

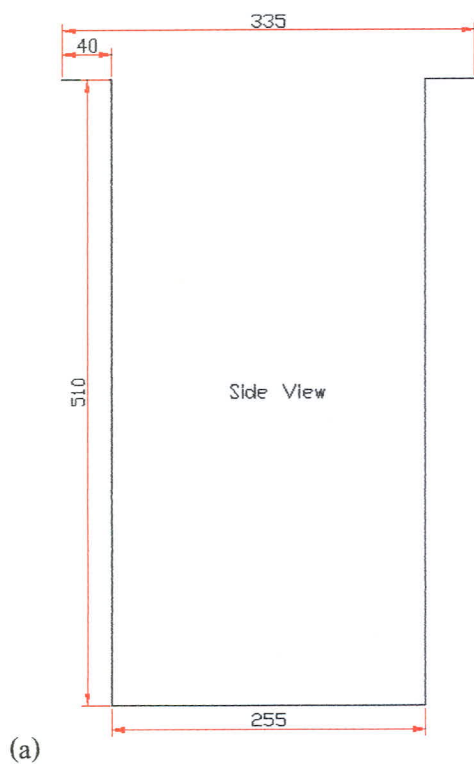
บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 ผลการออกแบบและการสร้างถังหมักสำหรับผลิตเอทานอล

4.1.1 ตัวถังหมัก

- ตัวถังทำจากสแตนเลส (Stainless steel) ชนิดออสเทนนิติก (Austenitic) ความหนา 3.0 mm คัดโค้งขึ้นรูปเป็นถังทรงกระบอก ประสานรอยต่อโดยการเชื่อมหลอมเหลว (Fusion weld) กันถึงแบนราบปิดสนิท
- ตัวถังมีมิติขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง $\times$ ความสูง เท่ากับ 255 mm $\times$ 510 mm มีอัตราส่วนระหว่างความสูงต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (H/D) เท่ากับ 2:1 ดังรูปที่ 4.1
- ปริมาตรความจุทั้งหมด (Total volume) เท่ากับ 25 ลิตร ปริมาตรความจุใช้งาน (Working volume) เท่ากับ 20 ลิตร ปริมาตรความจุใช้งานมีค่าเท่ากับ 80% ของปริมาตรทั้งหมด ที่ปริมาตรใช้งานระดับความสูงของเหลวจากก้นถังเท่ากับ 400 mm
- ปากถังทำเป็นขอบสำหรับยึดฝาถังมีรัศมีความกว้าง 40 mm ทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางปากถังด้านนอกเท่ากับ 335 mm เเจาะรูบนแนวเส้นวงกลมที่มีรัศมีเท่ากับ 152.5 mm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูที่เจาะเท่ากับ 10 mm จำนวน 8 รู สำหรับใส่น้ำอัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8 mm สำหรับยึดฝาถัง



(a)

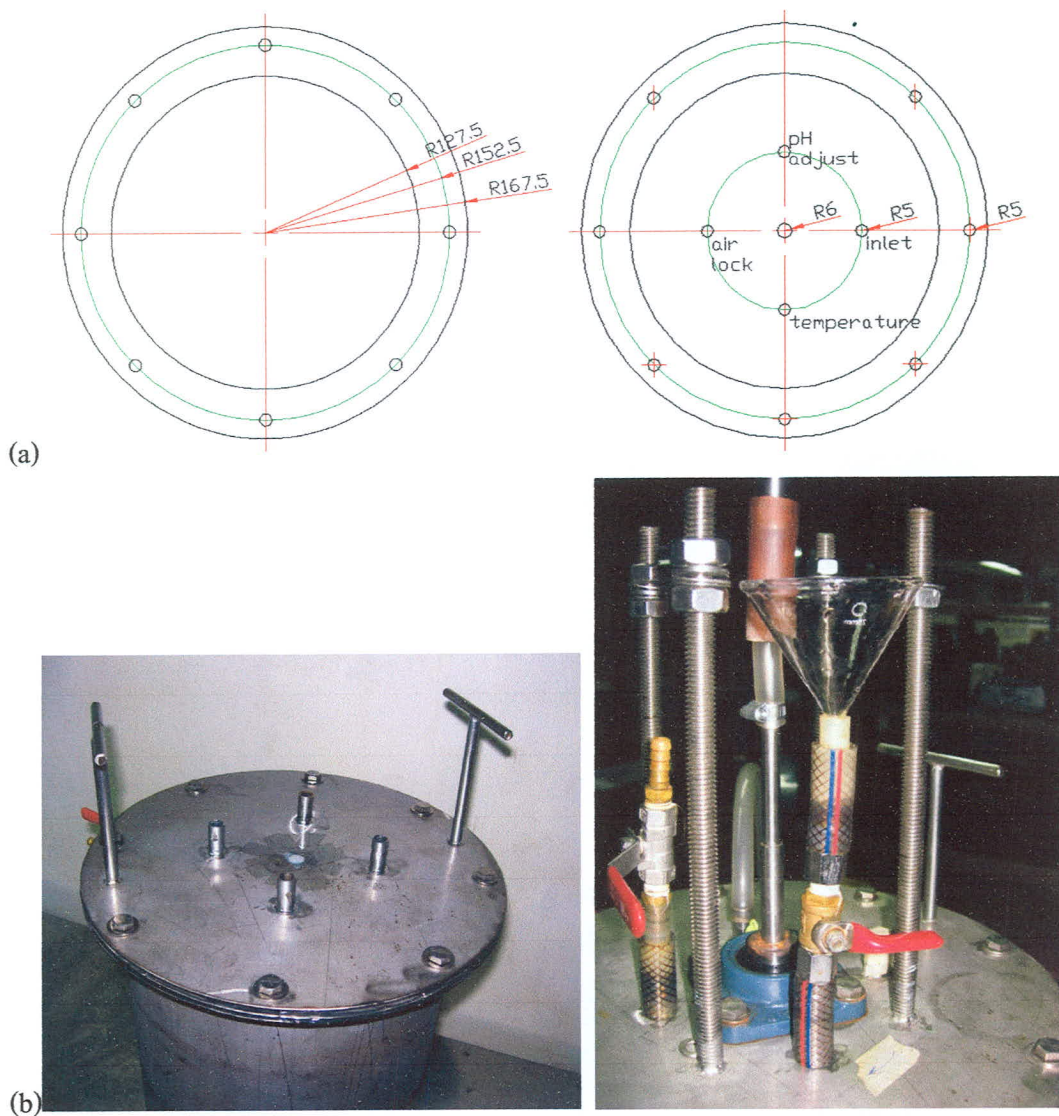


(b)

