บทที่ 4

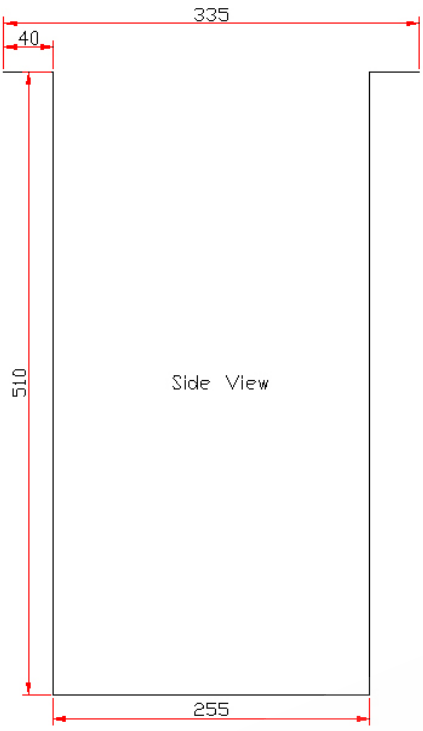
ผลการศึกษา

4.1 ผลการออกแบบและการสร้างถังหมักสำหรับผลิตเอทานอล

4.1.1 ตัวถังหมัก

- ตัวถังทำจากสแตนเลส (Stainless steel) ชนิดออสตินิติก (Austenitic) ความหนา 3.0 mm ดัดโค้งขึ้นรูปเป็นถังทรงกระบอก ประสานรอยต่อโดยการเชื่อมหลอมเหลว (Fusion weld) ก้นถังแบนราบปิดสนิท
- ตัวถังมีมิติขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง × ความสูง เท่ากับ 255 mm × 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 เจาะรูบนแนวเส้นวงกลมที่มีรัศมีเท่ากับ 152.5 mm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูที่เจาะเท่ากับ 10 mm จำนวน 8 รู สำหรับใส่น็อตขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 8 mm สำหรับยึดฝาถัง

Prince of Songkla University Pattani Campus



(a)

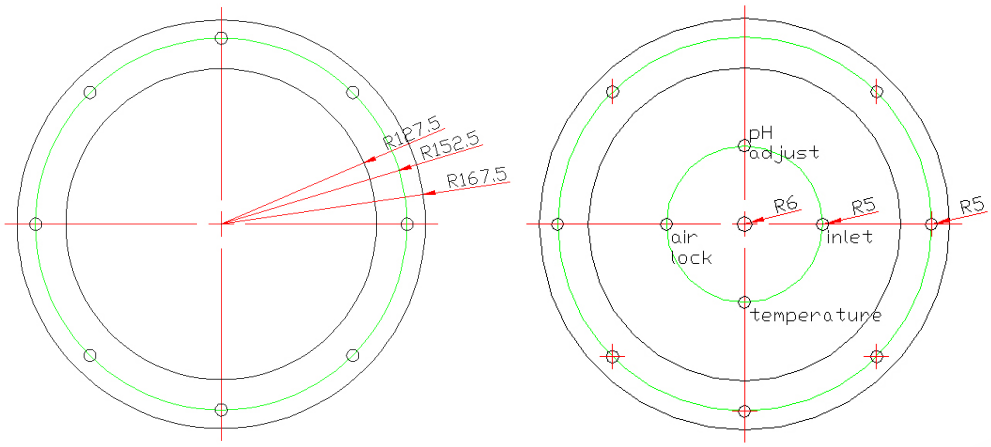
(b)

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

Prince of Songkla University Pattani Campus



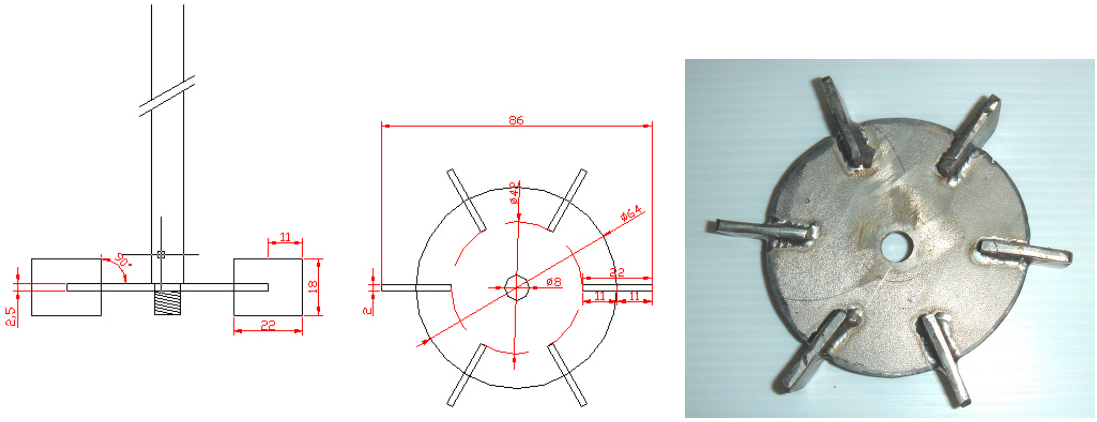
(a)

(b)

