloy) มีการตอบสนองอย่างรวดเร็วโดยมีความล่าช้าของสัญญาณเพียงเล็กน้อย มีการดูดซึมความร้อนและการแพร่หมดไปของความร้อน (Dissipation of heat) ส่วนข้อด้อยคือความไวต่ำโดยเทอร์โมคัปเปิลที่ทำจาก Copper, Constantan มีค่าผลผลิตกระแสเพียง $40.4 \text{ microvolt}/^{\circ}\text{C}$ และต้องการความเที่ยงตรงของการกำหนดอุณหภูมิด้าน Cold junction

สำหรับ Resistance Temperature Detector (RTD) มีความไวสูงกว่าเทอร์โมคัปเปิล โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อวัดอุณหภูมิในช่วงแคบๆ ทำให้การวัดอุณหภูมิของ RTD มีความถูกต้องและเที่ยงตรงมากกว่า พื้นฐานของอุปกรณ์ RTD นี้เป็นการเลือกใช้วัสดุ ได้แก่ Platinum และ Nickel ซึ่งมีค่าความต้านทานการไหลของกระแสไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงกับอุณหภูมิ วัสดุนี้ใช้เป็นขาข้างหนึ่งใน Wheatstone bridge circuit และขาอีกข้างหนึ่งเป็น Resistor ที่รู้ค่าแน่นอน ความต่างศักย์เกิดขึ้นคร่อมขาทั้งสองข้างและเมื่อเปรียบเทียบความต่างศักย์ตกคลงที่ครึ่งทาง (Mid way) ที่ผ่านแต่ละส่วนของวงจร ความต่างศักย์ที่จุดครึ่งทาง มีความสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราส่วนของแต่ละชุดของอนุกรมของความต้านทาน เมื่อรู้ค่าทั้งสามอย่างนี้ ค่าความต้านทานของ RTD สามารถคำนวณได้ และสามารถหาค่าอุณหภูมิได้ ถ้า RTD ถูกควบคุมผ่านสะพานวงจร (Bridge circuit) ค่าความต้านทานของลวดตัวนำสามารถมีผลต่อการวัดค่า ดังนั้นสำหรับการวัดค่าที่ต้องการความถูกต้องวงจรชดเชยจึงได้ถูกนำมารวมไว้ด้วยกัน

สำหรับ Thermister คือกลุ่ม RTD แบบพิเศษ สร้างจากวัสดุกึ่งตัวนำ (Semi-conductor) ซึ่งมีคุณสมบัติเปลี่ยนสภาพการนำไฟฟ้าเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลง ซึ่งมีความไวต่ออุณหภูมิและราคาถูกแต่มีข้อด้อยคือการตอบสนองอย่างไม่เป็นเส้นตรงต่ออุณหภูมิ อุปกรณ์แบบทรานซิสเตอร์ Transistorised ซึ่งเป็นการรวมวงจรให้สัญญาณขาออกที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง เทอร์โมมิเตอร์แบบแพลตตินัมรีซิสแทน (Platinum resistance) ใช้เป็นมาตรฐาน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจึงติดตั้งเทอร์โมมิเตอร์ในกระบอกสแตนเลสบางๆ ซึ่งจะออกแบบให้พอดีกับถังหมัก และติดตั้งในตำแหน่งที่สัมผัสกับสารตัวกลางนำความร้อนได้ดีและทำให้ตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็ว สำหรับรีซิสแทนเทอร์โมมิเตอร์ (Resistance thermometer) ทำงานโดยคุณสมบัติการเปลี่ยนค่าความต้านทานความร้อนเนื่องจากอุณหภูมิ ซึ่งอุปกรณ์นี้ต้องการกระแสไฟฟ้าเลี้ยงวงจรเพื่อวัดค่าความต่างศักย์ ซึ่งเป็นสัดส่วนกับอุณหภูมิ อย่างไรก็ตาม กระแสไฟฟ้าที่เลี้ยงวงจรนี้จะมีค่าต่ำเพื่อไม่ทำให้เกิดผลของอุณหภูมิที่สูงขึ้นเนื่องจากกระแสไฟฟ้า โดยค่าการเปลี่ยนแปลงความต้านทานกระแสไฟฟ้าในสายไฟในเทอร์โมมิเตอร์จะต้องมีค่ามากโดยเกิดจากผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิรอบนอกเทอร์โมมิเตอร์ ผลนี้สามารถหาค่าได้ด้วยการใช้สายไฟฟ้ากับการแยกกระแสสัมผัส โดยเทอร์โมมิเตอร์แพลตตินัมที่ได้รับการพัฒนาแล้วจะมีความละเอียดสูง มีความเสถียรและให้สัญญาณขาออกมีลักษณะเป็นเส้นตรงกับการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงการวัดปกติ ในที่อุณหภูมิสูงเช่นในการฆ่าเชื้อ อุปกรณ์ที่ใช้วัดอุณหภูมิมีช่วงการวัดอยู่ระหว่าง 50-150°C

