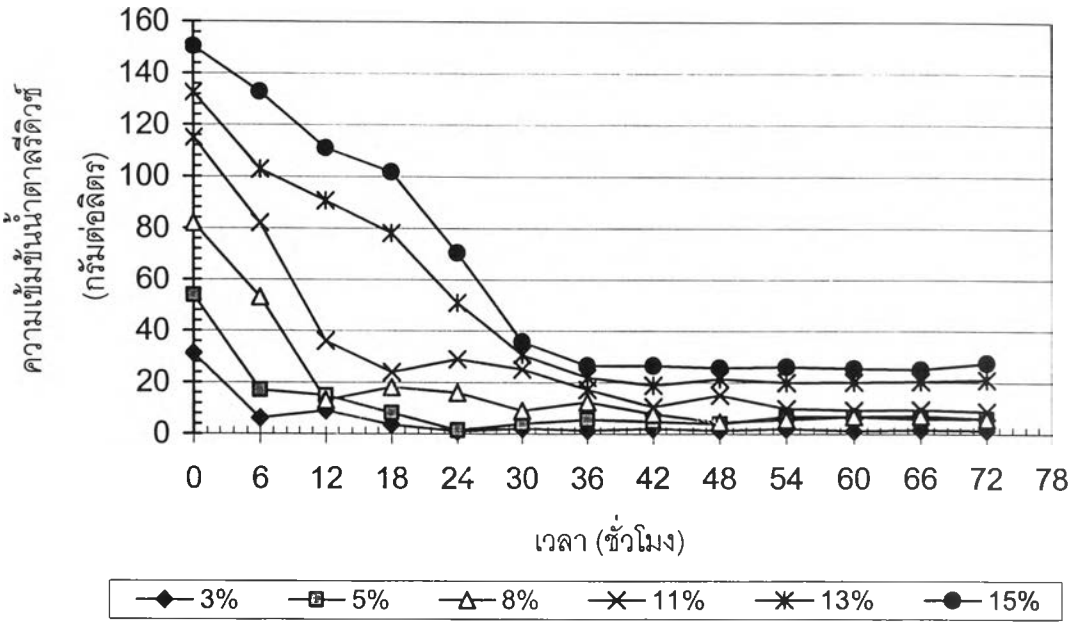
บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผล

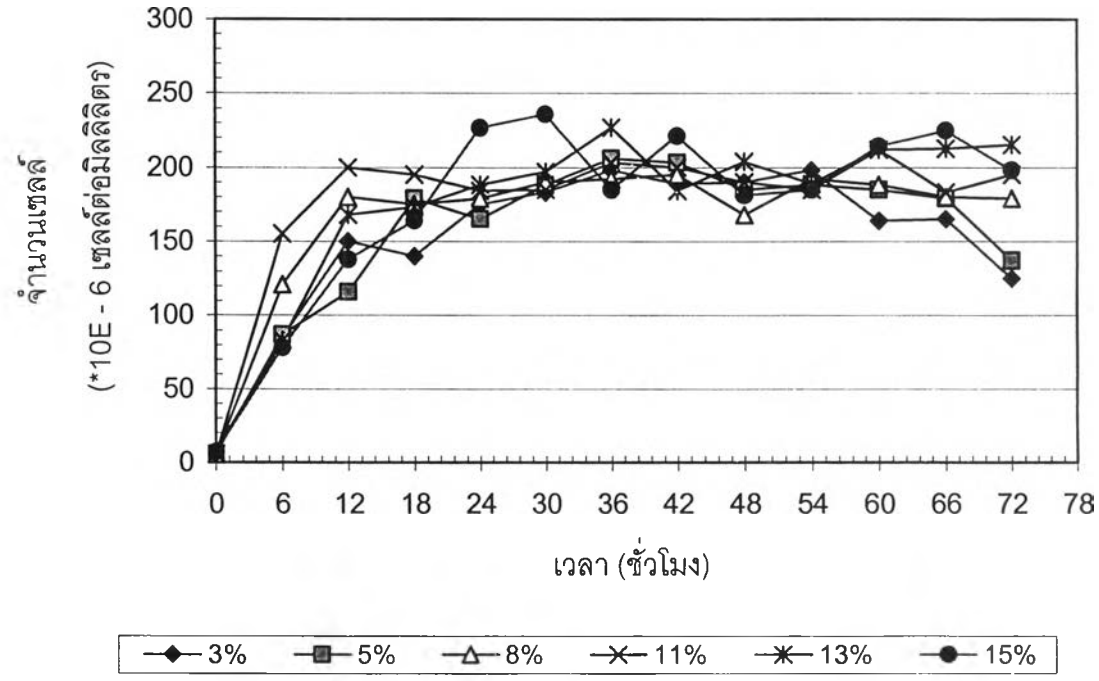
การศึกษาการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ในงานวิจัยนี้แบ่งการศึกษาทดลองออกเป็น 3 ส่วนหลักๆ คือ ส่วนแรกทำการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร วัตถุประสงค์ของการทดลองส่วนนี้คือต้องการหาความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นที่เหมาะสม สำหรับการผลิตเซลล์และเอทานอล ส่วนที่สองคือการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในถังหมักขนาด 7 ลิตร โดยจะนำข้อมูลที่ได้จากส่วนแรกมาช่วยในการพิจารณาเลือกความเข้มข้นของน้ำตาลตั้งต้นที่เหมาะสม วัตถุประสงค์ของงานวิจัยส่วนนี้คือ ต้องการศึกษาลักษณะการเจริญและหาจลนพลศาสตร์พารามิเตอร์เพื่อนำไปออกแบบการทดลองถัดไป ส่วนสุดท้ายจะทำการศึกษาผลของการหมักแบบต่อเนื่องทั้งแบบมีและไม่มีการเวียนกลับเซลล์ ในถังหมักขนาด 7 ลิตร ผลการทดลองที่ได้จะแสดงไว้ในลำดับถัดไป

