

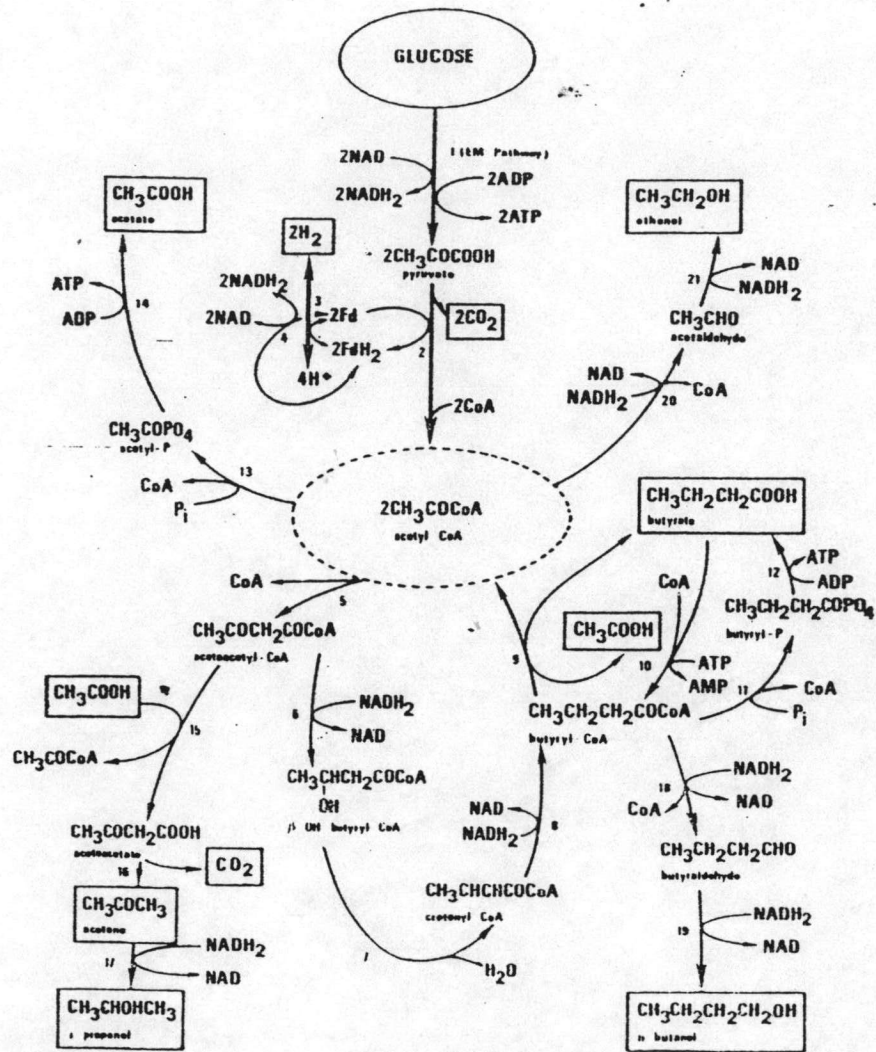
บทที่ 2



หลักการ

กลไกปฏิกิริยาของกระบวนการหมักของ บิวไทริก-แอซิด แบคทีเรีย (butyric acid bacteria)

ในหัวข้อนี้ จะอธิบายเกี่ยวกับกระบวนการหมักของ บิวไทริก-แอซิด แบคทีเรีย ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกาศ (Anaerobic Fermentation) (2) โดยใช้สารตั้งต้นจำพวกน้ำตาลและให้ผลิตภัณฑ์เป็น ตัวทำละลาย กรดคาร์บอกซิลิก และแก๊สไฮโดรเจน โดยผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่จะเป็นตัวทำละลาย เช่น บิวทานอล เป็นต้น กลไกปฏิกิริยาสามารถแสดงได้จากลำดับขั้นของปฏิกิริยาชีวเคมีของ บิวไทริก-แอซิด แบคทีเรีย ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงลำดับขั้นปฏิกิริยาชีวเคมีของกระบวนการหมักกลูโคสโดย บิวโทริก-แอซิด แบคทีเรีย ซึ่งมีระบบ

เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยหมายเลขในรูปแทนระบบเอนไซม์ดังนี้ (1) phosphoenolpyruvate

phosphotransferase system and the Embden-Meyerhof pathway , (2) pyruvate-ferredoxin oxidoreductase ,

(3) hydrogenase , (4) NADH-ferredoxin oxidoreductase , (5) acetyl-CoA-acetyl transfer , (6)