การควบคุมความร้อนด้วยการระบายความร้อนนิยมใช้แจ็คเก็ต (Jacket) หรือชุดท่อน้ำหล่อเย็นภายในถังหมัก (Internal cooling coils) ซึ่งมีน้ำหล่อเย็นไหลหมุนเวียนเพื่อควบคุมอุณหภูมิ

โดยพิจารณาจากสมการสมดุลพลังงาน (Energy balance) สำหรับถังหมักที่ดำเนินการหมักแบบกะ แสดงดังสมการ

$$d\left[\frac{MC_p T}{dt}\right] = \mu X(-\Delta H_x)V - UA[T - T_j]$$

เมื่อ M คือ มวลทั้งหมดภายในถังหมัก (kg)

C_p คือ ความร้อนจำเพาะ ($kJ \cdot kg^{-1} K^{-1}$)

T คือ อุณหภูมิของถังหมักความร้อนจำเพาะ (K)

t คือ เวลา (s)

μX คือ อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ ($kg \cdot m^{-3} s^{-1}$)

V คือ ปริมาตรทำงานของถังหมัก (m^3)

$-\Delta H_x$ คือ ความร้อนที่คายออกจากภายในถังหมัก ($kJ \cdot kg^{-1}$)

ภายใต้สภาวะคงที่ (Steady-state) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิ ซึ่ง $dT/dt = 0$ อัตราการสะสมความร้อนเท่ากับศูนย์ อัตราการเกิดความร้อนมีค่าเท่ากับอัตราการนำความร้อนออกจากถังหมัก อัตราการเกิดความร้อนมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ อัตราการถ่ายเทความร้อนที่อุณหภูมิเฉลี่ย $[T - T_j]$ คูณด้วยค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทความร้อน

U คือ ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทความร้อนใน ($kJ \cdot m^{-2} \cdot s^{-1} \cdot K^{-1}$)

T_j คือ อุณหภูมิของสารหล่อเย็น (Coolant) ในแจ็คเกต (K)

2.2.4 การสเตอริไลส์ถังหมัก

การสเตอริไลส์ถังหมัก ในกรณีที่ไม่ได้สเตอริไลส์อาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมักโดยตรง ก็จำเป็นต้องมีการสเตอริไลส์ถังหมักก่อนที่จะใส่อาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไป โดยใช้ไอน้ำร้อนผ่านเข้าไปในแจ็คเกต (Jacket) หรือขดท่อ (Coil) ภายในถังหมักและอัดไอน้ำผ่านช่องเปิดเข้าสู่ถังหมักทุกจุดจนได้ความดัน 15 lb/inch^2 เป็นเวลา 20 นาที

การสเตอริไลส์อากาศ ในกระบวนการหมักที่ต้องการอากาศจำเป็นต้องมีอากาศปราศจากเชื้อเข้าสู่ถังหมักในปริมาณที่เพียงพออย่างต่อเนื่อง การใช้ความร้อนในการสเตอริไลส์อากาศเป็นวิธีการที่สิ้นเปลืองพลังงาน วิธีที่นิยมคือการกรองอากาศผ่านตัวกรองความละเอียดสูง

2.3 กากน้ำตาล (Curtin, 1983)

กากน้ำตาล (Molasses) มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาลดำได้จากการผลิตน้ำตาลจากขั้นตอนการระเหย (Evaporation), ตกผลึกน้ำตาลทราย (Crystallization) และการปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) น้ำอ้อยหรือหัวบีท (Beets) โดยทั่วไปในกากน้ำตาลมีน้ำตาลประมาณ 43% แบ่งชนิดของกากน้ำตาลตามวัตถุดิบ ได้แก่