รูปที่ 4.2 (a) แบบฝาถัง (b) ฝาถังที่สร้าง

4.1.3 การกวนผสม

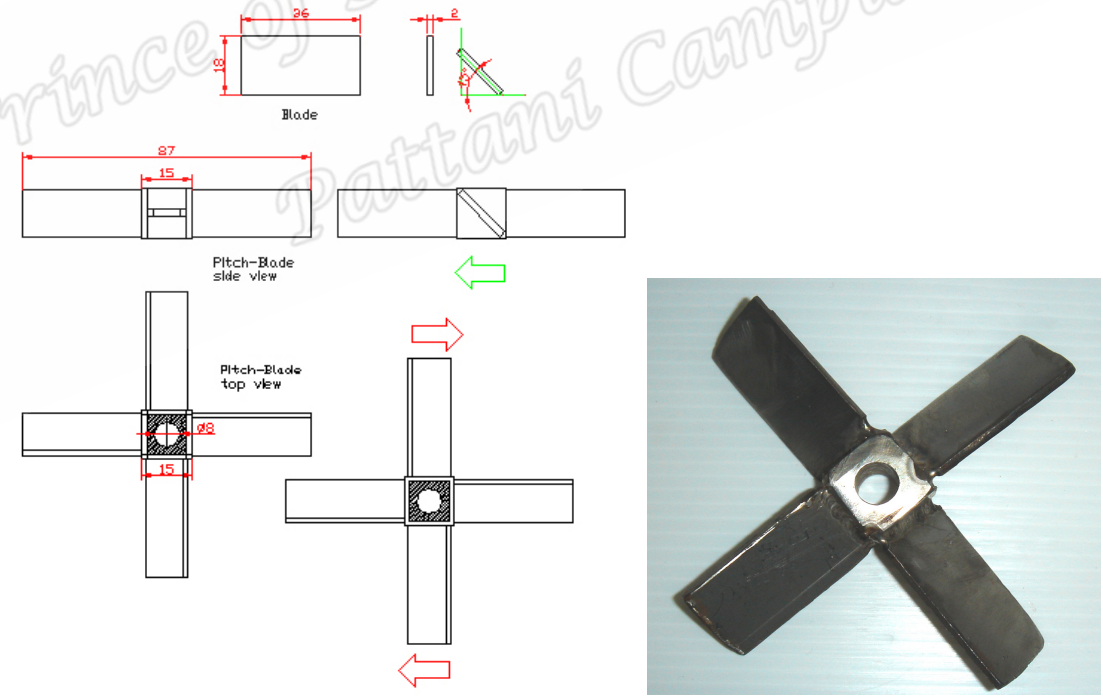
- มอเตอร์ขับใบกวน ประกอบด้วยมอเตอร์กระแสสลับขนาดกำลัง 1.0 HP กระแสไฟ 3 phase ต่อกับเครื่องควบคุมความเร็วรอบ (Inverter) สามารถปรับความเร็วรอบได้ที่ 75, 150 และ 300 rpm
- ใบกวนแบบเทอร์ไบน์ (Turbine) ทำจากสแตนเลส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวัดจากปลายขอบใบพัดด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งเท่ากับ 86 mm และมีจานกลมสำหรับติดตั้งใบพัดเส้นผ่านศูนย์กลางของจานกลม (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



(a) (b)

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

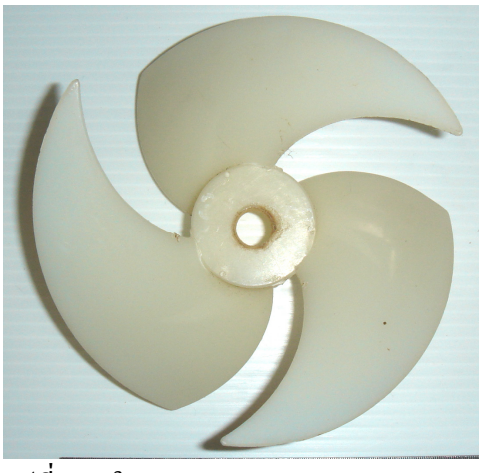


(a) (b)

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

Prince of Songkla University Pattani Campus

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

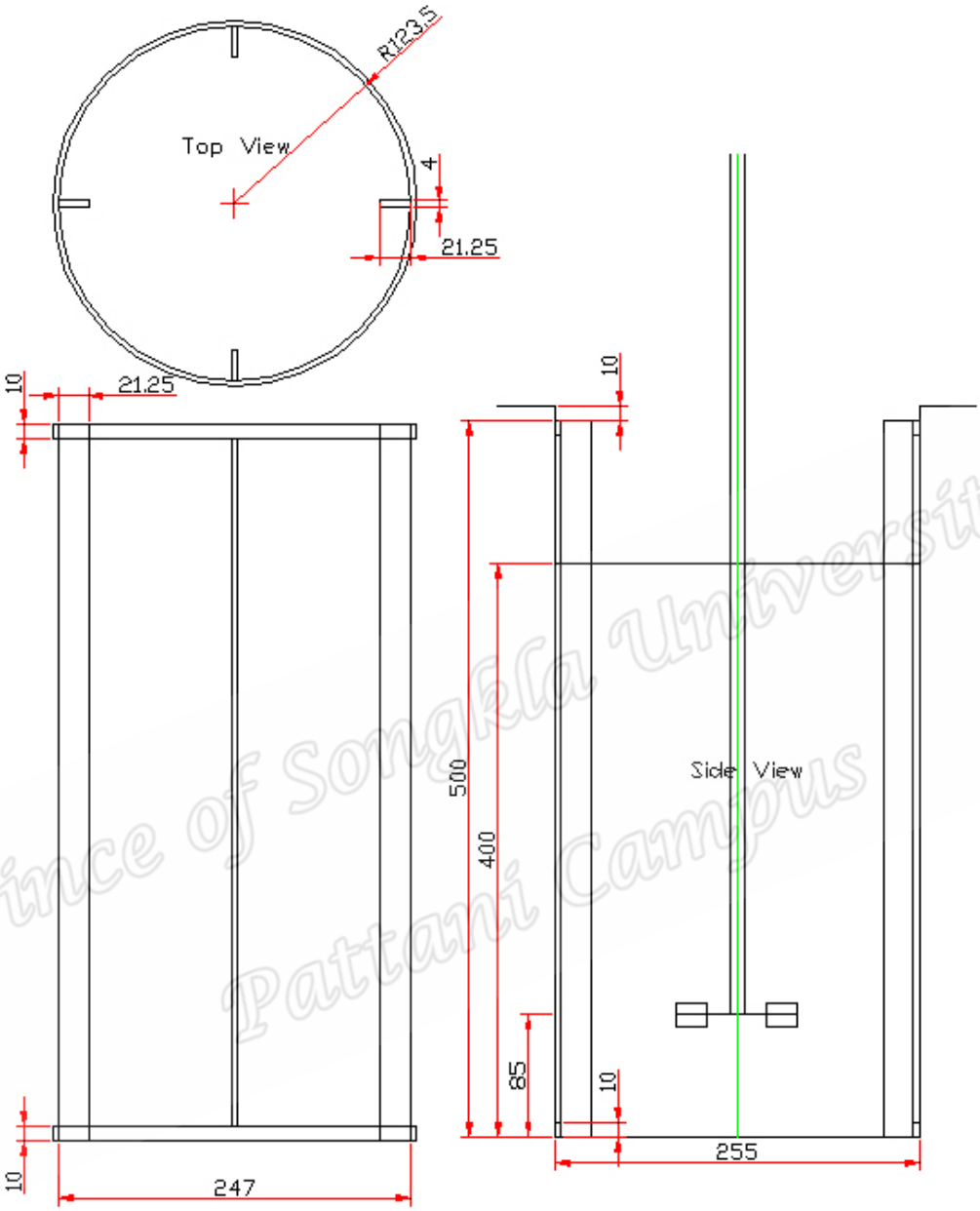


รูปที่ 4.5 ใบกวน Marine propeller

- ชุดป้องกันการหมุนวน (Baffle) ทำจากสแตนเลส ประกอบด้วยวงแหวนกลมที่ทำจากสแตนเลสตัดเป็นแถบขนาด กว้าง × ยาว เท่ากับ 10 mm × 775 mm ดัดโค้งเป็นวงกลมให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 247 mm จำนวนสองชิ้นสำหรับด้านบนและด้านล่าง สำหรับแผ่น Baffle ทำจากสแตนเลส ความหนา 3 mm ขนาด กว้าง × ยาว เท่ากับ 21.25 mm × 500 mm จำนวน 4 อัน เชื่อมติดทำมุมฉากกับเส้นสัมผัสวงกลมด้านในของวงแหวน ชุดป้องกันการหมุนวนยึดติดกับฝาถังสามารถใส่เข้าหรือถอดออกจากถังหมักพร้อมกับฝาถัง เมื่อติดตั้งชุดป้องกันการหมุนวนจะเกิดช่องว่างระหว่างผิวด้านในของถังหมักกับแผ่นป้องกันการหมุนวน ดังรูปที่ 4.6

- เพลากวน ใบกวนยึดติดกับเพลากวนทำจากแท่งสแตนเลสกลมตัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10 mm ชุดใบกวนติดตั้งในแนวเส้นกึ่งกลางของถังหมักและสูงขึ้นมาจากก้นถังถึงกึ่งกลางใบกวนเป็นระยะทาง 85 mm

Prince of Songkla University Pattani Campus



(a)

รูปที่ 4.6 (a) แบบสร้าง Baffle

Prince of Songkla University Pattani Campus

(b)

รูปที่ 4.6 (b) Baffle ที่สร้างติดพร้อมฝาถัง

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.1.4 ถังหล่อเย็นระบายความร้อน

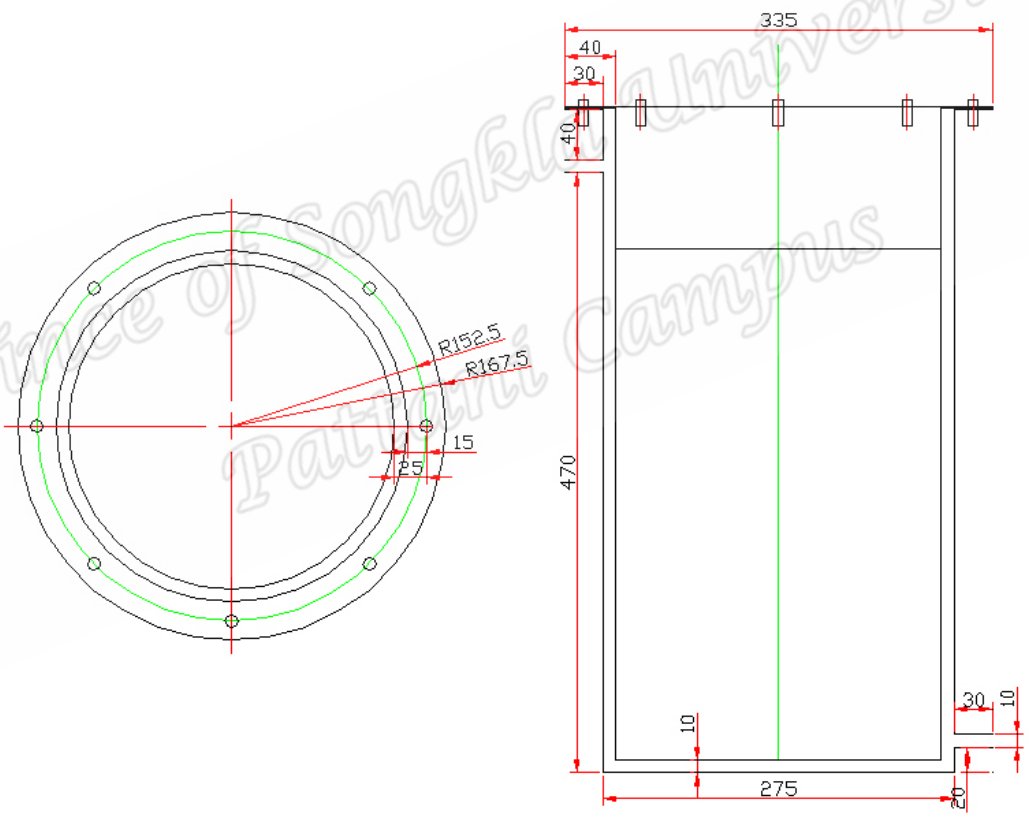
- ระบบหล่อเย็นด้วยน้ำ (Water Jacket) ทำจากสแตนเลส ความหนา 3 mm ขึ้นรูปเป็นลักษณะเดียวกับถังหมักแต่มีขนาดใหญ่กว่าหุ้มด้านนอกเพื่อทำให้เกิดช่องว่างสำหรับใส่น้ำหล่อเย็น โดยมีขนาดของถังหล่อเย็นดังนี้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง×สูง เท่ากับ 275 mm×520 mm
- ปากถังทำเป็นขอบสำหรับยึดฝาถังมีรัศมีความกว้าง 30 mm ทำให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางปากถังด้านนอกเท่ากับ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

ด้านบนเท่ากับ 40 mm เมื่อประกอบถังหมักลงในถังหล่อเย็น จะมีช่องว่าง 10 mm ระหว่างถังหมักกับถังหล่อเย็น

- ปั๊มน้ำหล่อเย็น ขับน้ำจากถังควบคุมอุณหภูมิภายนอกเพื่อหล่อเย็นรักษาอุณหภูมิของถังหมักโดยมีวาล์วควบคุมอัตราการไหล

4.1.1 การระบายก๊าซ

- ท่อระบายก๊าซอยู่บริเวณฝาถังประกอบด้วยวาล์ว ทำหน้าที่ระบายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก และป้องกันไม่ให้อากาศจากภายนอกเข้าไปในถังหมัก (Air lock) โดยใช้วาล์วเปิดเป็นระยะ



(a)

รูปที่ 4.7 (a) แบบสร้างถังหล่อเย็น

Prince of Songkla University Pattani Campus

(b)

รูปที่ 4.7 (b) ถังหล่อเย็น

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.1.2 การติดตามและการสุ่มตัวอย่าง

- การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ประกอบด้วยหัววัดอุณหภูมิ (Thermocouple) ซึ่งติดตั้งผ่านทางฝาถัง และจุ่มปลายหัววัดอุณหภูมิจมลงใต้ระดับน้ำหมักในถัง หัววัดอุณหภูมิส่งสัญญาณเข้าเครื่องบันทึกข้อมูลอุณหภูมิ (Temperature Data Logger)
- ระบบการสุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วยปั๊มสูญญากาศ (Vacuum pump) ต่อกับช่องเก็บตัวอย่างทางฝาถังซึ่งมีท่อดูดติดตั้งใต้ระดับน้ำหมัก ดูดตัวอย่างลงสู่ขวดรูปชมพู่ขนาด 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) สำหรับการศึกษาของจุฑามาศ (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) และกล่าวว่าองค์ประกอบทางเคมีของกากน้ำตาลมีความแตกต่างกันเนื่องจากกรรมวิธีในการผลิตน้ำตาลทราย โดยเครื่องจักรที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถสกัดน้ำตาลออกไปได้มากขึ้น รวมถึงปริมาณสารเคมีที่เติมลงไปในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย และ Curtin (1983) ได้รายงานว่าชนิดของดินที่ปลูกอ้อยจะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีในกากน้ำตาล

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3 ผลการใช้และควบคุมถังหมักในการผลิตเอทานอล

4.3.1 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิการหมักต่อปริมาณเอทานอล ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

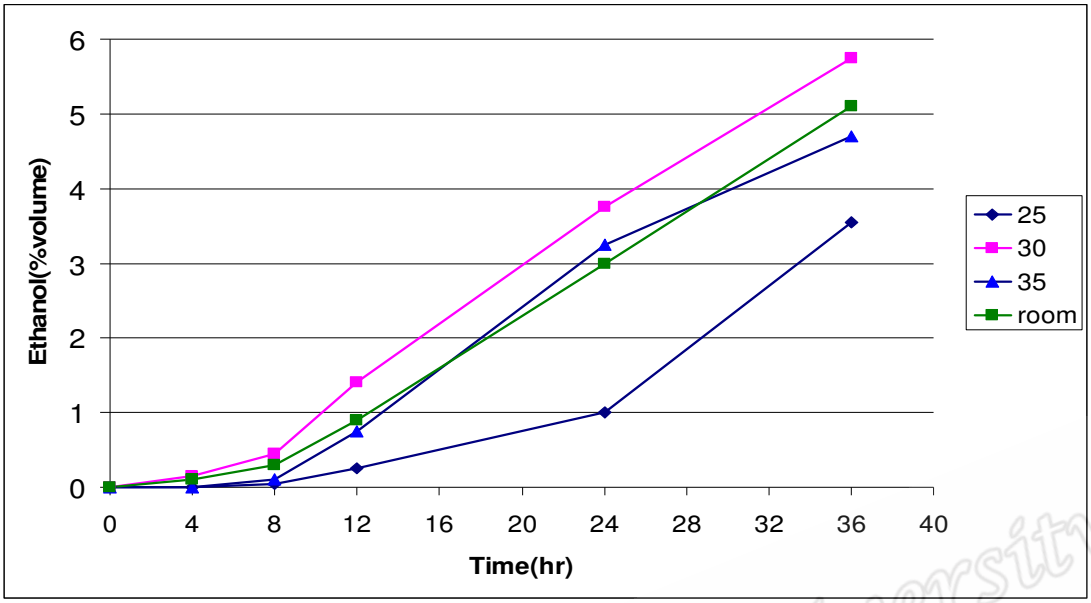
ศึกษาผลของอุณหภูมิการหมัก 4 ระดับ ได้แก่ที่ 25, 30, 35 °C และที่อุณหภูมิห้อง ที่มีต่อปริมาณเอทานอลในการหมักแบบกะโดยเชื้อ *S. carlsbergensis* ในกากน้ำตาลโดยไม่มีการกวนผสม

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% ถัดมาคือที่อุณหภูมิห้องและที่ 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 ท่ากับ 1.03 g/L/hr รองลงมาคือที่ อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 35 °C มีค่าเท่ากับ 0.92 และ 0.84 g/L/hr ตามลำดับ สำหรับที่อุณหภูมิ 25 °C มีอัตราการผลิตต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 0.64 g/L/hr

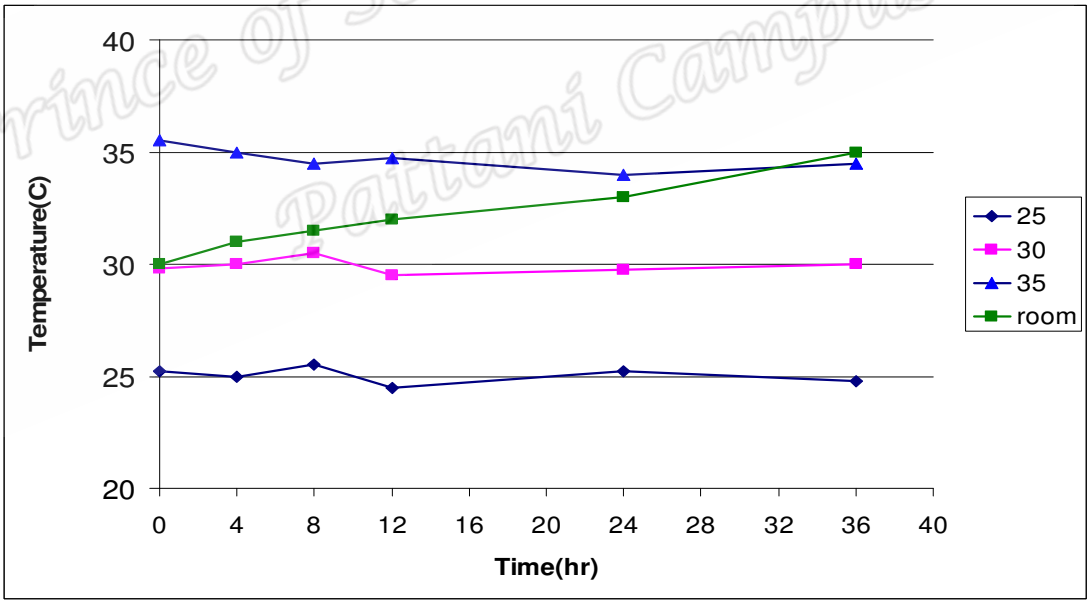
ตารางที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิต่อปริมาณร้อยละของเอทานอลและอัตราการผลิตเอทานอลในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

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]

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

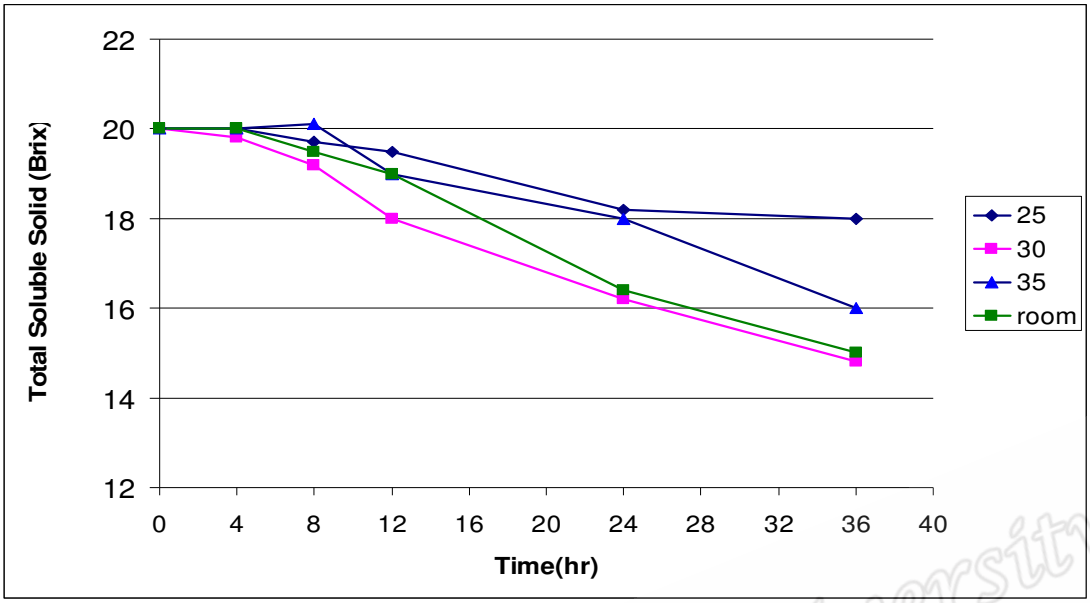


รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างเอทานอลกับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิการหมักต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

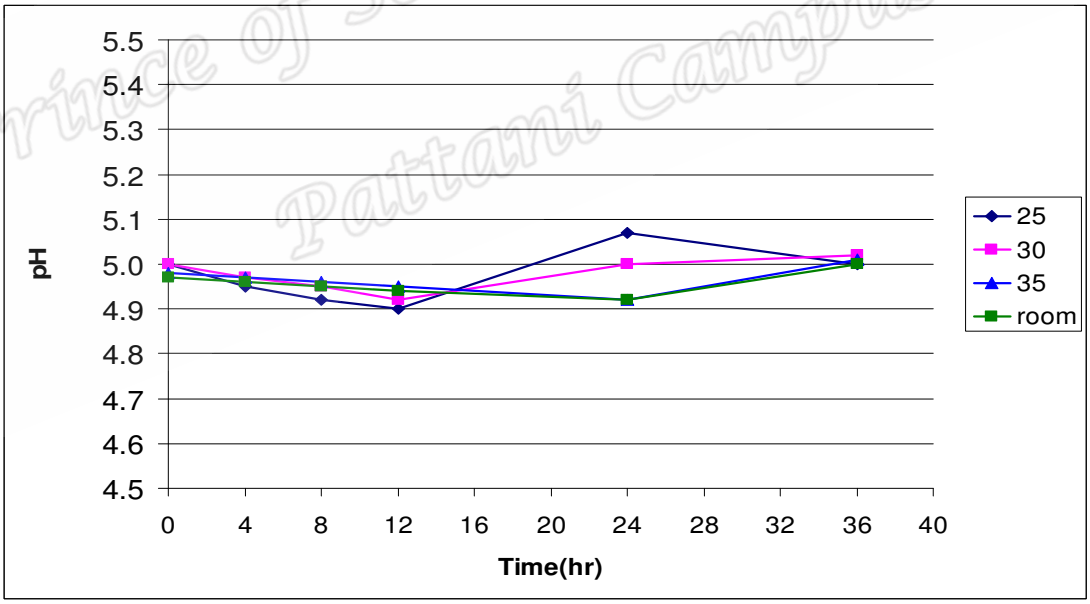


รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการหมักกับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิควบคุมต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

Prince of Songkla University Pattani Campus



รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดกับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิควบคุมต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม



รูปที่ 4.11 ค่า pH ที่ควบคุมด้วยการเติมกรด-ด่าง กับเวลาการหมัก ที่อุณหภูมิควบคุมต่างๆ ในการหมักแบบกะโดยไม่มีการกวนผสม

Prince of Songkla University Pattani Campus

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) ศึกษายีสต์ *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 เพื่อใช้ในการศึกษาผลของชนิดและผลของความเร็วใบกวนต่อไป

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

เมื่อพิจารณาของแข็งที่ละลายทั้งหมด (°Brix) ในรูปที่ 4.9 พบว่าในช่วงแรกของการหมัก (0-12 ชั่วโมง) ปริมาณของแข็งในกากน้ำตาลจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แต่เมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในกระบวนการหมัก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะลดลงเนื่องจากยีสต์จะสลายแหล่งคาร์บอนในกากน้ำตาลที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ได้แก่ ซูโครส, มอลโตส, มอลโตไตรโอส ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคสและฟรุกโตส ซึ่งในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนนั้นยีสต์ *S. carlsbergensis* จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยกระบวนการไกลโคไลติกพาทเวย์ (Glycolytic pathway) ส่วน pH ของน้ำหมักในการทดลองจะมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 4.90-5.10 ตลอดการหมัก ดังในรูปที่ 4.10 จึงมีการเติมกรด-ด่าง เพื่อควบคุมค่า pH ในระหว่างการหมักให้คงที่ เท่ากับ 5.0

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.3.2 ผลการศึกษาผลของชนิดใบกวนต่อปริมาณเอทานอลในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

การศึกษาในหัวข้อนี้ใช้อุณหภูมิการหมักเท่ากับ 30 °C และใช้เวลาในการหมักเท่ากับ 72 ชั่วโมง โดยใช้ความเร็วในการกวนผสมเท่ากับ 75 rpm และระหว่างการหมักมีการเติมกากน้ำตาลตามช่วงเวลา โดยเริ่มเติมกากน้ำตาลในชั่วโมงที่ 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 ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรกของการหมัก เชื้อ *S. carlsbergensis* ต้องใช้เวลาในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมภายในถังหมัก ถ้าไม่มีปัจจัยภายนอกมารบกวนก็ทำให้เชื้อสามารถปรับตัวได้เร็ว แต่ถ้ามีสิ่งรบกวนทำให้ใช้เวลาในการปรับตัวเพิ่มขึ้น