รูปที่ 4.1 (a) แบบตัวถังหมัก (b) ถังหมักที่สร้าง

4.1.2 ฝาถัง

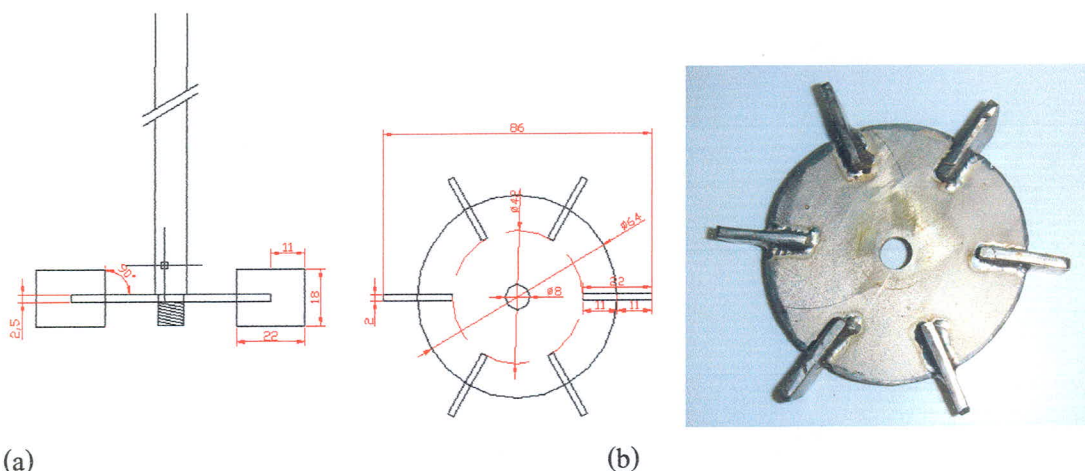
- ฝาถังทำจากสแตนเลสชนิดเดียวกับตัวถัง ความหนา 3 mm ฝาถังตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 335 mm
- ตำแหน่งศูนย์กลางของฝาถังเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 mm สำหรับติดตั้งใบกวนผสมด้วยการใช้ตลับลูกปืนจับใบกวนผสม และเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 mm จำนวน 4 ช่อง สำหรับติดตั้งระบบติดตามการหมักได้แก่ ช่องใส่อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ช่องระบายอากาศ ช่องเติมอาหารระหว่างการหมักหรือปรับค่า pH และช่องสำหรับเก็บตัวอย่าง
- ฝาถังเจาะรูบนแนวเส้นวงกลมที่มีรัศมีเท่ากับ 152.5 mm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูที่เจาะเท่ากับ 10 mm จำนวน 8 รู เพื่อยึดกับตัวถัง ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 (a) แบบผัง (b) ผังที่สร้าง

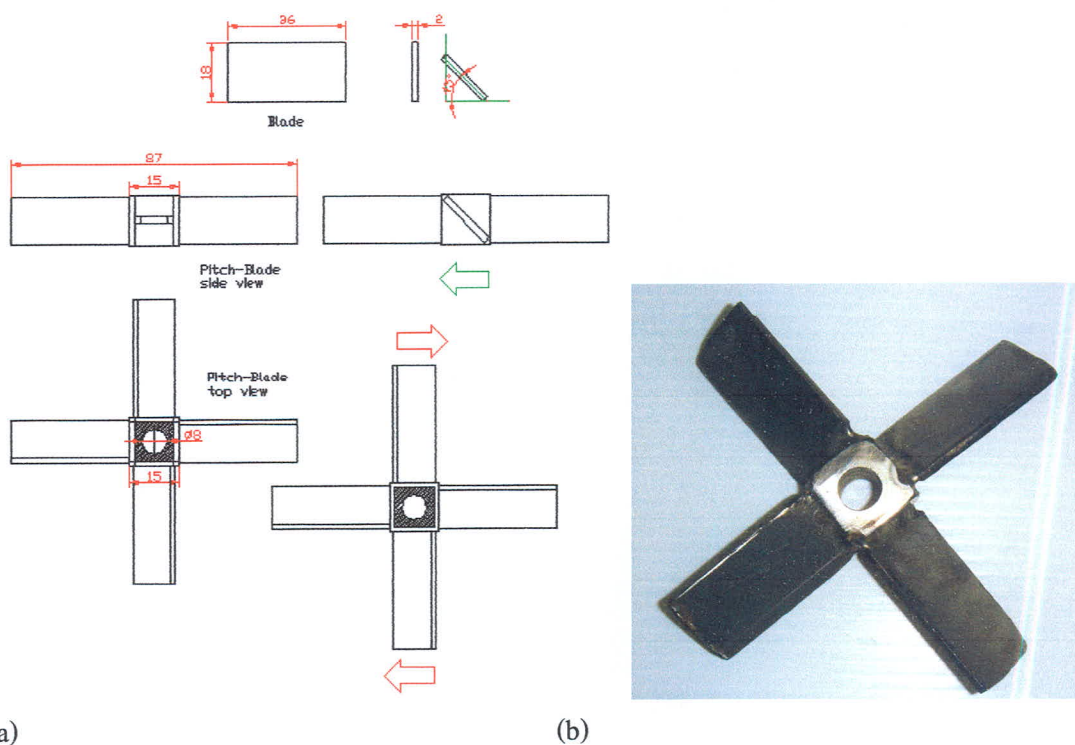
4.1.3 การกวนผสม

- มอเตอร์ขับใบกวน ประกอบด้วยมอเตอร์กระแสสลับขนาดกำลัง 1.0 HP กระแสไฟ 3 phase ต่อกับเครื่องควบคุมความเร็วรอบ (Inverter) สามารถปรับความเร็วรอบได้ที่ 75, 150 และ 300 rpm
- ใบกวนแบบเทอร์ไบน์ (Turbine) ทำจากสแตนเลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวัดจากปลายขอบใบพัดด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งเท่ากับ 86 mm และมีจานกลมสำหรับติดตั้งใบพัดเส้นผ่านศูนย์กลางของจานกลม (Disc) เท่ากับ 64 mm ใบพัดมีขนาด กว้าง × ยาว เท่ากับ 18 mm × 22 mm จำนวน 6 ใบ ติดตั้งบนจานกลมโดยใบพัดตั้งฉากกับจานกลมโดยระยะที่ใบพัดเข้ามาในจานกลมเท่ากับ 11 mm ในด้านยาวของใบพัด โดยการประกอบใบพัดบนจานกลมระยะห่างระหว่างขอบใบพัดด้านใน ในด้านตรงข้าม เท่ากับ 42 mm ดังรูปที่ 4.3



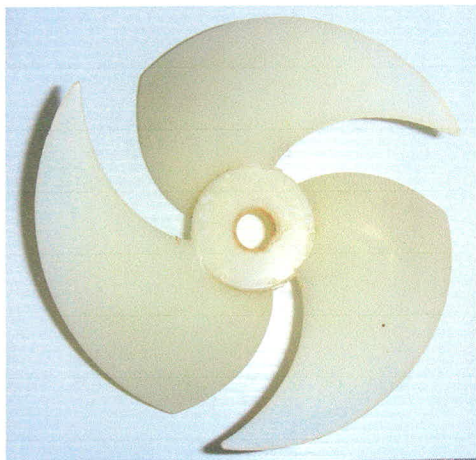
รูปที่ 4.3 (a) แบบสร้างใบกวน Turbine (b) ใบกวน Turbine

- ใบกวนแบบ Open turbine ทำจากสแตนเลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 87 mm มีมุมเปิดเท่ากับ 45 องศา ใบพัดมีขนาด ขนาด กว้าง×ยาว เท่ากับ 18 mm×36 mm จำนวน 4 ใบ ดังรูปที่ 4.4