4.1 การหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่

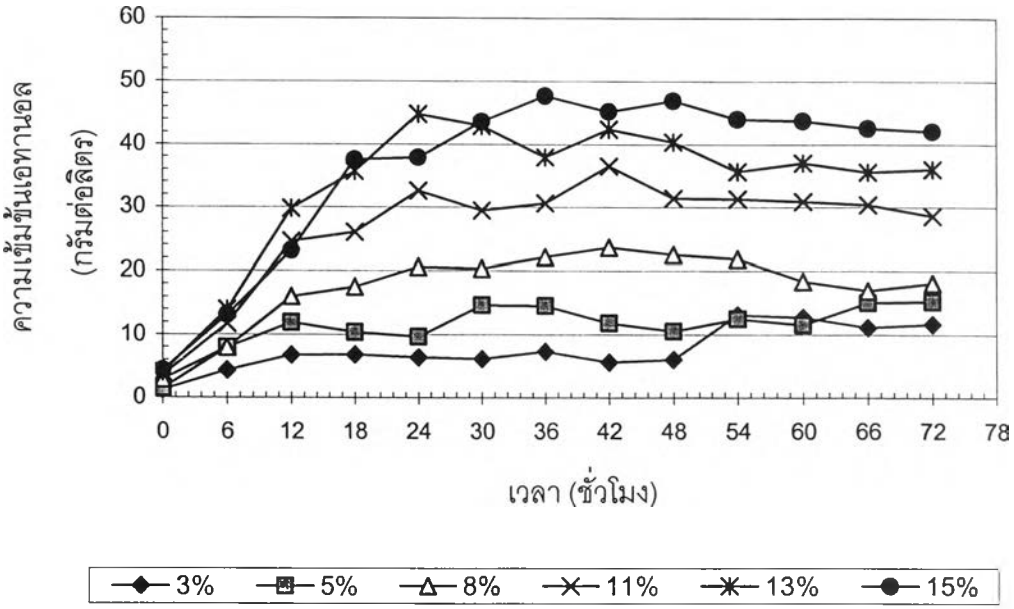
ในงานวิจัยนี้เริ่มต้นจากการทำการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ เพื่อต้องการศึกษาลักษณะการเจริญเบื้องต้นของการเพาะเลี้ยง *Saccharomyces cerevisiae* M30 โดยได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหารที่แสดงไว้ในบทที่ 3 ในงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นที่มีต่อการเจริญของเชื้อ โดยจะทำการศึกษาความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นในช่วง 30 ถึง 250 กรัมต่อลิตร ขั้นแรกทดลองหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ซึ่งจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนแรกทำการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลล์(30 ถึง 150 กรัมต่อลิตร) และความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอทานอล(170 ถึง 250 กรัมต่อลิตร) จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นต่างๆกันจะทำให้เซลล์มีรูปแบบการเจริญแตกต่างกัน โดยจะสังเกตและเก็บข้อมูลจากการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ จำนวนเซลล์(หรือน้ำหนักเซลล์แห้ง) และความเข้มข้นของเอทานอลตามเวลาจะได้การเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.1 ถึง รูปที่ 4.6



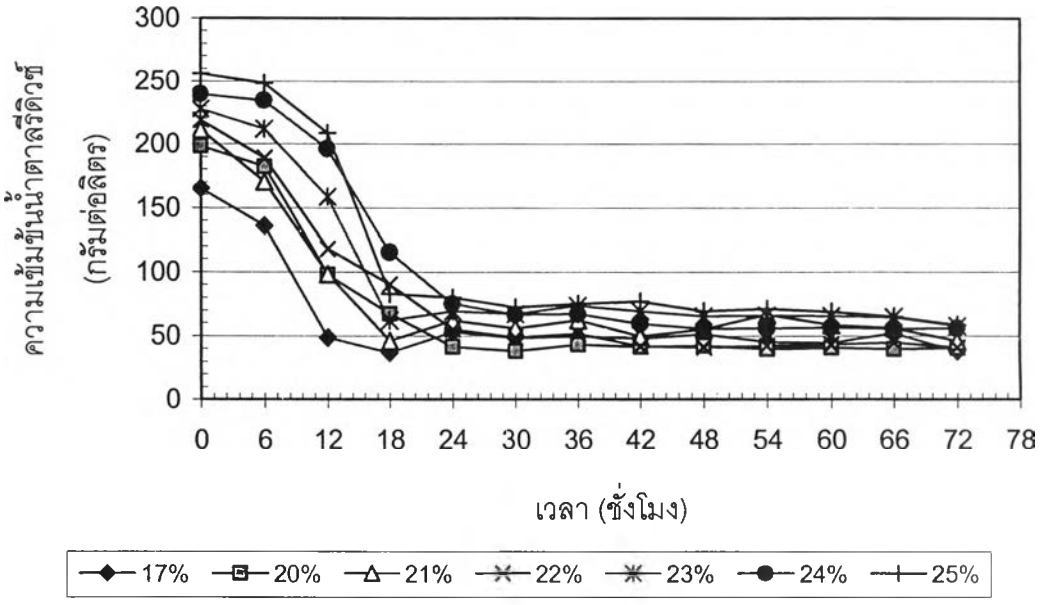
รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ ตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 3,5,8,11และ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



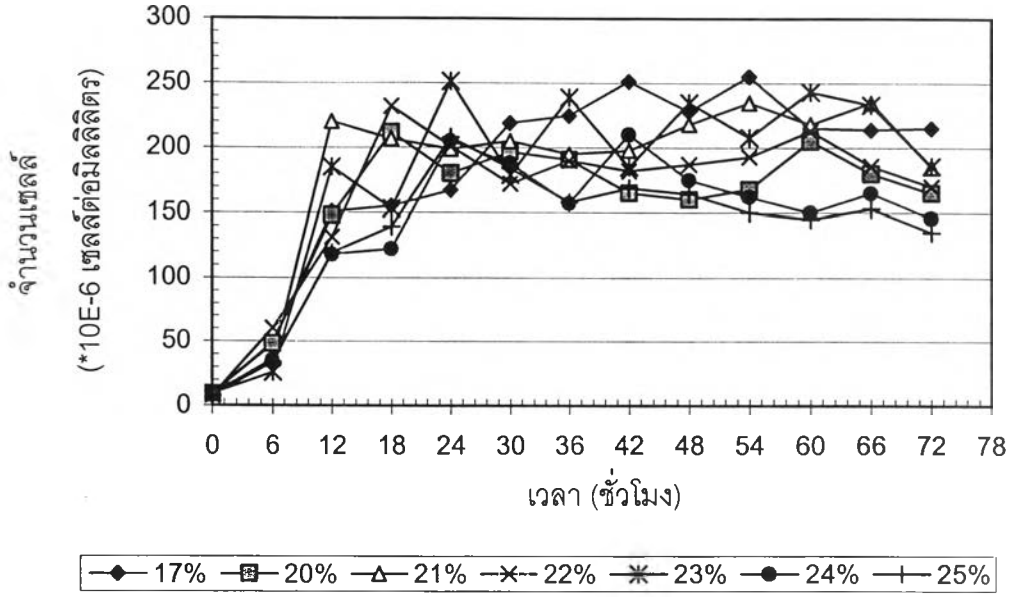
รูปที่ 4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 3 ,5,8,11และ15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