L(+)-β-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase , (7) L-3-hydroxyacyl-CoA hydrolase , (8) butyryl-CoA

dehydrogenase , (9) CoA transferase , (10) butyryl-CoA synthetase (ATP/AMP) , (11) phosphotransbutyrylase

, (12) butyrate kinase , (13) phosphotransacetylase , (14) acetate kinase , (15) CoA transferase , (16)

acetoacetate decarboxylase , (17) isopropanol dehydrogenase , (18) butyraldehyde dehydrogenase , (19)

butanol dehydrogenase , (20) acetaldehyde dehydrogenase , and (21) ethanol dehydrogenase (2)

จากรูปที่ 1 สารประกอบที่อยู่ในบล็อก คือผลิตภัณฑ์ที่สามารถถูกผลิตขึ้นมาได้ มีข้อสังเกตว่า

ปฏิกิริยาที่แสดงในรูปที่ 1 ไม่จำเป็นต้องเกิดขึ้นในทุกสายพันธุ์ของ บิวโทริก-แอซิด แบคทีเรีย ตัวอย่างเช่น

บิวโทริก-แอซิด แบคทีเรีย สายพันธุ์ *Clostridium acetobutylicum* จะไม่มีกระบวนการ

ไอโซโพรพานอลดีไฮโดรจีเนส (Isopropanoldehydrogenase) (ปฏิกิริยา 17 ในรูปที่ 1) ทำให้ได้อะซีโตนเป็น

ผลิตภัณฑ์สุดท้าย (3,4) แทนที่จะเป็น ไอโซโพรพานอล (Isopropanol)

สมการสำหรับการประมาณค่าของตัวแปรที่วัดไม่ได้

จากกลไกของปฏิกิริยาชีวเคมีของบิวโทริก-แอซิด แบคทีเรีย ที่แสดงไว้ในรูปที่ 1 นั้น ในปี 1984

Papoutsakis (2) ได้พัฒนาสมการการหมักขึ้น ซึ่งเป็นสมการที่ใช้ประมาณค่าของตัวแปรของกระบวนการหมัก

ที่ไม่สามารถวัดได้โดยตรง เช่น ปริมาณ ATP ที่ถูกผลิตขึ้นและที่สูญเสียไป ปริมาณผลได้ของชีวมวล (Biomass

yield) ปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสในระหว่างปฏิกิริยา เป็นต้น ในหัวข้อนี้จะกล่าวถึงขั้นตอนการพัฒนา

ของ Papoutsakis พอสั่งเขป ดังนี้

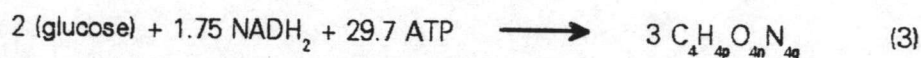
กำหนดให้ $C_4H_{4p}O_{4n}N_{4q}$ แทนธาตุองค์ประกอบของชีวมวล เนื่องจากความรู้เกี่ยวกับ

ธาตุองค์ประกอบนี้มีอยู่น้อย และเพื่อการใช้งานได้อย่างกว้างขวางจะใช้ข้อกำหนด ซึ่งเป็นที่ยอมรับได้ 2 ข้อ
 ที่ได้จากการศึกษาองค์ประกอบของชีวมวลของจุลินทรีย์ใหญ่ๆหลายชนิด ข้อกำหนดเหล่านี้คือ เศษส่วนมวล
 ของคาร์บอนในชีวมวล (σ_b) และ ดักรีดักแทนของชีวมวล (γ_b) ซึ่งมีความสัมพันธ์ที่แน่นอนด้วย
 สัมประสิทธิ์ของการแปรผัน 5% และ 4% ตามลำดับ กล่าวคือ

