

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิจัย เรื่อง “การศึกษาเพื่อพัฒนาเครื่องต้นแบบการผลิตผงเอนไซม์ผสมจากต้นสดข้าวฟ่างหวาน สำหรับอุตสาหกรรมเอทานอล” ดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ในลำต้นสดข้าวฟ่างหวานประกอบด้วยเซลลูโลสมากที่สุด รองลงมาคือลิกนิน และที่น้อยที่สุดคือเฮมิเซลลูโลส ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน

วัตถุดิบ	ร้อยละ โดยน้ำหนัก		
	เซลลูโลส	ลิกนิน	เฮมิเซลลูโลส
ลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน	65	19	16

เนื่องจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานไม่ได้ผ่านการปรับสภาพเบื้องต้นเพื่อกำจัดลิกนินออก ดังนั้น การนำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานมาใช้เป็นสับสเตรทจึงยังมีลิกนินอยู่

4.2 ผลความชื้นของจุลินทรีย์ผสมสดและผงจุลินทรีย์ผสม

จากการใช้เครื่องวัดความชื้นจุลินทรีย์ผสมสดที่ได้จากการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยจุลินทรีย์ผสม และผงจุลินทรีย์ผสมที่ได้จากการอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 60°C พบว่า ความชื้นก่อนและหลังการอบแห้งมีค่าร้อยละประมาณ 85 และ 8 โดยน้ำหนัก

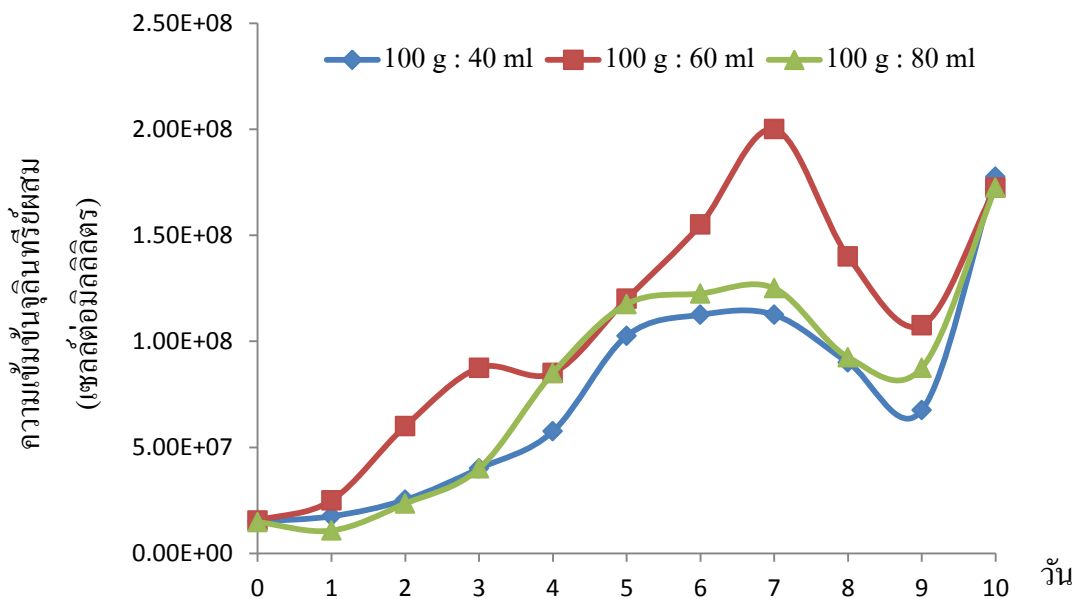
4.3 ผลการหาการกระจายขนาดอนุภาคของลำต้นข้าวฟ่างหวาน

งานวิจัยนี้มีแนวคิดในการนำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการย่อยด้วยเครื่องย่อยลำต้นพืชจากแหล่งปลูกมาใช้ทำการหมักแข็งและกึ่งเหลวเป็นสับสเตรทโดยตรง จึงไม่ต้องใช้พลังงานเพิ่มสำหรับการบดเพื่อลดและคัดขนาดอีก การกระจายของอนุภาคส่วนใหญ่ พบว่ามีขนาดประมาณ 1 ถึง 4.75 เซนติเมตร ขนาดอนุภาคมีช่วงกว้าง และไม่เท่ากัน

4.4 ผลของสภาวะเหมาะสมของการผลิตจุลินทรีย์ผสมสด

การหาสภาวะของการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสม TY ระหว่าง *T.reesei* และ *S.cerevisiae* โดยทำการแปรผันอัตราส่วนน้ำหนักลำต้นสดข้าวฟ่างหวานต่อปริมาณอาหารเหลว พีเอช 5 (ไม่เติมน้ำตาล) 1:0.4, 1:0.6 และ 1:0.8 และใช้จุลินทรีย์ผสม TY ในงานเพาะเลี้ยงที่อายุ 7 วัน (หัวเชื้อมีความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมประมาณ 1.00×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร) และใช้ระยะเวลาการหมักนาน 9 วัน

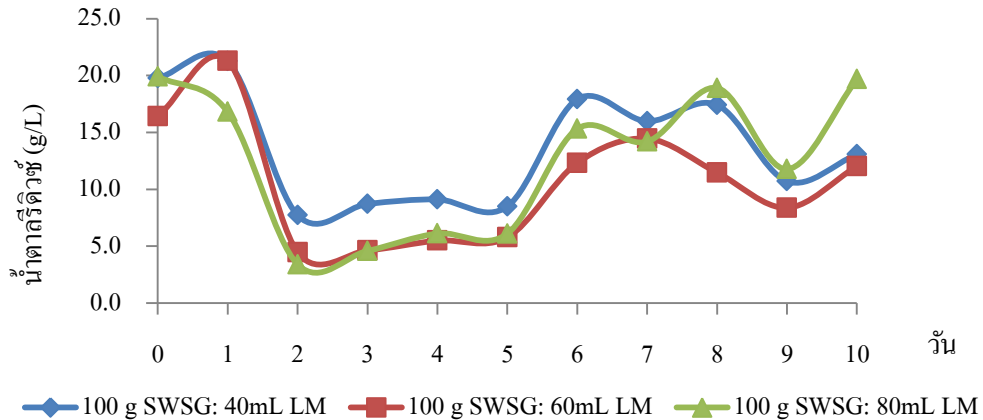
ผลของการหมักแข็ง พบว่าที่สภาวะต่างๆ จุลินทรีย์ผสมใช้เวลาปรับตัว 1 วัน จากนั้นจุลินทรีย์ผสมที่ทุกสภาวะมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกวัน และเติบโตสูงสุดที่ระยะเวลานาน 7 วัน [16] อย่างไรก็ตาม สภาวะเหมาะสมคือ การหมักแข็งที่ใช้ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานหนัก 100 กรัม ในอาหารเหลว 60 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ผสมสูงสุดประมาณ 2.00×10^8 เซลล์/มิลลิลิตร เนื่องจากเป็นสภาวะนี้มีความชื้นที่ทำให้เกิดการแพร่ของสารต่างๆ ในอาหารเหลวและในลำต้นสดสามารถแลกเปลี่ยนกับจุลินทรีย์ได้ดีกว่าอีก 2 สภาวะ ดังรูปที่ 4.1



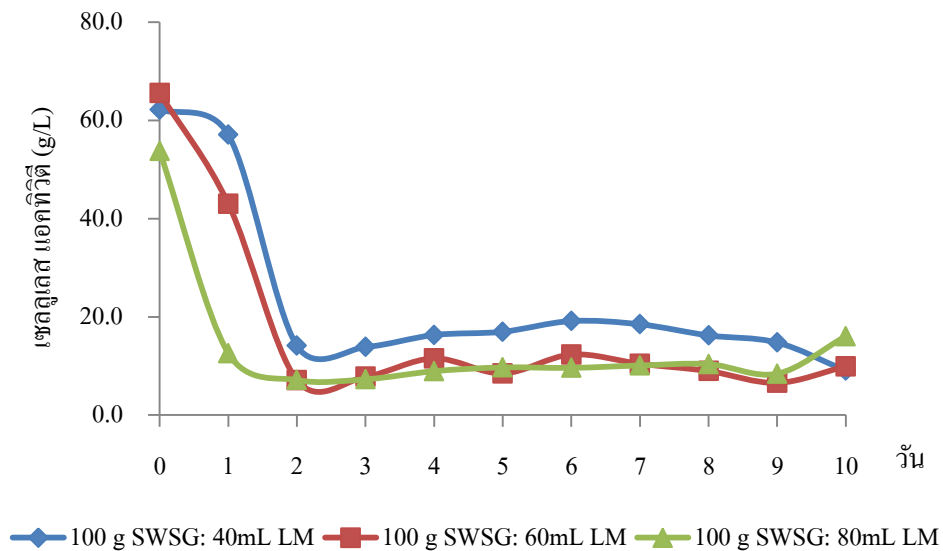
รูปที่ 4.1 โปรไฟล์ของความเข้มข้นของจุลินทรีย์สำหรับการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่อัตราส่วนน้ำหนักข้าวฟ่างต่อปริมาณอาหารเหลวเท่ากับ 1:0.4, 1:0.6 และ 1:0.8

ทำนองเดียวกัน พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ และเซลลูเลส แอคติวิตีลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากจุลินทรีย์ปรับตัวได้ และเริ่มมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงเติบโตแบบทวีคูณหรือที่เรียกว่าเอ็กซ์โพเนนเชียล เฟส จากระยะเวลาหมักนาน 2 ถึง 5 วัน จุลินทรีย์ปลดปล่อยเอนไซม์ย่อยสลายได้น้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลามาก

6 ถึง 8 วัน หลังจากนั้นมียาลดลงเนื่องจากอาจขาดสารอาหารหรือถูกยับยั้งด้วยลิกนินที่ยังคงมีอยู่ในลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน ผลของความเข้มข้นน้ำตาลและเซลลูโลส แอคติวิตี มีแนวโน้มไปทางเดียวกัน ดังรูปที่ 4.2 และ 4.3 แต่ตรงข้ามกับผลของความเข้มข้นจุลินทรีย์ (รูปที่ 4.1)

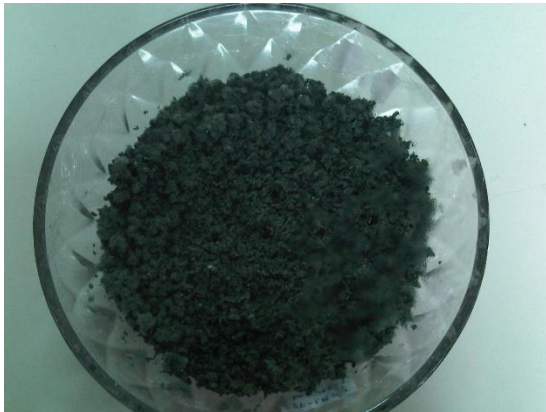


รูปที่ 4.2 โปรไฟล์ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์สำหรับการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่อัตราส่วนน้ำหนักรากข้าวฟ่างต่อปริมาณอาหารเหลวเท่ากับ 1:0.4, 1:0.6 และ 1:0.8



รูปที่ 4.3 โปรไฟล์เซลลูโลส แอคติวิตีสำหรับการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่อัตราส่วนน้ำหนักรากข้าวฟ่างต่อปริมาณอาหารเหลวเท่ากับ 1:0.4, 1:0.6 และ 1:0.8

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นจุลินทรีย์ที่ได้สูงสุดที่ระยะเวลาหมักนาน 7 วัน คือ สภาวะที่เหมาะสมคือ น้ำหนักลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน 100 กรัมในอาหารเหลว 60 มิลลิลิตร สังเกตเห็นได้จากสีเขียวขึ้นเต็มชามเพาะเลี้ยง ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 จุลินทรีย์ผสมที่เกิดขึ้นในการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมโดยใช้ 100 กรัม น้ำหนักข้าวฟ่างในอาหารเหลว พีเอช 5 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร

4.5 ผลของการผลิตจุลินทรีย์ผสมสด

ผลของการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยจุลินทรีย์ผสมในอาหารเหลวที่สภาวะเหมาะสมในระดับขยายขนาดเท่ากับ 6 เท่า ในถังพลาสติกขนาด 10 ลิตร จำนวน 8 กล่อง และนำไปบ่มในตู้บ่มดินแบบที่อุณหภูมิ $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 จุลินทรีย์ผสมที่เกิดขึ้นในการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมโดยใช้ 600 กรัม น้ำหนักข้าวฟ่างในอาหารเหลว พีเอช 5 ปริมาตร 360 มิลลิลิตร



รูปที่ 4.6 จุลินทรีย์ผสมที่เติบโตได้บนแกนกลางของลำต้นสลดข้าวฟางหวานที่มีขนาดเล็ก แต่ไม่สามารถเติบโตได้บนเปลือกนอกของลำต้นได้



รูปที่ 4.7 จุลินทรีย์ผสมที่เติบโตได้บนแกนกลางของลำต้นสลดข้าวฟางหวานที่มีขนาดเล็ก แต่ไม่สามารถเติบโตในส่วนลำต้นที่มีความแข็งได้ถึงแม้จะมีขนาดเล็ก

หมายเหตุ: รูปที่ 4.6 และ 4.7 แสดงให้เห็นจุลินทรีย์ขึ้นกระจายบนลำต้นสลดข้าวฟางหวานซึ่งมีขนาดอนุภาคไม่สม่ำเสมอ บางส่วนที่เป็นเปลือกนอกแข็งปะปนอยู่ ซึ่งคือลิกนิน จุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ จึงไม่มีจุลินทรีย์เติบโตบนผิวของเปลือกแข็งนี้ ส่วนใหญ่จะเห็นสีเขียวบนเส้นใยที่อยู่กลางลำต้นซึ่งอ่อนนุ่มและมีน้ำหวาน ลักษณะการเติบโตของจุลินทรีย์จึงสามารถสังเกตได้จากตาเปล่าเป็นสีเขียว [19] ดังนั้น จึงเห็นได้ชัดเจนถึงความแตกต่างระหว่างการหมักระดับขยายขนาดในกล่องพลาสติก 10 ลิตรกับการหมักในซามแก้ว 0.5 ลิตร

4.6 ผลของการผลิตผงจุลินทรีย์ผสมด้วยเครื่องบดต้นแบบ

เนื่องจากจุลินทรีย์ผสมสดที่ได้จากการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานและเมื่อผ่านการอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°C นาน 18 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีขนาดอนุภาคไม่เท่ากัน และไม่สม่ำเสมอ จึงต้องนำมาบดให้เป็นผงในเครื่องบดต้นแบบ พบว่า จุลินทรีย์ผสมสดที่ได้จากการหมักแข็งด้วยจุลินทรีย์ผสมระยะเวลาหมักนาน 7 วันที่อุณหภูมิ $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ได้น้ำหนักเท่ากับ 1,592 กรัม เมื่ออบแห้งได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 845 กรัม หลังจากผ่านการบดละเอียดได้ผงจุลินทรีย์ผสมหนักเท่ากับ 776 กรัม คิดเป็นร้อยละการสูญเสียเท่ากับ 8 โดยน้ำหนัก ซึ่งอาจเกิดจากผลิตภัณฑ์ติดภาชนะ เครื่องบด และอาจทำกระหว่างการปฏิบัติงาน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมและเซลลูโลส แอคติวิตี พบว่า อุณหภูมิของการอบแห้งและการบดทำให้จุลินทรีย์ตายเพราะความเข้มข้นของจุลินทรีย์มีค่าลดลง ในทำนองเดียวกันเซลลูโลส แอคติวิตีมีค่าลดลงเช่นกัน ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสมและเซลลูโลส แอคติวิตีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักแข็งก่อนและหลังการอบแห้ง

ผลิตภัณฑ์จากการหมักแข็ง	ความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสม, เซลล์/มล.	เซลลูโลส แอคติวิตี, กรัม/ลิตร
จุลินทรีย์ผสมสด (ก่อนอบแห้ง)	5.3×10^8	113
ผงจุลินทรีย์ผสม (หลังอบแห้ง)	1.59×10^8	46



รูปที่ 4.8 ผงจุลินทรีย์ผสม

ผลของการวัดความเข้มข้นจุลินทรีย์ของการหมักแข็งลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยจุลินทรีย์ผสมในอาหารเหลวได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ พบว่า ความเข้มข้นจุลินทรีย์เฉลี่ยในหัวเชื้ออาหารเหลว ผลิตภัณฑ์สด และผงจุลินทรีย์ผสม มีค่าเท่ากับ 3.80×10^7 , 5.3×10^8 และ 1.59×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 3.82×10^6 , 7.64×10^7 และ 6.03×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.7 ผลของการหาสถานะเหมาะสมสำหรับการหมักเอทานอลถึงเหลวจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสม (TY) โดยใช้วิธีการทดลองออร์โทโกนอล

ผลการทดลองหาสถานะที่เหมาะสมตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล เป็นค่าเฉลี่ยที่วัดได้จากการทดลอง 2 ซ้ำ และการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานทางสถิติ พบว่า การทดลองตั้งแต่ลำดับที่ 1 ถึง 16 ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นเอทานอลต่ำสุดและสูงสุดเท่ากับ 19.62 และ 32.77 กรัมต่อลิตร มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.54 และ 0.29 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้เพราะมีค่าเบี่ยงเบนไม่เกิน 5% ทำนองเดียวกับค่าของความเข้มข้นจุลินทรีย์ผสม ดังตารางที่ 4.3

เมื่อนำความเข้มข้นเอทานอลและจุลินทรีย์ผสมที่ได้จากตารางที่ 4.3 ไปคำนวณหาสถานะที่เหมาะสม พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอลจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในอาหารเหลว (ไม่เติมน้ำตาล) ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อค่าหมักเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนี้คือ ปริมาณลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน ผงจุลินทรีย์ผสม และระยะเวลาที่ใช้หมัก ดังตารางที่ 4.4 - 4.6 ตามลำดับ

ผลการคำนวณโดยใช้วิธีการทดลองออร์โทโกนอลจากข้อมูลที่วัดได้คือความเข้มข้นเอทานอลและจุลินทรีย์ผสม ในงานวิจัยนี้เลือกอันดับของปัจจัยที่มีผลต่อความเข้มข้นเอทานอลที่ต้องการให้มีค่าสูงที่สุดเป็นหลัก ส่วนความเข้มข้นของจุลินทรีย์นั้นจะพิจารณาร่วมกัน พบว่า น้ำหนักลำต้นสดข้าวฟ่างหวานเท่ากับ 35 กรัม ให้ความเข้มข้นเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 29.72 กรัมต่อลิตร มีค่าความเข้มข้นจุลินทรีย์เท่ากับ 5.16×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และน้ำหนักผงจุลินทรีย์ผสมเท่ากับ 4.5 กรัม ให้ผลความเข้มข้นเอทานอลสูงที่สุด เท่ากับ 28.05 กรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นจุลินทรีย์เท่ากับ 4.74×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนระยะเวลาหมัก 3 วัน ให้ผลความเข้มข้นเอทานอลสูงที่สุด เท่ากับ 27.45 กรัมต่อลิตร และมีความเข้มข้นจุลินทรีย์เท่ากับ 3.01×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ข้อสังเกตที่ระยะเวลาหมัก 7 วัน ให้ผลความเข้มข้นเอทานอลแตกต่างกับที่เวลา 3 วัน เพียง 0.53 กรัมต่อลิตร แต่ผลความเข้มข้นจุลินทรีย์มากกว่าประมาณ 1.9×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังนั้น จึงสรุปสถานะที่เหมาะสมของการหมักลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในอาหารเหลว พีเอช 5 บ่มที่อุณหภูมิ $24 \pm 2^\circ\text{C}$ คือ ลำต้นสดข้าวฟ่างหวานหนัก 35 กรัม ผงจุลินทรีย์ผสมหนัก 4.5 กรัม ในอาหารเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร และระยะเวลาที่ใช้หมักนาน 7 วัน ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.3 ผลการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะจากลำต้นสคว้าวฟางหวานด้วยจุลินทรีย์ผสมโดยใช้วิธีการ
ทดลองออร์โทโกนอล