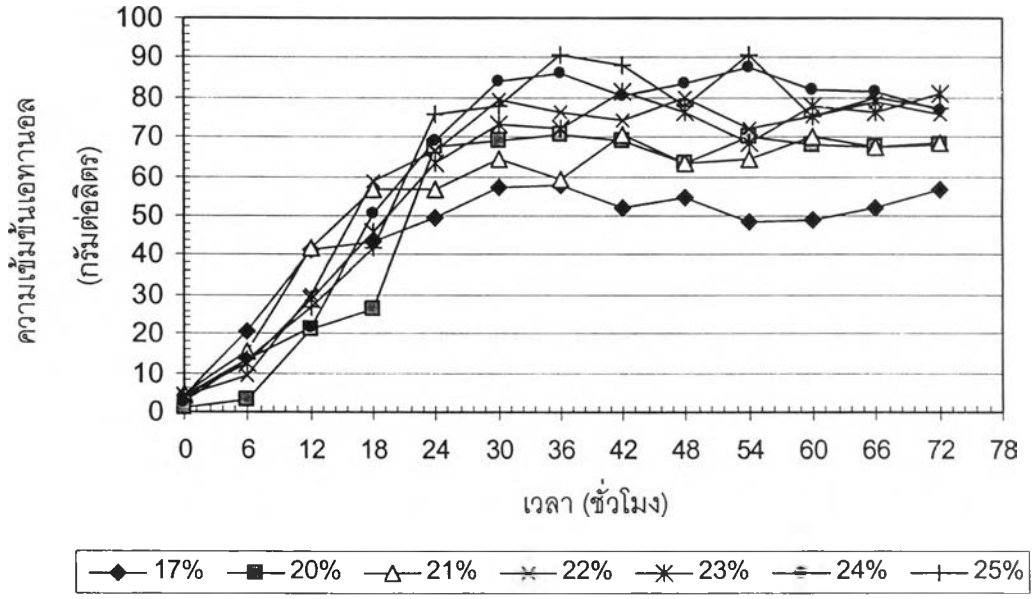
รูปที่ 4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอลตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 3 ,5,8,11และ15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ17,20,21,22,23, 24 และ 25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ17,20,21,22,23,24 และ 25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

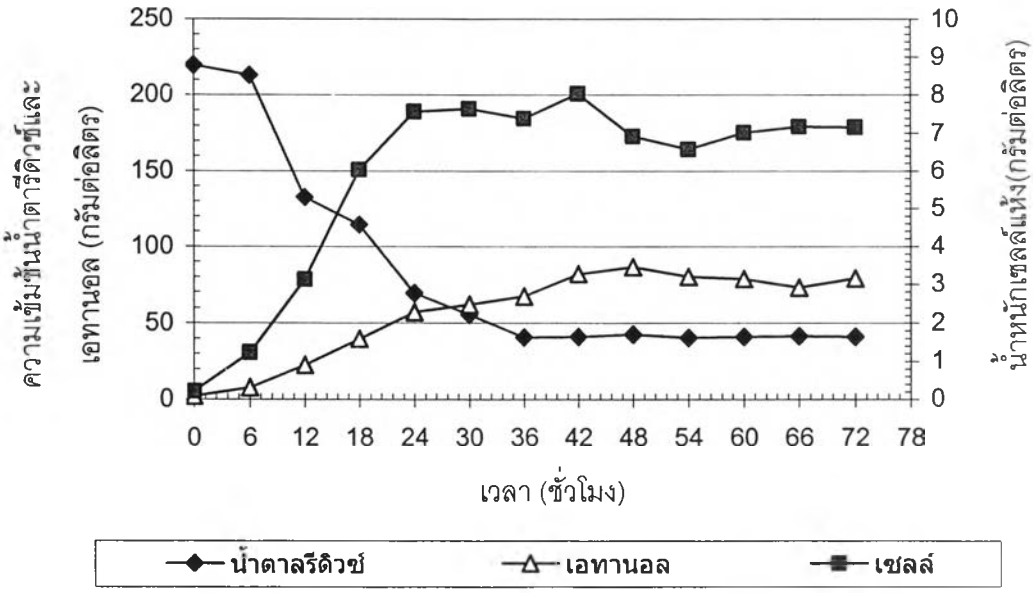


รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอลตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในขวดเขย่ารูปชมพู่ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 17,20,21,22,23, 24 และ 25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