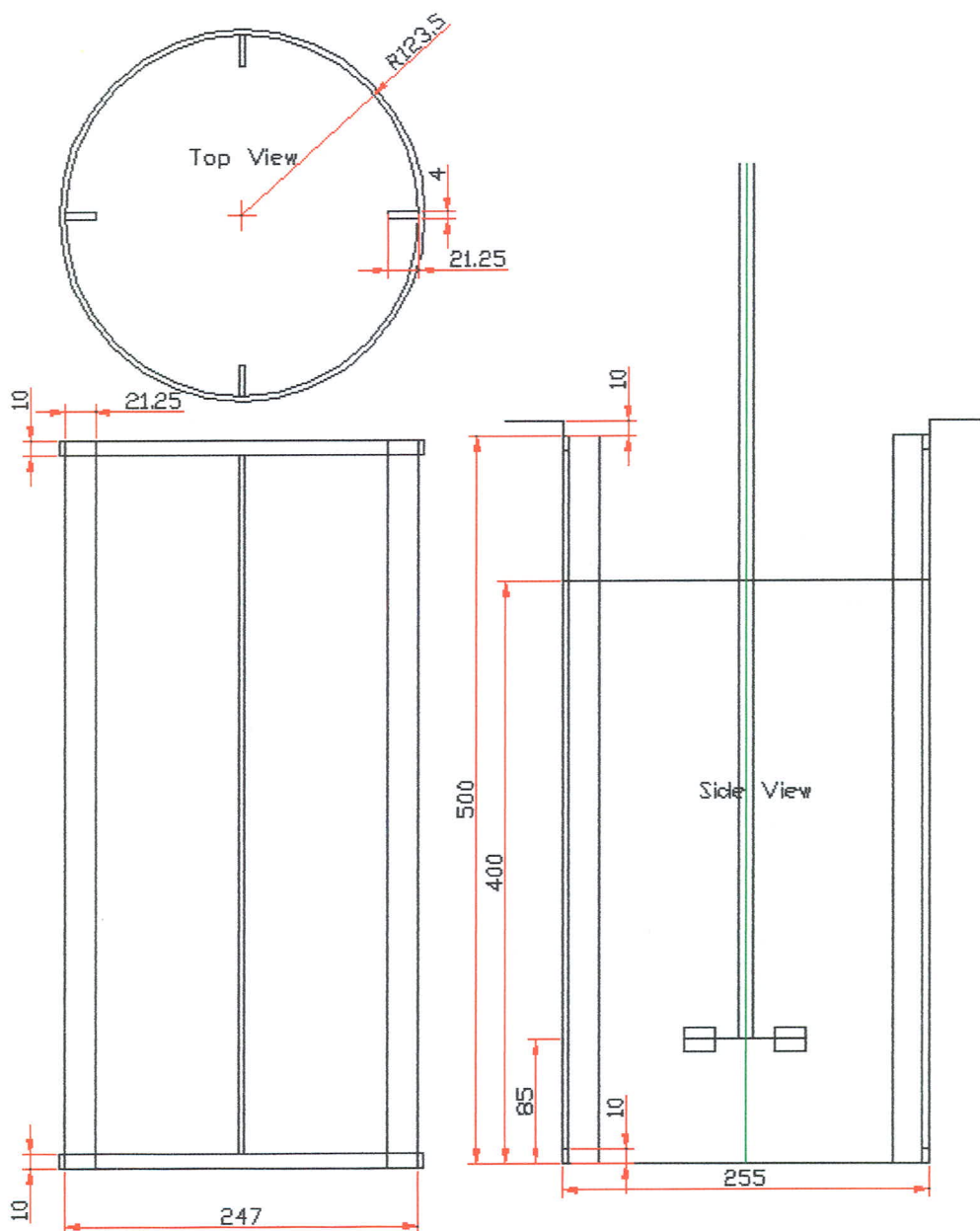
รูปที่ 4.4 (a) แบบสร้างใบกวน Open blade disc turbine (b) ใบกวน Open blade disc turbine

- ใบกวนแบบ Marine propeller ทำจากพลาสติกขึ้นรูปเป็นใบพัดเรื่อมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 90 mm มุมเปิดเท่ากับ 45 องศา ใบพัดเป็นรูปสามเหลี่ยมปลายแหลมจำนวน 3 ใบ ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ใบกวน Marine propeller

- ชุดป้องกันการหมุนวน (Baffle) ทำจากสแตนเลส ประกอบด้วยวงแหวนกลมที่ทำจากสแตนเลส ตัดเป็นแถบขนาด กว้าง × ยาว เท่ากับ 10 mm × 775 mm ตัดโค้งเป็นวงกลมให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 247 mm จำนวนสองชิ้นสำหรับด้านบนและด้านล่าง สำหรับแผ่น Baffle ทำจากสแตนเลส ความหนา 3 mm ขนาด กว้าง × ยาว เท่ากับ 21.25 mm × 500 mm จำนวน 4 อัน เชื่อมติดทำมุมฉากกับเส้นสัมผัสวงกลมด้านในของวงแหวน ชุดป้องกันการหมุนวนยึดติดกับฝาถัง สามารถใส่เข้าหรือถอดออกจากถังหมักพร้อมกับฝาถัง เมื่อติดตั้งชุดป้องกันการหมุนวนจะเกิดช่องว่างระหว่างผิวด้านในของถังหมักกับแผ่นป้องกันการหมุนวน ดังรูปที่ 4.6
- เพลากวน ใบกวนยึดติดกับเพลากวนทำจากแท่งสแตนเลสกลมตัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10 mm ชุดใบกวนติดตั้งในแนวเส้นกึ่งกลางของถังหมักและสูงขึ้นมาจากก้นถังถึงกึ่งกลาง ใบกวนเป็นระยะทาง 85 mm



(a)

รูปที่ 4.6 (a) แบบสร้าง Baffle



(b)

รูปที่ 4.6 (b) Baffle ที่สร้างติดพร้อมฝาถัง

4.1.4 ถังหล่อเย็นระบายความร้อน

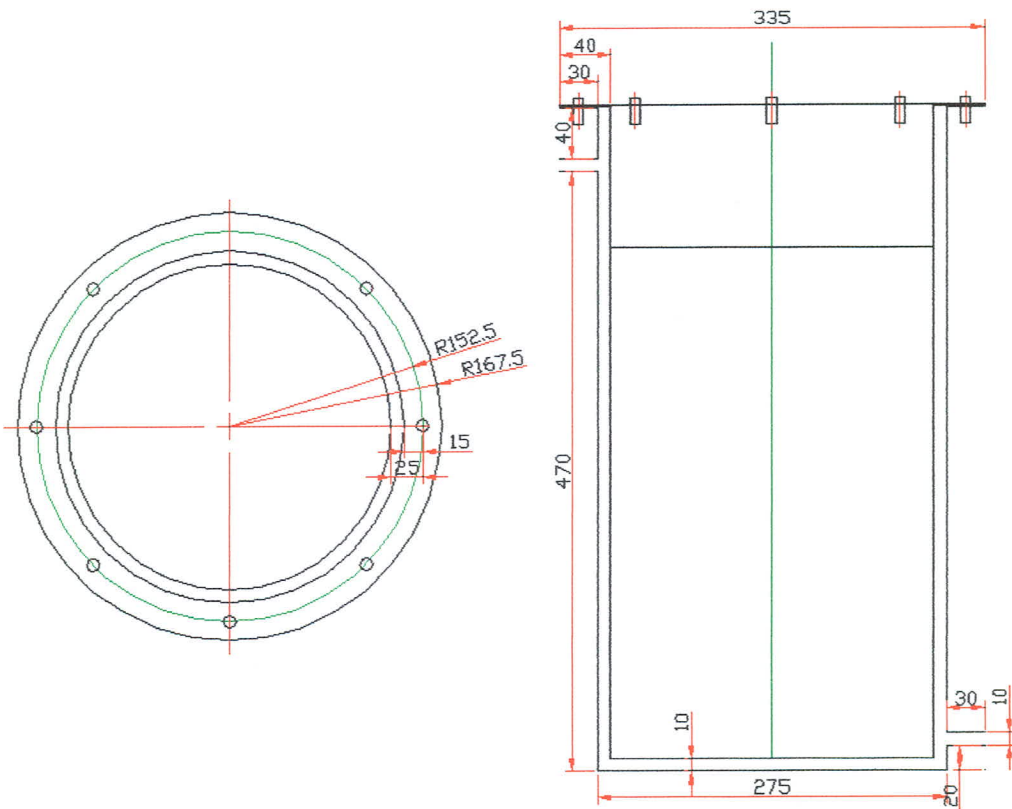
- ระบบหล่อเย็นด้วยน้ำ (Water Jacket) ทำจากสแตนเลส ความหนา 3 mm ขึ้นรูปเป็นลักษณะเดียวกับถังหมักแต่มีขนาดใหญ่กว่าหุ้มด้านนอกเพื่อทำให้เกิดช่องว่างสำหรับใส่น้ำหล่อเย็น โดยมีขนาดของถังหล่อเย็นดังนี้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง×สูง เท่ากับ 275 mm×520 mm
- ปากถังทำเป็นขอบสำหรับยึดฝาถังมีรัศมีความกว้าง 30 mm ทำให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางปากถังด้านนอกเท่ากับ 335 mm เจาะรูบนแนวเส้นวงกลมที่มีรัศมีเท่ากับ 152.5 mm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูที่เจาะเท่ากับ 10 mm จำนวน 8 รู สำหรับใส่น้ำอัดยัดตัวถังหมัก ถังหล่อเย็นและฝาถังเข้าด้วยกัน
- ทางน้ำหล่อเย็นเข้าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10 mm อยู่ด้านล่างสูงจากก้นถังหล่อเย็น 20 mm และมีทางน้ำออกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10 mm อยู่ด้านบนต่ำลงมาจากขอบถัง