การ ทดลอง ที่	ลำต้นสคว้าว ฟางหวาน (กรัม)	ผง จุลินทรีย์ (กรัม)	เวลา หมัก (วัน)	เอทานอล เฉลี่ย (กรัม/ล.)	SD. เอทานอล	จุลินทรีย์ผสม เฉลี่ย (เซลล์/มล.)	SD. จุลินทรีย์ ผสม
1	20	1.5	3	24.84	0.85	1.86×10^7	4.95×10^5
2	25	1.5	5	25.59	0.43	4.00×10^7	3.54×10^6
3	30	1.5	7	23.93	0.08	0.59×10^7	1.41×10^5
4	35	1.5	9	24.28	0.58	5.88×10^7	5.30×10^6
5	20	3.0	5	25.85	0.15	2.30×10^7	1.77×10^6
6	25	3.0	7	20.52	0.24	2.13×10^7	1.77×10^6
7	30	3.0	9	19.61	0.54	8.75×10^7	1.41×10^7
8	35	3.0	3	30.41	0.19	1.95×10^7	3.54×10^5
9	20	4.5	7	30.47	0.48	5.50×10^7	3.54×10^6
10	25	4.5	9	22.36	0.10	2.15×10^7	7.07×10^5
11	30	4.5	3	27.93	1.01	2.61×10^7	3.75×10^6
12	35	4.5	5	31.42	0.29	6.00×10^7	3.54×10^6
13	20	6.0	9	23.51	0.23	7.88×10^7	1.94×10^7
14	25	6.0	3	26.64	0.21	6.38×10^7	8.84×10^6
15	30	6.0	5	24.47	0.32	10.50×10^7	2.83×10^7
16	35	6.0	7	32.77	0.29	6.25×10^7	7.07×10^6

ตารางที่ 4.4 ผลของปัจจัยของน้ำหนักลำต้นสคว้าวฟางหวานต่อความเข้มข้นเอทานอลและจุลินทรีย์ผสมจากการ
คำนวณโดยใช้วิธีการทดลองออร์โทโกนอล

ปัจจัยควบคุม	ระดับ (กรัม)	ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นจุลินทรีย์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
น้ำหนักลำต้นสคว้าวฟางหวาน	20	26.17	4.36×10^7
	25	23.78	3.21×10^7
	30	23.99	5.68×10^7
	35	29.72	5.16×10^7

ตารางที่ 4.5 ผลของปัจจัยของน้ำหนักรวมจุลินทรีย์ผสมต่อความเข้มข้นเอทานอลและจุลินทรีย์ผสมจากการคำนวณโดยวิธีการทดลองออร์โทโกนอล

ปัจจัยควบคุม	ระดับ (กรัม)	ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นจุลินทรีย์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
น้ำหนักรวมจุลินทรีย์ผสม	1.5	24.66	2.08×10^7
	3.0	24.10	3.80×10^7
	4.5	28.05	4.74×10^7
	6.0	26.85	7.78×10^7

ตารางที่ 4.6 ผลของปัจจัยของระยะเวลาหมักต่อความเข้มข้นเอทานอลและจุลินทรีย์ผสมจากการคำนวณโดยวิธีการทดลองออร์โทโกนอล

แฟกเตอร์ควบคุม	ระดับ (วัน)	ความเข้มข้นเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นจุลินทรีย์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
ระยะเวลาหมัก	3	27.45	3.01×10^7
	5	26.83	4.73×10^7
	7	26.92	4.91×10^7
	9	22.44	5.74×10^7

ตารางที่ 4.7 สภาวะที่เหมาะสมของการทดลองตามวิธีการทดลองออร์โทโกนอล

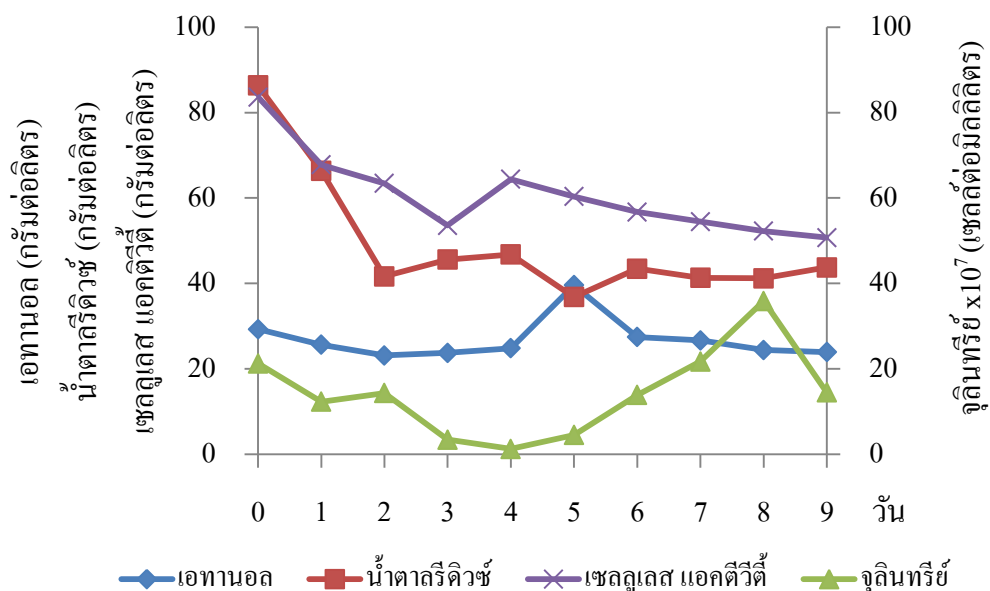
ลำต้นสดข้าวฟ่างหวาน (กรัม)	จุลินทรีย์ผสม (กรัม)	ระยะเวลาหมัก (วัน)
35	4.5	7

4.8 ผลการหมักเอทานอลถึงเหลวที่สภาวะเหมาะสมในระดับเขย่าขวดขนาด 5 ลิตร

เนื่องจากระบบที่ใช้หาสภาวะเหมาะสมคือขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้ปริมาตรควบคุมเท่ากับ 100 มิลลิลิตร งานวิจัยนี้ได้ทำการขยายขนาดขึ้นจากเดิมเป็นระดับเขย่าขวดรูปชมพู่ 5 ลิตร ปริมาตรควบคุมคืออาหารเหลวเท่ากับ 3 ลิตร (ขยายขนาดเป็น 30 เท่า) ใช้น้ำหนักลำต้นสดข้าวฟ่างหวานเท่ากับ 1050 กรัม และผงจุลินทรีย์ผสมเท่ากับ 135 กรัม ระยะเวลาที่ใช้หมักนาน 9 วัน ดังรูป 4.9



รูปที่ 4.9 การหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่สภาวะเหมาะสมในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร



รูปที่ 4.10 โปรไฟล์ความเข้มข้นเฉลี่ยของเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ เซลลูโลส แอคติวิตี และจุลินทรีย์ผสมของการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกะที่สภาวะเหมาะสมในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร

พิจารณาผลการทดลองจากรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.8 พบว่า ความเข้มข้นเฉลี่ยของจุลินทรีย์มีค่าลดลงตั้งแต่การหมักจากเวลาเริ่มต้นถึง 4 วัน ทำนองเดียวกับเซลลูโลส แอคติวิตี เนื่องจากข้าวฟ่างหวานถูกอัดหนาแน่นในขวดรูปชมพู่ จุลินทรีย์ส่วนหนึ่งหายไปอยู่ในข้าวฟ่างหวาน สารอาหารจึงไม่สามารถแพร่เข้าไปได้ จุลินทรีย์อีกส่วนหนึ่งจึงใช้เวลาในการปรับตัวจึงเหลือในตัวอย่างของเหลวน้อยลง ทำให้วัดจุลินทรีย์ได้ค่าน้อยลง แสดงว่าจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสารละลายมีจำนวนเซลล์น้อยกว่าอยู่ในต้นข้าวฟ่างหวานซึ่งเป็นของแข็งสังเกตจากมีสีเขียวสดที่เกิดขึ้นในขวด จนกระทั่งที่ระยะเวลาหมักนาน 5 วันเป็นต้นไป ความเข้มข้นของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอีกครั้ง และมีค่าสูงสุดที่ระยะเวลาหมักนาน 8 วัน

การหมักเอทานอลโดยใช้ระบบเขย่าขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตรนี้จึงไม่เหมาะสมเพราะจุลินทรีย์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ประมาณ 39.59 กรัมต่อลิตร หรือ 0.113 กรัม/กรัมข้าวฟ่างหวาน ที่ระยะหมักนาน 5 วัน หลังจากนั้นความเข้มข้นเอทานอลไม่เพิ่มขึ้นแต่กลับลดลงอย่างต่อเนื่องเพราะเอทานอลอาจเกิดการระเหยออกจากระบบ และสารอาหารเริ่มน้อยลงทำให้จุลินทรีย์ผสม (mixed cultures) ตาย

ตารางที่ 4.8 ผลของเวลาของการหมักเอทานอลแบบกะในขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตรต่อความเข้มข้นเฉลี่ยของเอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ เซลลูเลส แอคติวิตี จุลินทรีย์ผสมและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

เวลา (วัน)	ความเข้มข้น							
	กรัม/ลิตร						เซลล์/มล.	
	เอทานอล		น้ำตาลรีดิวิซ์		เซลลูเลส แอคติวิตี		จุลินทรีย์	
	เฉลี่ย	SD	เฉลี่ย	SD	เฉลี่ย	SD	เฉลี่ย	SD
0	29.28	1.44	86.36	0.85	83.62	5.29	2.13E+08	1.25E+07
1	25.63	1.56	66.33	1.20	67.79	0.22	1.23E+08	1.50E+07
2	23.11	0.59	41.63	0.73	63.43	0.57	1.43E+08	7.64E+06
3	23.74	0.87	45.56	2.64	53.57	4.56	3.42E+07	2.59E+06
4	24.82	1.26	46.77	2.27	64.39	1.94	1.23E+07	6.43E+05
5	39.59	1.30	36.82	0.57	60.36	0.79	4.50E+07	3.29E+06
6	27.45	0.55	43.45	1.55	56.72	1.08	1.39E+08	1.72E+07
7	26.66	0.62	44.78	3.99	54.48	0.43	2.17E+08	3.12E+07
8	24.41	0.42	41.21	0.93	52.24	0.00	3.59E+08	3.17E+07
9	23.93	0.22	43.74	0.80	50.70	0.76	1.45E+08	7.64E+06

หมายเหตุ: ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นของเอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ เซลลูเลส แอคติวิตี และจุลินทรีย์ผสมที่เวลาแต่ละวัน ของตารางที่ 4.8 ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ (ภาคผนวก ก ถึง ก)

4.9 ผลการหมักเอทานอลถึงเหลวแบบกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่สภาวะเหมาะสมในถังหมักขนาด 15 ลิตร

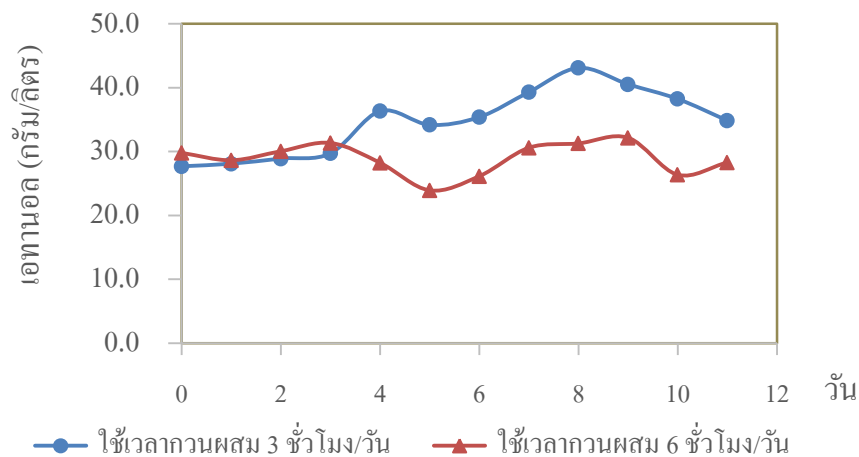
ผลการวิจัย แบ่งได้ตามผลการทดลอง ดังต่อไปนี้

4.9.1 ผลการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบเวลาที่ใช้กวนผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน

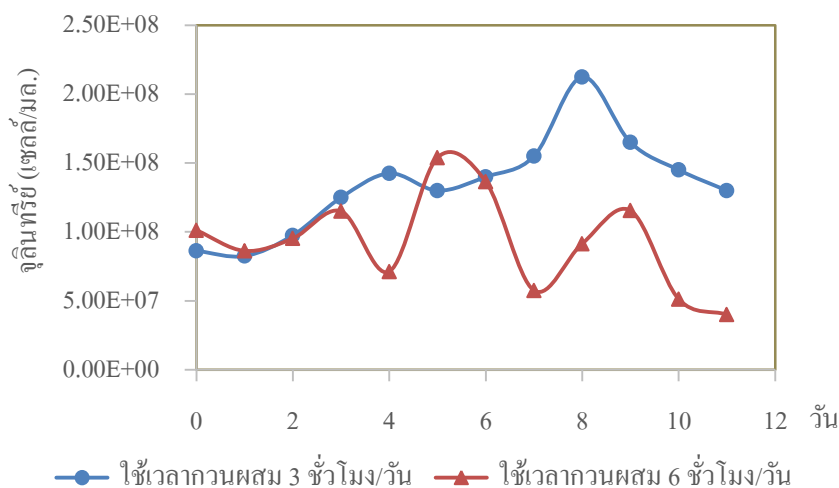
ผลการหมักในถังหมักขนาด 15 ลิตร โดยใช้ใบกวนแบบ paddle blade ความเร็วรอบเท่ากับ 200 รอบต่อนาที พบว่า เวลาที่ใช้กวนผสมเท่ากับ 3 ชั่วโมงต่อวัน เอทานอลเริ่มมีค่าเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลาหมักนาน 4 วัน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกวัน จนกระทั่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 43.11 กรัมต่อลิตร หรือ 0.123 กรัม/กรัมข้าวฟ่างหวาน

ที่ระยะเวลาหมักนาน 8 วัน ขณะที่การกวนผสม 6 ชั่วโมงต่อวันเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย มีค่าสูงสุดเท่ากับ 32.16 กรัมต่อลิตร หรือ 0.092 กรัม/กรัมข้าวฟ่างหวาน ที่ระยะเวลาหมักนาน 9 วัน ดังรูปที่ 4.11

ทำนองเดียวกันเวลาที่ใช้กวนผสม 3 ชั่วโมง จุลินทรีย์เติบโตสูงที่สุดที่ระยะเวลา 8 วัน มีค่าเท่ากับ 2.125×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และทำให้จุลินทรีย์เติบโตได้ดีและมีความสม่ำเสมอว่าเวลาที่ใช้กวนผสม 6 ชั่วโมงต่อวันซึ่งมีค่าแกว่งและน้อยกว่า ดังรูปที่ 4.12 เนื่องจากแรงเค้นจากการกวนผสมอาจทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตาย ขณะเดียวกันจุลินทรีย์ถูกเหวี่ยงไปติดด้านบนของถังหมัก ซึ่งสารอาหารจะอยู่ในของเหลว ดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.11 โปรไฟล์ความเข้มข้นของเอทานอลจากการหมักเอทานอลแบบกะใช้เวลากวนผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบเท่ากับ 200 รอบต่อนาทีในถังหมักขนาด 15 ลิตร



รูปที่ 4.12 โปรไฟล์ความเข้มข้นของจุลินทรีย์จากการหมักเอทานอลแบบกะใช้เวลากวนผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบเท่ากับ 200 รอบต่อนาทีในถังหมักขนาด 15 ลิตร

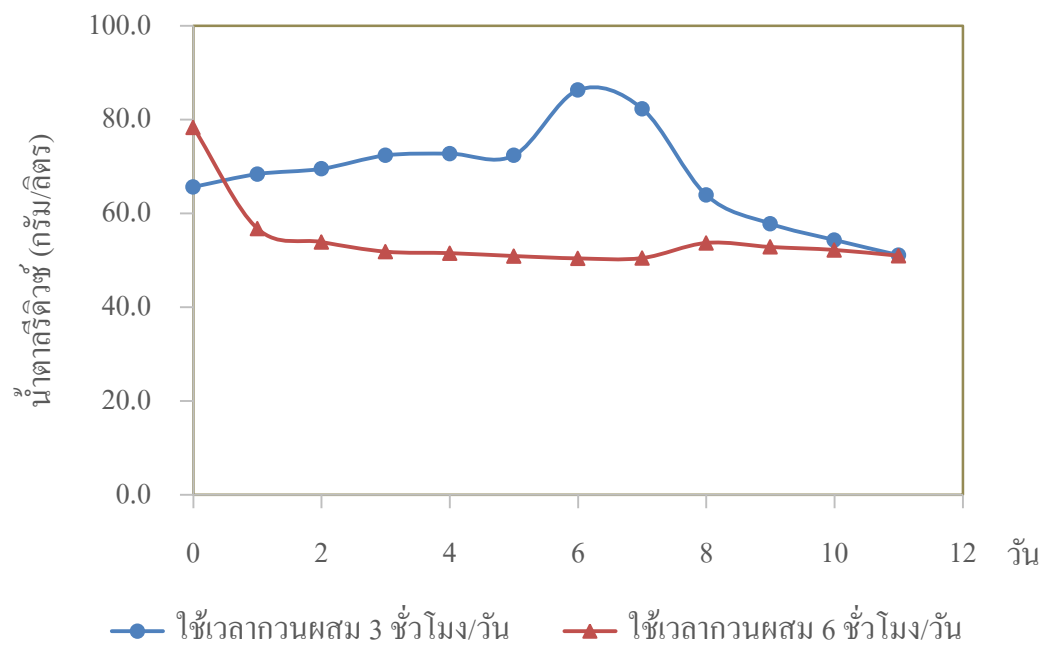


(ก)