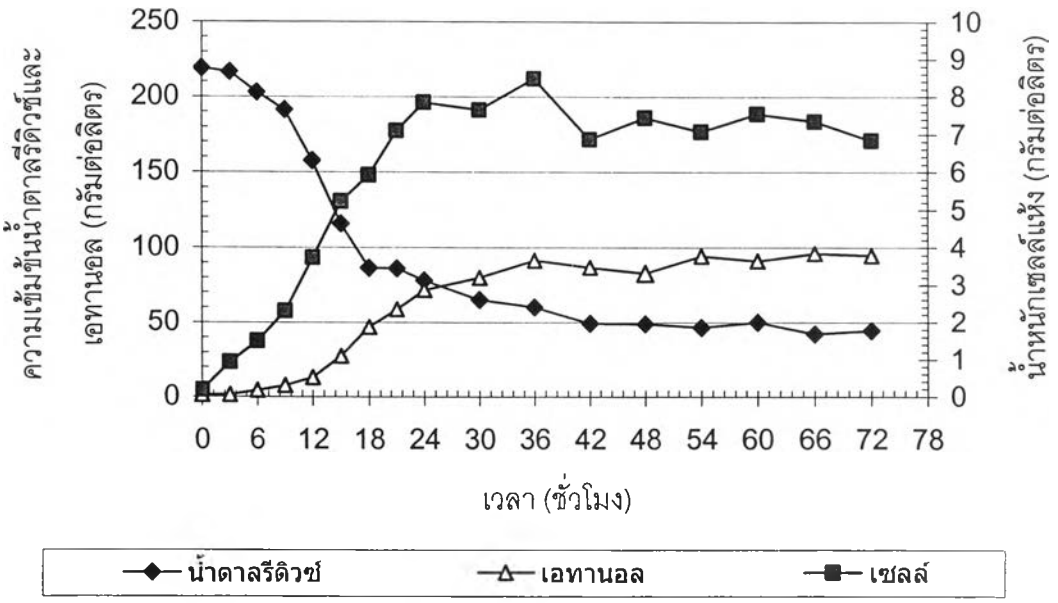
จากผลการทดลองพบว่า ในการทดลองที่ช่วงความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นร้อยละ 3 – 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในช่วง 6 ชั่วโมงแรก ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างช้าๆแต่จะมีอัตราการใช้สูงขึ้นเมื่ออยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 6 – 12 และค่อยๆลดลงจนเข้าสู่สภาวะคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 28 ส่วนในทางกลับกันความเข้มข้นเซลล์และเอทานอลจะเพิ่มขึ้นอย่างๆช้าในช่วง 6 ชั่วโมงแรกและจะมีอัตราเพิ่มสูงขึ้น ในช่วงชั่วโมงที่ 6 -18 หลังจากนั้นจะลดอัตราการผลิตลงจนเข้าสู่สภาวะคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 18 – 30 ขึ้นกับความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้น และเมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จะพบว่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 11 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเป็นสภาวะเหมาะสมที่นำไปใช้ในการทำเป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการหมัก เนื่องมาจากเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญในระยะ Log phase ของเซลล์ที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลตั้งต้นร้อยละ11 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะมีอัตราสูงสุดเมื่อเทียบกับอัตราการเจริญของเซลล์ที่ได้จากความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นค่าอื่น ๆ โดยน้ำตาลที่ถูกใช้ไปก็จะเหลือในปริมาณน้อยและเมื่อมาพิจารณาถึงความเข้มข้นเอทานอลที่ถูกผลิตออกมาก็จะไม่มากจนเกินไป เพราะถ้ามีเอทานอลสูงจะเกิดการยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้(Taylor,1997) ในส่วนของการทดลองที่ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นที่อยู่ในช่วงร้อยละ 17 – 25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้น จำนวนเซลล์ และความเข้มข้นเอทานอล จะมีลักษณะใกล้เคียงกับการใช้ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 3 – 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่จะแตกต่างกันในปริมาณและอัตราการผลิตเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบผลที่ได้จะพบว่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเป็นสภาวะเหมาะสมที่นำไปใช้ในการหมักเพื่อการผลิตเอทานอล เนื่องมาจาก เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จะเห็นได้ว่า การใช้ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะให้ความเข้มข้นเอทานอลมากกว่าการใช้ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นที่ต่ำกว่า แต่จะได้ความเข้มข้นเอทานอลใกล้เคียงกับการหมักที่ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นที่มีความเข้มข้นตั้งต้นที่สูงกว่าและเมื่อพิจารณาถึงการใช้น้ำตาลและอัตราการเจริญของเซลล์ พบว่าการใช้ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นที่มากกว่าร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะมีน้ำตาลเหลืออยู่ในระบบมากกว่าแต่จะได้เซลล์น้อยกว่าและใช้เวลาหมักนานกว่าการใช้น้ำตาลที่มีความเข้มข้นตั้งต้น ร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

4.2 การหมักแบบไม่ต่อเนื่องในถังหมักขนาด 7 ลิตร

จากการทดลองหมักแบบไม่ต่อเนื่องในถังหมักขนาด 7 ลิตร ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งต้นที่ร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่เตรียมจากความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นร้อยละ 11 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 18 ชั่วโมง จำนวนร้อยละ 5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร มีการควบคุมอุณหภูมิที่ 33 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรด-เป็นด่างเริ่มต้น เท่ากับ 5 ทำการทดลอง 2 ครั้ง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ เอทานอล และ น้ำหนักเซลแห้ง เป็นไปตาม รูปที่ 4.7 แลรูปที่ 4.8 ตามลำดับ



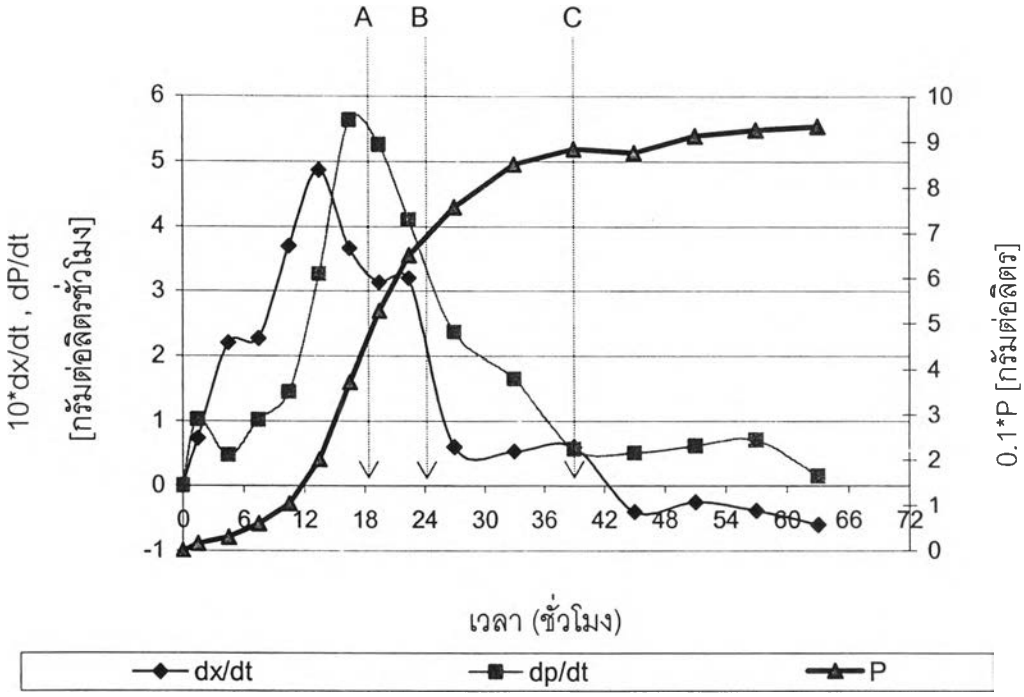
รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ , เอทานอล และน้ำหนักเซลล์แห้ง ตาม เวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในถังหมักขนาด 7 ลิตร ครั้งที่ 1



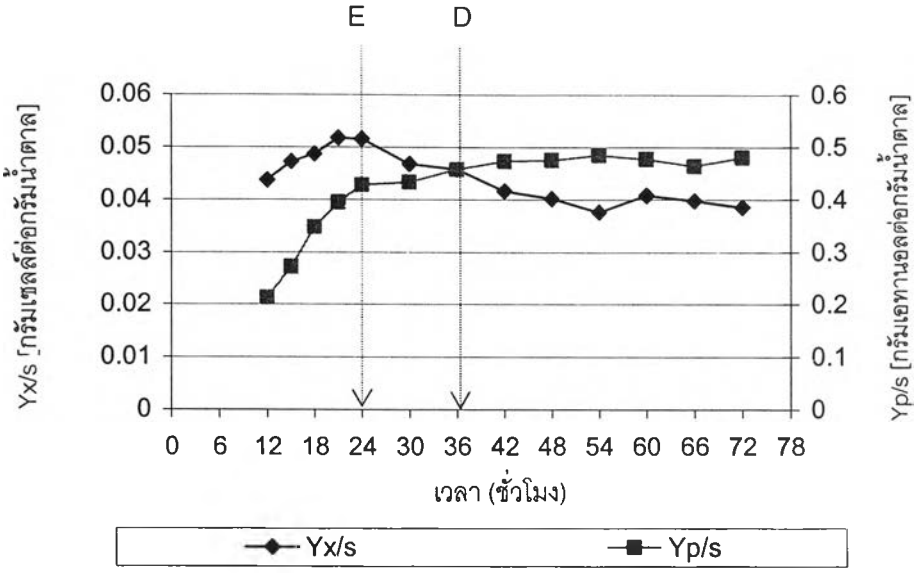
รูปที่ 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ , เอทานอล และน้ำหนักเซลล์แห้งตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในถังหมักขนาด 7 ลิตร ครั้งที่ 2

จากผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.7 และรูปที่ 4.8 พบว่ารูปแบบการเจริญมีลักษณะใกล้เคียงกันกล่าวคือ เชื้อจะอยู่ในระยะ log phase ในช่วงต้น จนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 ก็จะเริ่มเข้า stationary phase เมื่อพิจารณาถึงการผลิตเอทานอลพบว่า ในการทดลองครั้งแรกเชื้อจะเริ่มผลิตเอทานอลตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 และจะมีอัตราการผลิตเพิ่มขึ้นตามลำดับจนกระทั่งเข้า ชั่วโมงที่ 42 จึงเริ่มมีอัตราการผลิตคงที่ โดย ณ สภาวะคงที่ (48 ชั่วโมง) จะได้ความเข้มข้นเอทานอลเท่ากับ 84 กรัมต่อลิตรหรือจะได้ปริมาณผลผลิตต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป(yield of production, $Y_{P/S}$) เท่ากับ 0.47 กรัม เอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ ในการทดลองครั้งที่สองจะได้ความเข้มข้นเอทานอลเท่ากับ 94 กรัมต่อลิตรหรือจะได้ปริมาณผลผลิตต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปเท่ากับ 0.52 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยจากการทดลอง 2 ครั้ง จะได้ปริมาณผลผลิตต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปเฉลี่ยประมาณ 0.50 กรัม เอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการหมักไม่ต่อเนื่องมาสร้างความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งต่อเวลา(dx/dt) ความเข้มข้นเอทานอลต่อเวลา(dP/dt) ความเข้มข้น เอทานอลเฉลี่ย(P) ตามเวลาจะได้ดังรูปที่ 4.9

และถ้านำมาสร้างความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลผลิตเซลล์ต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป($Y_{X/S}$) และปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป($Y_{P/S}$) ตามเวลา จะได้ดังรูปที่ 4.10 ตามลำดับ



รูปที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต่อเวลา การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นเอทานอลต่อเวลา และความเข้มข้นเอทานอลตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องของ *S. cerevisiae* M30โดยใช้กากน้ำตาล ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลผลิตเซลล์ต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป($Y_{X/S}$) และปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป($Y_{P/S}$)ตามเวลาที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องของ *S. cerevisiae* M30 โดยใช้กากน้ำตาล ใช้ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้นร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

จากรูปที่ 4.9 พบว่าในช่วง 3 ชั่วโมงแรก อัตราการเพิ่มขึ้นของเซลล์และเอทานอลจะมีค่อนข้างต่ำจากนั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงประมาณชั่วโมงที่ 14 จะมีอัตราการเพิ่มของเซลล์มากที่สุดคือ 0.49 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และจะค่อยๆลดอัตราลงจนเข้าสู่สภาวะคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 27 ในขณะที่อัตราการผลิตเอทานอลจะสูงสุดที่ประมาณชั่วโมงที่ 17 จะได้อัตราการเพิ่มของเอทานอลเป็น 5.63 กรัมต่อลิตรชั่วโมง โดยที่ความเข้มข้นของเอทานอลจะเพิ่มขึ้นในช่วงแรกอย่างช้า ๆ จนถึงประมาณชั่วโมงที่ 10 ก็จะมีอัตราการเพิ่มมากตามลำดับจนถึงเวลาประมาณชั่วโมงที่ 39 ความเข้มข้นของเอทานอลจะเริ่มคงที่ (ประมาณ 88 กรัมต่อลิตร) และจะเห็นได้ว่ารูปแบบความสัมพันธ์ดังกล่าวจะใกล้เคียงกับการเจริญในรูปแบบ Growth – associated product formation kinetics แสดงให้เห็นว่าเอทานอลจะเป็นสารที่ผลิตขึ้นมาพร้อมการเจริญของเซลล์ ดังนั้นเวลาการหมักในช่วง A ถึง C (18 ถึง 38 ชั่วโมง) จึงถูกเลือกเพื่อใช้ในการทดลองหมักแบบต่อเนื่องต่อไป

จากการทดลองการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์สัดส่วนผลผลิตเซลล์หรือเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปดังในรูปที่ 4.10 พบว่าในช่วงแรกปริมาณผลผลิตเซลล์ต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป($Y_{X/S}$) จะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนได้ค่ามากที่สุดในช่วงชั่วโมงที่ 21 – 24 (ประมาณ 0.052 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาล) และจะค่อยๆลดลงจนเข้าสภาวะคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 48 (ประมาณ 0.040 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาล) ในขณะที่ปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไป ($Y_{P/S}$) จะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนเข้าสู่สภาวะคงที่ประมาณ ชั่วโมงที่ 48 (ประมาณ 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล) $Y_{X/S}$ และ $Y_{P/S}$ สูงสุด หลังทำการหมัก 24 ชั่วโมง และ 54 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยจากผลการทดลองพบว่า อัตราการใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นเซลล์หรือเอทานอลจะเปลี่ยนแปลงไปตามเวลาการหมักและสภาวะแวดล้อมที่ทำการหมัก

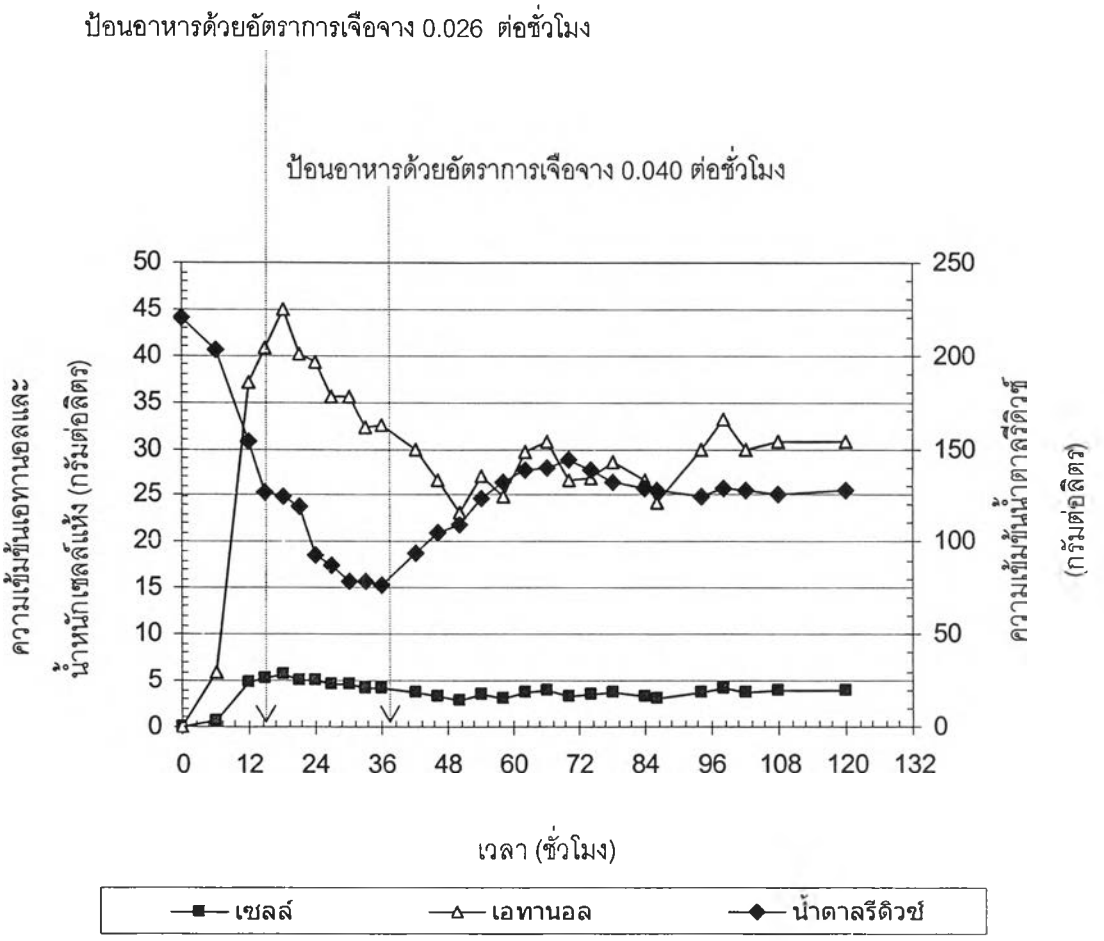
จากความสัมพันธ์ที่ได้จากรูปที่ 4.9 และ 4.10 สามารถนำมาเป็นประโยชน์ในการตัดสินใจเลือกใช้อัตราการป้อนสารอาหารที่เหมาะสม สำหรับนำไปทดสอบในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องต่อไป โดยในงานวิจัยนี้จะทำการเปลี่ยนแปลงอัตราการป้อนอาหารในช่วง A ถึง C โดยจะศึกษาอัตราการป้อนอาหารเป็น 3 ค่า คือ ที่ A (อัตราการเจือจางเป็น 1/18 ต่อชั่วโมง) เพราะว่า ณ จุดนี้จะให้อัตราการผลิตเอทานอลสูงสุด โดยที่อัตราการเพิ่มขึ้นของเซลล์ก็ไม่ต่ำมาก (ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของอัตราสูงสุด) ที่ B (อัตราการเจือจางเป็น 1/25 ต่อชั่วโมง) อัตราการผลิต เอทานอลประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการผลิตสูงสุดโดยมีอัตราการผลิตเซลล์ใกล้เคียงกับจุด A และมีความเข้มข้นเอทานอลประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้นเอทานอล ณ สภาวะคงที่ และ ที่ C (อัตราการ เจือจางเป็น 1/38 ต่อชั่วโมง) เพราะว่า ณ จุดนี้จะให้ความเข้มข้นของ เอทานอลประมาณร้อยละ 95 ของความเข้มข้นเอทานอลที่สภาวะคงที่ โดยที่ยังมีอัตราการผลิตของเซลล์และเอทานอลเล็กน้อย ดังนั้นในการทดลองหมักแบบต่อเนื่องจะใช้ป้อนอาหารด้วยอัตราการ เจือจาง 3 ค่า คือ 1/38 (0.026) , 1/25 (0.040) และ 1/18 (0.056) ต่อชั่วโมง ตามลำดับ

4.3 การหมักแบบต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอน ในถังหมักขนาด 7 ลิตร

การทดลองหมักแบบต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอน เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลที่ได้จากการใช้อัตราการป้อนสารอาหารทั้ง 3 อัตรา ดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ในขณะทำการทดลองการตรวจสอบว่าระบบเข้าสู่สภาวะคงที่แล้วหรือไม่ ทำได้จากการวัดความเข้มข้นของน้ำตาลที่อยู่ในระบบเป็นตัวแทนของระบบ โดยจะเริ่มจากอัตราการเจือจางที่น้อยที่สุดไปหามากที่สุดคือ ช่วงแรกจะป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง จนความระดับเข้มข้นน้ำตาลเข้าสู่

สภาวะคงที่ แล้วจึงปรับเปลี่ยนความเร็วในการป้อนอาหารไปที่อัตราการเจือจาง 0.040 ต่อชั่วโมง จนระดับความเข้มข้นน้ำตาลเข้าสู่สภาวะคงที่ แล้วจึงปรับเปลี่ยนความเร็วในการป้อนอาหารไปที่อัตราการเจือจาง 0.056 ต่อชั่วโมงตามลำดับ

จากการทดลองพบว่าการป้อนอาหารโดยใช้อัตราการเจือจาง 0.040 ต่อชั่วโมงจะทำให้มีน้ำตาลเหลือในระบบสูงเกินไป (125 กรัมต่อลิตร) จึงหยุดทำการเพิ่มอัตราการป้อน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้อัตราการป้อนอาหาร 2 ค่า คือ 0.18 และ 0.28 ลิตรต่อชั่วโมง (อัตราการเจือจาง 0.026 และ 0.040 ต่อชั่วโมง) ตามลำดับ โดยสำหรับการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆจากการหมักได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ , เอทานอล และน้ำหนักเซลล์แห้งตามเวลาที่ได้จากการหมักต่อเนื่องในถังหมักขนาด 7 ลิตร ชนิดหนึ่งขั้นตอน

จากรูปที่ 4.11 ในช่วงแรกของการหมักจะเป็นการหมักแบบไม่ต่อเนื่องเชื้อจะมีการเจริญดีและสามารถให้ความเข้มข้นเอทานอล 45 กรัมต่อลิตรที่ 18 ชั่วโมงหลังจากการเริ่มหมักหลังจากนั้นเมื่อเริ่มมีการป้อนอาหารแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง จะทำให้เซลล์ น้ำตาล และเอทานอล บางส่วนที่อยู่ในถังหมักไหลปนออกมาในสายออก(ทางด้านบนของถังหมัก 2) ส่งผลให้ความเข้มข้นเซลล์และความเข้มข้นของเอทานอลในถังหมักจะลดลงเรื่อยๆจนเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 30 โดยจะมีน้ำหนักเซลล์แห้ง ความเข้มข้นเอทานอลและความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ เป็น 4.12 , 33 และ 76 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นเมื่อทำการปรับเพิ่มความเร็วในการป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.040 ต่อชั่วโมง(ชั่วโมงที่ 38) พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลที่อยู่ในถังหมักจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนคงที่ ในช่วงแรกของการเปลี่ยนอัตราการป้อนสารอาหารจะทำให้ความเข้มข้น เอทานอลลดลงระยะหนึ่งแล้วจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจนคงที่ ในขณะที่น้ำหนักเซลล์แห้งมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และเมื่อเข้าสู่สภาวะคงที่ (ชั่วโมงที่102) พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ น้ำหนักเซลล์แห้ง และความเข้มข้นเอทานอลในระบบเป็น 126 ,3.90 และ 31 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

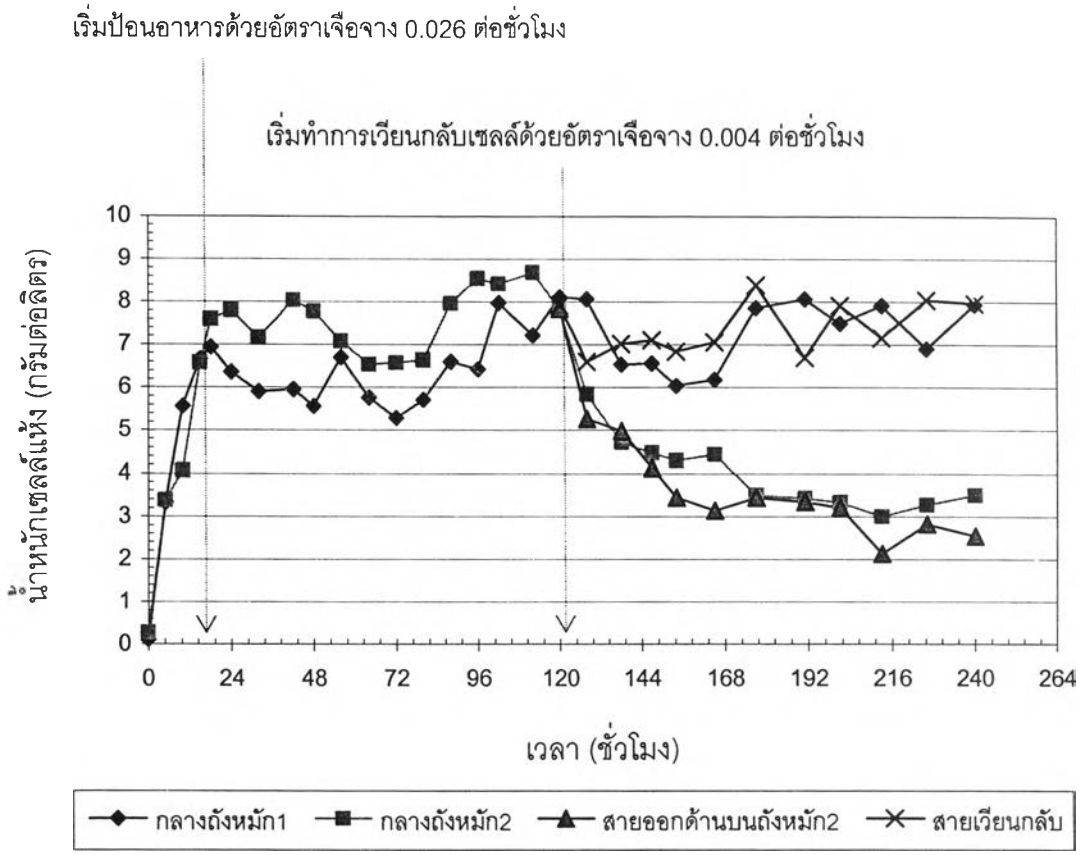
จากการหมักแบบต่อเนื่องที่ป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง จะให้ปริมาณเอทานอล ณ สภาวะคงที่ (ชั่วโมงที่ 36) ประมาณ 33 กรัมต่อลิตรหรือจะได้ปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปประมาณ 0.30 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล และที่ป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.040 ต่อชั่วโมง จะให้ปริมาณเอทานอล ณ สภาวะคงที่ (ชั่วโมงที่ 102) ประมาณ 31 กรัมต่อลิตร หรือจะได้ปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปเท่ากับ 0.42 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาล แต่ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จะน้อยกว่าการป้อนอาหารที่อัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง และมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือภายในระบบเป็นจำนวนมาก (ประมาณ 126 กรัมต่อลิตร) เมื่อทำการเปรียบผลที่ได้จากการใช้อัตราการป้อนอาหารทั้งสองอัตราพบว่า การป้อนด้วยอัตราการเจือจาง 0.040 ต่อชั่วโมง จะเป็นอัตราที่เร็วไปเชื้อจะไม่สามารถใช้น้ำตาลที่ใส่ให้ไปทัน ส่งผลให้ในสายออก(ด้านบนของถัง)จะมีน้ำตาลเหลือเหลือในปริมาณที่มากเกินไป ในขณะปริมาณเซลล์ค่อนข้างจะคงที่ แต่ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้จะลดลง ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าที่การป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง เป็นอัตราที่เหมาะสมสำหรับการหมักแบบต่อเนื่อง เพราะว่าเชื้อจะสามารถใช้น้ำตาลได้ดีและมีน้ำตาลเหลือน้อยกว่าการป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.040 ต่อชั่วโมง แต่เมื่อเปรียบเทียบค่า $Y_{P/S}$ ที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องกับค่า $Y_{P/S}$ ที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง ณ ที่สภาวะคงที่ พบว่า ค่า $Y_{P/S}$ ที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่อง จะน้อยกว่าที่ได้จากการหมักไม่เนื่อง อาจมีสาเหตุมากจากในการหมักแบบไม่ต่อเนื่องเชื้อจะใช้น้ำตาลในการผลิตเอทานอลมากกว่านำไปสร้างเซลล์เองในขณะที่การหมักแบบต่อเนื่องที่มีการป้อนสารอาหารใหม่เข้าระบบตลอดเวลา เชื้อจะใช้น้ำตาลในการ