Cane molasses เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลซูโครสจากน้ำตาลอ้อย ประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 46% ในรูปน้ำตาลอินเวิร์ท (Invert sugar) ที่ปริมาณความชื้นมีค่าเท่ากับ 27% ความหนาแน่นที่ได้จากการทำเจือจางทวี (Double dilution) จะมีค่าไม่ต่ำกว่า 79.5°Brix

Beet molasses เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลซูโครสจากน้ำตาลหัวบีท ประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 48% ในรูปของน้ำตาลอินเวิร์ท ความหนาแน่นที่ได้จากการทำเจือจางทวีจะมีค่าไม่ต่ำกว่า 79.5°Brix

Citrus molasses เป็นผลพลอยได้จากการกำจัดน้ำออก (Dehydrate) จากอุตสาหกรรมการทำแห้งเนื้อส้มหรือ มะนาว (Citrus pulp) ประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมดไม่น้อยกว่า 45% ในรูปของน้ำตาลอินเวิร์ท ความหนาแน่นที่ได้จากการทำเจือจางทวีจะมีค่าไม่ต่ำกว่า 71°Brix

Hemicellulose extract เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมไม้อัด (Pressed wood) เป็นสารละลายเข้มข้นที่ได้จากกระบวนการผลิตไม้ ได้แก่ การให้อุณหภูมิ การให้ความดันโดยปราศจากกรด ด่าง และเกลือ สารละลายที่ได้ประกอบด้วย น้ำตาลเพนโตส (Pentose) น้ำตาลเฮกโซส (Hexose) และมีคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดไม่น้อยกว่า 55%

Starch molasses เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลเดกซ์โตรส (Dextrose) จากการทำอนุพันธ์ของแป้งข้าวโพดหรือข้าวฟ่าง (Sorghums) ด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolyzed) ด้วยเอนไซม์หรือกรด จะต้องประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ไม่น้อยกว่า 43% ในรูปของน้ำตาลเดกซ์โตรส และมีน้ำตาลทั้งหมดไม่น้อยกว่า 50% อยู่ในรูปน้ำตาลเดกซ์โตรส และควรจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดไม่น้อยกว่า 73%

องค์ประกอบโดยเฉลี่ยของกากน้ำตาล (Average composition) ด้านสารอาหารแสดงในตารางที่ 2.2, 2.3 และ 2.4 ที่แสดงถึงกากน้ำตาลผลพลอยได้จากอุตสาหกรรม องค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาลมีความแปรผันกว้าง โดยปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่างได้แก่ ชนิดของดินที่ปลูก อุณหภูมิของอากาศ ความชื้น ฤดูกาลการเพาะปลูก สายพันธุ์ กรรมวิธีการเพาะปลูก สภาพการเก็บรักษา ด้วยเหตุนี้จึงทำให้กากน้ำตาลมีความแตกต่างกันในปริมาณสารอาหาร กลิ่น สี ความหนืด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

บริกซ์ (Brix) โดยทั่วไปในทางการค้ากากน้ำตาลนิยมใช้เทอม Brix เป็นดัชนีแสดงค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) และ องค์ประกอบดังตารางที่ 2.2 และเป็นการแสดงค่าโดยประมาณขององค์ประกอบที่เป็นของแข็งทั้งหมด (Total solid content) เทอม Brix มีที่มาจากสารละลายน้ำตาลซูโครส (Sucrose) บริสุทธิ์ โดยเทอม Brix จะแสดงปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสในสารละลายในฐานน้ำหนัก (Weight basis) อย่างไรก็ตามนอกจากซูโครสแล้ว กากน้ำตาลยังประกอบด้วยกลูโคส (Glucose), ฟรุคโตส (Fructose), ราฟฟิโนส (Raffinose), นูเมอรอส (Numerous) และสารประกอบอินทรีย์อื่นที่ไม่ใช่น้ำตาล ดังนั้นค่า Brix ของกากน้ำตาลจึงมีความแตกต่างจากปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่จริง หรือ ปริมาณของแข็งทั้งหมด