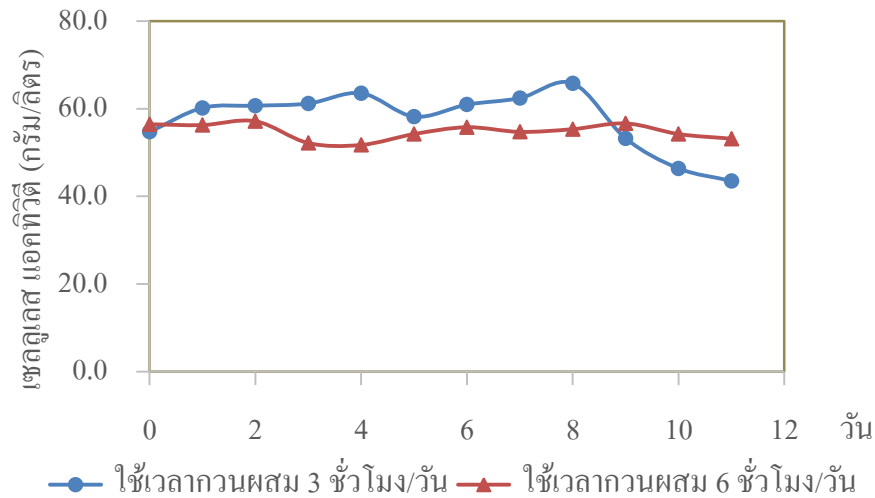


(ข)

รูปที่ 4.13 ตะกอนจุลินทรีย์ (สีเขียว) ภายในถังหมักขนาด 15 ลิตรเมื่อใช้เวลากวนผสมต่อวัน (ก) 3 ชั่วโมง (ข) 6 ชั่วโมง สำหรับใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วรอบเท่ากับ 200 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 15 ลิตร



รูปที่ 4.14 โปรไฟล์ความเข้มข้นของน้ำตาสดิจวซ์จากการหมักเอทานอลแบบกะใช้เวลากวนผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วเท่ากับ 200 รอบต่อนาทีในถังหมักขนาด 15 ลิตร



รูปที่ 4.15 โปรไฟล์ความเข้มข้นของคลอโรเลส แอคทีวิตีจากการหมักเอทานอลแบบกะใช้เวลาการผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ใบกวนแบบ paddle blade ที่ความเร็วเท่ากับ 200 รอบต่อนาที

ตารางที่ 4.9 ความเข้มข้นของเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ เซลลูเลส แอคทีวิตี และจุลินทรีย์ผสมกับเวลาที่ใช้การกวนผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน ใบกวนชนิด paddle blade ที่ความเร็วเท่ากับ 200 รอบต่อนาที

ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้น							
	(กรัมต่อลิตร)						(เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	
	เอทานอล		น้ำตาลรีดิวซ์		เซลลูเลส แอคทีวิตี		จุลินทรีย์ผสม	
	3 h/d	6 h/d	3 h/d	6 h/d	3 h/d	6 h/d	3 h/d	6 h/d
0	27.70	29.80	65.67	78.36	54.73	56.47	8.63×10^7	10.13×10^7
1	28.11	28.65	68.41	56.78	60.20	56.28	8.25×10^7	8.63×10^7
2	28.92	30.07	69.53	53.92	60.70	57.15	9.75×10^7	9.53×10^7
3	29.73	31.35	72.39	51.87	61.19	52.18	12.50×10^7	11.50×10^7
4	36.35	28.24	72.76	51.55	63.56	51.74	14.25×10^7	7.13×10^7
5	34.19	23.93	72.39	50.93	58.21	54.23	13.00×10^7	15.40×10^7
6	35.41	26.16	86.32	50.44	60.95	55.78	14.00×10^7	13.65×10^7
7	39.32	30.61	82.34	50.50	62.44	54.73	15.50×10^7	5.75×10^7
8	43.11	31.28	63.93	53.73	65.80	55.35	21.25×10^7	9.15×10^7
9	40.54	32.16	57.84	52.86	53.23	56.65	16.50×10^7	11.55×10^7
10	38.24	26.37	54.35	52.24	46.39	54.23	14.50×10^7	5.12×10^7
11	34.86	28.31	51.12	51.00	43.53	53.17	13.00×10^7	4.00×10^7

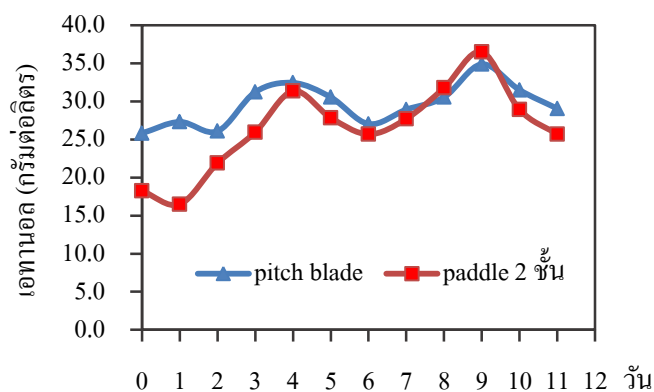
ผลของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการหมักเอทานอลแบบกะ ดังรูปที่ 4.14 พบว่า เมื่อใช้เวลากวนผสม 3 ชั่วโมงต่อวัน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และเพิ่มขึ้นอย่างมากที่ระยะเวลา 6-7 วัน หลังจากนั้น มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสภาวะนี้ จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้เพิ่มขึ้นตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงนาน 7 วัน และเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลไปพร้อมๆ กับจุลินทรีย์ได้เพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นด้วย เอทานอลที่เพิ่มขึ้นในถังหมักอาจยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้ทั้งจุลินทรีย์และน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง สำหรับเวลาที่ใช้กวนผสม 6 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วที่ระยะเวลา 1 วัน หลังจากนั้น ลดลงอีกเล็กน้อยและไม่เห็นการเปลี่ยนแปลง

ผลของเซลล์เลส แอคทีวิตี อธิบายได้ในทำนองเดียวกับน้ำตาลรีดิวซ์และจุลินทรีย์ ดังรูปที่ 4.15 สำหรับตารางที่ 4.9 เปรียบเทียบผลของความเข้มข้นเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ เซลล์เลส แอคทีวิตี และจุลินทรีย์กับระยะเวลาที่ใช้หมักจากการหมักแบบกะที่ใช้การกวนผสม 3 และ 6 ชั่วโมงต่อวัน พบว่า ผลได้ของเอทานอลที่ใช้เวลากวนผสม 3 ชั่วโมง/วันมีค่าประมาณร้อยละ 69 ส่วนความเข้มข้นของเซลล์เลส แอคทีวิตี และจุลินทรีย์มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 59 และ 20 ตามลำดับ

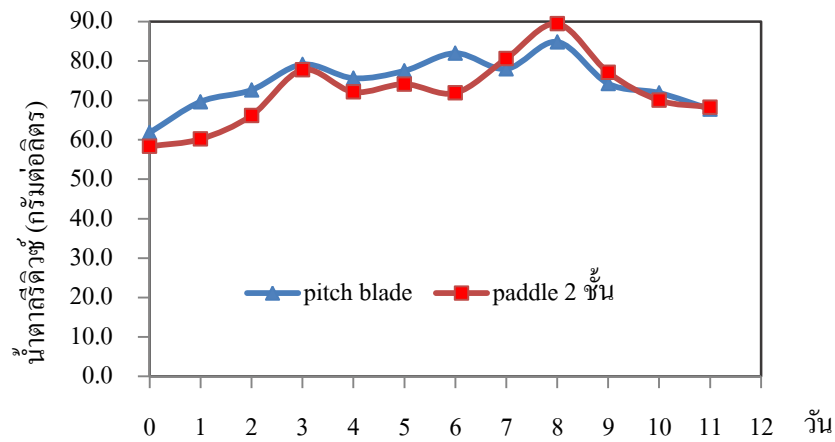
4.9.2 ผลการทดลองที่ 2 เปรียบเทียบชนิดของใบกวนแบบ pitch blade และ paddle blade

ผลการหมักเอทานอลแบบกะใช้เวลากวนผสม 3 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเร็วกวนผสมเท่ากับ 100 รอบต่อนาที ใช้ชนิดของใบกวนแบบ pitch blade และ paddle blade พบว่า ในช่วงเริ่มต้นถึงระยะเวลา 3 วัน การใช้ใบกวนแบบ pitch blade ดีกว่าใบกวนแบบ paddle blade เนื่องจากเมื่อปฏิบัติงานกับลำต้นสดข้าวฟ่างหวานซึ่งเป็นเส้นใยจะทำให้ไปพันติดบริเวณแกนกลางของใบกวนสองชั้น เพราะข้าวฟ่างยังแข็งจึงทำให้มอเตอร์หยุดทำงานเป็นช่วงๆ ในระหว่างกวนผสม ดังนั้น ตั้งแต่เริ่มต้นถึงระยะเวลานาน 3 วัน เมื่อใช้ใบกวนชนิด pitch blade เอทานอลที่ได้มีค่ามากกว่าชนิด paddle blade

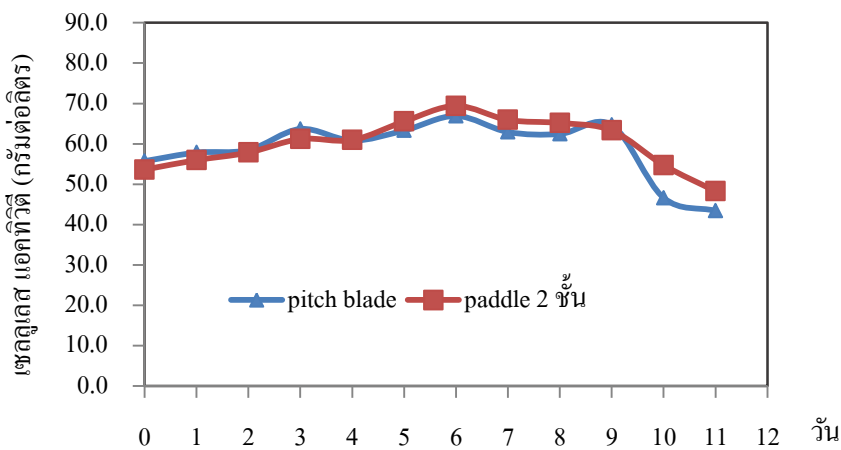
อย่างไรก็ตาม หลังจาก 4 วันเป็นต้นไป ชนิดของใบกวนไม่มีผลต่อการผลิตเอทานอลมากนัก ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากข้าวฟ่างหวานในถังหมักถูกทำให้ยุ่ยหรือมีขนาดเล็กกลงจึงไม่ติดกับใบกวน มอเตอร์ทำงานได้ต่อเนื่อง ผลโปรไฟล์ของความเข้มข้นต่างๆ ดังรูปที่ 4.16-4.19



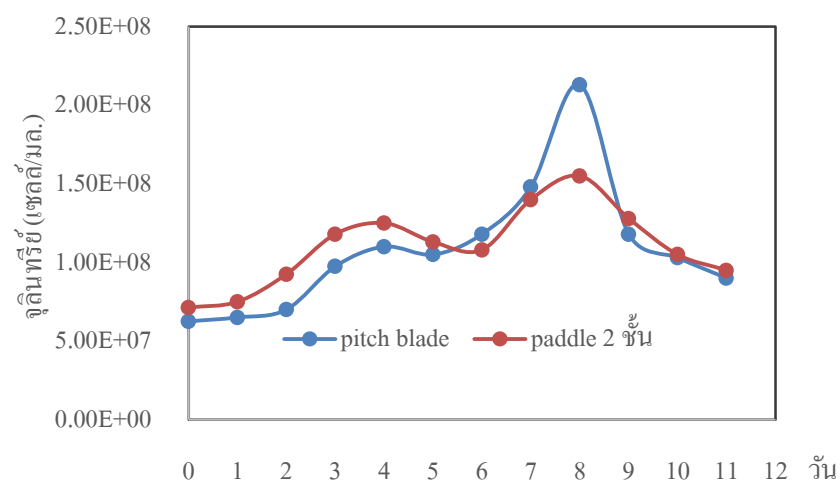
รูปที่ 4.16 โปรไฟล์เอทานอลเมื่อแปรผันชนิดใบกวนใช้เวลาผสม 3 ชั่วโมง/วัน ความเร็ว 100 รอบต่อนาที



รูปที่ 4.17 โปรไฟล์น้ำตาดริวซ์เมื่อแปรผันชนิดใบกวนเวลาผสม 3 ชั่วโมง/วัน ความเร็ว 100 รอบต่อนาที



รูปที่ 4.18 โปรไฟล์ของเซลล์ แอคทีวิตีเมื่อแปรผันชนิดใบกวน เวลาผสม 3 ชั่วโมง/วัน ความเร็ว 100 รอบต่อนาที



รูปที่ 4.19 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์เมื่อแปรผันชนิดใบกวน เวลาผสม 3 ชั่วโมง/วัน ความเร็ว 100 รอบต่อนาที

ตารางที่ 4.10 ผลของใบกวนชนิด pitch blade และ paddle blade ต่อความเข้มข้นเฉลี่ยของเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์ เซลลูโลส แอคติวิตี และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของการหมักเอทานอลแบบกะ

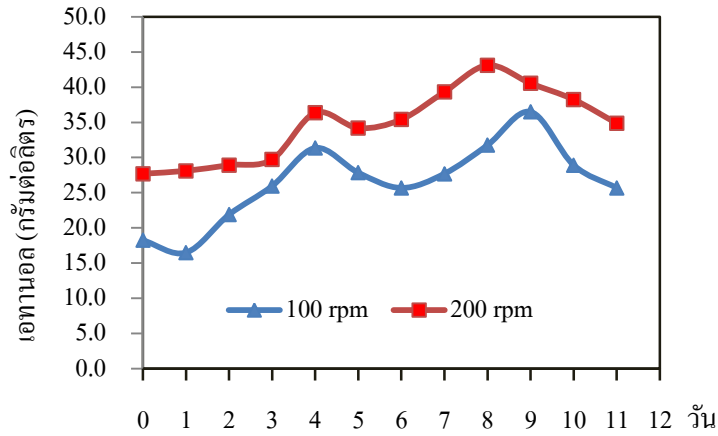
เวลา, วัน	pitch blade						paddle blade					
	เอทานอล		น้ำตาลรีดิวซ์		เซลลูโลส แอคติวิตี		เอทานอล		น้ำตาลรีดิวซ์		เซลลูโลส แอคติวิตี	
	กรัม/ล.	SD	กรัม/ล.	SD	กรัม/ล.	SD	กรัม/ล.	SD	กรัม/ล.	SD	กรัม/ล.	SD
0	25.81	0.57	61.82	0.53	55.72	0.70	18.24	1.34	58.33	0.18	53.61	0.18
1	27.30	0.38	69.65	0.00	57.84	1.23	16.49	0.38	60.20	0.70	55.97	0.35
2	26.08	0.19	72.64	1.06	58.46	0.00	21.89	1.15	66.17	0.35	57.84	0.53
3	31.22	0.19	79.10	2.46	63.68	0.00	25.95	0.76	77.74	0.88	61.19	0.70
4	32.43	0.38	75.62	0.35	60.82	0.18	31.35	0.76	72.14	0.35	60.95	0.00
5	30.54	2.29	77.49	0.53	63.31	0.18	27.84	0.00	74.13	1.06	65.55	1.23
6	27.03	3.06	81.97	0.18	66.92	0.00	25.68	1.15	71.89	0.35	69.40	0.70
7	28.92	0.76	77.99	0.53	62.94	0.00	27.70	0.57	80.60	0.00	65.92	0.00
8	30.54	1.15	84.83	1.41	62.44	0.00	31.76	0.96	89.43	0.53	65.17	0.35
9	34.05	0.00	74.25	0.88	64.68	0.35	36.49	0.00	77.11	0.70	63.31	0.18
10	31.49	0.19	71.89	0.35	46.64	0.18	28.92	0.76	70.02	0.18	54.73	0.35
11	29.05	0.19	67.79	0.53	43.41	0.18	25.68	0.00	68.28	0.18	48.26	0.00

เปรียบเทียบผลได้ของเอทานอลเมื่อใช้ใบกวนชนิด pitch blade กับ paddle blade พบว่า การใช้ใบกวนชนิด paddle blade ให้ค่าผลได้เอทานอลเท่ากับ 1.48 ซึ่งมากกว่าใบกวนชนิด pitch blade ที่มีผลได้เพียง 0.7 เอทานอลที่ได้และน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ เมื่อใช้ใบกวนชนิด paddle blade มีค่ามากกว่า ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ใบกวนชนิด paddle blade

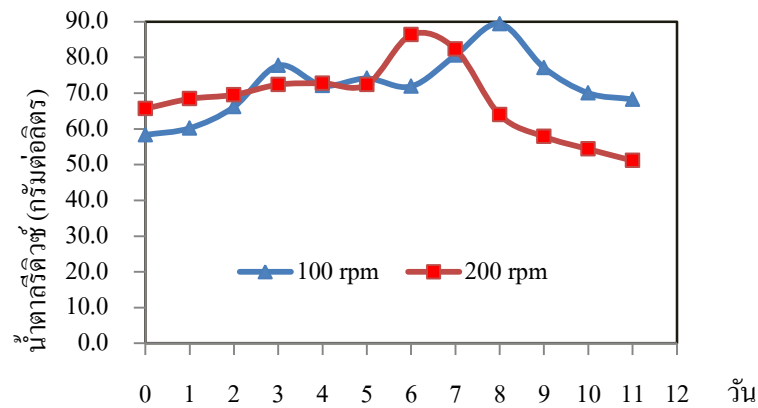
4.9.3 ผลการทดลองที่ 3 เปรียบเทียบอัตราเร็วของใบกวน 100 และ 200 รอบต่อนาที

ผลของการเลือกเวลาที่ใช้กวนผสมและชนิดใบกวนสำหรับการหมักเอทานอลแบบกะในถังหมักคือ เวลาที่ใช้กวนผสมเท่ากับ 3 ชั่วโมงต่อวัน และใบกวนชนิด paddle blade จากนั้นได้ทำการเปรียบเทียบอัตราเร็วของใบกวน 100 และ 200 รอบต่อนาที พบว่า อัตราเร็วใบกวนที่ 200 รอบต่อนาที เอทานอลที่ได้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 43.11 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาหมักนาน 8 วัน ขณะที่อัตราเร็วใบกวน 100 รอบต่อนาที เอทานอลที่ได้มีค่าสูงสุดเท่ากับ 36.49 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาหมักนาน 9 วัน ดังนั้น อัตราเร็วใบกวนเท่ากับ 200 รอบต่อนาทีจึงมีความเหมาะสมกว่า 100 รอบต่อนาที เพราะเอทานอลที่ได้มีค่ามากกว่าและเกิดขึ้นได้เร็วกว่า 1

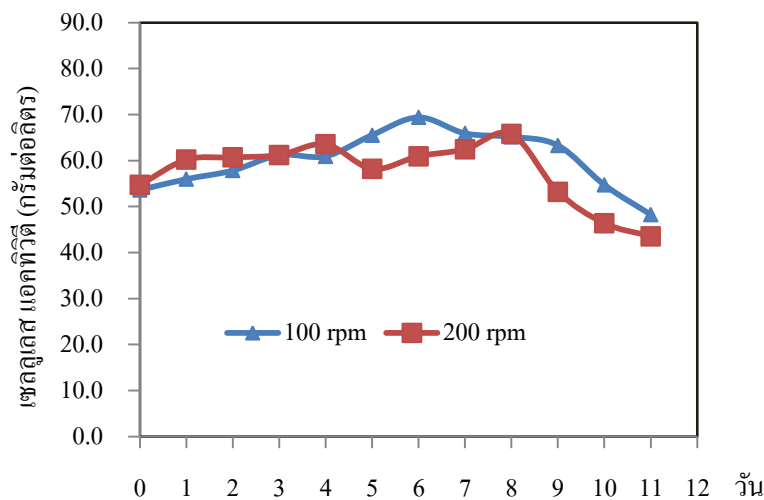
วัน ดังรูปที่ 4.20 เนื่องจากที่ความเร็วดังกล่าวทำให้เส้นใยไม่พันแกนใบพัด เส้นใยอยู่เร็วกว่า การแพร่ของมวลสารอาหารต่างๆ ดีกว่า ทำให้จุลินทรีย์ใช้เปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นเอทานอลได้ดีขึ้น ดังรูปที่ 4.21 ถึง 4.23