ด้านบนเท่ากับ 40 mm เมื่อประกอบถึงหมักลงในถังหล่อเย็น จะมีช่องว่าง 10 mm ระหว่างถึงหมักกับถังหล่อเย็น

- ป้อนน้ำหล่อเย็น ขับน้ำจากถังควบคุมอุณหภูมิภายนอกเพื่อหล่อเย็นรักษาอุณหภูมิของถึงหมักโดยมีวาล์วควบคุมอัตราการไหล

4.1.1 การระบายก๊าซ

- ท่อระบายก๊าซอยู่บริเวณฝาถังประกอบด้วยวาล์ว ทำหน้าที่ระบายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก และป้องกันไม่ให้อากาศจากภายนอกเข้าไปในถังหมัก (Air lock) โดยใช้วาล์วเปิดเป็นระยะ



(a)

รูปที่ 4.7 (a) แบบสร้างถังหล่อเย็น



(b)

รูปที่ 4.7 (b) ถังหล่อเย็น

4.1.2 การติดตามและการสุ่มตัวอย่าง

- การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ประกอบด้วยหัววัดอุณหภูมิ (Thermocouple) ซึ่งติดตั้งผ่านทางฝาถัง และจุ่มปลายหัววัดอุณหภูมิจมลงใต้ระดับน้ำหมักในถัง หัววัดอุณหภูมิส่งสัญญาณเข้าเครื่องบันทึกข้อมูลอุณหภูมิ (Temperature Data Logger)
- ระบบการสุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วยปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) ต่อกับช่องเก็บตัวอย่างทางฝาถังซึ่งมีท่อชุดติดตั้งใต้ระดับน้ำหมัก ชุดตัวอย่างลงสู่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 ml กรณีการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องมีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มเติมผ่านช่องสำหรับเติมอาหารบนฝาถัง
- การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วยการวัดค่า pH ของตัวอย่างด้วย pH-meter ปรับค่า pH ด้วยการเติม กรด-ด่าง เพื่อให้ได้ค่า pH ที่ต้องการควบคุมลงในถังหมักแล้ววัดค่าซ้ำ

4.2 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาล

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาลเริ่มต้น พบว่ามีค่า pH เท่ากับ 4.75, มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 78.4 °Brix , มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 15.01%(w/v) และ 46.12%(w/v) , มีปริมาณโปรตีน ปริมาณเถ้า ปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 4.72 %(w/v), 9.45%(w/v) และ 75%(w/v) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาล

องค์ประกอบ	ปริมาณ
ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	78.40 ± 0.67
น้ำตาลทั้งหมด %(w/v)	46.12 ± 3.87
น้ำตาลรีดิวซ์ %(w/v)	15.01 ± 2.03
ความชื้น %(w/v)	28.96 ± 0.49
โปรตีน %(w/v)	4.72 ± 0.67
เถ้า %(w/v)	9.45 ± 0.04
ความหนาแน่น (g/ml)	1.42 ± 0.03

Curtin (1983) รายงานในการศึกษากากน้ำตาลว่ามีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 46.0%(w/v), โปรตีน 3.0%(w/v), ปริมาณเถ้า 8.1%(w/v), ปริมาณของแข็งทั้งหมด 75.0%(w/v) สำหรับการศึกษาของจุฬามาต (2539) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของกากน้ำตาลพบว่า มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 50-65 %(w/v), ไนโตรเจนทั้งหมด 0.4-1.5%(w/v) และปริมาณเถ้าทั้งหมด 7-11%(w/v) สำหรับองค์ประกอบของกากน้ำตาลพบว่ามีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 43.7%(w/v), มีปริมาณเถ้า 15%(w/v) และกล่าวว่างค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาลมีความแตกต่างกันเนื่องจากกรรมวิธีในการผลิตน้ำตาลทราย โดยเครื่องจักรที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถสกัดน้ำตาลออกไปได้มากขึ้น รวมถึงปริมาณสารเคมีที่เติมลงไป กระบวนการผลิตน้ำตาลทราย และ Curtin (1983) ได้รายงานว่าชนิดของดินที่ปลูกอ้อยจะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีในกากน้ำตาล

4.3 ผลการใช้และควบคุมอุณหภูมิในการผลิตเอทานอล

4.3.1 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักต่อปริมาณเอทานอล ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

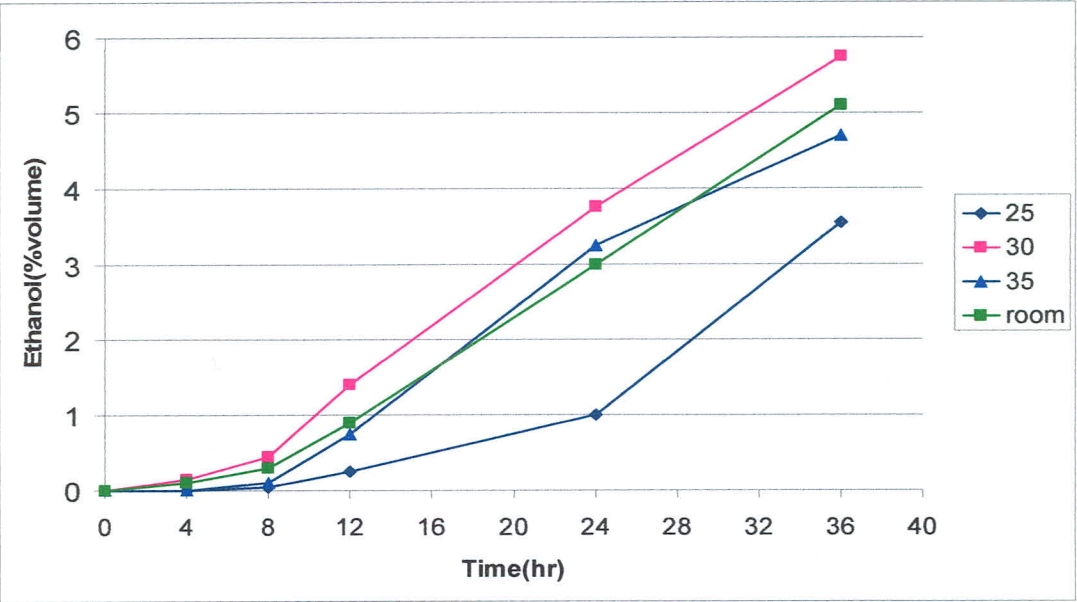
ศึกษาผลของอุณหภูมิการหมัก 4 ระดับ ได้แก่ที่ 25, 30, 35 °C และที่อุณหภูมิห้อง ที่มีต่อปริมาณเอทานอลในการหมักแบบกะโดยเชื้อ *S. carlsbergensis* ในกากน้ำตาลโดยไม่มีการกวนผสม

โดยใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 20 °Brix หรือ 11.77 % (w/v) ใช้เวลาในการหมักนาน 36 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่า ในช่วง 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก จะมีเอทานอลเกิดขึ้นในปริมาณน้อยมาก เนื่องจากเชื้อ *S. carlsbergensis* ยังอยู่ในช่วงปรับตัวให้เข้ากับสภาวะภายในถังหมัก โดยที่อุณหภูมิ 25 และ 35 °C ไม่มีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้น แต่ที่อุณหภูมิ 30 °C และที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้นเล็กน้อย ภายหลังจาก 8 ชั่วโมงแรกของการหมักพบว่ามีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้นมากในทุกอุณหภูมิของการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และในรูปที่ 4.8 โดยที่อุณหภูมิ 30 °C สามารถผลิตเอทานอลได้มากที่สุดเท่ากับ 5.75% ถัดมาคือที่อุณหภูมิห้อง และที่ 35 °C เท่ากับ 5.10% และ 4.70% ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 25 °C สามารถผลิตเอทานอลได้น้อยที่สุดเท่ากับร้อยละ 3.55 ที่ระดับนัยสำคัญ $p \geq 0.05$ และเมื่อพิจารณาอัตราการผลิตเอทานอล พบว่าที่ 30 °C มีอัตราการผลิตสูงที่สุด เท่ากับ 1.03 g/L/hr รองลงมาคือที่ อุณหภูมิห้องและที่ อุณหภูมิ 35 °C มีค่าเท่ากับ 0.92 และ 0.84 g/L/hr ตามลำดับ สำหรับที่อุณหภูมิ 25 °C มีอัตราการผลิตต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 0.64 g/L/hr

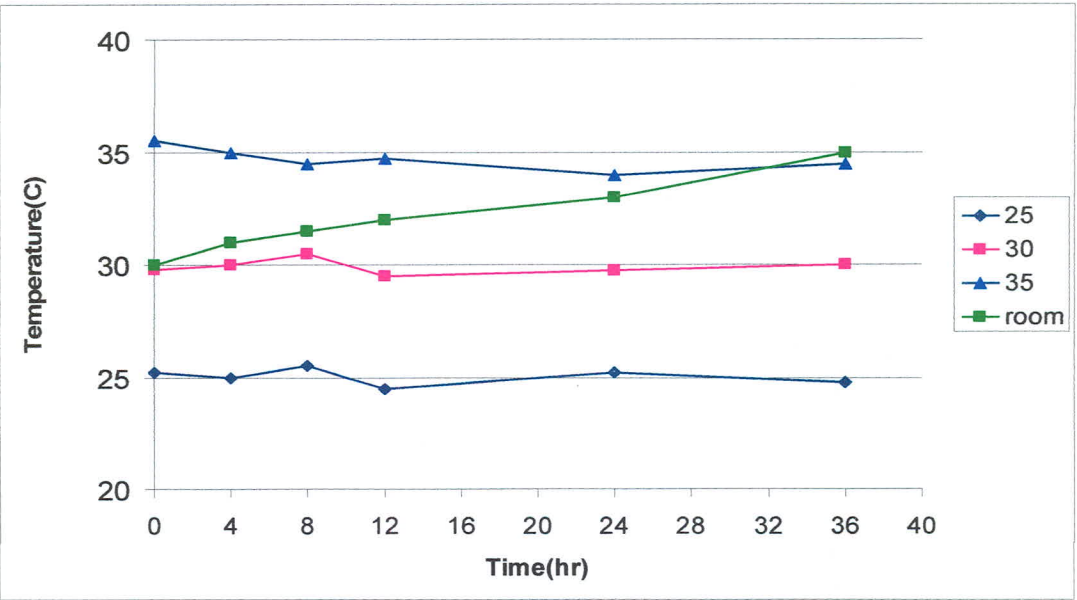
ตารางที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณร้อยละของเอทานอลและอัตราการผลิตเอทานอลในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

อุณหภูมิ (°C)	เอทานอล (%volume)	อัตราการผลิตเอทานอล (g/L/hr)
25	3.55 ^c	0.64 ^c
30	5.75 ^a	1.03 ^a
35	4.70 ^b	0.84 ^b
อุณหภูมิห้อง	5.10 ^b	0.92 ^b

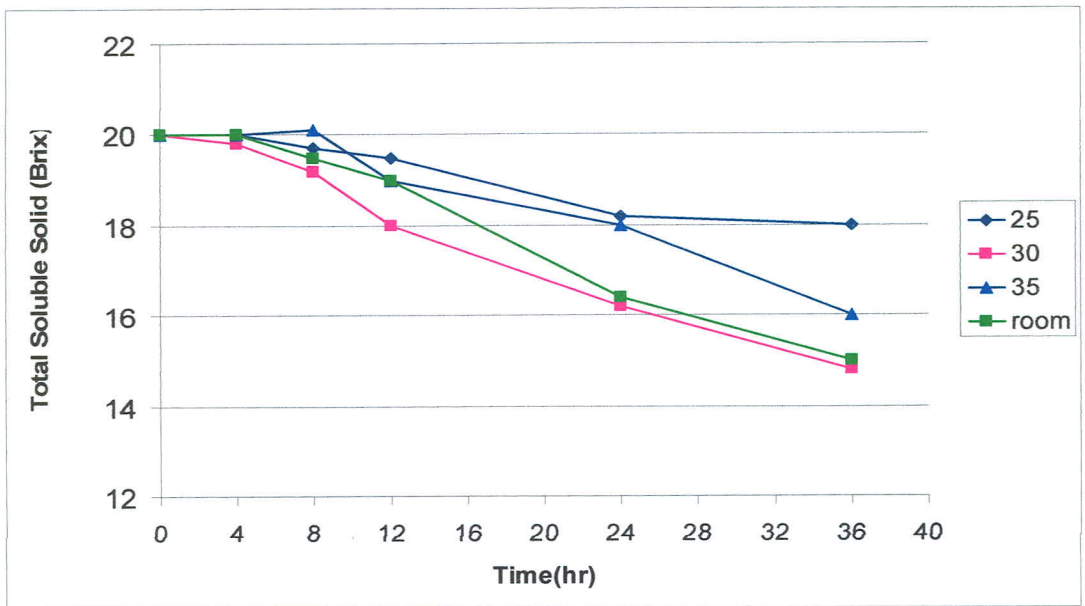
ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)



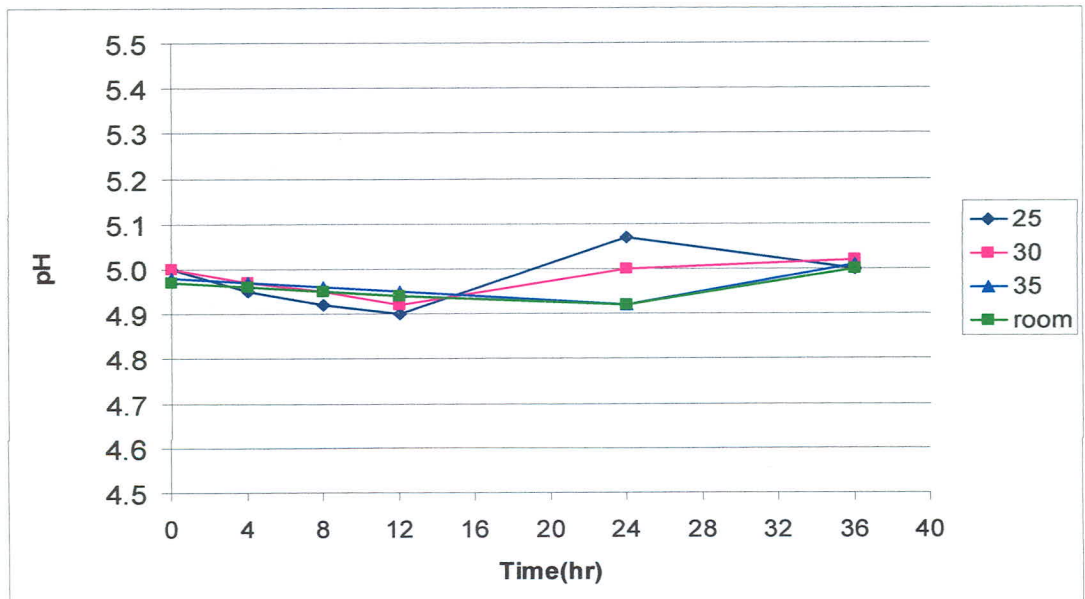
รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างเอทานอลกับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิการหมักต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการหมักกับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิควบคุมต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม



รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดกับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิควบคุมต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม



รูปที่ 4.11 ค่า pH ที่ควบคุมด้วยการเติมกรด-ด่าง กับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิควบคุมต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

Phisalaphong *et.al.* (2005) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทานอล โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 5 ระดับ ได้แก่ 30, 33, 35, 38 และ 42°C โดยใช้กากน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 17-22%(w/v) พบว่าที่อุณหภูมิ 38 และ 42°C ผลิตเอทานอลได้สูงสุด ส่วน Kiransree *et. al.* (2000) ได้ศึกษาคุณสมบัติการทนอุณหภูมิโดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* โดยทดลองที่อุณหภูมิ 30 และ 40°C พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ผลิตเอทานอลได้ 7.3 % และที่อุณหภูมิ 40°C ผลิตเอทานอลได้ 6.3% และ Morimura *et.al.* (1997) ศึกษาใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ K211 ในกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 22 %(w/v) ที่อุณหภูมิ 33°C พบว่าผลิตเอทานอลได้ 9.2 % หรือมีอัตราการผลิตเท่ากับ 3.5 g/L/hr แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 35°C จะผลิตเอทานอลได้ 9.1% และมีอัตราการผลิตเท่ากับ 2.7 g/L/hr ส่วนที่อุณหภูมิ 30°C จะสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุดเท่ากับ 9.1% และมีอัตราการผลิตเท่ากับ 5.25 g/L/hr ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิการหมัก 30°C เพื่อใช้ในการศึกษาผลของชนิดและผลของความเร็วไปกวนต่อไป

จากรูปที่ 4.8 แสดงค่าอุณหภูมิการหมัก พบว่าที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 35°C ในช่วงที่มีการผลิตเอทานอลได้สูง (12-36 ชั่วโมง) จะมีอุณหภูมิไม่แตกต่างกันมากนัก เนื่องจากกิจกรรมการหมักทำให้อุณหภูมิของถังหมักที่อุณหภูมิห้องสูงขึ้น ทำให้ปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) โดยถังหมักที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถควบคุมความแตกต่างของอุณหภูมิให้อยู่ในระดับ 1°C ในขณะที่ กำเนิด(2534) กล่าวว่า การควบคุมอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพควรควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในระดับความแตกต่าง 0.1°C

เมื่อพิจารณาของแข็งที่ละลายทั้งหมด ($^{\circ}\text{Brix}$) ในรูปที่ 4.9 พบว่าในช่วงแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) ปริมาณของแข็งในกากน้ำตาลจะ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แต่เมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว ในกระบวนการหมัก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะลดลงเนื่องจากยีสต์จะสลายแหล่งคาร์บอนในกากน้ำตาลที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ได้แก่ ซูโครส, มอลโตส, มอลโตไตรโอส ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคสและฟรุกโตส ซึ่งในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนนั้นยีสต์ *S. carlsbergensis* จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยกระบวนการไกลโคไลติก pathway (Glycolytic pathway) ส่วน pH ของน้ำหมักในการทดลองจะมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 4.90-5.10 ตลอดการหมัก ดังในรูปที่ 4.10 จึงมีการเติมกรด-ด่าง เพื่อควบคุมค่า pH ในระหว่างการหมักให้คงที่ เท่ากับ 5.0

4.3.2 ผลการศึกษาผลของชนิดใบกวนต่อปริมาณเอทานอลในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

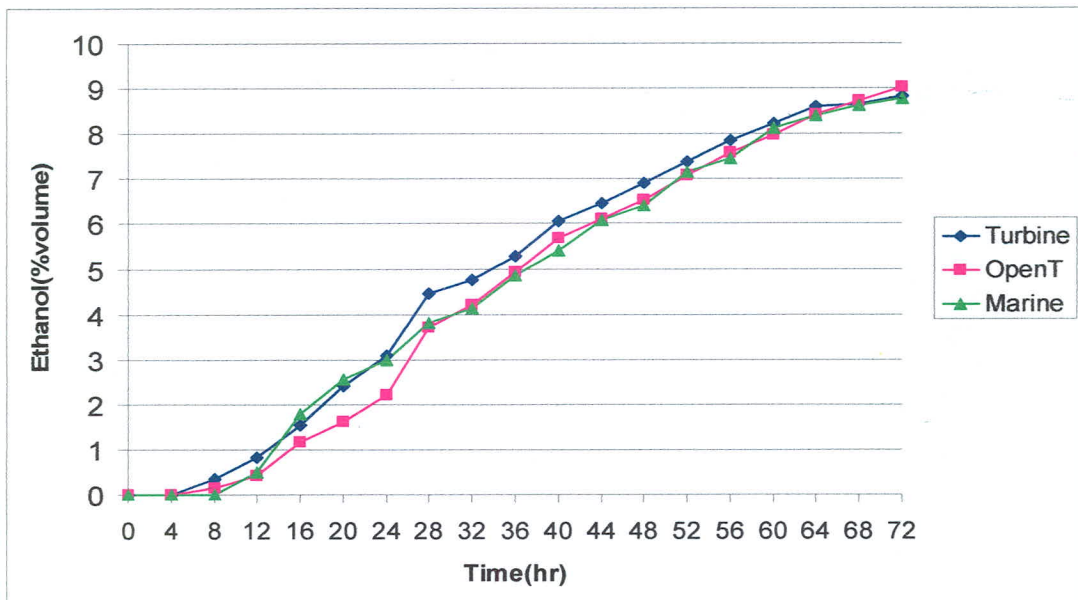
การศึกษาในหัวข้อนี้ใช้อุณหภูมิการหมักเท่ากับ 30 °C และใช้เวลาในการหมักเท่ากับ 72 ชั่วโมง โดยใช้ความเร็วในการกวนผสมเท่ากับ 75 rpm และระหว่างการหมักมีการเติมน้ำตาลตามช่วงเวลา โดยเริ่มเติมน้ำตาลในชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก โดยเติมทุกๆ 4 ชั่วโมงหลังจากนั้นซึ่งจะทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในน้ำหมักเพิ่มสูงขึ้น โดยที่เวลาเริ่มต้นจะมีปริมาณน้ำตาลอยู่เท่ากับ 117 g/L แต่ที่เวลาสิ้นสุดของการหมักพบว่ามีน้ำตาลอยู่ 163 g/L ซึ่งเมื่อพิจารณารูปแบบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอทานอลในแต่ละชนิดของใบกวนผสม พบว่า ในช่วง 16 ชั่วโมงแรกของการหมัก จะมีการผลิตเอทานอลได้ในปริมาณน้อยในทั้ง 3 ชนิดของใบกวนผสมที่ใช้ศึกษาดังในรูปที่ 4.12 และเมื่อพิจารณาใบกวนแต่ละชนิด ใบกวนผสมชนิด Turbine จะเริ่มการผลิตเอทานอลได้เร็ว รองลงมาคือใบกวนผสมชนิด Marine propeller สำหรับใบกวนผสมชนิด Open turbine จะเริ่มผลิตเอทานอลช้าที่สุดดังในรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.4 พบว่าที่เวลา 12 ชั่วโมงแรกของการหมักในใบกวนผสมทั้ง 3 ชนิดจะผลิตเอทานอลได้แตกต่างกันโดย Turbine จะผลิตเอทานอลได้สูงสุด ส่วน Open turbine จะผลิตเอทานอลได้น้อยที่สุด แต่เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มเป็น 16 ชั่วโมง ใบกวนชนิด Marine propeller จะผลิตเอทานอลได้มากที่สุด รองลงมาคือ Turbine และ Open turbine ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรกของการหมักเชื้อ *S. carlsbergensis* ต้องใช้เวลาในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมภายในถังหมัก ถ้าไม่มีปัจจัยภายนอกมารบกวนก็ทำให้เชื้อสามารถปรับตัวได้เร็ว แต่ถ้ามีสิ่งรบกวนทำให้ใช้เวลาในการปรับตัวเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเอทานอลในช่วง 20 ชั่วโมงแรกของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง และอุณหภูมิในการหมักเท่ากับ 30 °C