น้ำตาล (Sugars) กากน้ำตาลทุกชนิดประกอบด้วยน้ำตาลหรือสารประกอบคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นสารอาหารหลักที่ได้จากกากน้ำตาล โรงหีบอ้อยแต่ละแห่งมีความสามารถในการสกัดน้ำตาลซูโครสได้ต่างกัน ด้วยเหตุนี้ทำให้ปริมาณน้ำตาลในกากน้ำตาลที่ได้จากแหล่งต่างๆ จะเป็นไปตามเทคโนโลยีที่ใช้ ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงการออกแบบเครื่องเซนตริฟิวจ์ (Centrifuges) ที่ใช้ในการแยกน้ำตาลออกจากน้ำหวานเข้มข้น (Syrup) ซึ่งเป็นความก้าวหน้าที่มีความสำคัญต่อโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลอ้อย ระบบการเซนตริฟิวจ์แบบต่อเนื่อง (Continuous centrifugation) ทำให้สามารถสกัดน้ำตาลได้มากขึ้นและเหลือปริมาณน้ำตาลในกากน้ำตาลน้อยลง ในกระบวนการสกัดน้ำตาลจากหัวบีทด้วย Steffen process มีความสำคัญอย่างมากและใช้กันอย่างกว้างขวางในการลดปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในกากน้ำตาลหัวบีท และการใช้เรซินแลกเปลี่ยนประจุ (Ion exchange resins) ทำให้สกัดน้ำตาลจากบีทได้มากขึ้นและลดปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในกากน้ำตาล และวิธีการสกัดน้ำตาลของ Finnsugar-Pfeifer และ Langen process เป็นวิธีแยกน้ำตาลออกมาจากกากน้ำตาลที่สำคัญที่ใช้กันอยู่ในยุโรป

โปรตีน (Protein) กากน้ำตาลแต่ละชนิดจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบและปริมาณแตกต่างกัน นอกจากนั้นยังมีสารประกอบไนโตรเจนซึ่งอาจจะไม่ใช่องค์ประกอบของโปรตีน ได้แก่ เอไมด์ (Amides) อัลบูมินอยด์ (Albuminoids) กรดอะมิโน (Amino acid) และสารประกอบอย่างง่ายอื่นๆ ที่มีไนโตรเจน ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพและปริมาณของโปรตีนในกากน้ำตาล ซึ่งมักจะพบว่าโปรตีนในกากน้ำตาลเป็นสารอาหารที่มีจำกัดโดยเป็นผลมาจากชนิดของดินที่ใช้ปลูกอ้อย พบว่าสารอาหารในกากน้ำตาลที่ได้จากอ้อยที่ปลูกจากดินอินทรีย์ (Organic soil) มีโปรตีนอยู่ 7-10% แต่ในกากน้ำตาลที่ได้จากอ้อยที่ปลูกจากดินแร่ (Mineral soil) มีโปรตีนอยู่ 3%

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบและปริมาณสารอาหารในกากน้ำตาลชนิดต่างๆ

Item	Cane	Beet	Citrus	Extract	Starch
Brix	79.5	79.5	71.0	65.0	78.0
Total Solid (%)	75.0	77.0	65.0	65.0	73.0
Specific Gravity	1.41	0.41	1.36	1.32	1.40
Total Sugars (%)	46.0	48.0	45.0	55.0	50.0
Crude Protein (%)	3.0	6.0	4.0	0.5	0.4
Nitrogen Free Extract (%)	63.0	62.0	55.0	55.0	65.0
Total Fat (%)	0.0	0.0	0.2	0.5	0.0
Total Fiber (%)	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
Ash (%)	8.1	8.7	6.0	5.0	6.0
Calcium, (%)	0.8	0.2	1.3	0.8	0.1
Phosphorus, (%)	0.08	0.03	0.15	0.05	0.2
Potassium, (%)	2.4	4.7	0.1	0.04	0.02
Sodium, (%)	0.2	1.0	0.3	---	2.5
Chlorine, (%)	1.4	0.9	0.07	---	3.0
Sulfur, (%)	0.5	0.5	0.17	---	0.05
Energy (kcal/kg)					
Swine (ME)	2343	2320	2264	2231	---
Poultry (ME _N)	1962	1962	---	---	---