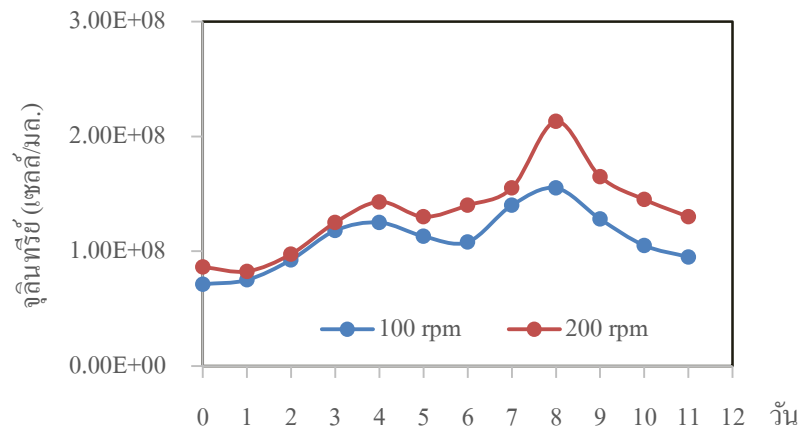
รูปที่ 4.20 โปรไฟล์ของเอทานอลใช้เวลากววน 3 ชั่วโมง/วันโดยแปรผันความเร็วใบกวนชนิด paddle blade



รูปที่ 4.21 โปรไฟล์ของน้ำตาลรีดิวซ์ใช้เวลากววน 3 ชั่วโมง/วันโดยแปรผันความเร็วใบกวนชนิด paddle blade



รูปที่ 4.22 โปรไฟล์เซลลูโลส แอคทีวิตีใช้เวลากววน 3 ชั่วโมง/วันโดยแปรผันความเร็วใบกวนชนิด paddle blade



รูปที่ 4.23 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์ใช้เวลาจน 3 ชั่วโมง/วัน แปรผันความเร็วใบกวนชนิด paddle blade

4.10 ผลของการหมักเอทานอลกึ่งเหลวแบบกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตรที่สภาวะเหมาะสม

การหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตร ที่สภาวะเหมาะสม เริ่มจากการคำนวณหาเวลาที่จุลินทรีย์เติบโตเป็นสองเท่าจากการหมักแบบกะก่อน เวลาที่คำนวณได้คือเวลาที่ต้องการใช้เติมอาหารเหลวที่เตรียมใหม่ลงในถังหมักเดิมโดยไม่มีการนำน้ำหมักออกจากถังหมัก การวิจัยนี้นำข้อมูลความเข้มข้นจุลินทรีย์จากการหมักเอทานอลระดับเขย่าขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตรมาใช้คำนวณหาจลนพลศาสตร์ของการเติบโตของจุลินทรีย์ ตามหลักการของอัตราการเติบโตของจุลินทรีย์เป็นอันดับที่ 1

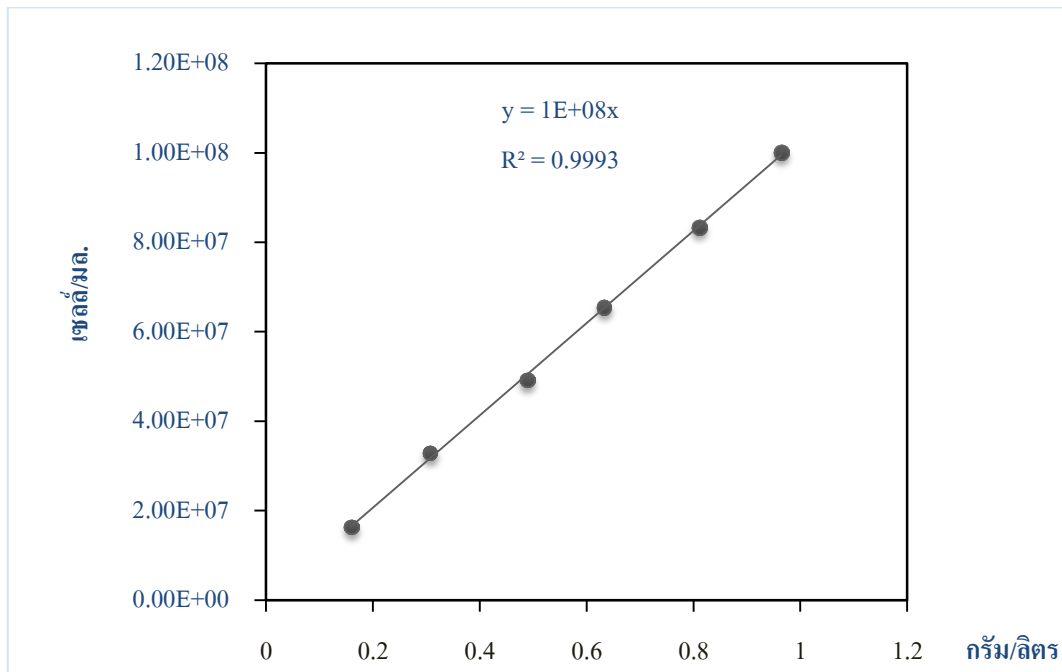
4.10.1 ผลของการหาเวลาที่จุลินทรีย์เติบโตเป็นสองเท่าสำหรับการหมักเอทานอลแบบกะ

พบว่า เวลาที่ต้องการเติมอาหารใหม่ลงในถังหมัก คือ 2 วัน ดังการคำนวณดังต่อไปนี้

■ สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ข้อมูลจากวิธีการทดลองหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (ภาคผนวก ก) เพื่อหา slope จากความสัมพันธ์สมการเส้นตรง นำไปใช้เปลี่ยนความเข้มข้นจุลินทรีย์จากหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตรเป็นกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.24

ตารางที่ 4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ ความเข้มข้นจุลินทรีย์

ความเข้มข้นจุลินทรีย์	
g/L	cell/mL
0.16	1.63E+07
0.307	3.29E+07
0.489	4.92E+07
0.633	6.54E+07
0.811	8.33E+07
0.964	1.00E+08



รูปที่ 4.24 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร และกรัมต่อลิตร

■ ผลจากการพล็อตกราฟจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตรและกรัมต่อลิตรสำหรับการหมักแบบกะในระดับเขย่าขวด 5 ลิตร ซึ่งมีความแม่นยำประมาณร้อยละ 99.93 ดังสมการ

$$x = \frac{y}{1E + 08}$$

โดยที่ x = ความเข้มข้นของจุลินทรีย์หน่วยกรัมต่อลิตร

y = ความเข้มข้นของจุลินทรีย์หน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตร

Slope = 1E+08 ได้จากการกราฟสมการเส้นตรง

■ ผลของ slope ที่ได้นำไปใช้เปลี่ยนความเข้มข้นในหน่วยเซลล์/มิลลิลิตรซึ่งวัดได้จากการทดลองเป็นน้ำหนักเซลล์แห้ง ในหน่วยกรัม/ลิตร ผลการคำนวณ ดังตารางที่ 4.12

■ จากนั้น คำนวณหา $\ln C$ และ $\ln C_0$ ดังตารางที่ 4.13

โดยที่ C_0 = ความเข้มข้นของจุลินทรีย์หน่วยกรัมต่อลิตรที่ระยะเวลาเริ่มต้น

C = ความเข้มข้นของจุลินทรีย์หน่วยกรัมต่อลิตรที่ระยะเวลาต่างๆ

ตารางที่ 4.12 ผลการคำนวณเปลี่ยนหน่วยความเข้มข้นของจุลินทรีย์เป็นน้ำหนักเซลล์แห้งของการหมัก
เอทานอลกึ่งเหลวแบบกะที่สภาวะเหมาะสม

ระยะเวลา (วัน)	เซลล์/มิลลิลิตร	X (กรัม/ลิตร)
0	1.73E+08	1.73
1	9.08E+07	0.91
2	1.17E+08	1.17
3	1.25E+08	1.25
4	1.28E+08	1.28
5	1.30E+08	1.30
6	1.40E+08	1.40
7	1.55E+08	1.55
8	1.62E+08	1.61
9	1.65E+08	1.65
10	1.45E+08	1.45
11	1.30E+08	1.30

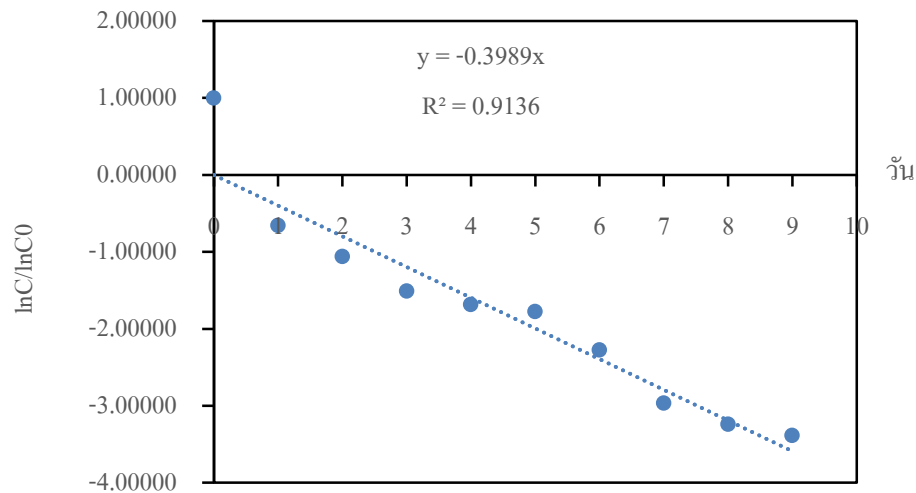
ตารางที่ 4.13 ผลการคำนวณสำหรับการหาเวลาที่จุลินทรีย์เติบโตเป็นสองเท่า

ระยะเวลา (วัน)	ความเข้มข้นจุลินทรีย์, C (กรัม/ลิตร)	lnC	lnC/lnC ₀
0	1.73	0.5452	1.0000
1	0.91	-0.0971	-0.6563
2	1.17	0.1570	-1.0616
3	1.25	0.2231	-1.5087
4	1.28	0.2488	-1.6823
5	1.30	0.2624	-1.7739
6	1.40	0.3365	-2.2750
7	1.55	0.4383	-2.9632
8	1.62	0.4793	-3.2409
9	1.65	0.5008	-3.3859
10	1.45	0.3716	-2.5123
11	1.30	0.2624	-1.7739

■ พล็อตกราฟระหว่าง $\ln C/C_0$ และระยะเวลา ได้สมการเส้นตรง slope เป็นลบ ดังรูปที่ 4.25 จากกราฟจะสมการเส้นตรงคือ

$$y = -0.399x$$

slope มีค่าเท่ากับ -0.399 และความแม่นยำประมาณร้อยละ 91.4 ($R^2 = 0.914$)



รูปที่ 4.25 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในหน่วยเซลล์ต่อมิลลิลิตรและกรัมต่อลิตร

■ หาระยะเวลาที่จุลินทรีย์เติบโตเป็นสองเท่าได้ ดังนี้

อัตราการเติบโตของจุลินทรีย์ช่วง exponential rate เป็นอันดับ 1 (first order reaction rate) นั่นคือ

$$\frac{dC}{dt} = -\mu C$$

อินทิเกรตได้เป็น

$$\ln \frac{C}{C_0} = -\mu t$$

เมื่อนำ $\ln \frac{C}{C_0}$ พล็อตกับ t จะได้สมการเส้นตรงที่มีค่า slope = μ

โดยที่ μ = ค่าคงที่จำเพาะของอัตราการเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งมีค่า = -0.399

t = ระยะเวลาที่ใช้หมัก

ระยะเวลาที่ทำให้จุลินทรีย์เพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นเริ่มต้น คือ

$$\ln \frac{2}{1} = -\mu t$$

$$t = \frac{0.693}{-\mu}$$

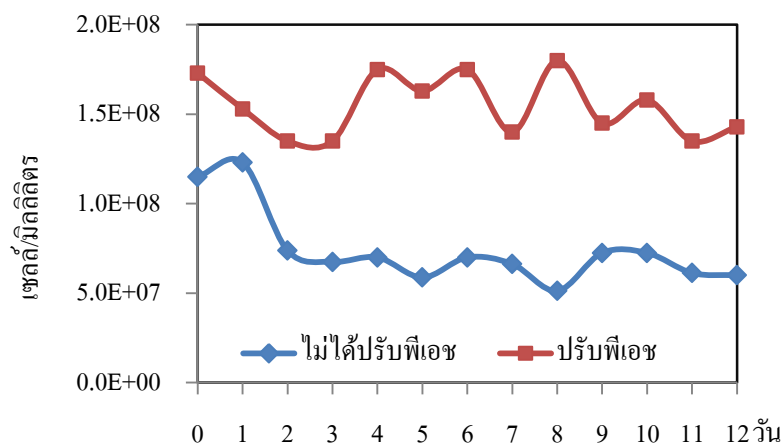
แทนค่า $\mu = -0.399$ ลงในสมการข้างต้นจะได้

$$t = 1.74 \text{ วัน หรือ } 41.7 \text{ ชั่วโมง ในทางปฏิบัติใช้ } 2 \text{ วัน}$$

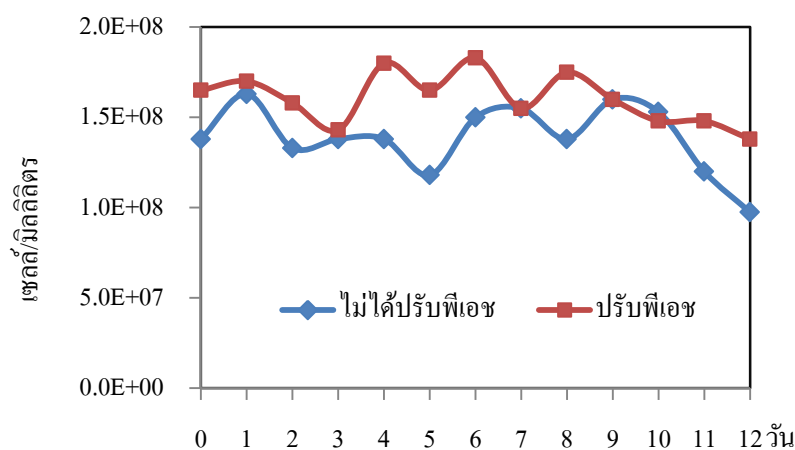
4.10.2 ผลที่ได้จากการทดลองเติมอาหารเหลวปริมาตร 300 และ 500 มิลลิลิตร

สำหรับการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะจากลำต้นสคว้าวางหวนด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่สภาวะเหมาะสม ทำการหมักแบบกะโดยใช้เวลากวนผสม 3 ชั่วโมงต่อวันและอัตราคนผสมที่ 200 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลานาน 48 ชั่วโมงก่อน จากนั้นจึงเติมอาหารเหลวใหม่ (ไม่มีน้ำตาล) ในถังหมักขนาด 15 ลิตร และเติมลงไปใหม่ ทุกๆ 2 วันหรือ 48 ชั่วโมง โดยที่ไม่มีการถ่ายน้ำหมักออกจากถังตลอดระยะเวลาที่ทำการหมัก 12 วัน ผลของการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะดังกล่าว มีดังนี้

■ ต้องทำการปรับค่าพีเอชของน้ำหมักหลังจากเติมอาหารเหลวใหม่ทุกครั้ง ไม่ว่าจะเติมอาหารเหลว ปริมาตร 300 หรือ 500 มิลลิลิตรก็ตาม เพราะมีผลต่อการเติบโตของจุลินทรีย์อย่างชัดเจน ดังรูปที่ 4.26 (ก) และ (ข) ความเข้มข้นจุลินทรีย์ที่ได้จากการปรับพีเอชมีค่ามากกว่าที่ไม่ได้ปรับพีเอชเมื่อเติมอาหารเหลวใหม่ทั้ง 300 และ 500 มิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ioannis Dogaris และคณะ, 2009 [19]



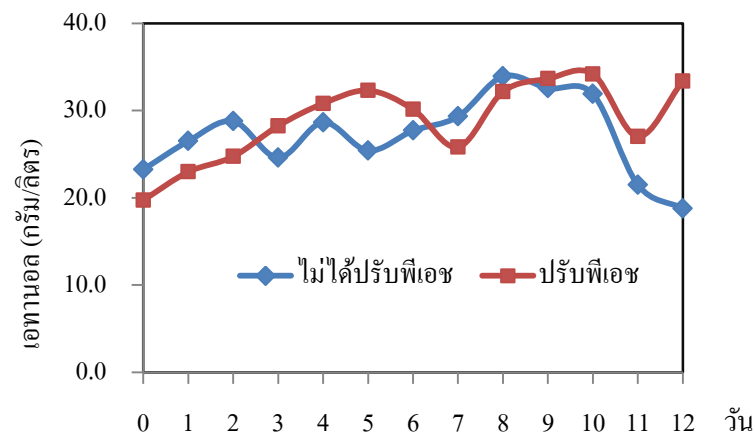
(ก)



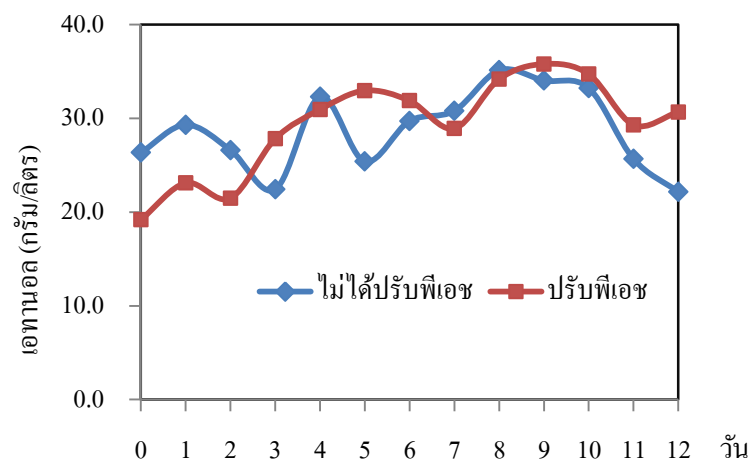
(ข)

รูปที่ 4.26 โปรไฟล์จุลินทรีย์ของการหมักกึ่งกะ เติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน

■ พิจารณาเอทานอลที่ได้จากการปรับพีเอช พบว่า อาหารเหลวที่เดิม 300 มิลลิลิตร เอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ระยะเวลาเริ่มต้นถึง 5 วัน ค่าสูงสุดเท่ากับ 34.19 กรัม/ลิตรที่เวลา 10 วัน และอาหารเหลวที่เดิม 500 มิลลิลิตร เอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ระยะเวลาเริ่มต้นถึง 5 วัน มีค่าสูงสุดเท่ากับ 35.81 กรัม/ลิตรที่ระยะเวลา 9 วัน ดังรูปที่ 4.27 (ก), (ข) และตารางที่ 4.14 ตามลำดับ



(ก)



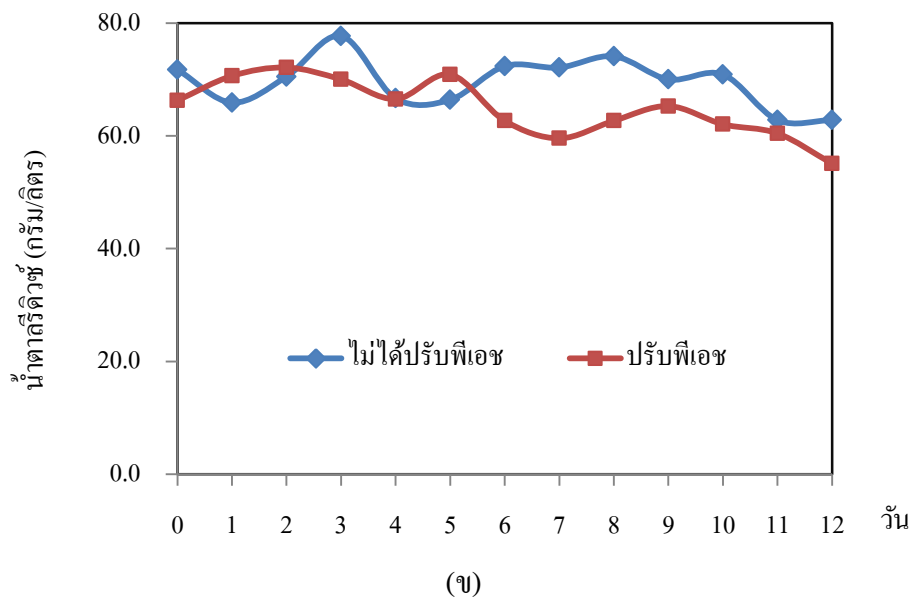
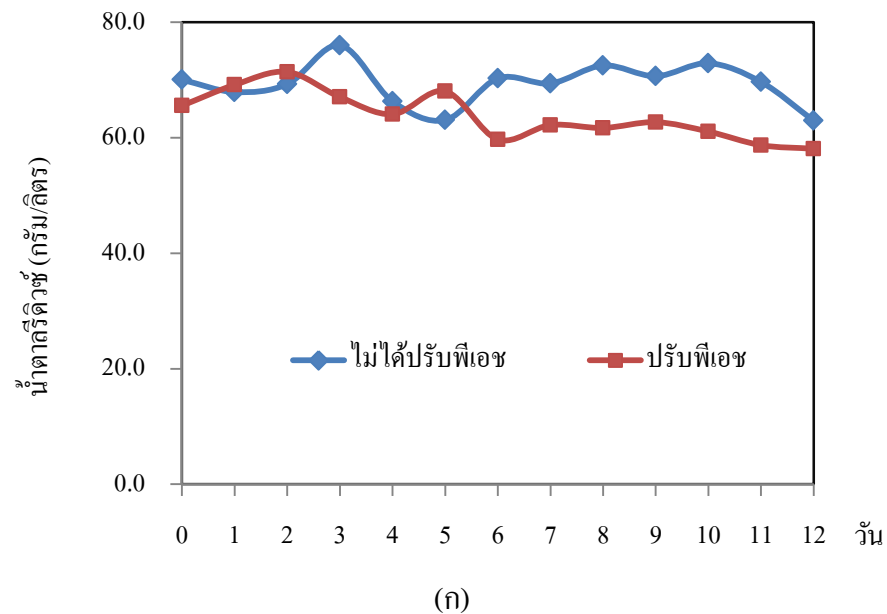
(ข)

รูปที่ 4.27 โปรไฟล์เอทานอลของการหมักกึ่งกะ เต็มอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน

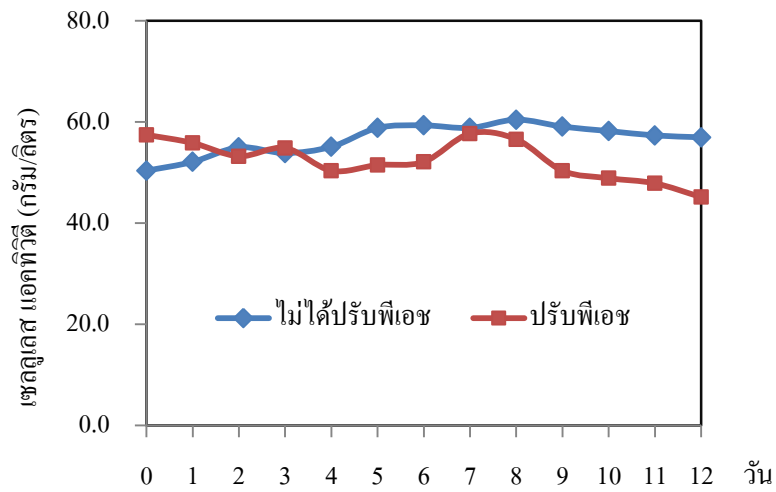
ตารางที่ 4.14 ผลผลิตขั้นที่ได้ค่าสูงสุดจากการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะโดยที่ปรับพีเอชเท่ากับ 5

ผลิตภัณฑ์	เต็มอาหารเหลว 300 มล.		เต็มอาหารเหลว 500 มล.	
	ความเข้มข้น	ระยะเวลา	ความเข้มข้น	ระยะเวลา
จุลินทรีย์	1.75×10^8 เซลล์/มล.	4 วัน	1.83×10^8 เซลล์/มล.	4 วัน
เอทานอล	34.19 กรัม/ลิตร	10 วัน	35.81 กรัม/ลิตร	9 วัน
น้ำตาลรีดิวซ์	71.39 กรัม/ลิตร	2 วัน	72.14 กรัม/ลิตร	2 วัน
เซลลูเลส แอคติวิตี	57.71 กรัม/ลิตร	7 วัน	54.48 กรัม/ลิตร	6 วัน

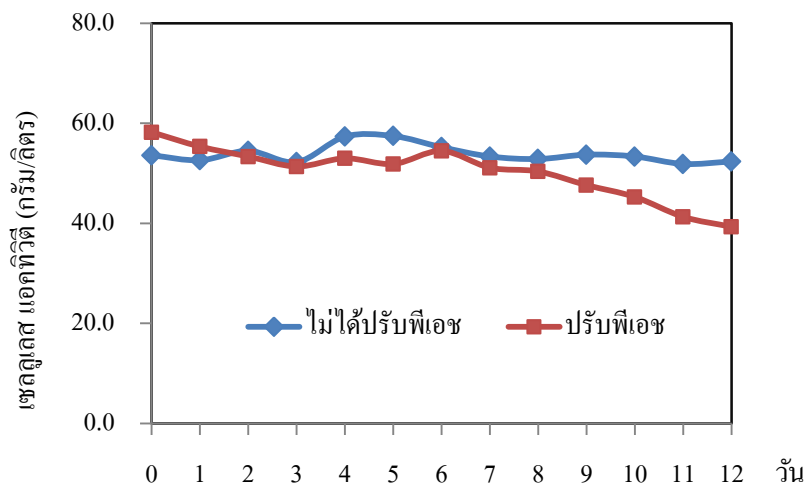
สำหรับโปรไฟล์น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอคติวิตีสำหรับการหมักกิ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เติมอาหารเหลว 300 และ 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน โดยที่ไม่ได้ปรับและปรับพีเอช พบว่ามีแนวโน้มไปในทำนองเดียวกัน การปรับหรือไม่ได้ปรับพีเอชไม่ได้ส่งผลกระทบต่อค่าของน้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอคติวิตีอย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 4.28 และ 4.29



รูปที่ 4.28 โปรไฟล์น้ำตาลรีดิวซ์ของการหมักกิ่งกะเติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.29 โปรไฟล์เซลลูเลส แอคทีวิตีของการหมักกึ่งกะที่เติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตร

ผลของการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะที่มีการปรับพีเอชเท่ากับ 5 ทุกวันและเติมอาหารเหลวที่เตรียมใหม่ 300 และ 500 มิลลิลิตร ลงในถังหมักทุกๆ 2 วัน พบว่า ค่าที่ได้จากการทดลอง ดังรูปที่ 4.30 ถึง 4.33 ถูกนำไปคำนวณผลได้เอทานอล (ดังตารางที่ 4.15) โดยใช้สมการ

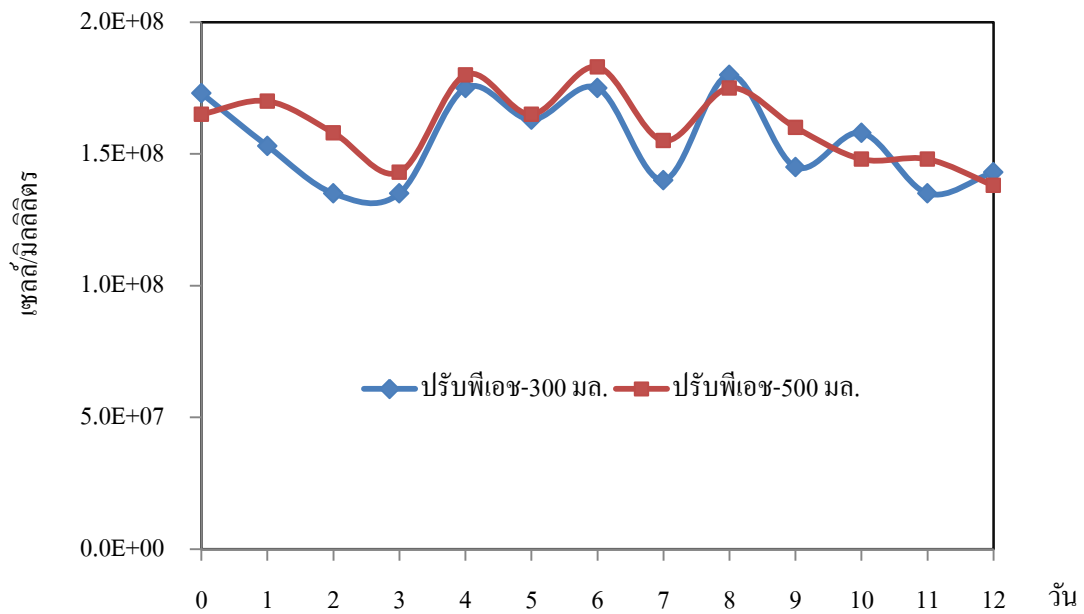
$$\text{ผลได้เอทานอล} = \frac{C_{ef} - C_{eo}}{C_{r0} - C_{rf}}$$

โดยที่ C_{eo} = ความเข้มข้นเอทานอลเริ่มต้น

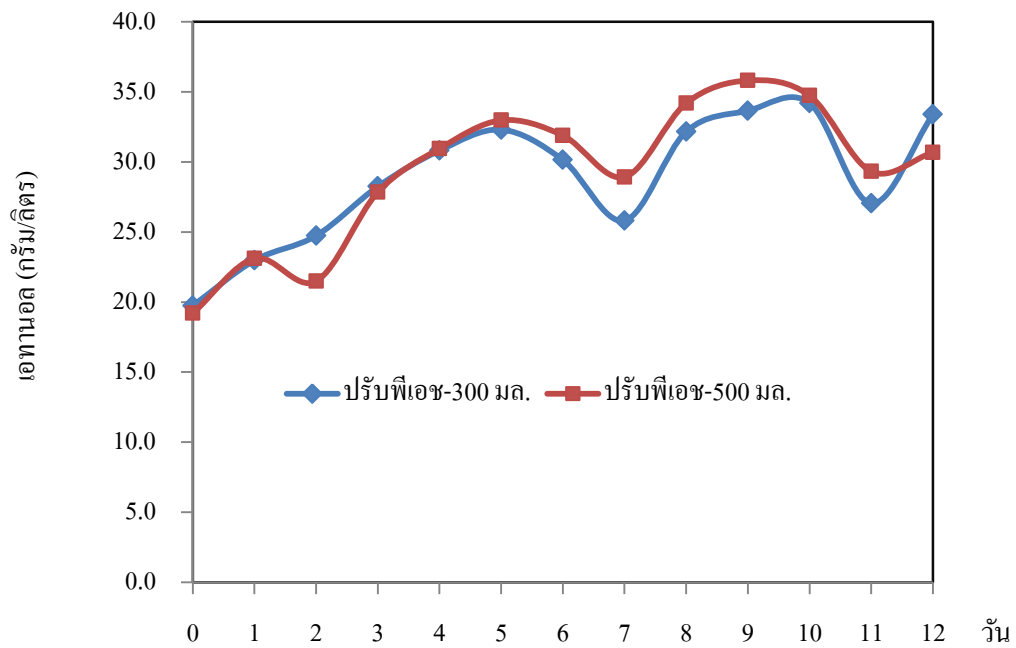
C_{ef} = ความเข้มข้นเอทานอลสุดท้าย

C_{rf} = ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้าย

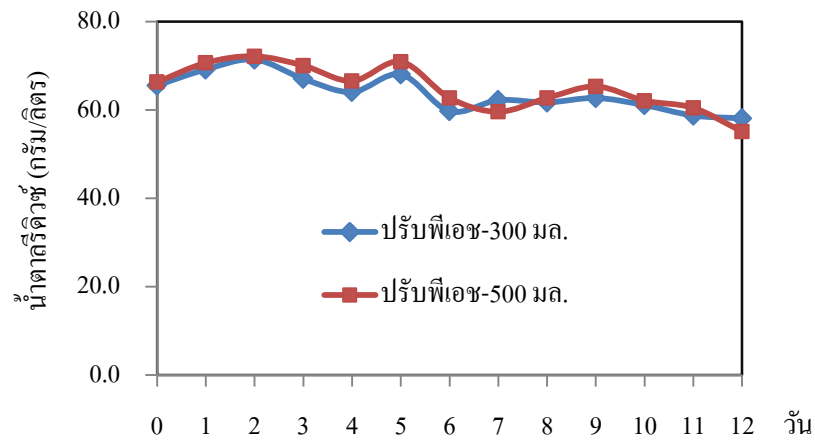
C_{r0} = ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น



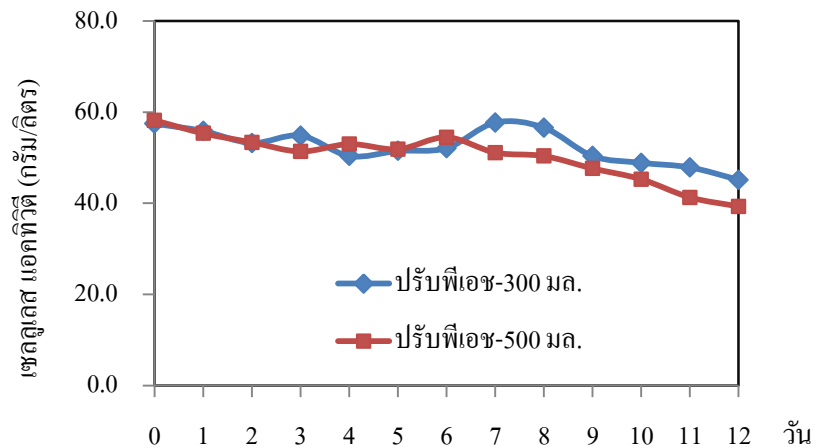
รูปที่ 4.30 โปรไฟล์กลูโคสสำหรับการหมักกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน และปรับพีเอช



รูปที่ 4.31 โปรไฟล์เอทานอลสำหรับการหมักกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน และปรับพีเอช



รูปที่ 4.32 โปรไฟล์น้ำตาลที่ละลายน้ำสำหรับการหมักกึ่งกะจากลำต้นสคว้าวฟางหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วัน และปรับพีเอช



รูปที่ 4.33 โปรไฟล์เซลลูโลส แอคทีวิตีของการหมักกึ่งกะจากลำต้นสคว้าวฟางหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เติมอาหารเหลว (ก) 300 และ (ข) 500 มิลลิลิตรทุกๆ 2 วันและปรับพีเอช

ตารางที่ 4.15 ผลได้ของเอทานอลสำหรับการหมักเอทานอลกึ่งกะเมื่อเติมอาหารเหลว 300 และ 500 มิลลิลิตร และมีการปรับพีเอช

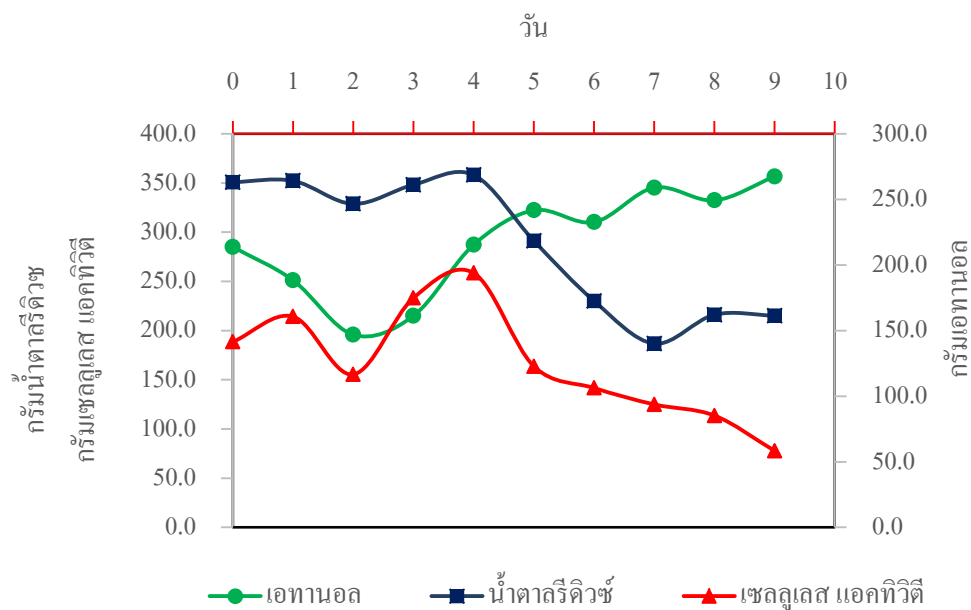
	ระยะเวลา	C_{ef}	C_{e0}	C_{r0}	C_{rf}	ผลได้เอทานอล
เติมอาหารเหลว 300 มล.	10	34.19	19.73	71.39	61.07	1.4
เติมอาหารเหลว 500 มล.	9	35.81	19.19	72.14	65.30	2.4

งานวิจัยนี้เลือกการเติมอาหารเหลว 500 มิลลิลิตร และปรับพีเอชเท่ากับ 5 ทุกๆ วัน เนื่องจากผลได้ของเอทานอลมีค่าเท่ากับ 1.4 และ 2.4 สำหรับการเติมอาหารเหลว 300 และ 500 มิลลิลิตร หรือการเติมอาหารเหลว 500 มิลลิลิตรให้ผลได้เอทานอลคิดเป็น 1.7 เท่าของการเติมอาหารเหลว 300 มิลลิลิตร และผลิตเอทานอลเร็วกว่า 1 วัน

4.11 ผลของการหมักเอทานอลกึ่งกะร่วมกับการรีไซเคิลจุลินทรีย์

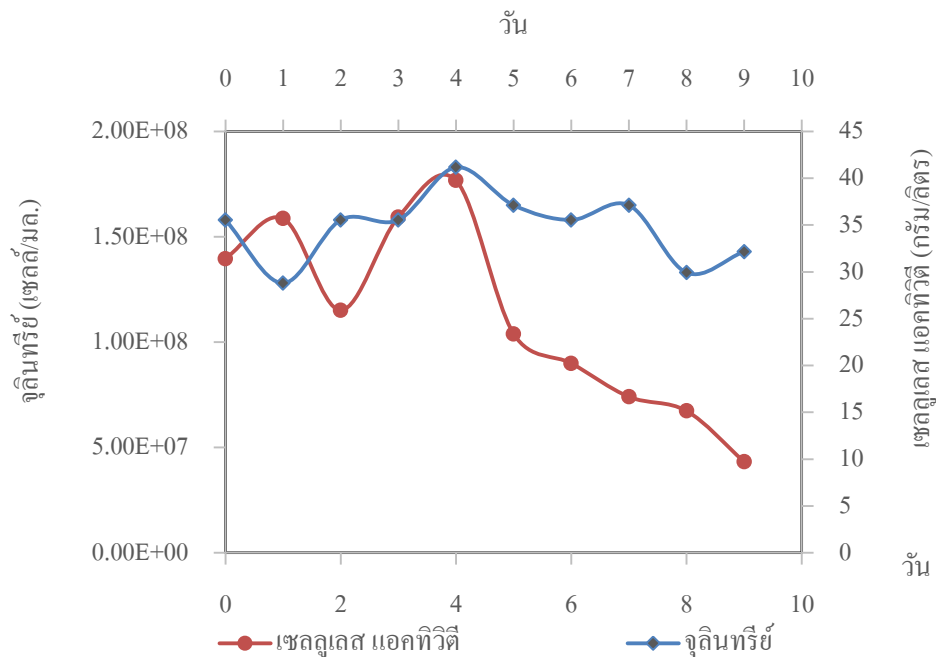
ดังนั้น จึงทำการหมักเอทานอลแบบกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมในถังหมักขนาด 15 ลิตร โดยเติมอาหารเหลวที่เตรียมใหม่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทุกๆ 2 วัน ปรับพีเอชเท่ากับ 5 กวนผสมวันละ 3 ชั่วโมง ที่อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ใช้ใบกวนชนิด paddle blade จากนั้นทิ้งให้ตกตะกอน 6 ชั่วโมง จึงเก็บตัวอย่างของเหลวส่วนใสไปวิเคราะห์ จากการทดลองพบว่า สามารถทำการหมักกึ่งกะต่อเนื่องได้นาน 54 วัน ผลการทดลอง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

การหมักแบบกึ่งกะดังกล่าวนี้ ที่ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มต้น (ปริมาตรน้ำหมักเท่ากับ 6 ลิตร) จนถึง 9 วัน (ปริมาตรน้ำหมักเท่ากับ 8 ลิตร) เติมน้ำตาลสดไม่ใส่น้ำตาลเพราะในลำต้นสดมีความหวานอยู่แล้ว พบว่าโปรไฟล์ของกรัมเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ระยะหมักนาน 4 วันถึง 9 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์ย่อยสลายและเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอล สังเกตจากโปรไฟล์ของกรัมน้ำตาลที่ลดลง ดังรูปที่ 4.34



รูปที่ 4.34 โปรไฟล์กรัมเอทานอล น้ำตาลรีดิคซ์และเซลลูโลส แอคทีวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 9 วัน

สำหรับโปรไฟล์เซลลูโลส แอคทีวิตีลดลง ส่วนจุลินทรีย์ในน้ำหมักมีค่าเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ ดังรูปที่ 4.35 เนื่องจากการวัดความเข้มข้นจากตัวอย่างที่เป็นของเหลว แต่ในถังหมักมีลำต้นสดข้าวฟ่างหวานซึ่งเป็นิ่ง ไม่สามารถวัดความเข้มข้นจุลินทรีย์และเซลลูโลส แอคทีวิตีที่อยู่ในของแข็งได้ จะเห็นได้ว่าโปรไฟล์ของเซลลูโลส แอคทีวิตีในน้ำหมักมีแนวโน้มตรงกันข้ามกับโปรไฟล์ของเอทานอล แต่มีความคล้ายคลึงกับโปรไฟล์ของน้ำตาลรีดิคซ์ (รูปที่ 4.34)

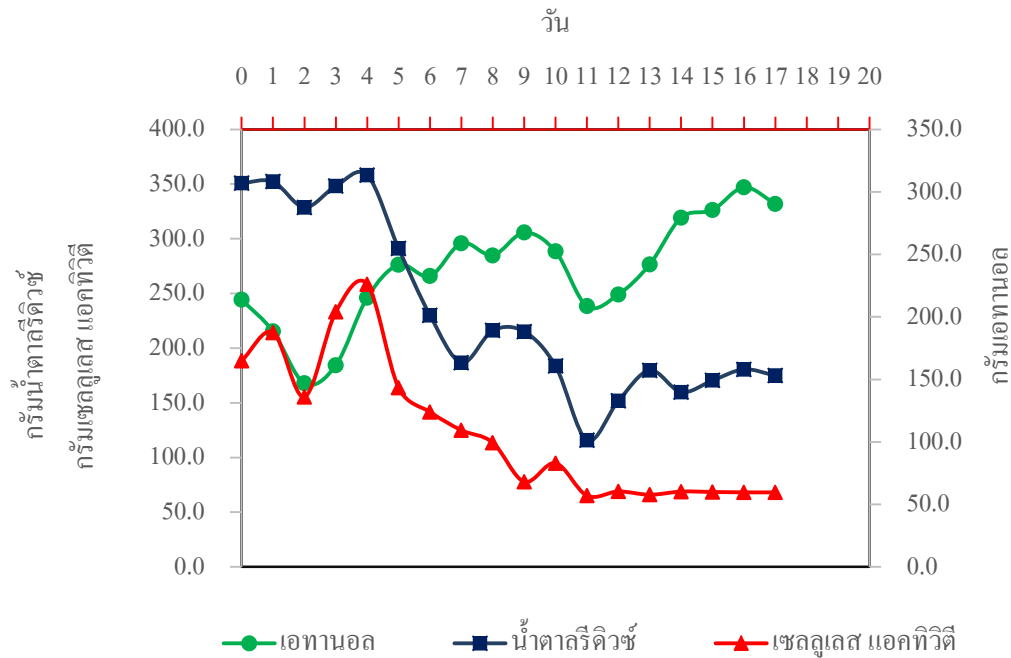


รูปที่ 4.35 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์และธาตุเหล็ก แอคทีวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสาคั่ว ฟางหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 9 วัน

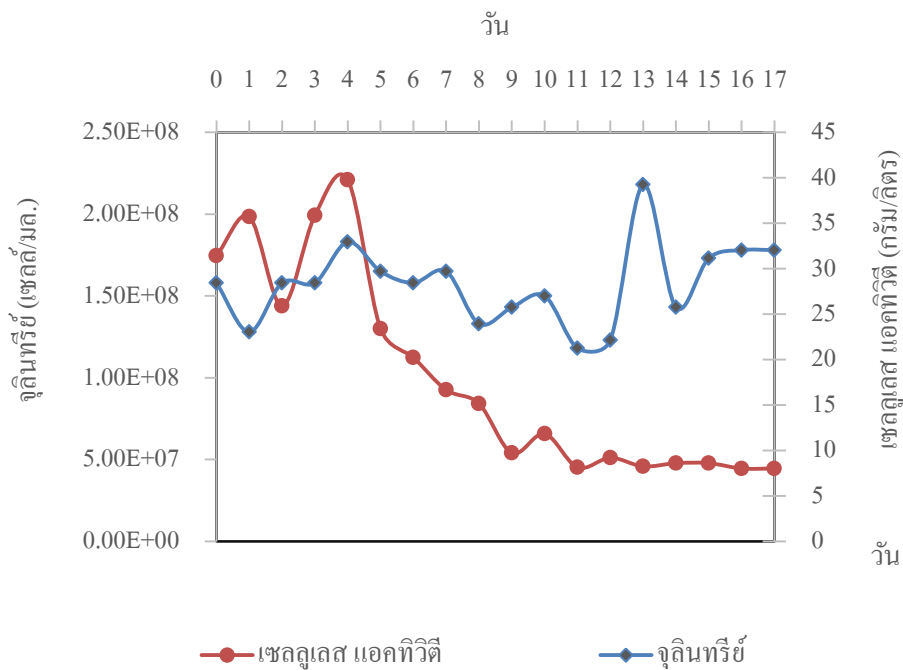
ผลของการศึกษาความเร็วในการกรองที่ความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที จากการเติมอาหารเหลวที่มี น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร (ตารางที่ 3.5) ดังนี้

ครั้งที่ 1 เริ่มที่เวลาหมักนาน 10 วัน กรองน้ำหมักเพื่อแยกข้าวฟ่างหวานออกจากของเหลวเบื้องต้น เก็บ ส่วนที่เป็นของเหลวปริมาตร 1 ลิตรเพื่อนำไปกรองผ่านเครื่องกรองแบบเยื่ออัลตรา และเติมอาหารเหลวที่มี น้ำตาลเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตรลงในถังหมักทุกๆ 2 วัน จากนั้นเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมัก ต่อไปพร้อมกับเติมอาหารเหลวที่มีน้ำตาลทุกๆ 2 วัน จนกระทั่งได้ปริมาณน้ำหมักเท่ากับ 9 ลิตร ที่ระยะเวลาหมัก นาน 17 วัน พบว่า โปรไฟล์กรัมเอทานอลเพิ่มขึ้น สำหรับโปรไฟล์ของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง เอทานอลที่ได้มี ค่าสูงสุดเท่ากับ 303.63 กรัมหรือมีความเข้มข้นเท่ากับ 35.72 กรัมต่อลิตร

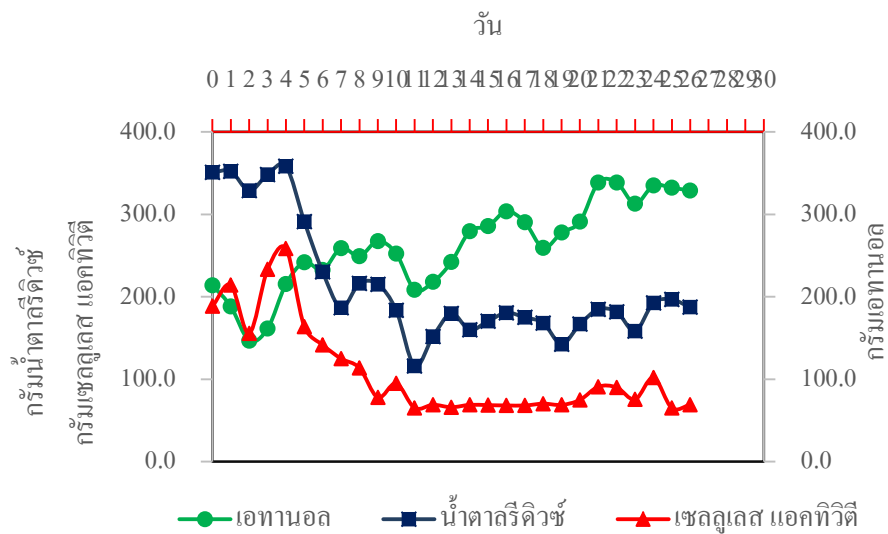
สำหรับโปรไฟล์ของจุลินทรีย์ พบว่า การหมักเอทานอลกึ่งกะจนถึงระยะเวลาหมักนาน 17 วัน มี แนวโน้มค่อนข้างคงที่ มีค่าความเข้มข้นจุลินทรีย์เฉลี่ยประมาณ 1.66×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สำหรับธาตุเหล็ก แอคทีวิตีในน้ำหมักมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อเทียบกับการเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำหมัก นั่นคือ ธาตุเหล็ก แอคทีวิตี อาจจะมีในส่วนของกระบวนการย่อยสลายบนลำต้นสาคั่ว ฟางหวาน จึงได้เอทานอลเพิ่มขึ้น แต่ธาตุเหล็ก แอคทีวิตีในน้ำหมักได้น้อยลง เพราะว่าธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกมาจากจุลินทรีย์ระหว่างการเติบโตโดยใช้ น้ำตาล ขณะเดียวกันธาตุเหล็กก็จะเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำตาลและจุลินทรีย์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลไป พร้อมๆ กัน ดังรูปที่ 4.36 และ 4.37



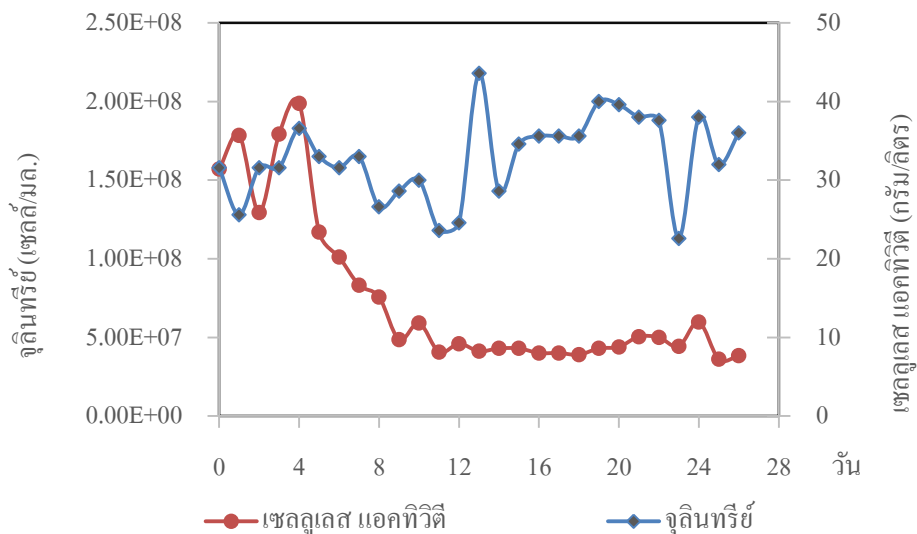
รูปที่ 4.36 โปรไฟล์กรัมเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูโลส แอคติวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 17 วัน



รูปที่ 4.37 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์และเซลลูโลส แอคติวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 17 วัน



รูปที่ 4.38 โปรไฟล์กรัมเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูโลส แอคติวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 26 วัน



รูปที่ 4.39 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์และเซลลูโลส แอคติวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 26 วัน

การศึกษาความเร็วในการกรองที่ความเร็ว 0.1 เมตรต่อวินาที ครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 (ตารางที่ 3.5) โดยกรองน้ำหมักเพื่อแยกต้นข้าวฟ่างหวานออกจากของเหลว เก็บส่วนที่เป็นของเหลวปริมาตร 1 ลิตรเพื่อนำไปกรองผ่านเครื่องกรองแบบเยื่ออัลตราที่ระยะเวลาหมักนาน 18 และ 22 วัน เติมหอาหารเหลว 200 มิลลิลิตร (มีความเข้มข้นเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร) ร่วมกับรีไซเคิลจุลินทรีย์ที่กรองได้ในรีเทนเตดปริมาตร 300 มิลลิลิตร สำหรับที่ระยะเวลาหมักนาน 20 และ 24 วัน เติมหอาหารเหลวมีน้ำตาลเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500

มิลลิลิตรเพื่อควบคุมปริมาตรน้ำหมักไว้ที่ 9 ลิตร พบว่า โปรไฟล์กรัมเอทานอลเพิ่มขึ้น ขณะที่โปรไฟล์ของน้ำตาลรีดิวซ์ค่อนข้างคงที่ ส่วนกรัมของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากจุลินทรีย์ในถังหมักถูกรักษาให้มีความเข้มข้นสูงและค่อนข้างคงที่ ทำให้เอทานอลเฉลี่ยมีค่าประมาณ 331 กรัมหรือมีความเข้มข้นเท่ากับ 37.5 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.38 และ 4.39

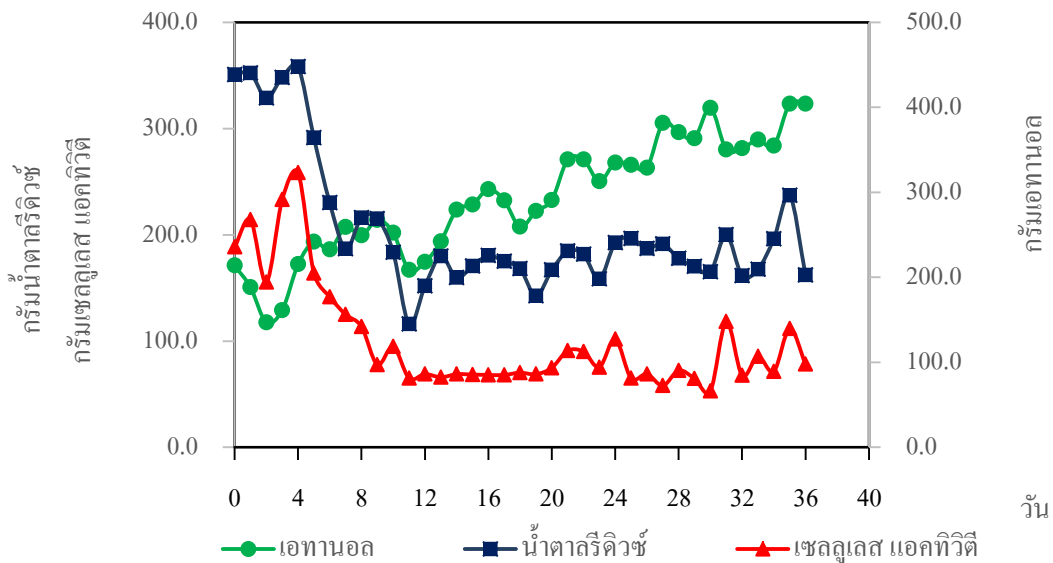
ผลของการศึกษาความเร็วในการกรองที่ความเร็ว 0.2 เมตรต่อวินาที ครั้งที่ 1 ถึง 3 (ตารางที่ 3.5) โดยกรองน้ำหมักเพื่อแยกต้นข้าวฟ่างหวานออกจากของเหลว เก็บส่วนที่เป็นของเหลวปริมาตร 1 ลิตรเพื่อนำไปกรองผ่านเครื่องกรองแบบเยื่ออัลตราที่ระยะเวลาหมักนาน 26, 30 และ 34 วัน เติมน้ำอาหารเหลวมีน้ำตาลเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งที่ระยะเวลาหมักนาน 28, 32 และ 36 วัน สำหรับการเติมน้ำอาหารเหลวมีน้ำตาลเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตรร่วมกับรีไซเคิลจุลินทรีย์ที่กรองได้ในรีเทนเตดปริมาตร 300 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งที่ระยะเวลาหมักนาน 26, 30 และ 34 วัน ในถังหมักจะรักษาปริมาตรน้ำหมักไว้ที่ 9 ลิตรก่อนการเก็บตัวอย่างไปทำการกรอง 1 ลิตร พบว่า เอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูโลส แอคติวิตีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.40 ทั้งนี้เกิดจากจุลินทรีย์ย่อยสลายลำต้นสดข้าวฟ่างหวานได้เกือบหมด สังเกตจากใบกวนกวนได้อย่างอิสระ และในถังหมักส่วนใหญ่เป็นของเหลว ของแข็งมีปริมาณน้อยลง