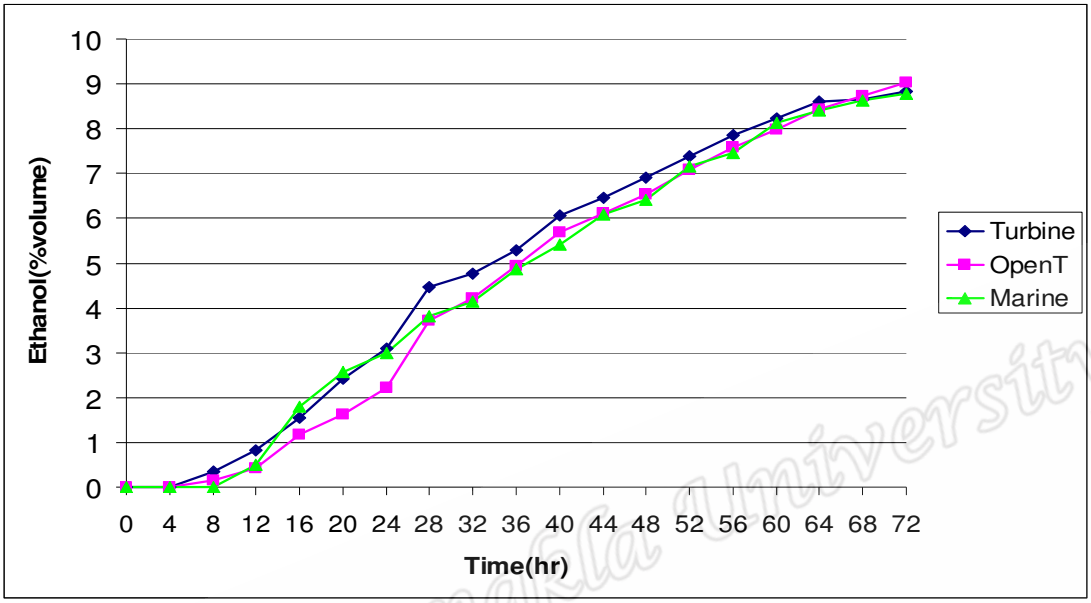
ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเอทานอลในช่วง 20 ชั่วโมงแรกของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง และอุณหภูมิในการหมักเท่ากับ 30 °C

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

Prince of Songkla University Pattani Campus

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

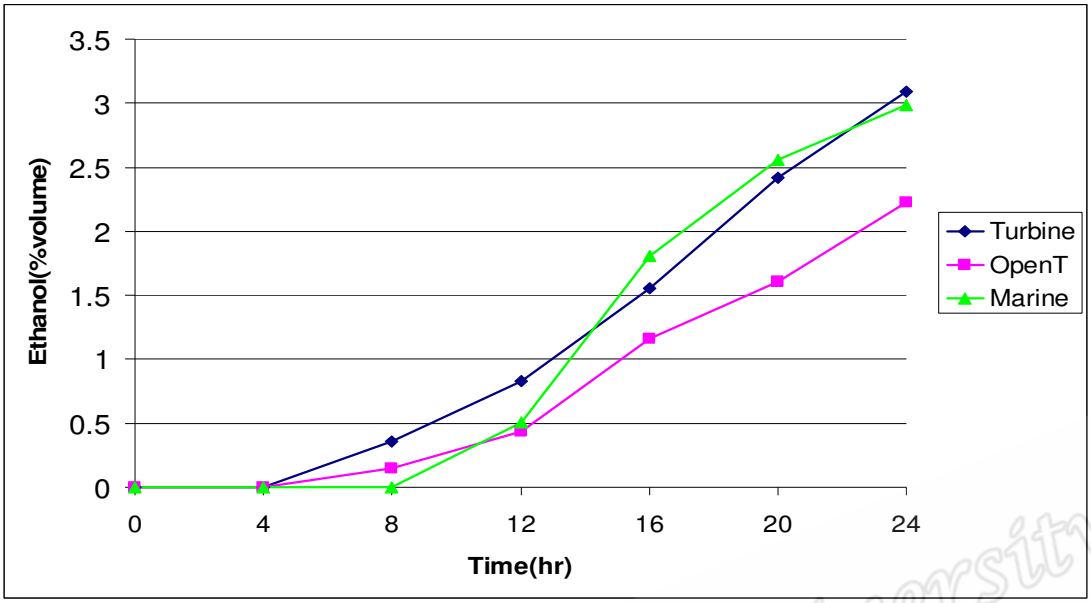


รูปที่ 4.12 ปริมาณเอทานอลกับเวลาการหมัก ที่ใช้ใบกวน 3 ชนิด ที่ความเร็วรอบ 75 rpm อุณหภูมิการหมัก 30°C ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

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

ใบกวนทั้ง 3 ชนิด มีการผลิตเอทานอลได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) คือเท่ากับ 9% และมีอัตราการผลิตเอทานอลเท่ากับ 0.81 g/L/hr ในทั้ง 3 ชนิดของใบกวนผสม ดังตารางที่ 4.5 และเมื่อพิจารณาปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ชนิดของใบกวน พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.0×10^5 CFU/mL ในทำนองเดียวกับปริมาณเชื้อสุดท้ายของใบกวนผสมทั้ง 3 ชนิด พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.0×10^5 CFU/mL สำหรับประสิทธิภาพของการหมัก (Fermentation yield) ในใบกวนผสมทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) 85%

Prince of Songkla University Pattani Campus



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

Lee *et. al.* (2000) ได้ศึกษาผลของการกวนผสมในการหมัก L-Ornithine โดยการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ใช้ใบกวนชนิด Turbine และชนิด Open turbine ซึ่งทั้ง 2 ชนิดจะมีแผ่นโลหะจำนวน 6 ใบวางอยู่บนจานในแนวตั้งฉากและทำมุมเอียงกับจานตามลำดับ พบว่าใบกวนชนิด Open turbine มีการผสมที่บริเวณก้นถังได้ดีกว่าชนิด Turbine แต่เมื่อพิจารณาบริเวณผิวหน้าน้ำหมักของใบกวนทั้ง 2 ชนิดพบว่ามีการผสมที่ไม่แตกต่างกัน

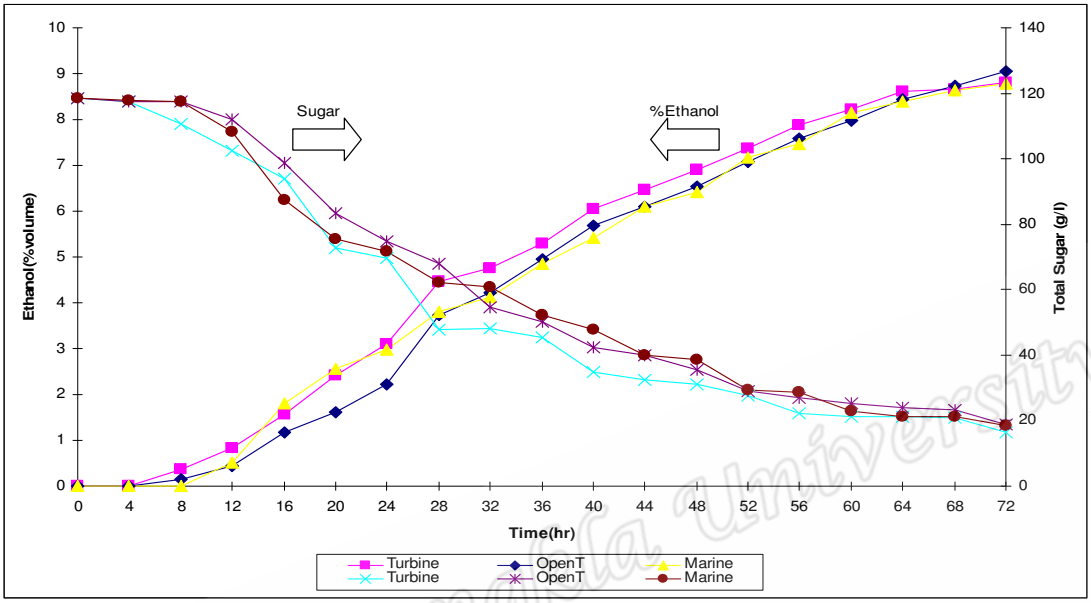
ตารางที่ 4.5 ผลของชนิดใบกวนผสมต่อปริมาณและอัตราการผลิตเอทานอล ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่มีอุณหภูมิในการหมักเท่ากับ 30 °C

ชนิดใบกวนผสม	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 นอกจากนี้มีการเติมกากน้ำตาลในระหว่างการหมัก โดยใช้ใบกวนผสมชนิด

Prince of Songkla University Pattani Campus

Turbine มีอัตราเร็ว 500 rpm พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด 53 g/L ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีอัตราการผลิตเอทานอลได้สูงสุด 3.8 g/L/hr และมีประสิทธิภาพของการหมัก เท่ากับ 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) ได้รายงานว่าปริมาณน้ำตาลที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้น 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 ซึ่งเมื่อพิจารณารูปแบบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอทานอลในช่วงหลังจาก 50 ชั่วโมงแรกของการหมักที่ไม่มีการกวนผสมจะมีการเพิ่มขึ้นของเอทานอลน้อยกว่าที่มีการกวนผสม

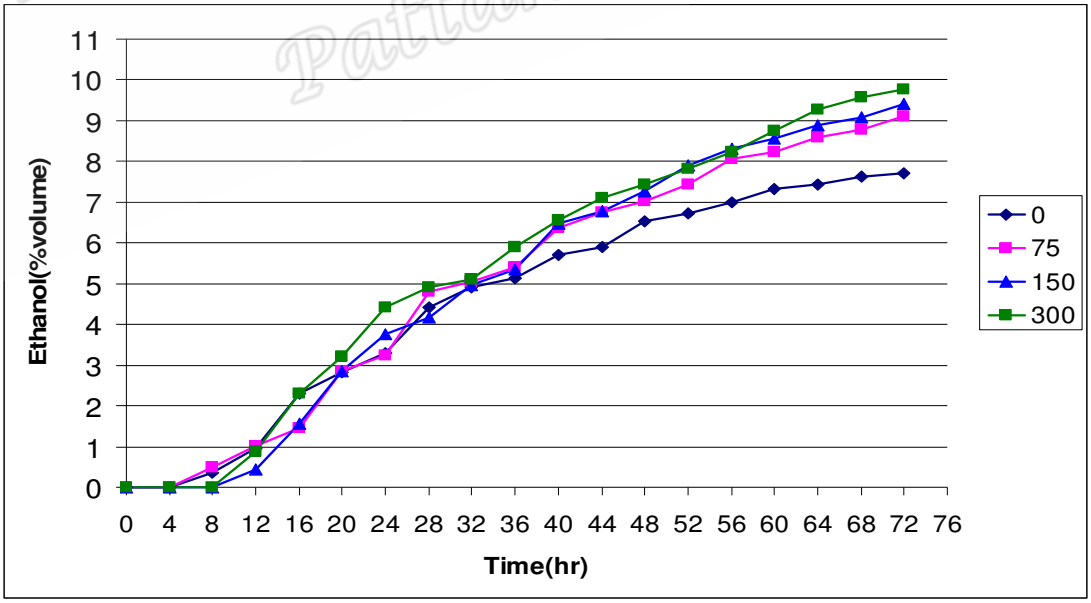
Prince of Songkla University Pattani Campus

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

Prince of Songkla University Pattani Campus