ชนิดใบกวนผสม	ชั่วโมงที่ 8	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 16	ชั่วโมงที่ 20
Turbine	0.40	0.90	1.55	2.65
Open turbine	0.00	0.40	1.15	1.85
Marine propeller	0.00	0.65	1.90	2.65

Santisteban and Filho (2005) ได้ศึกษาชนิดและความเร็วของใบกวนพบว่าใบกวนชนิด Turbine จะทำให้จำนวนจุลินทรีย์มีลดลงน้อยมากเมื่อเวลาการกวนผสมเพิ่มขึ้น ส่วนใบกวนชนิด Marine propeller ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงมากขึ้นและใบกวนชนิด Open turbine ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงมากที่สุด และเมื่อพิจารณาในช่วงเวลาที่ 16 ถึง 60 ชั่วโมงของการหมัก อัตราการผลิตเอทานอลจะเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าช่วงเวลาการหมักมี

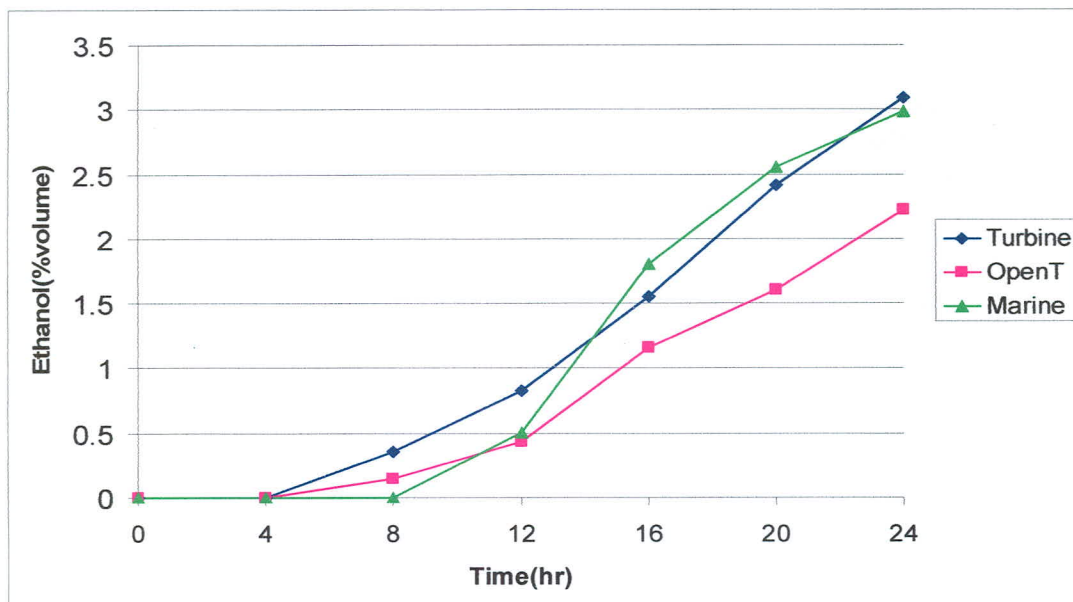
มากกว่า 60 ชั่วโมง จะทำให้อัตราการผลิตเอทานอลลดลง บุษบา (2542) ได้กล่าวว่าเมื่อปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นประมาณ 5-6% จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ทำให้อัตราการผลิตลดลง



รูปที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลกับเวลาการหมัก ที่ใช้ไบโกล 3 ชนิด ที่ความเร็วรอบ 75 rpm อุณหภูมิการหมัก 30°C ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

Phisalaphong *et. al.* (2006) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักต่อปริมาณเอทานอลพบว่าหลังจากเวลาที่ 18 ชั่วโมงของการหมัก เชื้อจะอยู่ในช่วง Stationary phase และที่เวลา 60 ชั่วโมงของการหมักจะมีจำนวนเชื้อลดลง

ไบโกลทั้ง 3 ชนิด มีการผลิตเอทานอลได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) คือเท่ากับ 9% และมีอัตราการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.81 g/L/hr ในทั้ง 3 ชนิดของไบโกลผสม ดังตารางที่ 4.5 และเมื่อพิจารณาปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ชนิดของไบโกล พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.0×10^5 CFU/mL ในทำนองเดียวกับปริมาณเชื้อสุดท้ายของไบโกลผสมทั้ง 3 ชนิด พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.0×10^5 CFU/mL สำหรับประสิทธิภาพของการหมัก (Fermentation yield) ในไบโกลผสมทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) 85%



รูปที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลกับเวลาการหมัก ที่ใช้ไบโกลวน 3 ชนิด ที่ความเร็วรอบ 75 rpm อุณหภูมิการหมัก 30 °C ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก

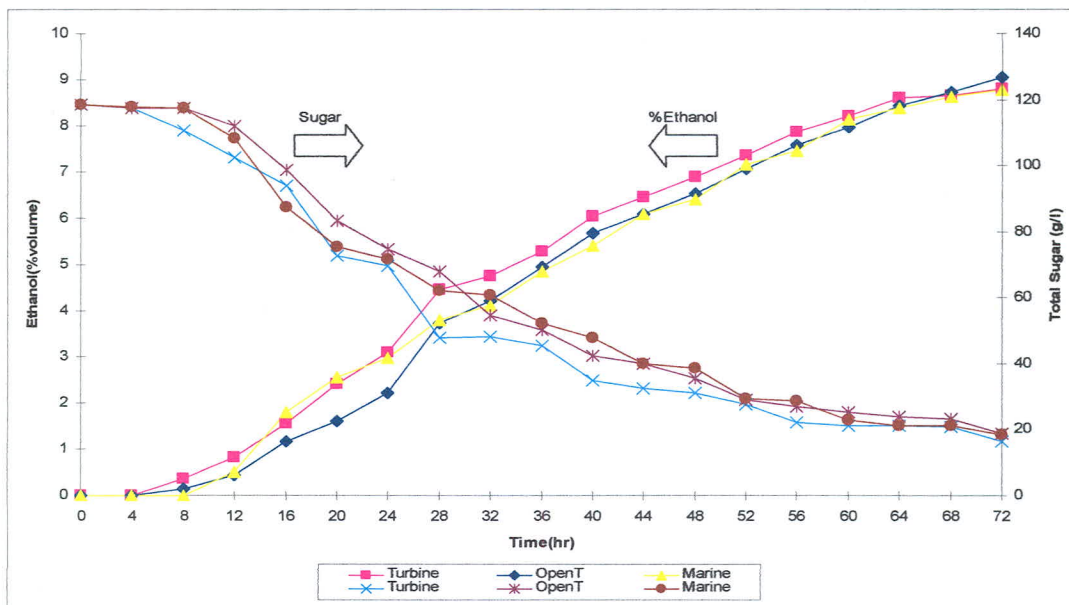
Lee *et. al.* (2000) ได้ศึกษาผลของการกลั่นผสมในการหมัก L-Ornithine โดยการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ใช้ไบโกลวนชนิด Turbine และชนิด Open turbine ซึ่งทั้ง 2 ชนิดจะมีแผ่นโลหะจำนวน 6 ใบวางอยู่บนจานในแนวตั้งฉากและทำมุมเอียงกับจานตามลำดับ พบว่าไบโกลวนชนิด Open turbine มีการผสมที่บริเวณก้นถังได้ดีกว่าชนิด Turbine แต่เมื่อพิจารณาบริเวณผิวหน้าน้ำหมักของไบโกลวนทั้ง 2 ชนิดพบว่าการผสมที่ไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.5 ผลของชนิดไบโกลวนผสมต่อปริมาณและอัตราการผลิตเอทานอล ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่มีอุณหภูมิในการหมักเท่ากับ 30 °C