$$\sigma_b = 0.462 \pm 0.023 \tag{1}$$

$$\gamma_b = 4 + p - 2n - 3q = 4.291 \pm 0.172 \tag{2}$$

ปริมาณ ATP ที่ต้องการในการสังเคราะห์ชีวมวลสามารถประมาณหาได้จาก Y_{ATP} ที่เหมาะสม Y_{ATP} นิยามด้วย
 ปริมาณของชีวมวลแห้งที่ถูกผลิตขึ้นในหน่วยกรัม ต่อโมล ATP ที่ถูกใช้ไปในชีวมวลสังเคราะห์ ถึงแม้ว่าค่า Y_{ATP}
 สูงสุดสำหรับการเติบโตในกรณีของกลูโคสคำนวณได้เท่ากับ 28.8 แต่ Y_{ATP} ที่ยอมรับสำหรับแบคทีเรีย
 ส่วนใหญ่เท่ากับ 10.5 กรัม/โมล จากค่า Y_{ATP} และสมการ (1) จะคำนวณได้ว่า ในการสังเคราะห์ชีวมวลต้องการ
 29.7 โมลของ ATP สำหรับทุกๆ 2 โมลของกลูโคสที่ถูกรวมกันเข้าเป็นชีวมวล ต่อจากนั้นใช้สมการ (2) จะพบว่า
 ต้องการ 1.75 โมลของ $NADH_2$ สำหรับทุก 2 โมลของกลูโคสที่ถูกรวมกันเข้าเป็นชีวมวล เพื่อนำกลูโคสไปสู่
 ระดับออกซิเดชัน (Oxidation level) ของ $C_4H_{4p}O_{4n}N_{4q}$ ดังนั้นการสังเคราะห์ชีวมวลจากกลูโคสสามารถแสดงออก
 ในรูปโดยรวมดังนี้



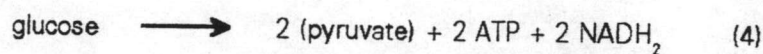
เพื่อความสะดวกและเพื่อให้อยู่ในรูปทั่วไปจึงไม่แสดงแหล่งให้ไฮโดรเจน ไว้ในด้านซ้ายมือของสมการ (3) และเพื่อความสะดวกจะไม่สนใจรูปออกซิไดส์ของ NADH_2 และ ADP ในสมการ (3) เช่นกัน และยังไม่ทำสมดุลอะตอมของออกซิเจนและไฮโดรเจนในขณะนี้

การเบี่ยงเบนของค่าที่แท้จริงของ Y_{ATP} และสูตรทางเคมีของเซลล์ จะมีผลกระทบเพียงเล็กน้อย

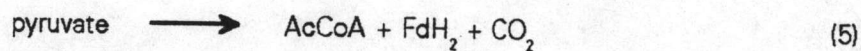
ต่อการคำนวณในขั้นสุดท้ายในเรื่องผลผลิตของตัวทำละลาย กรดคาร์บอกซิลิก และไฮโดรเจน เนื่องจากปริมาณสารตั้งต้นคาร์บอนที่เปลี่ยนไปเป็นชีวมวลในกระบวนการหมัก จริงๆมีปริมาณน้อยกว่า 10% และจะให้เห็นหลังจากนี้ว่า กระบวนการหมักนี้ไม่ถูกจำกัดด้วยปริมาณ ATP ที่ใช้

ต่อไปจะเขียนสมการเพื่อแสดงแทนแต่ละปฏิกิริยาที่แสดงในรูปที่ 1 จนถึงการผลิตผลิตภัณฑ์

สุดท้ายของกระบวนการหมัก ขอย้ำอีกครั้ง สมการเหล่านี้เป็นเพียงการทำสมดุลสำหรับคาร์บอน, ATP และพลังงานรีดิวซ์ (NADH_2 , FdH_2) โดยปราศจากรูปของโคเอนไซม์เอ (CoA) และรูปออกซิไดส์ของ NADH_2 และ FdH_2 ซึ่งจะไม่แสดงไว้ในสมการเหล่านี้ ฉะนั้น สำหรับการผลิต ไพรูเวทจากกลูโคส โดยระบบฟอสโฟอินอลไพรูเวท ฟอสโฟทรานสเฟอเรส (Phosphoenolpyruvate phosphotransferase system) และเส้นทางเอ็มเดน-เมเยอร์ฮอฟ (Embden-Meyerhof pathway) (ปฏิกิริยา 1 ในรูปที่ 1) เขียนได้เป็น



สำหรับการผลิตอะซิติล-โคเอ (acetyl-CoA) (AcCoA) จาก ไพรูเวท (ปฏิกิริยา 2 ในรูปที่ 1) เขียนได้เป็น



สำหรับการย้อนกลับได้ของการผลิต H_2 ผ่าน FdH_2 (ปฏิกิริยา 3 ในรูปที่ 1) เขียนได้เป็น

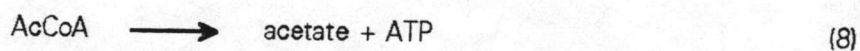


การรีดักชัน NAD โดย FdH_2 ซึ่งเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับได้ (ปฏิกิริยา 4 ในรูปที่ 1) สามารถแสดง ได้โดย