ผลการเติมน้ำลำต้นสดข้าวฟ่างหวานใหม่ที่ปลอดเชื้อลงในถังหมักอีกเท่ากับ 1050 กรัมที่ระยะเวลาหมักนาน 35 วัน ทำให้จุลินทรีย์เติบโตได้ดี เพราะมีสับสเตรทเพิ่มขึ้นนั่นเอง พิจารณาได้จากโปรไฟล์ของความเข้มข้นจุลินทรีย์ ส่วนโปรไฟล์ของเซลลูโลส แอคติวิตี มีแนวโน้มตรงข้ามกับจุลินทรีย์ เพราะผลที่วัดได้มาจากน้ำหมัก แสดงว่า จุลินทรีย์ที่แขวนลอยในน้ำหมักปลดปล่อยเซลลูโลส แอคติวิตีได้น้อยลงเมื่อเติบโตมากขึ้น ดังรูปที่ 4.41

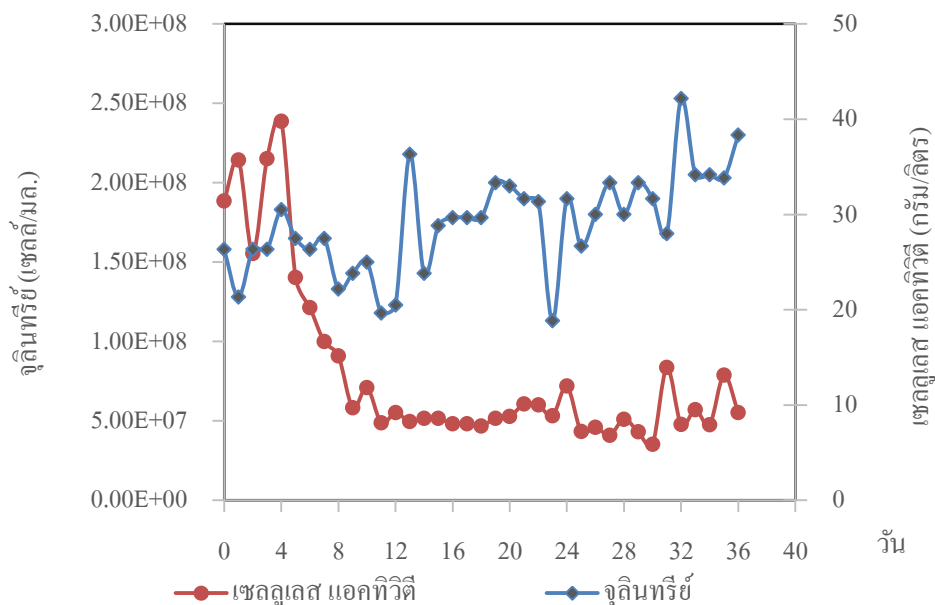
เนื่องจากการหมักเอทานอลกึ่งกะได้ผ่านระยะเวลาหมักนานถึง 38 วัน ระบบยังสามารถดำเนินการต่อไปได้ จึงปรับความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในถังหมักให้มีค่าประมาณ 40 กรัมต่อลิตรเมื่อเติมน้ำอาหารเหลวใหม่ทุกๆ 2 วัน และยังคงรีไซเคิลจุลินทรีย์ที่กรองได้กลับคืนถังหมักปริมาตร 300 มิลลิลิตร ร่วมกับอาหารเหลวใหม่ 200 มิลลิลิตรเหมือนเดิม โดยเริ่มที่ระยะเวลาหมักนาน 39 วันเป็นต้นไป

สำหรับผลของการศึกษาความเร็วในการกรองที่ความเร็ว 0.3 เมตรต่อวินาที (ตารางที่ 3.5) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยกรองน้ำหมักเพื่อแยกต้นข้าวฟ่างหวานออกจากของเหลว เก็บส่วนที่เป็นของเหลวปริมาตร 1 ลิตรเพื่อนำไปกรองผ่านเครื่องกรองแบบเยื่ออัลตราที่ระยะเวลาหมักนาน 38, 42 และ 46 วัน เติมน้ำอาหารเหลวให้น้ำหมักมีน้ำตาลเข้มข้นประมาณ 40 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งที่ระยะเวลาหมักนาน 40, 44 และ 48 วัน สำหรับการเติมน้ำอาหารเหลวให้น้ำหมักมีน้ำตาลเข้มข้นประมาณ 40 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตรร่วมกับรีไซเคิลจุลินทรีย์ที่กรองได้ในรีเทนเตดปริมาตร 300 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งที่ระยะเวลาหมักนาน 38, 42 และ 46 วัน ในถังหมักจะรักษาปริมาตรน้ำหมักไว้ที่ 9 ลิตรก่อนการเก็บตัวอย่างไปทำการกรอง 1 ลิตร พบว่า เอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูโลส แอคติวิตีมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เพราะว่าจุลินทรีย์เติบโตได้อย่าง

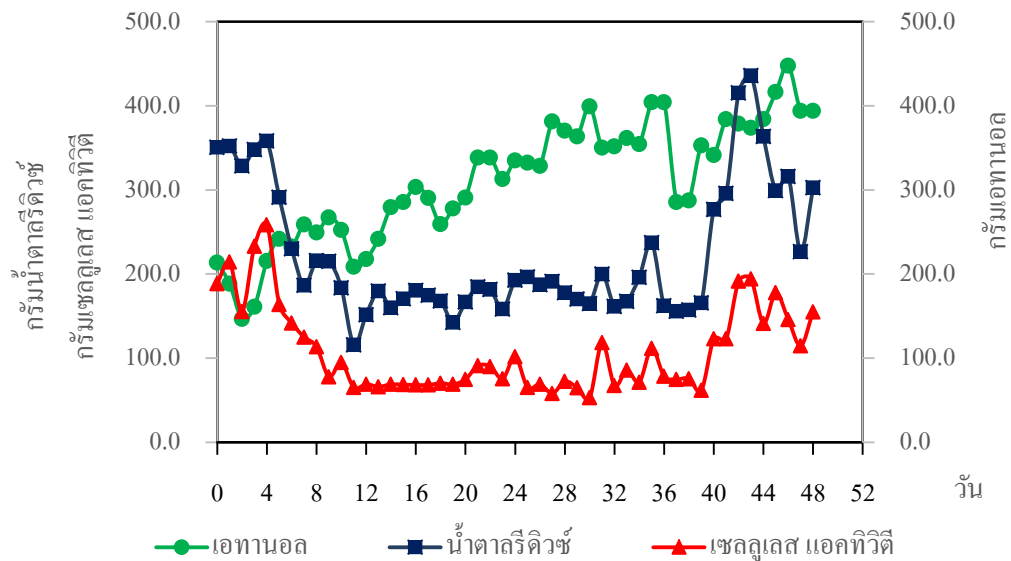
รวดเร็วจากการเพิ่มน้ำตาลขึ้นในน้ำหมัก จึงทำให้ปลดปล่อยเซลลูเลสออกมา และเปลี่ยนเส้นใยเป็นน้ำตาลได้มากขึ้น เอทานอลจึงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องและมีค่าสูงสุดประมาณ 447.8 กรัม ที่ระยะเวลาหมักนาน 46 วัน ถึงแม้ว่าน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเพราะจุลินทรีย์ใช้ในการเติบโตและเปลี่ยนเป็นเอทานอลก็ตาม น้ำตาลยังคงมีในน้ำหมักสูงกว่าที่ระยะเวลาหมักที่ผ่านมา ทำนองเดียวกับเซลลูเลส แอคติวิตี ดังรูปที่ 4.42



รูปที่ 4.40 โปรไฟล์กรัมเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอคติวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 36 วัน

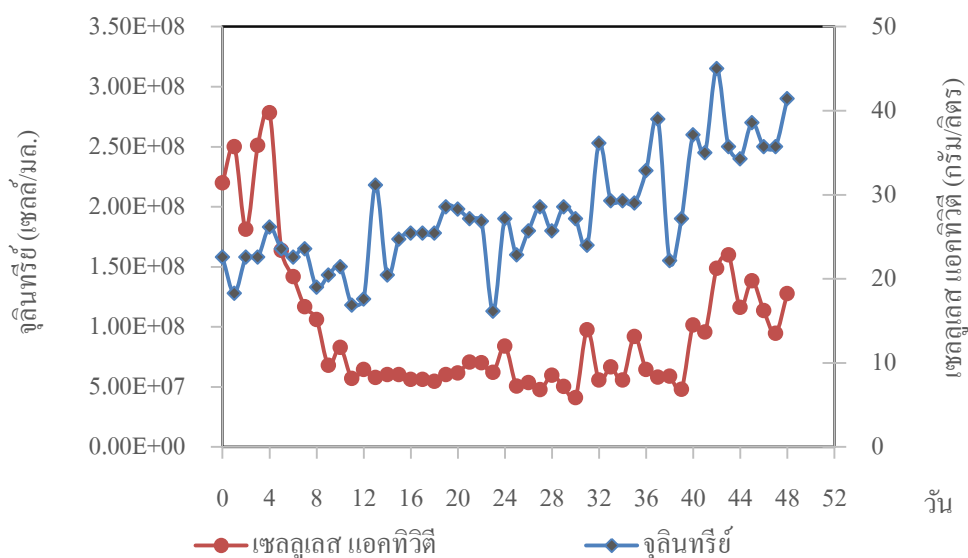


รูปที่ 4.41 โปรไฟล์ความเข้มข้นอินูลินและเซลลูเลส แอคติวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 36 วัน



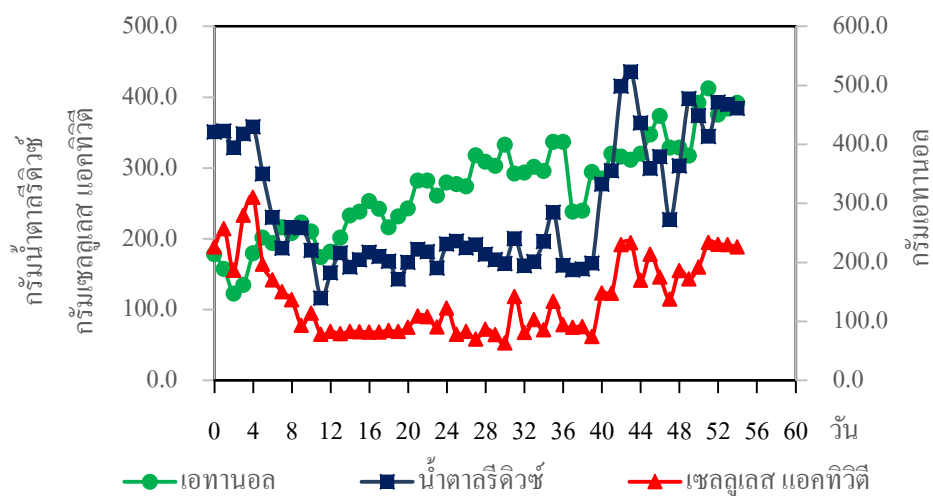
รูปที่ 4.42 โปรไฟล์กรัมเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอซิวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 48 วัน

พิจารณาโปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์และเซลลูเลส แอซิวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่ระยะเวลา 40 วันถึง 48 วัน พบว่า ทั้ง 2 โปรไฟล์มีความสอดคล้องกัน ดังนั้น ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำหมักจึงมีความสำคัญ ที่เป็นเช่นนี้เพราะได้ควบคุมความเข้มข้นน้ำตาลในน้ำหมักให้มีค่าประมาณ 40 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.43

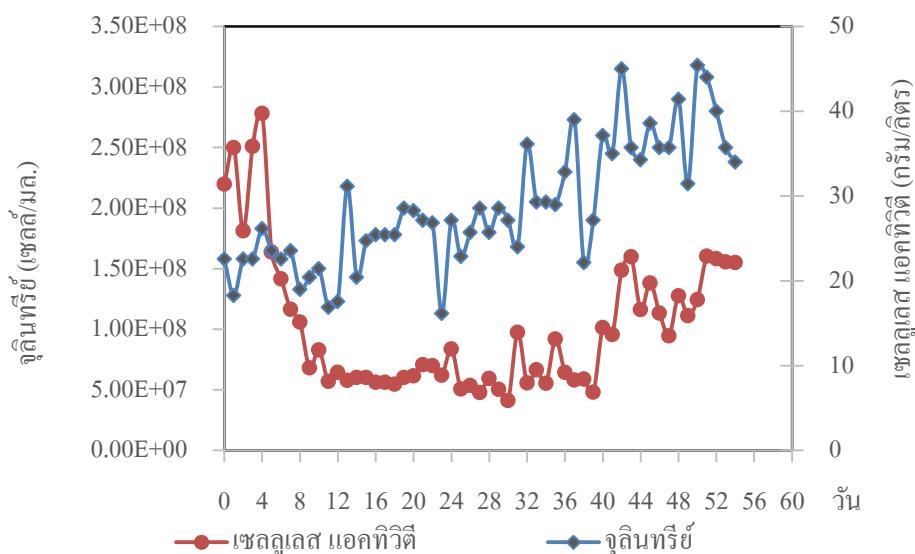


รูปที่ 4.43 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์และเซลลูเลส แอซิวิตีของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาตั้งแต่เริ่มต้นถึง 48 วัน

ผลของการหมักเอทานอลกึ่งกะได้ดำเนินงานมาจนถึงระยะเวลาหมักนาน 48 วัน สามารถนำน้ำหมักไปผ่านเครื่องกรองเยื่อแผ่นแบบอัลตรา 9 ครั้งๆ ละ 1 ลิตร จุลินทรีย์ในถังหมักยังเติบโตได้อย่างต่อเนื่อง จึงได้ทำการศึกษาอัตราเร็วการกรอง 0.1 เมตรต่อวินาทีที่ระยะเวลาหมักนาน 50 วัน เติมน้ำอาหารเหลว 200 มิลลิลิตรกับรีไซเคิลจุลินทรีย์ในรีเทนเตอร์ 300 มิลลิลิตรจำนวน 1 ครั้ง และเติมน้ำอาหารเหลว 500 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง ที่ระยะเวลาหมักนาน 52 และ 54 วัน ผลการทดลองพบว่า เป็นไปในทำนองเดียวกับเวลาหมักนาน 48 วัน ดังรูปที่ 4.44 ส่วนจุลินทรีย์เติบโตลดลง เนื่องจากอาจขาดสารอาหารและถูกยับยั้งจากเอทานอลที่เพิ่มสูงขึ้น ดังรูปที่ 4.45 เอทานอลที่ได้มีค่าสูงสุดประมาณ 494.8 กรัมหรือความเข้มข้น 58.2 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาหมักนาน 51 วัน



รูปที่ 4.44 โปรไฟล์กรัมเอทานอล น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูโลส แอคทีวิตี้ของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาดังแต่เริ่มต้นถึง 54 วัน



รูปที่ 4.45 โปรไฟล์ความเข้มข้นจุลินทรีย์และเซลลูโลส แอคทีวิตี้ของการหมักเอทานอลกึ่งกะจากลำต้นสดข้าวฟ่างหวานด้วยผงจุลินทรีย์ผสมที่เวลาดังแต่เริ่มต้นถึง 54 วัน

ตารางที่ 4.16 ผลได้ของเอทานอลและอัตราการผลิตเอทานอลจากการหมักกึ่งกะกับระยะเวลาหมัก

ระยะเวลา วัน	กรัม-เอทานอล		กรัม-น้ำตาล		ผลได้ เอทานอล	อัตราการผลิต เอทานอล (กรัม/วัน)
	สุดท้าย	เริ่มต้น	เริ่มต้น	สุดท้าย		
9	267.76	213.76	350.81	215.17	0.40	6.0
16	303.63	213.76	350.81	180.55	0.53	5.6
21	338.51	213.76	350.81	184.69	0.75	5.9
30	399.4	213.76	350.81	164.97	1.00	6.2
35	404.28	213.76	350.81	237.09	1.68	5.4
46	447.76	213.76	350.81	315.86	6.70	5.1
51	494.78	213.76	350.81	344.56	44.96	5.5

พิจารณาตารางที่ 4.16 แสดงผลได้ของเอทานอลและอัตราการผลิตเอทานอลจากการหมักกึ่งกะกับระยะเวลาที่ใช้หมัก คำนวณบนฐานของกรัมเอทานอลที่ได้สูงสุดต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ พบว่า ที่ระยะเวลาเริ่มต้นถึงเวลาหมัก 21 วัน ผลได้เอทานอลประมาณร้อยละ 75 โดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตาม ที่ระยะเวลาหมักนาน 30 วัน ผลได้เอทานอลประมาณร้อยละ 100 โดยน้ำหนัก และที่ระยะเวลาหมักนานมากกว่านั้นผลได้เอทานอลมีร้อยละเกิน 100 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้ เนื่องจาก มีการเติมน้ำตาลเพิ่มเพื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เติบโตมากขึ้นและขณะเดียวกันจุลินทรีย์เหล่านั้นได้ปลดปล่อยเอนไซม์เซลลูเลส ออกมาย่อยเส้นใยได้น้ำตาลเพิ่มขึ้นอีกขณะเดียวกันจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลน้อยกว่าที่ทำการผลิตเอทานอลซึ่งได้เพิ่มขึ้นอย่างมาก (รูปที่ 4.44 และ 4.45) จึงทำให้ผลได้เอทานอลจากการคำนวณมีค่ามากกว่า 1

ดังนั้น การหมักเอทานอลกึ่งกะจึงเป็นกระบวนการที่เพิ่มผลได้เอทานอลมากกว่าการหมักเอทานอลแบบกะ ซึ่งสามารถทำให้จุลินทรีย์ในถังหมักยังคงทำงานได้ เนื่องจากมีการเติมสารอาหารและรีไซเคิลจุลินทรีย์กลับคืนถังหมัก อัตราการผลิตเอทานอลของระบบกึ่งกะนี้มีค่าเฉลี่ยประมาณ 5.7 กรัมต่อวัน

4.12 ผลการกรองน้ำหมักที่ได้จากการหมักกึ่งกะด้วยเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตรา

ผลของการศึกษาการกรองน้ำหมักที่ได้จากการหมักกึ่งกะด้วยเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตราแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังต่อไปนี้

4.12.1 ผลความเร็วการป้อนที่เหมาะสม

การทดลองหาความเร็วการป้อนน้ำหมักผ่านเครื่องกรองด้วยเยื่อแผ่นชนิดอัลตรา กำหนดความเร็วที่ใช้คือ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที เก็บตัวอย่างของเหลวในเพอมีเอท ปริมาตร 700 มิลลิลิตร และรีเทนเทด ที่

ปริมาตร 300 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล เซลลูเลส แอลทิวิตี และจุลินทรีย์ ทำการทดลองแต่ละความเร็ว 3 ชั่วโมง

พิจารณาตารางที่ 4.17 พบว่า ความเร็วการป้อนที่ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที การกักกันของเยื่อแผ่นต่อความเข้มข้นของเอทานอลในเพอมีเอทเท่ากับร้อยละ 16.77, 5.27 และ 11.16 ตามลำดับ ซึ่งที่ความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.2 เมตรต่อวินาที เอทานอลที่ถูกกรองได้มีค่าน้อยกว่าที่ความเร็ว 0.1 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ถ้าต้องการกรองเอทานอลออกจากน้ำหมัก ควรเลือกใช้ความเร็วในการป้อนเท่ากับ 0.1 เมตร/วินาที

สำหรับการกักกันของเยื่อแผ่นต่อน้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอลทิวิตี ในเพอมีเอท พบว่า การป้อนด้วยความเร็ว 0.2 เมตรต่อวินาที มีความเหมาะสม เพราะให้ร้อยละการกักกันเท่ากับ 28.53 และ -36.05 ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าที่ความเร็ว 0.1 และ 0.3 เมตรต่อวินาที

เมื่อพิจารณาการกักกันของเยื่อแผ่นต่อจุลินทรีย์ในเพอมีเอท พบว่า ร้อยละการกักกันเท่ากับ 98.53, 98.98 และ 99.42 ที่ความเร็ว 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ตามลำดับ แสดงว่า เยื่อแผ่นสามารถแยกจุลินทรีย์จากน้ำหมักได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเร็วของการป้อนต่างๆ ดังนั้น การกรองด้วยเยื่อแผ่นอัลตราสามารถนำมาใช้กรองจุลินทรีย์ได้ ถึงแม้ว่าจะพบจุลินทรีย์ปะปนในเพอมีเอทอยู่เพียงเล็กน้อยก็ตาม

พิจารณาตารางที่ 4.18 ผลการทดลองในรีเทนเตด พบว่า ความเร็วการป้อนที่ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ให้ผลการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นเอทานอลในรีเทนเตดเป็นร้อยละ -0.19, 5.89 และ -0.53 ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการกักกันในเพอมีเอท นั่นคือถ้าพิจารณาการกรองเพื่อให้ความเข้มข้นเอทานอลในรีเทนเตดมีค่าน้อยที่สุดควรใช้ความเร็วการป้อนที่ 0.1 เมตรต่อวินาที

สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอลทิวิตี ในรีเทนเตด พบว่า การป้อนด้วยความเร็ว 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที มีร้อยละการเพิ่มขึ้นเท่ากับ 12.98, 23.55 และ -0.99 ตามลำดับ นั่นคือถ้าพิจารณาให้น้ำตาลรีดิวซ์และเซลลูเลส แอลทิวิตีถูกกรองอยู่ในรีเทนเตดมาก ความเร็วที่ใช้ป้อนน้ำหมักคือที่ 0.2 เมตรต่อวินาที เพราะร้อยละการเพิ่มมีค่ามากกว่า อย่างไรก็ดีตาม วัตถุประสงค์ของการกรองด้วยเยื่อแผ่นของงานวิจัยนี้คือการกรองจุลินทรีย์เพื่อรีไซเคิลกลับคืนถึงหมักและต้องการกรองเอทานอลออกจากน้ำหมักที่นำไปรีไซเคิล ดังนั้น จึงเลือกความเร็วการป้อนที่ 0.1 เมตรต่อวินาที

ทำนองเดียวกันเมื่อพิจารณาผลของความเร็วในการป้อนต่อความเข้มข้นจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในรีเทนเตด พบว่า ที่ความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.1 เมตรต่อวินาที มีค่าเท่ากับร้อยละ 56.31 ซึ่งมากกว่าที่ความเร็ว 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที

ดังนั้น ความเร็วการป้อนที่เหมาะสมสำหรับเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตราจึงเท่ากับ 0.1 เมตรต่อวินาที เพราะความเร็วการป้อนที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้จุลินทรีย์ถูกแรงดันจากการไหลตัดผ่านเยื่อแผ่นออกไปอยู่ในสายเพอมีเอทมากขึ้น ขณะเดียวกัน ที่ความเร็วการป้อนต่ำทำให้กรองเอทานอลได้มากขึ้นในสายเพอมีเอท เนื่องจากเวลาในการซึมผ่านเยื่อแผ่นได้นานขึ้น

ตารางที่ 4.17 ร้อยละการกักกันของเยื่อแผ่นต่อความเข้มข้นเอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ เซลลูโลส แอคทีวิตี้ และ จุลินทรีย์ในเพอมีเอทที่ความเร็วการป้อนต่างๆ

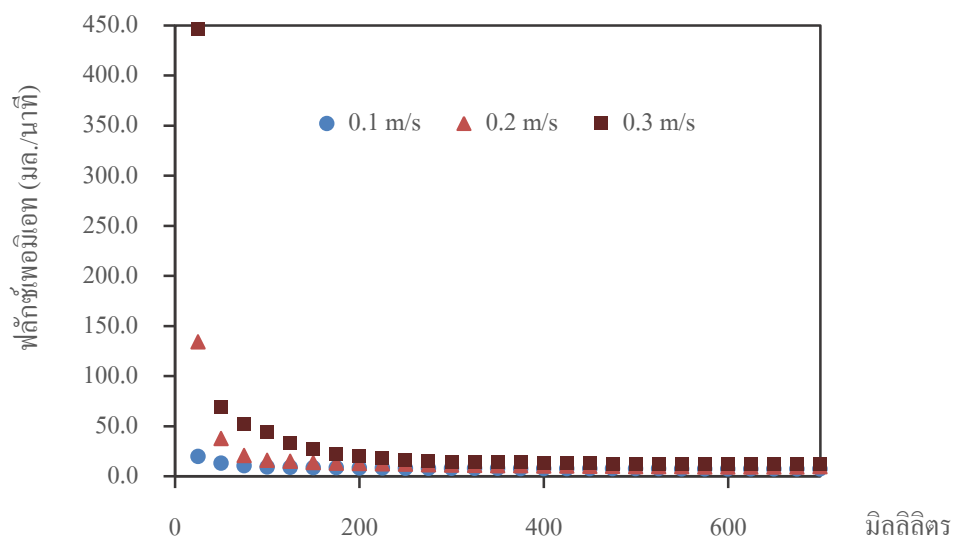
ความเร็ว เมตร/วินาที	เอทานอล, g/L			น้ำตาลรีดิวิซ์, g/L		
	ป้อน (F)	เพอมีเอท (P)	ร้อยละการ กักกัน	ป้อน (F)	เพอมีเอท (P)	ร้อยละการกักกัน
0.1	31.19	25.96	16.77	18.03	13.88	23.02
0.2	33.42	31.66	5.27	15.42	11.02	28.53
0.3	43.91	39.01	11.16	34.67	25.00	27.89
ความเร็ว เมตร/วินาที	เซลลูโลส แอคทีวิตี้, g/L			จุลินทรีย์, เซลล์/มล.		
	ป้อน (F)	เพอมีเอท (P)	ร้อยละการ กักกัน	ป้อน (F)	เพอมีเอท (P)	ร้อยละการกักกัน
0.1	8.01	13.88	-73.28	8.17E+07	1.20E+06	98.53
0.2	8.1	11.02	-36.05	8.08E+07	8.25E+05	98.98
0.3	16.96	25.00	-47.41	1.40E+08	8.17E+05	99.42

ตารางที่ 4.18 ร้อยละการกักกันของเยื่อแผ่นต่อความเข้มข้นเอทานอล น้ำตาลรีดิวิซ์ เซลลูโลส แอคทีวิตี้ และ จุลินทรีย์ในรีเทนเทรตที่ความเร็วการป้อนต่างๆ

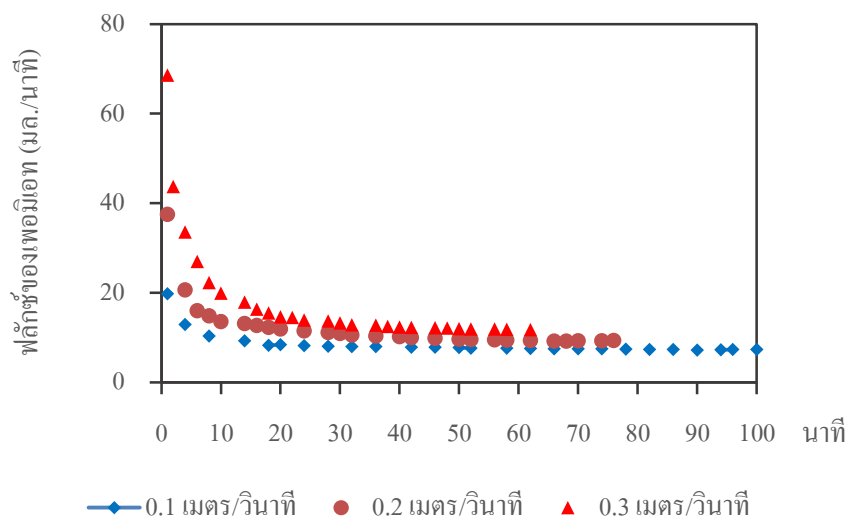
ความเร็ว เมตร/วินาที	เอทานอล, g/L			น้ำตาลรีดิวิซ์, g/L		
	ป้อน (F)	รีเทนเทรต (R)	ร้อยละที่ เพิ่มขึ้น	ป้อน (F)	รีเทนเทรต (R)	ร้อยละที่ เพิ่มขึ้น
0.1	31.19	31.13	-0.19	18.03	20.72	12.98
0.2	33.42	35.51	5.89	15.42	20.17	23.55
0.3	43.91	43.68	-0.53	34.67	34.33	-0.99
ความเร็ว เมตร/วินาที	เซลลูโลส แอคทีวิตี้, g/L			จุลินทรีย์, เซลล์/มล.		
	ป้อน (F)	รีเทนเทรต (R)	ร้อยละที่ เพิ่มขึ้น	ป้อน (F)	รีเทนเทรต (R)	ร้อยละที่ เพิ่มขึ้น
0.1	8.01	9.06	11.59	8.17E+07	1.87E+08	56.31
0.2	8.1	10.21	20.67	8.08E+07	1.49E+08	45.77
0.3	16.96	17.29	1.91	1.40E+08	1.40E+08	0.00

4.12.2 เปรียบเทียบฟลักซ์เพอมีเอทที่ความเร็วของการป้อนต่างๆ

ผลของฟลักซ์เพอมีเอทเฉลี่ยกับปริมาตรผ่านเยื่อแผ่นอัลตราที่ความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำที่แต่ละความเร็วการป้อน พบว่า ถึงแม้ว่าฟลักซ์เพอมีเอทเฉลี่ยที่ความเร็วการป้อน 0.1 เมตรต่อวินาที มีโปรไฟล์ต่ำที่สุดก็ตาม แต่หลังจากปริมาตร 75 มิลลิลิตร ฟลักซ์เฉลี่ยที่ความเร็วการป้อน 0.1 เมตรต่อวินาทีมีค่าใกล้เคียงกันกับที่ความเร็ว 0.2 เมตรต่อวินาที และมีค่าใกล้เคียงกันมากที่ปริมาตรเพอมีเอทประมาณ 200 มิลลิลิตรเป็นต้นไป ดังรูปที่ 4.46



รูปที่ 4.46 โปรไฟล์ของฟลักซ์เพอมีเอทเฉลี่ยกับปริมาตรที่ผ่านเยื่อแผ่นอัลตรา สำหรับความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที



รูปที่ 4.47 โปรไฟล์ของฟลักซ์เพอมีเอทเฉลี่ยกับเวลาที่ผ่านเยื่อแผ่นอัลตรา สำหรับความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที

พิจารณารูปที่ 4.47 ความสัมพันธ์ของฟลักซ์เพอมีเอทเทียบกับเวลาที่ใช้กรองน้ำหมัก 1 ลิตร พบว่า ที่ความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.3 เมตรต่อวินาที มีค่าฟลักซ์สูงที่สุด อย่างไรก็ตาม หลังจาก 30 นาทีเป็นต้นไป ที่ทุกความเร็วการป้อนจะมีฟลักซ์ค่าคงที่ ความเร็วการป้อนน้ำหมักที่เหมาะสม คือ 0.1 เมตรต่อวินาที ซึ่งใช้เวลากรองนานที่สุดประมาณ 100 นาที เพราะเวลาที่ใช้กรองนานขึ้นทำให้เพิ่มร้อยละการกักกันเอทานอลในเพอมีเอทและความเข้มข้นจุลินทรีย์ในรีเทนเตดกว่าที่ความเร็วการป้อน 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที ซึ่งใช้เวลากรองนาน 76 และ 62 นาที ตามลำดับ

4.12.3 ผลความเข้มข้นจุลินทรีย์ในน้ำล้างเยื่อแผ่น

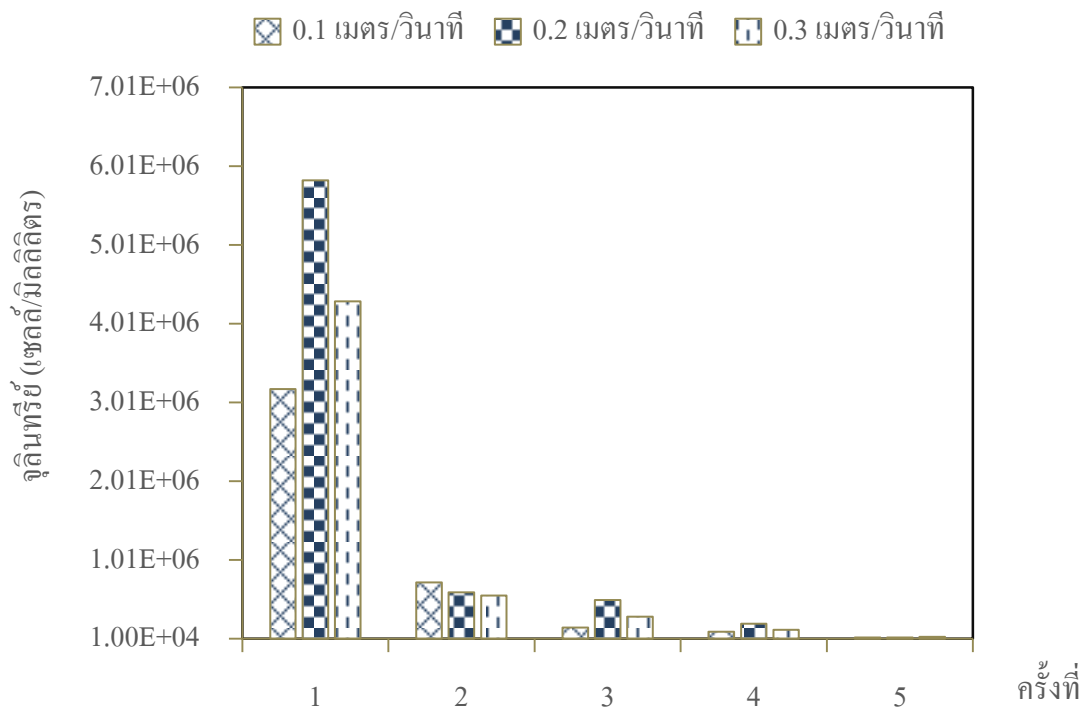
เมื่อทำการกรองน้ำหมักด้วยเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตราที่ความเร็วการป้อนเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาทีเรียบร้อยแล้ว ในแต่ละความเร็วที่ใช้กรองน้ำหมักได้ทำการวัดความเข้มข้นจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำล้างแต่ละครั้งใช้น้ำกลั่นล้าง 1 ลิตร จำนวน 5 ครั้ง เพราะไม่พบจุลินทรีย์ในน้ำล้างครั้งที่ 6 การล้างเยื่อแผ่นด้วยน้ำกลั่นใช้อัตราการป้อนด้วยเครื่องสูบเพอริสเทติกเท่ากันทุกครั้ง คือ 30 รอบต่อนาที พบว่า ความเข้มข้นจุลินทรีย์ในน้ำล้าง ครั้งที่ 1, 3, 4 และ 5 ที่ความเร็วการป้อนน้ำหมักเท่ากับ 0.1 เมตรต่อวินาที ซึ่งมีค่าน้อยที่สุด ดังตารางที่ 4.19 และรูปที่ 4.48 ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลที่ได้จาก 4.12.1 และ 4.12.2 ความเร็วการป้อนน้ำหมักที่เหมาะสมเท่ากับ 0.1 เมตรต่อวินาทีสำหรับเครื่องกรองเยื่อแผ่นอัลตราของงานวิจัยนี้

อย่างไรก็ตาม เยื่อแผ่นนี้มี molecular weight cut off (MWCO) ที่ 30,000 และมีพื้นที่ผิวเท่ากับ 420 ตารางเซนติเมตร จึงเป็นข้อจำกัดของการกรองทั้งเอทานอลและจุลินทรีย์ เนื่องจากเอทานอลที่ได้จากน้ำหมักซึ่งเป็นสารป้อนมีช่วงความเข้มข้นประมาณ 31 ถึง 58 กรัมต่อลิตร ทำให้เยื่อแผ่นอัลตราไม่สามารถแยกเอทานอลจากสารละลายน้ำที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ได้ อาจต้องใช้กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นอื่นๆ ได้แก่ การแยกด้วยเยื่อแผ่นภายใต้สุญญากาศ

นอกจากนี้ ในงานวิจัยต่อไปอาจจะต้องมีการพัฒนากระบวนการกรองด้วยเยื่อแผ่นแบบไหลขวางโดยใช้เยื่อแผ่นที่มี MWCO สูงกว่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้และหรือการแยกด้วยเยื่อแผ่นหลายขั้นตอน ได้แก่ การใช้เยื่อแผ่นระดับการกรองนาโนเพื่อกรองเอทานอล เพิ่มขึ้นตอนการแยกจุลินทรีย์ด้วยเยื่อแผ่นระดับการกรองไมโครตามด้วยการแยกน้ำตาลรีดิวซ์และเซลล์ด้วยเยื่อแผ่นระดับการกรองอัลตรา เนื่องจากขนาดเซลล์ของจุลินทรีย์มีขนาดไม่เท่ากัน บางส่วนมีขนาดเล็กมาก ทำให้หลุดหรือฝังตัวที่เยื่อแผ่น หรืออาจจะต้องเลือกชนิดของเยื่อแผ่นที่แตกต่างจากชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ตารางที่ 4.19 ความเข้มข้นจุลินทรีย์ในน้ำล้างของความเร็วการป้อนน้ำหมักต่างๆ

น้ำล้างครั้งที่	ความเข้มข้นจุลินทรีย์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ที่ความเร็วการป้อนน้ำหมัก		
	0.1 เมตร/วินาที	0.2 เมตร/วินาที	0.3 เมตร/วินาที
1	3.18×10^6	5.83×10^6	4.29×10^6
2	7.25×10^5	6.00×10^5	5.58×10^5
3	1.50×10^5	5.00×10^5	2.92×10^5
4	1.00×10^5	2.00×10^5	1.25×10^5
5	2.50×10^4	2.50×10^4	3.30×10^4



รูปที่ 4.48 ความเข้มข้นจุลินทรีย์ในน้ำล้างของความเร็วการป้อนน้ำหมักเท่ากับ 0.1, 0.2 และ 0.3 เมตรต่อวินาที กับจำนวนครั้งที่ล้าง