แร่ธาตุ (Minerals) โดยทั่วไปองค์ประกอบที่เป็นแร่ธาตุในกากน้ำตาลจะไม่นิยมนำมาพิจารณา เมื่อนำกากน้ำตาลมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสำหรับสุกรและสัตว์ปีก โดยข้อมูลการขาดแร่ธาตุในสัตว์รายงานว่าในกากน้ำตาลชนิดต่างๆ มีปริมาณแร่ธาตุหลายชนิดและมีปริมาณมาก อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งอาหารอื่นที่ให้พลังงาน เช่น เปรียบเทียบระหว่างเมล็ดธัญพืชกับกากน้ำตาล พบว่ากากน้ำตาลอ้อยและ Citrus มีปริมาณแคลเซียมสูงแต่มีฟอสฟอรัสต่ำ โดยกากน้ำตาลอ้อยและกากน้ำตาลบีทมีที่ใช้กันทั่วไปมีโปแตสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม คลอรีน และซัลเฟอร์ในปริมาณสูง แต่เมื่อเปรียบเทียบกันพบว่ากากน้ำตาลอ้อยมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส และโซเดียม สูงกว่ากากน้ำตาลบีท

แร่ธาตุรอง (Trace mineral) ในกากน้ำตาลอ้อย, บีท และ Citrus มีองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 2.3 ในกากน้ำตาลอ้อยมีปริมาณทองแดง เหล็ก และแมงกานีสในปริมาณสูงกว่ากากน้ำตาลบีท อย่างไรก็ตามปริมาณแร่ธาตุรองในกากน้ำตาลมีความผันผวนสูงมาก

ตารางที่ 2.3 ปริมาณแร่ธาตุรองในกากน้ำตาลชนิดต่างๆ (Curtin, 1983)

Mineral	Cane	Beet	Citrus
Copper, mg/kg	36	13	30
Iron, mg/kg	249	117	400
Manganese, mg/kg	35	10	20
Zinc, mg/kg	13	40	---

วิตามิน (Vitamins) ปริมาณวิตามินบี ที่พบโดยประมาณ (Approximate) ในกากน้ำตาลอ้อย กากน้ำตาลบีทและ citrus ดังแสดงในตารางที่ 2.4 โดยกระบวนการที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลส่งผลให้พบวิตามินบีในกากน้ำตาลในปริมาณสูงซึ่งเป็นวิตามินที่มีความเสถียรในอุณหภูมิสูงและมีสถานะเป็นค่า่ง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากากน้ำตาลมี Inositol ประมาณ 6,000 mg/kg, Niacin ประมาณ 800 mg/kg, และ Pyridoxine ประมาณ 5 mg/kg เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เมล็ดธัญพืชพบว่าในกากน้ำตาลอ้อยและกากน้ำตาลบีทมีปริมาณ Biotin สูง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณวิตามินในกากน้ำตาลมีแนวโน้มที่มีความผันผวนในช่วงกว้าง โดยความผันผวนนั้นมีความสัมพันธ์กับการมีวิตามินปริมาณน้อยในกากน้ำตาลและมีแนวโน้มที่จะทำให้กากน้ำตาลมีคุณค่าทางอาหารต่ำอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 2.4 ปริมาณวิตามินในกากน้ำตาลอ้อย (Curtin, 1983)

Mineral	Cane	Beet	Citrus
Biotin, mg/kg	0.36	0.46	---
Choline, mg/kg	745.0	716.0	---
Pantothenic Acid, mg/kg	21.0	7.0	10.0
Riboflavin, mg/kg	1.8	1.4	11.0
Thiamine, mg/kg	0.9	---	---

Ergun, M. and Mutlu, S.F (2000) ศึกษาการใช้เทคนิคทางสถิติในการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลบีทโดยเชื้อ *S. cerevisiae* เพื่อหาผลของความเข้มข้นของน้ำตาล ค่า pH และความเข้มข้นของ Ammonium dihydrogen phosphate ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) การทดลองแบบ 2^3 -factorial ด้วย Repeated shake flask cultures จากการทดลองได้เอทานอลสูงสุด $1.06 \text{ g dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$ เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาล pH และความเข้มข้นของ $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ เท่ากับ 1.6 g dm^{-3} , 4.51 , 0.72 g dm^{-3} ตามลำดับ ตลอดจนการทดลองใช้กากน้ำตาลบีทจาก Ankara Sugar company ในประเทศตุรกี สภาวะการหมักแบบไร้อากาศ เตรียมโดยกากน้ำตาล 52% เจือจางให้น้ำตาลเข้มข้น 5.0 g dm^{-3} และมี $2.0 \text{ g dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ และ 0.03 mol dm^{-3} trisodium citrate dehydrate และ ปรับ pH ด้วยสารละลายเข้มข้น H_2SO_4