ชนิดไบโกลวนผสม	เริ่มต้น	สุดท้าย	% เอทานอล	อัตราการผลิตเอทานอล	Fermentation yield (%)
Turbine	4.35×10^5	9.34×10^7	9.00	0.81	85.71
Open turbine	2.68×10^5	6.98×10^7	8.95	0.81	85.24
Marine propeller	3.69×10^5	7.68×10^7	8.95	0.81	85.24

Roukas (1996) ได้ศึกษาการผลิตเอทานอลโดยการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องและใช้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 250 g/L นอกจากนี้มีการเติมกากน้ำตาลในระหว่างหมัก โดยใช้ไบโกลวนผสมชนิด

Turbine มีอัตราเร็ว 500 rpm พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 53 g/L ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีอัตราการผลิตเอทานอลได้สูงสุด 3.8 g/L/hr และมีประสิทธิภาพของการหมักเท่ากับ 31.5%



รูปที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น และ ปริมาณน้ำตาลที่ลดลงกับเวลาการหมัก การศึกษาโดยใช้ใบกวน 3 ชนิด ที่ความเร็วรอบ 75 rpm อุณหภูมิการหมัก 30 °C ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

จากรูปที่ 4.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ลดลงกับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น โดยที่ปริมาณน้ำตาลที่ลดลงประมาณ 17 g/L ทำให้ปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น 1% โดยที่จากการศึกษาของ Phisalaphong *et. al.* (2006) ได้รายงานว่ปริมาณน้ำตาลที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลที่ลดลง 21 g/L ทำให้ปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น 1% และปริมาณเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี คือ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 1 g จะได้เอทานอล 0.511 g หรือ 0.647 ml โดยในระหว่างการหมักเชื้อยีสต์จะใช้กลูโคสในการเจริญเติบโตแล้วได้เอทานอลและผลิตภัณฑ์อื่นร่วมด้วย เช่น กลีเซอรอล โดยน้ำตาลกลูโคส 90-95% ที่ถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล

4.3.3 ผลการศึกษาผลของความเร็วใบกวนต่อปริมาณเอทานอลในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

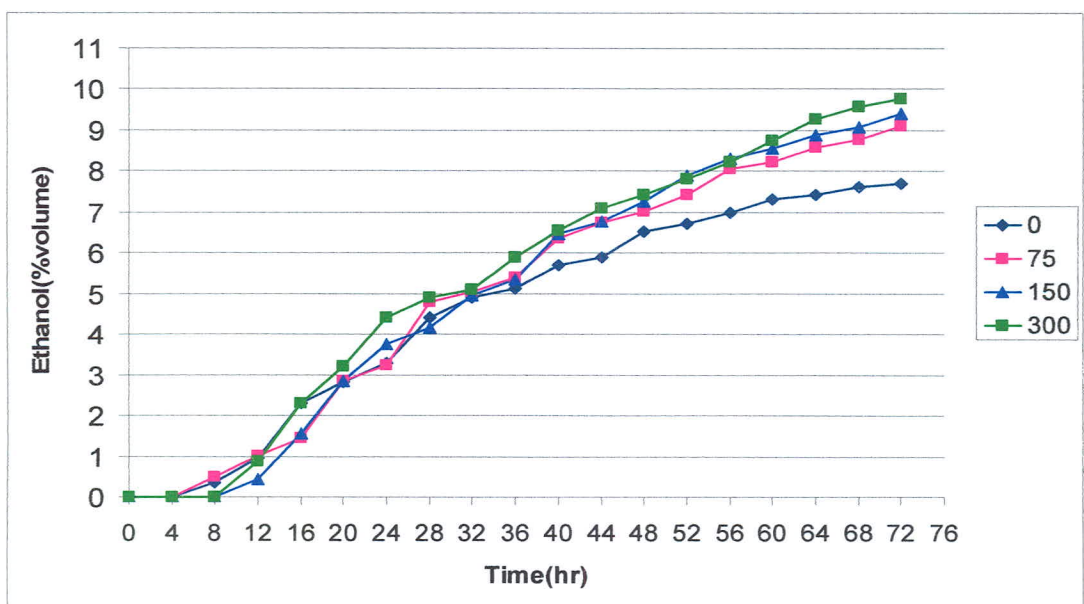
การหมักแบบกึ่งต่อเนื่องโดยอุณหภูมิของการหมักเท่ากับ 30 °C และใช้เวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง ระดับความเร็วใบกวนผสมที่ศึกษามี 4 ระดับ ได้แก่ 0, 75, 150 และ 300 rpm โดยใช้ใบกวนชนิด Turbine ซึ่งเมื่อพิจารณาแบบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอทานอลในช่วงหลังจาก 50 ชั่วโมงแรกของการหมักที่ไม่มีการกวนผสมจะมีการเพิ่มขึ้นของเอทานอลน้อยกว่าที่มีการกวนผสม

และการกวนผสมที่ระดับความเร็วสูงขึ้นทำให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.13 ซึ่งการกวนผสมทำให้เซลล์และอาหารมีการกระจายตัวได้ดี

เมื่อพิจารณาความเร็วในการกวนผสมที่ส่งผลต่อปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ในแต่ละระดับพบว่า ที่ระดับความเร็ว 300 rpm สามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด เท่ากับ 9.7% มีอัตราการผลิตเท่ากับ 0.87 g/L/hr ส่วนระดับความเร็วในการกวนผสมที่สามารถผลิตเอทานอลได้รองลงมาเท่ากับ 150, 75 และ 0 rpm ตามลำดับ ผลิตได้เท่ากับ 9.4%, 9.0% และ 7.8% ตามลำดับและอัตราการผลิตเท่ากับ 0.84 g/L/hr, 0.81 g/L/hr และ 0.70 g/L/hr ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงผลของความเร็วในการกวนผสมด้วยใบกวนผสมแบบ Turbine ต่อปริมาณและอัตราการผลิตเอทานอลที่มีอุณหภูมิในการหมักเท่ากับ 30 °C

ความเร็วใบกวน(rpm)	จำนวนเชื้อ		%เอทานอล	อัตราการผลิตเอทานอล (g/l/h)	Re
	เริ่มต้น($\times 10^5$)	สุดท้าย($\times 10^7$)			
0	3.2	3.2	7.8 ^a	0.70	
75	4.5	4.4	9.0 ^b	0.81	2370
150	2.9	6.1	9.4 ^c	0.84	4740
300	3.5	6.5	9.7 ^d	0.87	9480



รูปที่ 4.13 ปริมาณเอทานอลกับเวลาการหมัก ที่ใช้ใบกวนชนิด Turbine ที่ความเร็วรอบ 0, 75, 150, 300 rpm อุณหภูมิการหมัก 30°C ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง