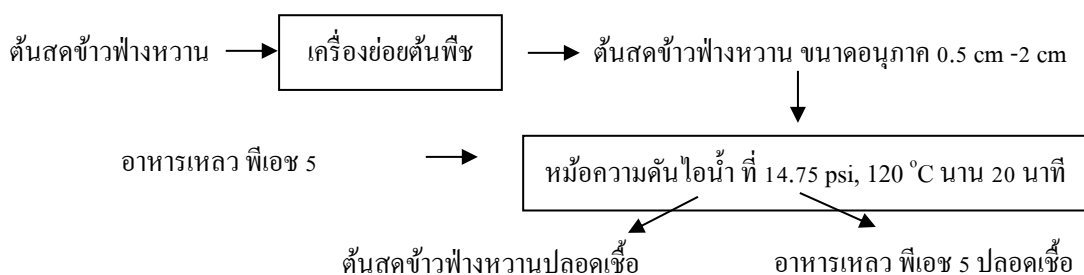


บทที่ 3

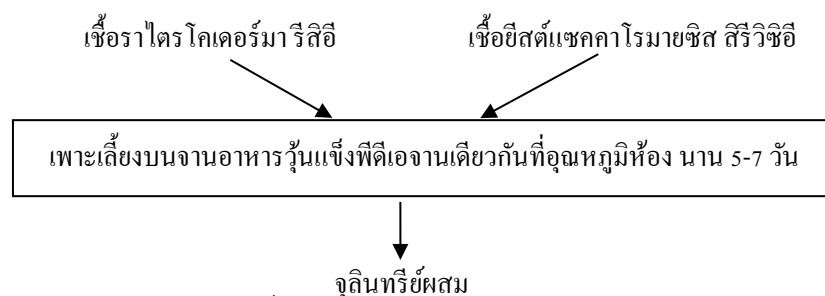
วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการวิจัย เรื่อง “การศึกษาเพื่อ พัฒนาเครื่องต้นแบบการผลิตผงเอนไซม์ผสม จากต้นสดข้าวฟ่างหวานสำหรับอุตสาหกรรมเอทานอล” ประกอบด้วยหัวข้อการวิจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

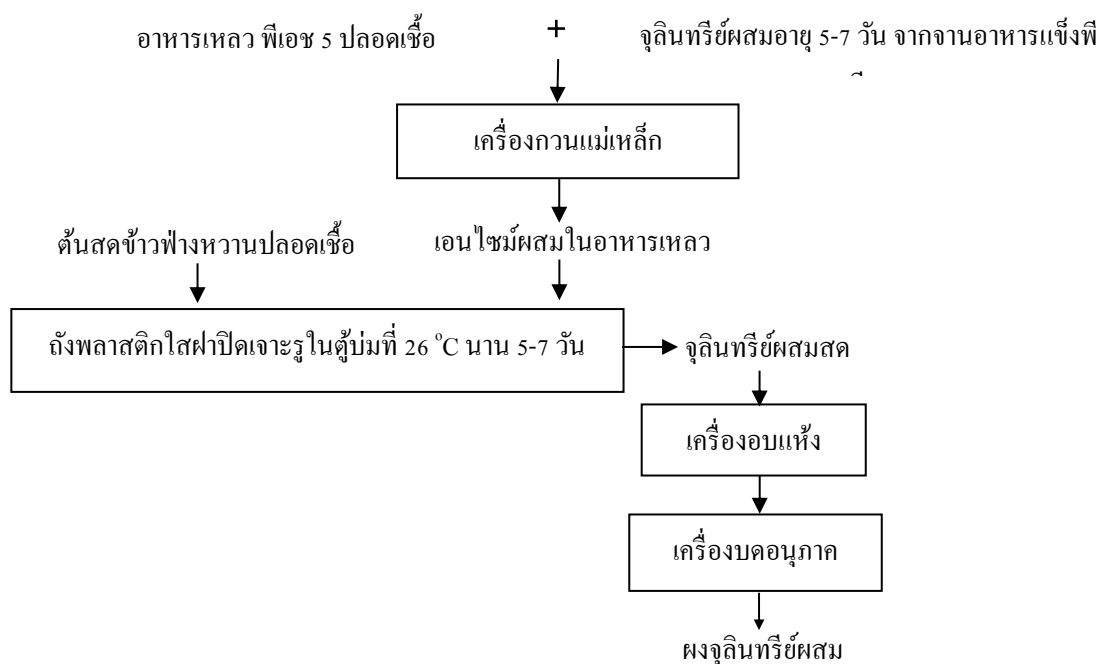
- ศึกษาองค์ประกอบของลำต้นข้าวฟ่างหวาน ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และ ลิกนิน และการกระจายขนาดอนุภาค
- การหาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยจุลินทรีย์ผสม ในอาหารเหลว พีเอช 5
- การหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยจุลินทรีย์ผสมในอาหารเหลวที่สภาวะเหมาะสม
- การผลิตผงจุลินทรีย์ผสมจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานหรือเรียกว่าเอนไซม์ผสม
- การหาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักกึ่งเหลวแบบกะในขั้นตอนเดียวจากลำต้นสด ข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมเพื่อผลิตเอทานอล
- กระบวนการหมักกึ่งเหลวแบบกึ่งกะหรือ Fed-batch เพื่อผลิตเอทานอลจากลำต้นสด ข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสม กระบวนการต่างๆ ในแต่ละขั้นตอน ดังรูปที่ 3.1



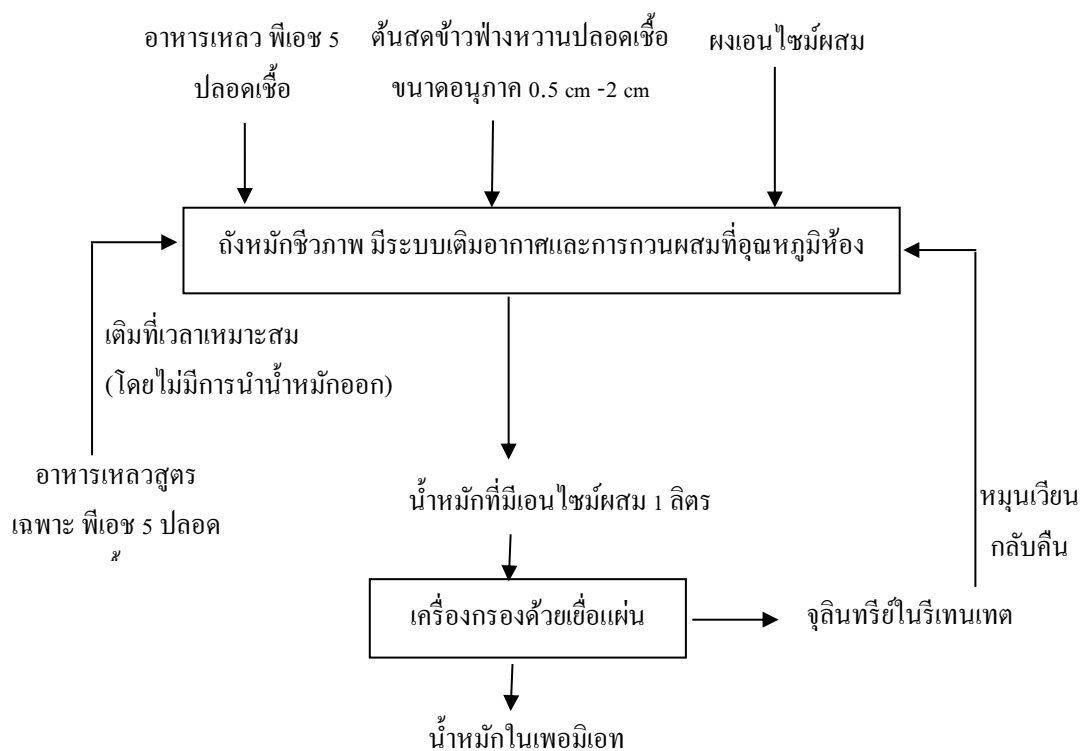
รูปที่ 3.1 แผนภาพการเตรียมวัตถุดิบ



รูปที่ 3.2 แผนภาพการเตรียมจุลินทรีย์ผสม



รูปที่ 3.3 แผนภาพการผลิตผงจุลินทรีย์ผสมจากการหมักแข็ง



รูปที่ 3.4 แผนภาพกระบวนการหมักเอทานอลจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสม

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

วัตถุดิบหรือวัสดุกลไกโนเซลลูโลสที่ใช้ในงานวิจัยคือ ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์พัฒนาและวิจัยการเกษตรสุพรรณบุรี ทำการลดขนาดวัตถุดิบให้มีขนาด 0.5-2.0 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นสับสเตรทหรือแหล่งคาร์บอน ดังรูปที่ 3.5 เก็บวัตถุดิบนี้ไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ 2-4 °C ก่อนนำไปใช้ทำการหมักต้องทำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานให้ปลอดเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 120 °C, 15 psig นาน 20 นาที ดังรูปที่ 3.6



รูปที่ 3.5 การย่อยลดขนาดลำต้นสดข้าวฟ่างหวานที่แหล่งปลูก



รูปที่ 3.6 ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการย่อยก่อนนำไปใช้ในการหมัก

สารเคมีที่ใช้คืออาหารเหลว พีเอช 5 มีส่วนประกอบดังตารางที่ 3.1 และรูปที่ 3.7

ตารางที่ 3.1 สูตรอาหารเหลวสำหรับการหมักแข็งและการหมักกึ่งเหลวของงานวิจัยนี้

สารประกอบ	อาหารเหลว
น้ำตาลมะพร้าว (กรัม)	30
CaHPO ₄ ·2H ₂ O (กรัม)	1
MgSO ₄ ·7H ₂ O (กรัม)	1
Urea (46 % (NH ₄) ₂ SO ₄ (กรัม)	8
Phosphate (NPK-0-52-34) (กรัม)	15
น้ำ (กรัม)	1000



รูปที่ 3.7 อาหารเหลว พีเอช 5 ที่ปลอดเชื้อ

3.2 วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติของลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

คุณสมบัติของลำต้นสดข้าวฟ่างหวานที่สำคัญสำหรับงานวิจัยนี้ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิ-เซลลูโลส และลิกนิน โดยการนำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนได้ความชื้นเฉลี่ยประมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก แล้วจึงนำไปเก็บในโถสุญญากาศก่อนนำไปทำการวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 วิธีมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบของลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

รายการ	มาตรฐาน	เอกสารอ้างอิง	ภาคผนวก
เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส	TAPPI 203 om-88	[33]	ก
ลิกนิน	TAPPI 222 om-88	[34]	ข

3.3 วิธีวัดความชื้นของลำต้นข้าวฟ่างหวานและผงจุลินทรีย์ผสม

การวัดคุณสมบัติด้านความชื้นของลำต้นสดข้าวฟ่างหวานก่อนการหมักแห้งและผงจุลินทรีย์ผสมโดยใช้เครื่องวัดความชื้นดังรูปที่ 3.8 ดังนี้ คือ

- วางจานแก้ว แล้วปิดฝา เครื่องจะแสดงน้ำหนักจานเปล่า กด tare
- ใช้ตัวอย่างประมาณ 0.5 ถึง 1 กรัม ใส่ลงในจาน เครื่องจะบันทึกน้ำหนักตัวอย่างไว้
- กดปุ่ม start เครื่องจะทำงานและบันทึกน้ำหนักที่เปลี่ยนไป ขณะที่เครื่องให้ความร้อนด้วยรังสีอินฟราเรดเครื่องจะคำนวณและแสดงผลเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการอบแห้ง
- บันทึกผลที่ได้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.8 เครื่องวัดความชื้น

3.4 วิธีการหาการกระจายขนาดอนุภาคของลำต้นข้าวฟ่างหวาน

วิธีการหาการกระจายขนาดอนุภาคของลำต้นข้าวฟ่างหวาน ทำโดยสับตัวอย่างลำต้นสดข้าวฟ่างหวานประมาณ 1 กิโลกรัม นำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 70°C จนกระทั่งได้น้ำหนักแห้งของลำต้นข้าวฟ่างหวานคงที่ จึงนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้น โดยมีวิธีการทดลอง ดังนี้

- ชั่งตะแกรงเปล่าด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง บันทึกน้ำหนักตะแกรงเปล่า จดเรียงลำดับตะแกรงให้รู้ตะแกรงเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่ไปหาเล็กจากบนลงล่าง ดังตารางที่ 3.3
- ชั่งลำต้นข้าวฟ่างหวานแห้ง 200 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ใส่ลงในตะแกรงบนสุด ดังรูปที่ 3.9
- เปิดเครื่องเขย่า ปรับปุ่มความเร็วรอบที่ขีดกลาง ตั้งเวลาเขย่า 30 นาที
- นำตะแกรงหมายเลขต่างๆ ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง บันทึกผล

■ นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาการกระจายขนาดอนุภาคของลำต้นข้าวฟ่างหวานแห้ง
เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาคโดยอัตราส่วนของปริมาตรต่อพื้นที่ ($\bar{D}_s$) แล้วจึงนำไปเขียน
กราฟแสดงการกระจายขนาดอนุภาคลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน โดยใช้สูตร

$$\bar{D}_s = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{x_i}{\bar{D}_{pi}}} \quad \text{และ} \quad x_i = \frac{m_i}{m_T} \quad \text{และ} \quad \bar{D}_{pi} = \frac{(D_{pi}) + (D_{pi+1})}{2}$$

โดยที่ $\bar{D}_s$ = เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยโดยอัตราส่วนของปริมาตรต่อพื้นที่ (mm)

x_i = อัตราส่วนโดยมวลของอนุภาคในตะแกรงลำดับที่ i

m_i = มวลของอนุภาคที่ค้างในตะแกรงลำดับที่ i (g) และ m_T = มวลของอนุภาคทั้งหมด (g)

$\bar{D}_{pi}$ = ขนาดเฉลี่ยของอนุภาคที่ค้างในตะแกรงลำดับที่ i (mm),

D_{pi} = ขนาดรูเปิดของตะแกรงลำดับที่ i ซึ่งเป็นตะแกรงที่อนุภาคค้างอยู่ (mm)

D_{pi+1} = ขนาดรูเปิดของตะแกรงที่อนุภาคผ่านมาหรือตะแกรงที่อยู่ข้างบนตะแกรงลำดับที่ i (mm)



รูปที่ 3.9 เครื่องร่อนพร้อมตะแกรงเพื่อหาการกระจายขนาดอนุภาคลำต้นข้าวฟ่างหวานแห้ง

ตารางที่ 3.3 การเรียงลำดับตะแกรงจากบนลงล่างตามขนาดรูตะแกรง

หมายเลขตะแกรงมาตรฐาน	ขนาดรูตะแกรง	น้ำหนักตะแกรงเปล่า (กรัม)
4	4.75 มิลลิเมตร	438.70
6	3.35 มิลลิเมตร	411.55
8	2.36 มิลลิเมตร	401.07
18	1.00 มิลลิเมตร	351.86
35	500 ไมโครเมตร	305.89
80	180 ไมโครเมตร	286.98
ฐาน	-	254.21

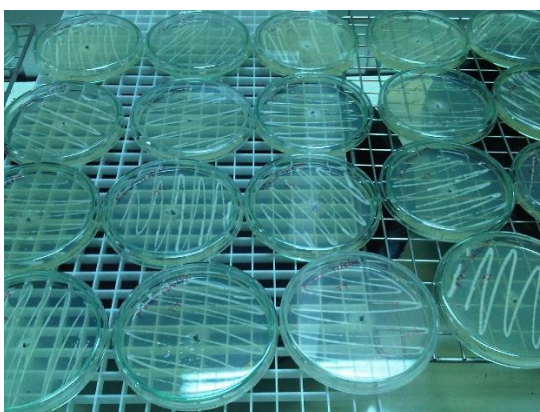
3.5 เครื่องต้นแบบสำหรับการบดผงจุลินทรีย์ผสม

เนื่องจากจุลินทรีย์ผสมที่จะนำมาบดเจริญเติบโตอยู่บนวัตถุดิบของแข็งในที่นี้คือลำต้นสดข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการอบแห้งแล้ว ขนาดอนุภาคประมาณ 0.1 ถึง 0.5 เซนติเมตร ซึ่งต้องใช้เครื่องบดให้มีขนาดอนุภาคประมาณ 80 ถึง 100 เมช อย่างไรก็ตาม เครื่องบดที่นำมาใช้ต้องเป็นระบบปิดเพื่อไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ผสมฟุ้งกระจายสู่อากาศ และต้องการกำลังมอเตอร์สูงในการบด จึงทำการออกแบบขนาดใบมีดและกำลังมอเตอร์ ดังรูปแบบรายการ ในภาคผนวก ค

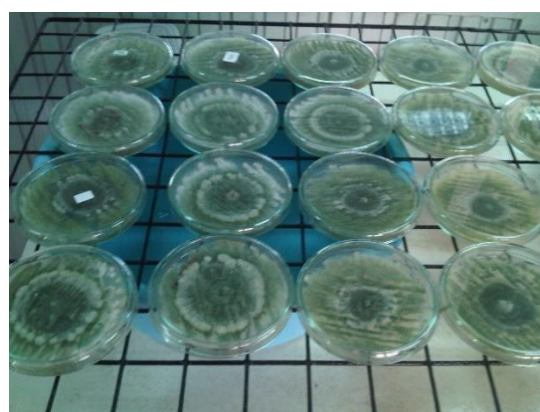
3.6 วิธีการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ผสม

การเพาะเลี้ยงเชื้อผสมซึ่งจะเรียกว่าจุลินทรีย์ผสม TY เพื่อนำไปใช้ในการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานจากรายงานวิจัยของผ่องศรี และคณะ, 2553 คือนำจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อราไตรโคเดอร์มา ริสอีหรือ T จากงานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ และเชื้อยีสต์แซคคาโรมายซิส ซีรีวิลอีหรือ Y จากงานอาหารวุ้นแข็งวายเอ็มเอ (สูตรอาหารทั้ง 2 ชนิดอยู่ในภาคผนวก ง) มาเพาะเลี้ยงร่วมกันบนอาหารวุ้นแข็งพีดีเอจานเดียวกัน (ผ่องศรี และคณะ, 2553)

วิธีการเพาะเลี้ยงทำโดยการใช้เข็มเย็บเชื้อปลายแหลม เชื้อเชื้อราไปวางตรงกลางจานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอที่ผ่านการเตรียมและทำให้ปลอดเชื้อ ดังภาคผนวก ค จากนั้นใช้ลูปเย็บลากเชื้อยีสต์บริสุทธิ์จากมุมหนึ่งของจานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 5-7 วัน จุลินทรีย์ผสมที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 3.10



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.10 จุลินทรีย์ผสมบนจานอาหารวุ้นแข็งพีดีเอ ก. อายุ 1 วัน ข. อายุ 7 วัน

3.7 วิธีการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

3.7.1 ขั้นตอนที่ 1 การหาสภาวะเหมาะสมของการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

- เตรียมอาหารเหลว พีเอช 5 (ไม่เติมน้ำตาล) ดังภาคผนวก ง จำนวน 2 ขวดๆ ละ 1000 มิลลิลิตร และปรับพีเอชให้เท่ากับ 5
- ชั่งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 ถัง ถังละ 100 กรัม ริดด้วยยางให้แน่น
- นำอาหารเหลวที่เตรียมและลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้อากาศดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที ดังรูปที่ 3.11 (ก) หลังจากนั้นให้นำวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิดออกจากหม้อนึ่ง และปล่อยให้เย็นลงในตู้ปลอดเชื้อ
- เตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมโดยชุดจุลินทรีย์ผสม TY อายุ 7 วันจากผิวหน้างานเพาะเชื้อลงไปในขวดอาหารเหลวปลอดเชื้อ จำนวน 3 ขวด ซึ่งจะได้ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมประมาณ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตรต่อขวด กวนผสมให้จุลินทรีย์โดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก นานครึ่งชั่วโมง
- นำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานที่ปลอดเชื้อใส่ลงในซามแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ซามละ 100 กรัม จำนวน 6 ซาม จากนั้นเทอาหารเหลวที่เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมปริมาตร 40, 60 และ 80 มิลลิลิตร ปริมาตรละ 2 ซาม ตามลำดับ คลุกเคล้าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร แล้วจึงปิดปากซามด้วยฟิล์มพลาสติก ดึงให้ตึง จากนั้นจึงเจาะรูฟิล์มพลาสติกด้วยเข็มปลายแหลมจำนวน 10 รู ดังรูปที่ 3.12 แล้วนำแต่ละซามไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ดังรูปที่ 3.11 (ข) และ 3.12
- เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ [30] (ภาคผนวก จ) น้ำตาลรีดิวิซ์ [28] (ภาคผนวก ฉ) และเซลลูเลส แอคติวิตี [29] (ภาคผนวก ช) ที่เวลาเริ่มต้นและทุกๆ วัน ใช้ระยะเวลาการหมักนาน 9 วัน



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.11 (ก) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ข) ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิที่ $24 \pm 2^\circ\text{C}$



รูปที่ 3.12 การหมักแข็งลำต้นสคว้าวฟางหวานด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมในอาหารเหลว พีเอช 5

3.7.2 ขั้นตอนที่ 2 การผลิตผงเอนไซม์ผสมโดยการหมักแข็งลำต้นสคว้าวฟางหวาน

ทำการขยายขนาดการหมักแข็งลำต้นสคว้าวฟางหวานจากระดับในชามแก้วขนาด 500 มิลลิลิตรไปเป็นถังหมักพลาสติกขนาด 10 ลิตรโดยขยายสเกลเป็น 6 เท่าของสภาวะเหมาะสม โดยมีวิธีการตามลำดับต่อไปนี้

- เตรียมอาหารเหลว พีเอช 5 (ไม่เติมน้ำตาล) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด ปรับพีเอชเท่ากับ 5

- ชั่งลำต้นสคว้าวฟางหวานใส่ถุงๆ ละ 600 กรัม รัดด้วยยางให้แน่นและไม่มีอากาศอยู่ในถุง จำนวน 8 ถุง

- นำอาหารเหลวที่เตรียมและลำต้นสคว้าวฟางหวานไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้อากาศดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นให้นำวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิดออกจากหม้อนึ่ง และปล่อยให้เย็นลงในตู้ปลอดเชื้อ

- ชูจุลินทรีย์ผสม TY อายุ 7 วัน บนผิวหน้าจานเพาะเชื้อลงไปในขวดอาหารเหลวปลอดเชื้อ จำนวน 3 จาน ให้ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมประมาณ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตรต่อขวด กวนผสมโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก นานครึ่งชั่วโมง

- นำลำต้นสคว้าวฟางหวานที่ปลอดเชื้อใส่ลงในถังหมักพลาสติกแห้ง สะอาดและผ่านการทำให้ปลอดเชื้อด้วยรังสีแกมมา 20 ถึง 30 นาที ถึงละ 600 กรัม เติมน้ำอาหารเหลวที่มีจุลินทรีย์ผสมปริมาตร 360 มิลลิลิตรต่อถัง คลุกเคล้าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหารก่อนปิดปากถังพลาสติกด้วยฟิล์มพลาสติกให้ตึง จากนั้นจึงเจาะรูฟิล์มพลาสติกด้วยเข็มปลายแหลมจำนวน 100 รู แล้วจึงนำแต่ละถังไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ดังรูปที่ 3.13

- เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ (ภาคผนวก จ) น้ำตาลรีดิซ (ภาคผนวก ฉ) และเซลลูเลส แอคติวิตี (ภาคผนวก ช) ที่เวลาเริ่มต้นและที่ระยะหมักนาน 7 วัน

- หลังจากครบ 7 วันแล้วนำจุลินทรีย์ผสมสดที่ได้ทุกถังมาคลุกเคล้ารวมกันและนำไปใส่ถาดปริมาณเท่าๆ กัน เกลี่ยให้มีความหนาสม่ำเสมอ ชั่งน้ำหนักจุลินทรีย์ผสมสดและวัดร้อยละความชื้นก่อนการอบแห้ง



รูปที่ 3.13 การผลิตจุลินทรีย์ผสมที่สภาวะเหมาะสมในตู้ป๋มโดยใช้ถังหมักพลาสติกขนาด 10 ลิตร

- หลังจากนั้นจึงนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ดังรูปที่ 3.14 จนกระทั่งความชื้นสุดท้ายมีค่าร้อยละประมาณ 12 โดยน้ำหนัก



รูปที่ 3.14 ตู้อบลมร้อนสำหรับการอบแห้งจุลินทรีย์ผสม

- ทำการเก็บจุลินทรีย์ผสมหลังการอบแห้งไว้ในถุงพลาสติกและปิดปากถุงให้สนิท ชั่งน้ำหนักหลังการอบแห้ง หลังจากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องบดละเอียดซึ่งเป็นเครื่องต้นแบบของงานวิจัยนี้ ดังรูปที่ 3.15 แล้วจึงชั่งน้ำหนักผงจุลินทรีย์ผสมที่ได้ เก็บไว้ในที่สะอาด และแห้งก่อน



รูปที่ 3.15 เครื่องบดละเอียดต้นแบบของงานวิจัยนี้

3.8 วิธีการหาสถานะเหมาะสมสำหรับการหมักเอทานอลกึ่งเหลวจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วย ผงจุลินทรีย์ผสม (TY) โดยใช้วิธีการทดลองออร์โทโกนอล

การออกแบบการทดลองโดยแปรผันปัจจัยควบคุม 3 ปัจจัย ได้แก่ น้ำหนักของลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน น้ำหนักของผงจุลินทรีย์ผสม และระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก แต่ละปัจจัยแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ 20, 25, 30, และ 35 กรัม, 1.5, 3.0, 3.5 และ 4.5 กรัม และ 3, 5, 7 และ 9 วัน ตามลำดับ โดยใช้อาหารเหลวปริมาตรคงที่เท่ากับ 100 มิลลิลิตรและพีเอชเท่ากับ 5 ทำการหมักในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลีวางบนเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ความเข้มข้นของเอทานอล [31] (ภาคผนวก ข) และจุลินทรีย์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำๆ ละ 16 การทดลอง ดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 การออกแบบสถานะของการหมักเอทานอลกึ่งเหลวโดยวิธีการทดลองออร์โทโกนอล

การทดลองที่	ลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน (กรัม)	ครูดเอนไซม์ผง (กรัม)	เวลา (วัน)
1	20	1.5	3
2	25	1.5	5
3	30	1.5	7
4	35	1.5	9
5	20	3	5
6	25	3	7
7	30	3	9
8	35	3	3
9	20	4.5	7
10	25	4.5	9
11	30	4.5	3
12	35	4.5	5
13	20	6	9
14	25	6	3
15	30	6	5
16	35	6	7

- ชั่งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานถ่วงละ 20 25 30 และ 35 กรัม แต่ละน้ำหนักจำนวน 4 ถัง

- เตรียมอาหารเหลว พีเอช 5 (สูตรไม่เติมน้ำตาล) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จำนวน 2 ขวดและปรับพีเอชเท่ากับ 5
- นำถุงลำน้สดข้าวฟ่างหวานและอาหารเหลวที่เตรียมไว้ ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบ 20 นาที จึงนำออกจากหม้อนึ่งไอน้ำ มาตั้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- เตรียมขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่สะอาดผ่านการอบแห้งจากตู้อบลมร้อนที่ 200°C นาน 1 ชั่วโมง ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิห้อง คัดเลือกที่ขวดตามสถานะต่างๆ ดังตารางที่ 3.4 จำนวน 16 ขวด พร้อมสำลีที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อด้วยรังสียูวีนาน 20 นาที
- ใส่ในอาหารเหลวปลอดเชื้อปริมาณ 100 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นชั่งผงจุลินทรีย์ผสมที่ผ่านการบดแห้งตามน้ำหนักดังตารางที่ 3.4 ใส่ลงไปขวด เขย่าขวดด้วยให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จึงเติมน้ำสดข้าวฟ่างหวานแต่ละถุงลงในแต่ละขวด แล้วปิดจุกด้วยสำลี
- นำขวดรูปชมพู่ต่างๆ ไปวางบนเครื่องเขย่าด้วยอัตราเร็ว 120 รอบต่อนาที ตลอด 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง วัดความเข้มข้นของเอทานอล (ภาคผนวก ข) และจุลินทรีย์ (ภาคผนวก จ) ตามระยะเวลาที่ใช้หมักในตารางที่ 3.4 ดังรูปที่ 3.16 นำผลการทดลองไปคำนวณตามวิธีทดลอง ออร์โท-โกนอลเพื่อหาสถานะเหมาะสม



รูปที่ 3.16 การหมักเอทานอลถึงเหลวแบบกะจากต้นข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เพื่อหาสถานะเหมาะสม

3.9 วิธีการหมักเอทานอลถึงเหลวแบบกะจากต้นข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตรที่สถานะเหมาะสม

วิธีการหมักเอทานอลถึงเหลวแบบกะจากต้นข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมใช้สถานะเหมาะสมที่ได้จากการคำนวณวิธีออร์โทโกนอลของการทดลองที่ 3.8 โดยขยายขนาดเป็น 30 เท่าในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร ปริมาตรอาหารเหลว พีเอช 5 มีค่าคงที่เท่ากับ 3000 มิลลิลิตรหรือ 3 ลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยมีวิธีการตามลำดับต่อไปนี้

- ชั่งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานใส่ถุงๆละ 1050 กรัม จำนวน 3 ถุง และ เตรียมอาหารเหลว พีเอช 5 (สูตรไม่เติมน้ำตาล) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตรจำนวน 9 ขวด
- นำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานและอาหารเหลวไปนึ่งมาเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว จึงนำออกมาตั้งไว้ในตู้แช่เชื้อที่อุณหภูมิห้อง
- นำอาหารเหลวปลอดเชื้อจำนวน 3 ขวดๆ ละ 1000 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 5 ลิตร จากนั้นเติมผงจุลินทรีย์ผสม 135 กรัม และผสมให้เข้ากันเพื่อให้เชื้อราปรับสภาพกับอาหารเหลวจึงนำลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน 1 ถุง เทลงในขวดรูปชมพู่
- ปิดปากขวดด้วยสำลีที่ฆ่าเชื้อด้วย UV แล้ววางขวดบนเครื่องเขย่าด้วยอัตราเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องตลอด 24 ชั่วโมง ดังรูปที่ 3.17 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ความเข้มข้นของ เชื้อจุลินทรีย์ผสม น้ำตาลรีดิวซ์ เซลลูเลส แอคติวิตีและเอทานอลตั้งแต่เริ่มต้นและทุกวันนาน 12 วัน
- ผลการทดลองที่ได้นำไปใช้ในการหาผลพลศาสตร์การเติบโตเชื้อจุลินทรีย์ผสมของการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกึ่งกะต่อไป

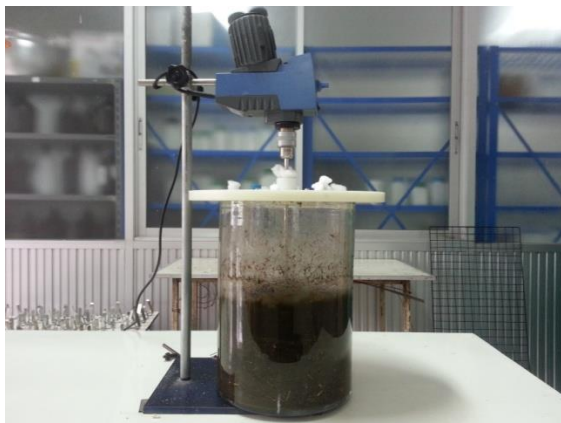


รูปที่ 3.17 การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะจากต้นข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร ที่สภาวะเหมาะสม

3.10 วิธีการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตรที่สภาวะเหมาะสม

วิธีการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะจากต้นข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตรเหมือนวิธีการทดลองที่ 3.8 เพียงแต่ทำการขยายขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 6 เท่า โดยใช้ถังหมักขนาด 15 ลิตร ปริมาตรอาหารเหลว พีเอช 5 มีค่าคงที่เท่ากับ 6000 มิลลิลิตรหรือ 6 ลิตร โดยมีวิธีการตามลำดับต่อไปนี้

3.10.1 การทดลองที่ 1 เพื่อศึกษาเวลาที่ใช้กวนผสมต่อวัน ได้แก่ 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง โดยใช้ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบที่ใช้ผสมเท่ากับ 200 รอบต่อนาที ดังรูปที่ 3.18



รูปที่ 3.18 การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะในถังหมักขนาด 15 ลิตรที่สภาวะเหมาะสมโดยใช้ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบที่ใช้ผสมเท่ากับ 200 รอบต่อนาที

วิธีการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะในถังหมักขนาด 15 ลิตรสภาวะเหมาะสมโดยใช้ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบที่ใช้ผสมเท่ากับ 200 รอบต่อนาที นาน 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ดังนี้

- ชั่งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานใส่ถุงๆละ 2100 กรัม จำนวน 2 ถุง และเตรียมอาหารเหลวพีเอช 5 (สูตรไม่เติมน้ำตาล) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตรจำนวน 12 ขวด

- นำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานและอาหารเหลวไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาแล้วจึงนำออกมาตั้งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

- นำอาหารเหลวปลอดเชื้อจำนวน 6 ขวดๆ ละ 1000 มิลลิลิตรใส่ลงในถังหมักขนาด 15 ลิตรแต่ละถัง ถังหมักที่ใช้จำนวน 2 ชุด ซึ่งต้องผ่านการทำให้ปลอดเชื้อด้วยยูวีนาน 20 นาทีในตู้เย็น เชื้อก่อนนำมาใช้ทำการหมัก จากนั้นเติมผงจุลินทรีย์ผสม 270 กรัม และตามด้วยลำต้นสดข้าวฟ่างหวานจำนวน 1 ถุง ลงในถังแต่ละถัง ติดตั้งมอเตอร์และใบกวนแบบ paddle blade ปิดฝาถังหมักให้สนิท และปรับให้ถังหมักวางตัวในสมดุลกับฐาน จึงเปิดมอเตอร์ให้หมุนใบกวนด้วยอัตรา 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

- เมื่อใช้มอเตอร์ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีกวนผสมตามเวลาที่กำหนดแล้ว ให้ปิดมอเตอร์ และตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง จึงเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสม เอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ และเซลล์ลูเลส แอคทีวิตี ตั้งแต่เริ่มต้นและทุกๆ วัน นาน 12 วัน

หมายเหตุ: ต้องเก็บตัวอย่างน้ำหมักในถังหมักที่ความลึกเท่ากันทุกๆ วันและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ต้องทำให้ปลอดเชื้อก่อน

3.10.2 การทดลองที่ 2 เพื่อศึกษาชนิดของใบกวน 2 แบบ ได้แก่แบบ pitch blade และ paddle blade ดังรูปที่ 3.19 วิธีการหมักของการทดลองที่ 2 เหมือนกับการทดลองที่ 1 เพียงแต่ถังหมักที่ 1 ใช้ใบกวนแบบ pitch blade ถังหมักที่ 2 ใช้แบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบกวนผสมคงที่เท่ากับ 100 รอบต่อนาที และเวลาการผสมคงที่ต่อวัน



ก. แบบ pitch blade



ข. paddle blade

รูปที่ 3.19 ชนิดของใบกวน 2 แบบที่ใช้ในถังหมักขนาด 15 ลิตร

3.10.3 การทดลองที่ 3 เพื่อศึกษาความเร็วรอบที่ใช้ผสม ได้แก่ 100 รอบต่อนาที และ 200 รอบต่อนาที โดยใช้ใบกวนแบบ paddle blade และเวลาการผสมต่อวันคงที่ ดังรูปที่ 3.20



รูปที่ 3.20 การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะในถังหมักขนาด 15 ลิตรที่สภาวะเหมาะสมโดยใช้ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบที่ใช้ผสมเท่ากับ 100 รอบต่อนาที และ 200 รอบต่อนาที

วิธีการหมักของการทดลองที่ 3 เหมือนกับการทดลองที่ 1 เพียงแต่ถังหมักที่ 1 และ 2 ใช้ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบที่ใช้ผสมเท่ากับ 100 รอบต่อนาที และ 200 รอบต่อนาที และเวลาการผสมต่อวันคงที่

3.11 วิธีการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสาคูข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตรที่สภาวะเหมาะสม

วิธีการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสาคูข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตรใช้สภาวะเหมาะสมที่ได้จากวิธีการทดลองที่ 3.8 เพียงแต่ทำการขยายขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 6 เท่า โดยใช้ถังหมักขนาด 15 ลิตร เริ่มต้นอาหารเหลว พีเอช 5 มีค่าคงที่เท่ากับ 6000 มิลลิลิตรหรือ 6 ลิตร จากนั้นจึงเติมอาหารเหลว พีเอช 5 ลงในถังหมักที่เวลาแน่นอนซึ่งได้ผลจากการทดลองที่ 3.9 เปรียบเทียบการปรับพีเอชน้ำหมักเท่ากับ 5 ทุกๆ วันกับไม่มีการปรับพีเอชโดยที่ไม่มีการถ่ายน้ำหมักออกจากถังตลอดระยะเวลาหมัก ที่ความเร็วรอบผสม 200 รอบต่อนาทีและชนิดใบกวนแบบ paddle blade ซึ่งได้ผลจากการทดลองที่ 3.10 โดยใช้น้ำสภาวะดังกล่าวมาทำการทดลองหมักเอทานอลกึ่งกะหรือเฟด-แบทช์ การทดลองนี้จะทำการแปรผันปริมาตรอาหารเหลวใหม่ที่ใช้เดิมคือ 300 และ 500 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ

3.11.1 การหมักเอทานอลแบบกึ่งกะโดยไม่ได้ปรับพีเอชระหว่างการหมัก มีวิธีการดังนี้

- เตรียมอาหารเหลว พีเอช 5 (ไม่มีน้ำตาล) ขวดละ 1000 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด
- ชั่งลำต้นสาคูข้าวฟ่างหวาน จำนวน 2,100 กรัม จำนวน 1 ถุง รัดปากถุงให้แน่นและไม่ให้มีอากาศในถุง
- นำอาหารเหลวและลำต้นสาคูข้าวฟ่างหวานที่เตรียมไว้ไปนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาแล้วจึงนำออกมาตั้งไว้ในตู้เย็นเพื่อที่อุณหภูมิห้อง
- นำถังปฏิกรณ์ขนาด 15 ลิตร ฝาปิดถึง และใบกวน ใส่ในตู้เย็นเพื่อทำให้ปลอดภัยด้วย UV ประมาณ 20 นาที
- นำอาหารเหลว พีเอช 5 วัดค่าพีเอช ถ้าหาก $pH > 5.0$ ให้ปรับค่าด้วยกรดอะซิติก ถ้า $pH < 4.5$ ให้ปรับค่าด้วย 10% w/v สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
- ชั่งผงจุลินทรีย์ผสมหนัก 45 กรัม จำนวน 6 ถุง ใส่แต่ละถุงลงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ ทำการผสมให้เข้ากันโดยใช้แท่งแม่เหล็กเป็นเวลา 30 นาที
- ใส่อาหารเหลวที่มีผงจุลินทรีย์ผสม ทั้ง 6 ขวด ลงในถังหมักขนาด 15 ลิตร ซึ่งมีลำต้นสาคูข้าวฟ่างจำนวน 2,100 กรัม อยู่ในถังแล้ว
- ปิดฝาถังหมักและติดตั้งใบกวนพร้อมมอเตอร์ โดยปรับให้มีความเร็วรอบประมาณ 200 รอบต่อนาที ใช้เวลาความเร็วรอบ 3 ชั่วโมงต่อวัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง แล้วจึงเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ทุกวันเพื่อหาความเข้มข้นจุลินทรีย์ เอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ และเซลล์ลูลีส แอคติวิตีตามลำดับ

- เมื่อเก็บตัวอย่างเรียบร้อยแล้วจึงเติมอาหารเหลว (ไม่มีน้ำตาล) ซึ่งเตรียมใหม่ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน ใช้เวลาหมักนาน 12 วัน

- ทำการทดลองเหมือนข้างต้น ยกเว้น เมื่อเก็บตัวอย่างเรียบร้อยแล้วจึงเติมอาหารเหลว (ไม่มีน้ำตาล) ซึ่งเตรียมใหม่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน ใช้เวลาหมักนาน 12 วัน

หมายเหตุ: 1. ต้องเก็บตัวอย่างน้ำหมักของเหลวในถังหมักที่ความลึกเท่ากันทุกๆ วันและอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ต้องทำให้ปลอดเชื้อก่อน

2. ต้องเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ก่อนการเติมอาหารทุกครั้ง

3.11.2 การหมักเอทานอลกึ่งกะที่ปรับพีเอชระหว่างการหมัก ทำการทดลองเหมือนวิธีการทดลองที่ 3.11.1 ยกเว้นมีการปรับพีเอชของน้ำหมักให้เท่ากับ 5 ทุกๆ วัน

3.12 วิธีการหมักเอทานอลกึ่งกะร่วมกับการรีไซเคิลจุลินทรีย์

ทำการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานหนัก 2010 กรัม ด้วยผงจุลินทรีย์ 270 กรัมในถังหมักขนาด 15 ลิตร ปริมาตรเริ่มต้นเท่ากับ 6 ลิตร ใช้ใบกวนชนิด paddle blade อัตราเร็วในการกวนเท่ากับ 200 รอบต่อนาที ใช้เวลาผสม 3 ชั่วโมงต่อวัน เก็บตัวอย่างของเหลวหลังจากการกวนผ่านไป 6 ชั่วโมงทุกๆ วัน ควบคุมพีเอชในถังหมักคงที่เท่ากับ 5 ตลอดระยะเวลาหมัก เติมน้ำอาหารเหลวทุกๆ 2 วัน ร่วมกับรีไซเคิลจุลินทรีย์ที่ได้จากกรีเทนเตด ควบคุมปริมาตรในถังหมักเท่ากับ 9 ลิตรดังรูปที่ 3.21 ก่อนนำน้ำหมักประมาณ 1 ลิตรไปศึกษาความเร็วการป้อนผ่านเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตรา จะได้รีเทนเตด 300 มิลลิลิตร และเพอมีเอท 700 มิลลิลิตร ดังนี้

3.12.1 วิธีการหาความเร็วการป้อนผ่านเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตรา

ทำการทดลองแปรผันความเร็วการป้อนน้ำหมักเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ทำการทดลอง 3 ชั่วโมงในแต่ละความเร็วการป้อนผ่านเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตราซึ่งเป็นชนิดการไหลขวาง ภายในหลอดบรรจุเยื่อแผ่นชนิด Hollow fiber cartridge UFP-30-E-4MA ผลิตภัณฑ์จากประเทศเยอรมัน ขนาด 30,000 NMWC พื้นที่ผิวเท่ากับ 420 ตารางเซนติเมตร ดังรูปที่ 3.22 ดังต่อไปนี้

- วิธีเตรียมเครื่องกรองก่อนทำการกรองน้ำหมัก คือการล้างเยื่อแผ่นด้วยน้ำกลั่นจำนวน 5 ครั้งๆ ละ 1 ลิตร จนกระทั่งน้ำล้างมีพีเอชเท่ากับ 7 (เป็นการล้าง 0.5 N สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งใช้แช่เยื่อแผ่นในการเก็บรักษา)

- ปรับวาล์วควบคุมความดันตกคร่อมของเยื่อแผ่น (trans-membrane pressure) ที่เครื่องกรองให้มีค่าเท่ากับ 5 psi

- เตรียมน้ำหมักที่ได้จากการหมักกึ่งกะเพื่อใช้ในการทดลองประมาณ 1 ลิตร ดังรูปที่ 3.21 (ก) และ (ข)



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.21 การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกึ่งกะกับการรีไซเคิลจุลินทรีย์



รูปที่ 3.22 เครื่องกรองเชื้อแผ่นอัตรา

- เติมน้ำหมัก 1 ลิตรลงในหลอดสารป้อน (หลอดใหญ่ด้านซ้ายมือ) ดังรูปที่ 3.22
- ปรับความเร็วการป้อนที่เครื่องสูบนิตเพอริสเทติก ที่ 50 รอบต่อนาทีซึ่งเท่ากับความเร็วการป้อนที่ 0.1 เมตรต่อวินาที
- น้ำหมักถูกป้อนผ่านเยื่อแผ่น (หลอดเล็กด้านขวามือ) จากด้านล่างขึ้นไปด้านบนของเหลวที่ไหลขวางผ่านเยื่อแผ่นคือเพอมีเอทจะไหลออกทางท่อสายยางด้านล่างขวามือสุด ส่วนของเหลวที่ไม่ผ่านเยื่อแผ่น เรียกว่า รีเทนเทต จะไหลออกด้านบนผ่านท่อสายยางซ้ายมือและไหลกลับสู่หลอดใหญ่
- บันทึกเวลาเป็นนาทีทุกๆ 25 มิลลิลิตรของเพอมีเอท เมื่อของเหลวในเพอมีเอทครบ 100 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่าง 20 มิลลิลิตรทั้งในรีเทนเทตและเพอมีเอท ดังรูปที่ 3.23 (ก) และ (ข) เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นเอทานอล น้ำตาลรีดิคัล เซลลูโลส แอคทีวิตี และจุลินทรีย์



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.23 ของเหลวที่ผ่านการกรอง (ก) รีเทนเทต (ข) เพอมีเอท

- ทำการทดลองเหมือนเดิม ยกเว้นปรับความเร็วการป้อนที่เครื่องสูบนิตเพอริสเทติก เป็น 70 และ 95 รอบต่อนาทีซึ่งเท่ากับความเร็วการป้อนที่ 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ตามลำดับ
- เมื่อทำการกรองที่ความเร็วการป้อนแต่ละครั้ง ต้องทำการล้างเยื่อแผ่นทุกครั้ง โดยใช้ น้ำกลั่นล้างทั้งสิ้น 5 ครั้งๆ ละ 1 ลิตร ดังรูปที่ 3.24 นำน้ำล้างในแต่ละครั้งไปตรวจวัดความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่ออกมาจากการล้าง
- หลังจากล้างเยื่อแผ่นด้วยน้ำกลั่นจนปราศจากจุลินทรีย์แล้ว จากนั้นใช้น้ำกลั่น 1 ลิตร ชะล้างเยื่อแผ่น ตามด้วย 0.5 N สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ชะล้างอีก 1 ลิตร และชะล้างต่อไป อีกด้วยน้ำกลั่น 3 ถึง 5 ลิตร

- ป้อน 0.5 N สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ผ่านเยื่อแผ่น จนกระทั่งมีสารละลายอยู่ในหลอด 500 มิลลิลิตร จึงถอดหลอดและปิดจุกนำหลอดเยื่อแผ่น และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่ 8°C



รูปที่ 3.24 น้ำล้างเยื่อแผ่นหลังการกรอง น้ำล้างครั้งที่ 1 ถึง 5 เรียงจากซ้ายไปขวา

3.12.2 วิธีการหมักเอทานอลกึ่งกะเพื่อผลิตน้ำหมักไปใช้ในการกรอง

วิธีการหมักเอทานอลกึ่งกะในช่วงแรกที่ระยะเวลาเริ่มต้นถึง 9 วัน จะเหมือนข้างต้นทุกประการ หลังจากนั้นจึงนำน้ำหมักไปใช้ในการศึกษาความเร็วการป้อนผ่านเครื่องกรองเยื่อแผ่น อัลตรา ซึ่งกำหนดเวลาและปริมาตรที่ใช้เติมลงในถังหมัก ดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 เวลาเติมอาหารเหลวร่วมกับเวลารีไซเคิลจุลินทรีย์ที่ความเร็วการป้อนต่างๆ

การดำเนินงาน	ความเร็วการป้อน								
	0.1 เมตรต่อวินาที			0.2 เมตรต่อวินาที			0.3 เมตรต่อวินาที		
	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
กรองที่เวลาหมัก (วัน)	10	18	22	26	30	34	38	42	46
เวลาเติมอาหาร, 500 มล. (วัน)	17	20	24	28	32	36	40	44	48
เวลาเติมอาหาร, 200 มล. (วัน)	-	18	22	26	30	34	38	42	46
เวลารีไซเคิลจุลินทรีย์ 300 มล. (วัน)	-	18	22	26	30	34	38	42	46

หมายเหตุ: ที่ระยะเวลาหมักนาน 39 วัน ได้เติมลำต้นสดข้าวฟ่างหวานใหม่ลงถังหมักอีก 1050 กรัม