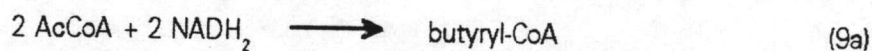


การผลิตอะซิเตต (acetate) จากอะซิติล-โคเอ ผ่านฟอสโฟทรานอะซิไทเลส (Phosphotransacetylase) และ

อะซิเตต ไคเนส (Acetate kinase) (ปฏิกิริยา 13 และ 14 ในรูปที่ 1) สามารถแสดงได้โดย

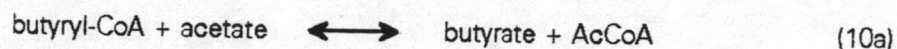


การเกิดบิวไทริล-โคเอ (butyryl-CoA) ผ่านสายของปฏิกิริยา (5)-(8) ในรูปที่ 1 แสดงได้โดย

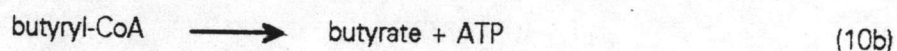


ปฏิกิริยาย้อนกลับ(ปฏิกิริยา 9 ในรูปที่ 1) สำหรับการผลิตบิวไทเรท (butyrate) จากบิวไทริล-โคเอ และ อะซิเตต

แสดงได้โดย

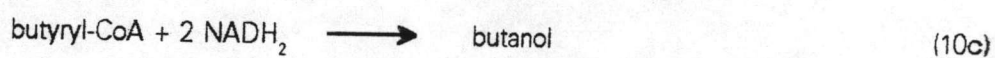


ถ้าบิวไทเรทผลิตจากกระบวนการบิวไทริล-โคเอ ผ่านฟอสโฟทรานบิวไทริเลส (Phosphotransbutyrylase) และ บิวไทเรท ไคเนส (Butyrate kinase) (ปฏิกิริยา 11 และ 12 ใน รูปที่ 1) เขียนได้เป็น

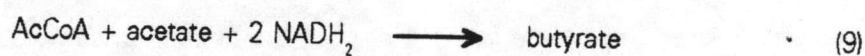


ซึ่งอยู่ในรูปที่คล้ายกับสมการ (8) และสมมูลกับสมการ (10a)

บิวทานอล ผลิตจากบิวไทริล-โคเอ โดยการเร่งปฏิกิริยาของดีไฮโดรจีเนส (Dehydrogenase) 2 ตัว (ปฏิกิริยา 18 และ 19 ในรูปที่ 1) สามารถแสดงได้โดย



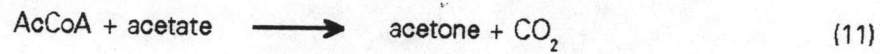
ในมุมมองของปฏิกิริยาแบบย้อนกลับ ที่แสดงโดยสมการ (10a) ทำให้สามารถกำจัดบิวไทริล-โคเอ ออกจากสมการ (9a) , (10a), และ (10c) ทำให้ได้



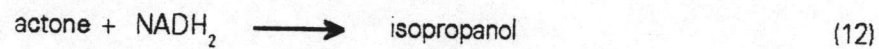
และ



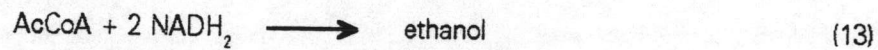
อะซีโตน ที่ถูกผลิตผ่านปฏิกิริยา (5),(15), และ (16) ในรูปที่ 1 สามารถแสดงได้โดย



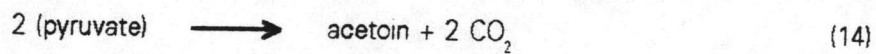
การผลิต ไอโซโพรพานอล จาก อะซีโตน (ปฏิกิริยา 17 ในรูปที่ 1) แสดงได้โดย



การผลิต เอทานอล จากอะซีทิล-โคเอ (ปฏิกิริยา 20 และ 21 ในรูปที่ 1) แสดงได้โดย



การผลิตอะซีโตอิน ผ่านอะซีโตแลคเตต (Acetolactate) สรุปได้โดยปฏิกิริยา

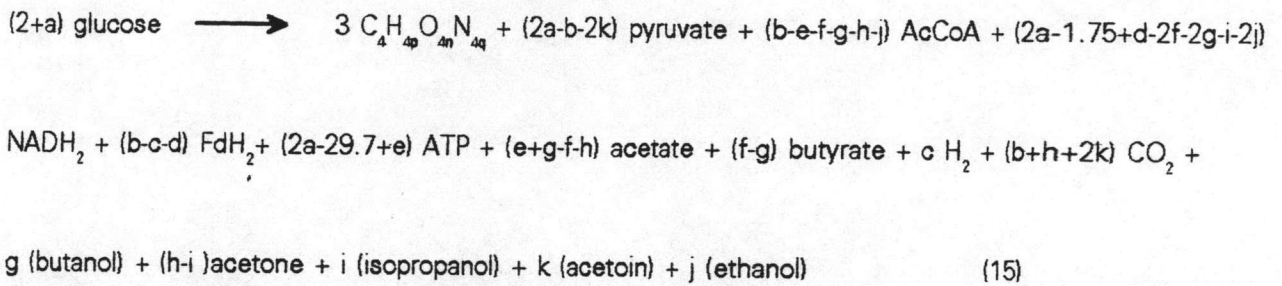


หรือผ่านไดอะซีทิล (diacetyl) ซึ่งแสดงได้โดย



สมการ (4.14) และ (4.14a) สมมูลกัน จะใช้สมการ (14)

จากนั้นคุณสมการ (3)-(14) ด้วย 1,a,b,c,d,e,f,g,h,i,j, และ k ตามลำดับ แล้วบวกเข้าด้วยกัน (2) จะได้

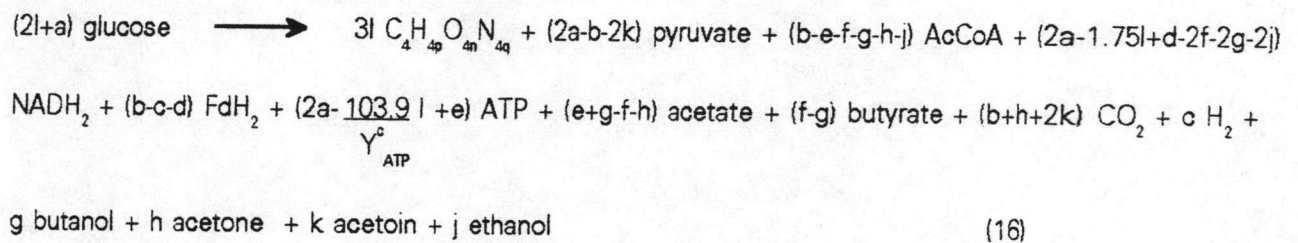


สมการ (15) เป็นรูปทั่วไปของ บิวโทริก-แอซิด แบคทีเรีย สำหรับงานวิจัยนี้ใช้แบคทีเรียใน สายพันธุ์

Clostridium acetobutylicum ซึ่งจะไม่มีปฏิกิริยา 17 ในรูปที่ 1 เกิดขึ้น ดังนั้นสามารถ พัฒนาสมการสำหรับ

Clostridium acetobutylicum ในแนวเดียวกับ สมการ (15) โดยคูณด้วย a - h และ j - l และเปลี่ยนค่า

สัมประสิทธิ์ของ ATP ในสมการ (15) จาก "29.7" เป็น " $103.9 Y_{ATP}^c$ " (3) จะได้



เมื่อ

$C_4 H_{4p} O_{4n} N_{4q}$: มวลจุลินทรีย์แห้ง (Dry microbial mass)

Y_{ATP}^c : ผลได้ ATP ที่เกิดขึ้นจริงในกระบวนการหมัก

สัมประสิทธิ์ (a-h , j-l) : ปริมาณสัมพัทธ์ของปฏิกิริยา

103.9 : น้ำหนักโมเลกุลของชีวมวล

จากสมการ (16) นี้สามารถพัฒนาสมการอื่นๆต่อไป (3) เพื่อใช้ทำนายค่าตัวแปรดังต่อไปนี้

- ความเข้มข้นของกลูโคสที่เหลือในถังหมัก ณ เวลาต่างๆ : C_{Glu}
- ความเข้มข้นของปริมาณ ATP ที่ถูกผลิตขึ้นทั้งหมด : ATP_{tot}
- ความเข้มข้นของปริมาณ ATP ที่เกินจากปริมาณที่ต้องการใช้ : ATP_{ex}
- ผลได้ของ ATP (ATP yield) : Y_{ATP}
- ผลได้ของชีวมวล (Biomass yield) : Y_s
- ความเข้มข้นของ NAD ที่ถูกรีดิวซ์โดย FdH_2 : NFF
- และ ความเข้มข้นของ H_2 และ CO_2 ที่ถูกผลิตขึ้น : C_{H_2} , C_{CO_2} ตามลำดับ

ได้โดยอาศัยสมการที่พัฒนาต่อจากสมการ (16) ดังต่อไปนี้

เนื่องจากไม่มีการสะสมของ ไพรูเวท อะซีทิล-โคเอ $NADH_2$ และ FdH_2 ดังนั้น สัมประสิทธิ์ของสาร

เหล่านี้ในสมการ (16) จะเท่ากับ ศูนย์ จะได้

$$2a-b-2k = 0 \quad (17)$$

$$b-e-f-g-h-j = 0 \quad (18)$$

$$2a-1.75l+d-2f-2g-2j = 0 \quad (19)$$

$$b-c-d = 0 \quad (20)$$

จากการวัดค่าความทึบของแสง ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) ได้

$$C_b = \frac{OD_{600}}{e L(MW)_b} \quad (21)$$

เมื่อ

C_b : ความเข้มข้นของชีวมวล ($C_4H_{4n}O_{4p}N_{4q}$)

ϵ : สัมประสิทธิ์เอ็กซ์ทิงชัน (5.0 L/g.cm) สำหรับ *Clostridium acetobutylicum*

L : ความยาวของเซลล์ (1 ซม.)

$(MW)_b$: น้ำหนักโมเลกุลของชีวมวล บนฐาน 4 คาร์บอนอะตอมต่อโมล และเศษส่วนมวลของ

คาร์บอน เท่ากับ 0.462 ดังนั้น $(MW)_b = 103.9$ กรัมต่อโมล

และจากค่าความเข้มข้นของ เอทานอล (C_{Et}) อะซีโตน (C_{Aco}) กรดอะซีติก (C_{Aca}) บิวทานอล

(C_{Bu}) อะซีโตน (C_{Aci}) และ กรดบิวไทริก (C_{Bt}) ที่ได้จากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแบบออนไลน์ นำค่าที่ได้

แทนในสมการต่อไปนี้

$$3l = C_b \quad (22)$$

$$j = C_{Et} \quad (23)$$

$$h = C_{Ace} \quad (24)$$

$$e+g-f-h = C_{Ace} \quad (25)$$

$$g = C_{Bl} \quad (26)$$

$$k = C_{Aci} \quad (27)$$

$$f-g = C_{Bt} \quad (28)$$

ทำการแก้สมการ (17)-(20) และ (22)-(28) โดยวิธี สแตนด์ดาร์ดเกาส์อีลิมีเนชัน (Standard Gauss elimination)

จะทำให้ทราบค่าของ สัมประสิทธิ์ a-h และ j-l ทำให้สามารถหาค่าตัวแปรต่างๆที่ได้กล่าวไว้ ได้จากสมการ

ดังต่อไปนี้

$$C_{Glu} = C_{Glu,in} - (2l + a) \quad (29)$$

$$ATP_{bt}^* = 2a + e \quad (30)$$

$$ATP_{ox}^* = 2a + e - 103.9 \quad (31)$$

$$Y_{ATP} = \frac{C_b (MW)_b}{ATP_{bt}^*} Y_{ATP}^c \quad (32)$$

$$Y_s = \frac{C_b}{2l+a} (MW)_b \quad (33)$$

$$NfF' = d \quad (34)$$

$$C_{Hy} = c \quad (35)$$

$$C_{CO_2} = b + h + 2k \quad (36)$$

เมื่อ

$C_{Glu.in}$: ความเข้มข้นของกลูโคสตอนเริ่มต้น

จากสมการที่ได้จะเห็นว่าสามารถใช้สมการ (29)-(34) เพื่อหาค่าของตัวแปรของกระบวนการหมักที่ไม่สามารถวัดได้ (ตัวแปรด้านซ้ายมือของสมการ) โดยที่ด้านขวามือของทุกสมการจะเป็นพารามิเตอร์ที่ทราบค่าหมดแล้วจากการคำนวณในขั้นตอนต้นๆ สำหรับสมการ (35) และ (36) แม้ว่าด้านซ้ายมือของสมการจะเป็นตัวแปรที่สามารถวัดได้โดยการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีก็ตาม แต่ก็สามารถใช้สมการเพื่อคำนวณหาได้เช่นกัน

จากสมการต่างๆที่แสดงไว้นั้น สมการ (17)-(36) เป็นสมการที่ถูกนำไปใส่ไว้ในโปรแกรมที่ใช้ในการประมาณค่าของตัวแปรของกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบการติดตามพฤติกรรมของกระบวนการหมักแบบออนไลน์ ที่จะนำมาใช้งาน

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับกระบวนการหมักอะซิโตน-บิวทานอล

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (Mathematical model) ที่ใช้ในการทำนายการเปลี่ยนแปลงของ

ตัวแปรสถานะของกระบวนการหมัก ณ เวลาต่าง ๆ นั้น จะอาศัยสมการทางคณิตศาสตร์ของ Votruba , Volesky

และ Yerushalmi (4) ตัวแปรสถานะที่ถูกทำนายในงานวิจัยนี้ได้แก่ ความเข้มข้นของชีวมวล (X)

ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (S) ความเข้มข้นของกรดบิวไทริก (BA) ความเข้มข้นของบิวทานอล (B)

ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (AA) ความเข้มข้นของอะซิโตน (A) ความเข้มข้นของเอทานอล (E)

ปริมาณของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และ ปริมาณของแก๊สไฮโดรเจน (H_2)

Votruba และคณะ ได้พัฒนาสมการโดยเริ่มจากสมการที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง อัตราการเติบโต

จำเพาะ (Specific growth rate) (μ) กับความเข้มข้นของสารที่อยู่ในเซลล์ (เช่น RNA) (4) แสดงได้ดังนี้

$$\mu = \text{const}(\text{RNA} - \text{RNA}_{\min}) g(S) \quad (37)$$

เมื่อ

RNA_{\min} : ความเข้มข้นของ RNA ในเซลล์ ณ $\mu = 0$

$g(S)$: ฟังก์ชันตัวอย่าง ที่ขึ้นกับสภาวะแวดล้อม

สำหรับกระบวนการหมักของอะซีโตน-บิวทานอล ค่า $g(S) = 1$

นอกจากสมการ (37) นี้แล้ว ต้องอาศัยสมการสมดุลมวลสารเชิงพลวัต (Dynamic mass balance)

สำหรับ RNA เสริมเข้ามาด้วย และเมื่อพิจารณาสำหรับกระบวนการหมัก อะซีโตน-บิวทานอล จะพบว่า

อัตราการเติบโตของการเพาะเลี้ยงเชื้อ (Culture growth rate) เป็นสัดส่วนโดยตรงกับ ความเข้มข้นของ

สารตั้งต้น คุณด้วยเทอมที่แสดงการยับยั้งการเติบโตของการเพาะเลี้ยงเชื้อ จากผลผลิตของบิวทานอล

ดังนั้นสมการดังกล่าวแสดงได้ดังนี้

$$\frac{d(\text{RNA } X)}{dt} = k_1 S \frac{K_1}{K_1 + B} (\text{RNA } X) \quad (38)$$

Votruba และคณะ ได้เสนอตัวแปร y ซึ่งเป็นตัวแปรไร้มิติของความเข้มข้นของ RNA (Dimensionless

concentration of RNA) ซึ่งกำหนดให้

$$y = \frac{\text{RNA}}{\text{RNA}_{\min}} \quad (39)$$

ทำให้สมการ (37) สามารถเขียนได้เป็น

$$\mu = ay - b \quad (40)$$

Votruba และคณะ อ้างถึงการศึกษาของ Harder และ Roels (4) ซึ่งได้แสดงไว้ว่า " ค่าสัมประสิทธิ์ a, b

มีค่าคงที่สำหรับแบคทีเรียส่วนใหญ่ " ดังนั้น พารามิเตอร์ λ สามารถกำหนด ได้ว่า

$$\lambda = \text{const} \frac{g(S)}{\text{RNA}_{\min}} = 0.56 \quad (41)$$

โดยค่า λ นี้เป็นคุณลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียแต่ละชนิด

ดังนั้น สามารถแสดงสมการทางคณิตศาสตร์ที่แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Clostridium*

acetobutylicum ในเทอมไร้มิติได้ดังนี้

$$\frac{d(yX)}{dt} = \mu (S,B)yX \quad (42)$$

เมื่อ

$\mu (S,B)$: เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละการเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะขึ้นกับปริมาณความเข้มข้น

ของสารตั้งต้นและความเข้มข้นของบิวทานอลที่เกิดขึ้น

สมการ (42) สามารถจัดรูปใหม่ได้เป็น

$$\frac{dy}{dt} = \mu (S,B)y - 0.56(y-1)y \quad (43)$$

โดยค่าเงื่อนไขเริ่มต้นสำหรับ $y(0)$ เป็นดังนี้

$y(0) = 1$ สำหรับ การ inoculum (Inoculum) ในช่วงสแตชันนารีเฟส (Stationary phase)

$y(0) > 1$ สำหรับ การ inoculum ในช่วง เอ็กซีโปเนนเชียลเฟส (Exponential phase)

$y(0) < 1$ สำหรับ การ inoculum ในช่วง ดีคลีนิงเฟส (Declining phase)

สำหรับฟังก์ชัน μ (S,B) สามารถพิสูจน์ได้จากการทดลอง โดยสำหรับกระบวนการหมัก

อะซีโตน-บิวทานอล ฟังก์ชัน μ (S,B) แสดงได้โดยสมการ (38)

สำหรับการแสดง สมการอนุพันธ์สมดุลมวลสาร (Differential mass balance) ของชีวมวล นั้น

พิจารณาจาก ปริมาณเซลล์ที่เสื่อมลง (Decay) และปริมาณเซลล์ไลซิส (Lysis) จะเป็นสัดส่วนผกผันกับ

ความเข้มข้นของบิวทานอลในถังหมัก

ฉะนั้น สมการของชีวมวลและสมการทางคณิตศาสตร์ที่แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อจะแสดงได้ดังนี้

$$\frac{dX}{dt} = \lambda (y-1)X - k_2XB \quad (44)$$

และ

$$\frac{dy}{dt} = \left[k_1 S \frac{K}{K_1+B} - \lambda (y-1) \right] y \quad (45)$$

สำหรับสมการที่แสดงอัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารต่างๆในถังหมัก ก็มีพื้นฐาน

จากกราฟระหว่าง อัตราจำเพาะ (Specific rate) ของสารที่สนใจกับ ความเข้มข้นของตัวแปรสถานะของ

กระบวนการหมักที่เป็นลักษณะเฉพาะของกระบวนการจลนพลศาสตร์ (Process kinetics)

Votrubá และคณะ ได้แสดงสมการทางคณิตศาสตร์ของสารต่างๆ ในกระบวนการหมักแบบ

ครั้งเดียว (Batch fermentation) (4) ได้ดังนี้

สำหรับสารตั้งต้น (น้ำตาล) แสดงได้โดย

$$\frac{dS}{dt} = -k_3 SX - k_4 \frac{S}{K_5 + S} X \quad (46)$$

สมการ (46) แสดงปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้โดยเซลล์สำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตผลิตภัณฑ์

สำหรับกรดบิวไทริก แสดงได้โดย

$$\frac{dBA}{dt} = k_5 S \frac{K_7}{K_7 + B} X - k_8 \frac{BA}{K_{BA} + BA} X \quad (47)$$

สำหรับสมการ (47) นิพจน์แรกทางด้านขวามือ แสดงถึงการผลิตกรดบิวไทริกจากน้ำตาล โดยพิจารณา

ถึงผลของการยับยั้งโดยบิวทานอลได้ด้วย สำหรับนิพจน์ที่สองแสดงถึงปริมาณการเปลี่ยนจากกรดบิวไทริก

ไปเป็นบิวทานอล

สำหรับบิวทานอล แสดงด้วย

$$\frac{dB}{dt} = k_7 SX - 0.841 \frac{dB}{dt} \quad (48)$$

สำหรับกรดอะซีติก แสดงได้โดย

$$\frac{dAA}{dt} = k_9 \frac{S}{K_5 + S} \frac{K_7}{K_7 + B} X - k_9 \frac{AA}{K_{AA} + AA} \frac{S}{K_5 + S} X \quad (49)$$

นิพจน์แรกทางด้านขวามือของสมการ (49) แสดงถึงการผลิตกรดอะซีติก ส่วนนิพจน์ที่สองแสดงถึง อัตราการ

เปลี่ยนของกรดอะซีติกไปเป็นอะซีโตน

สำหรับอะซีโตน แสดงด้วย

$$\frac{dA}{dt} = k_{10} \frac{S}{K_5 + S} X - 0.484 \frac{dAA}{dt} \quad (50)$$

สำหรับเอทานอล แสดงด้วย

$$\frac{dE}{dt} = k_{11} \frac{S}{K_5 + S} X \quad (51)$$

สำหรับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แสดงได้ดังนี้

$$\frac{dCO_2}{dt} = k_{12} \frac{S}{K_s + S} X \quad (52)$$

สำหรับแก๊สไฮโดรเจน แสดงโดย

$$\frac{dH_2}{dt} = k_{13} \frac{S}{K_s + S} X + k_{14} SX \quad (53)$$

สมการ (44)-(53) อยู่ในรูปของสมการอนุพันธ์เชิงเส้น (Ordinary differential equations)

ในที่นี้จะใช้วิธี 4th Runge-Kutta ในการแก้สมการ

สมการ (44)-(53) คือ สมการที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้