สร้างเซลล์มากกว่าการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง จึงส่งผลให้ปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องน้อยกว่าปริมาณผลผลิตเอทานอลต่อปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง

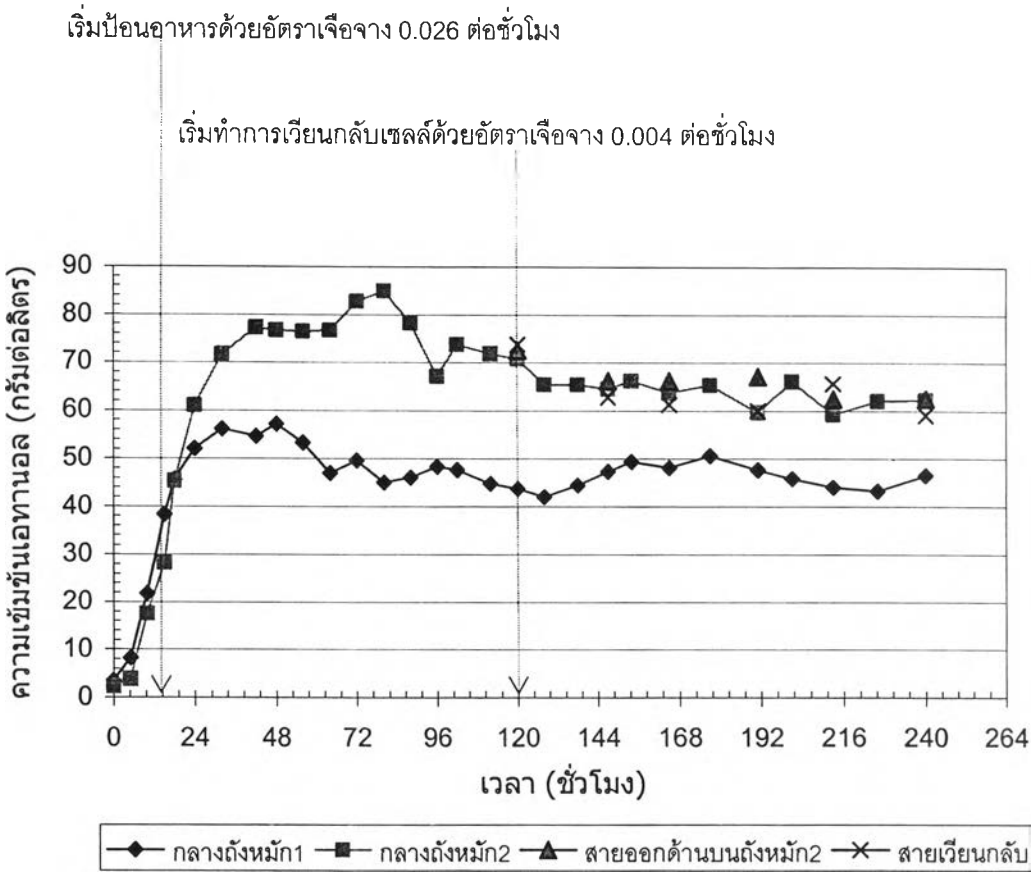
4.4 การหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนและการหมักแบบต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนที่มีการเวียนกลับเซลล์

ผลการทดลองหมักต่อเนื่องแบบมีการเวียนกลับเซลล์ชนิดสองขั้นตอน โดยใช้การป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง ในช่วงแรกจะทำการหมักแบบต่อเนื่อง ชนิด 2 ขั้นตอนจนระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ (ใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือเป็นตัวแทนระบบ) ทั้งสองถังจากนั้นจะทำการเวียนกลับเซลล์ด้วยอัตราการเวียนกลับด้วยอัตรา 1ใน 6 ของอัตราการป้อนสารอาหาร(ในถังเวียนกลับที่ 2 มีการปั่นกวนด้วยอัตราเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาทีทุกๆ 8 นาที) ผลการหมักแสดงดังในรูปที่ 4.12 – 4.14

รูปที่ 4.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตามเวลาที่ได้การหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนและการหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนที่มีการเวียนกลับเซลล์



รูปที่4.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งตามเวลาที่ได้จากการหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนและการหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนที่มีการเวียนกลับเซลล์



รูปที่4.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอลตามเวลาที่ได้จากการหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนและการหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนที่มีการเวียนกลับเซลล์

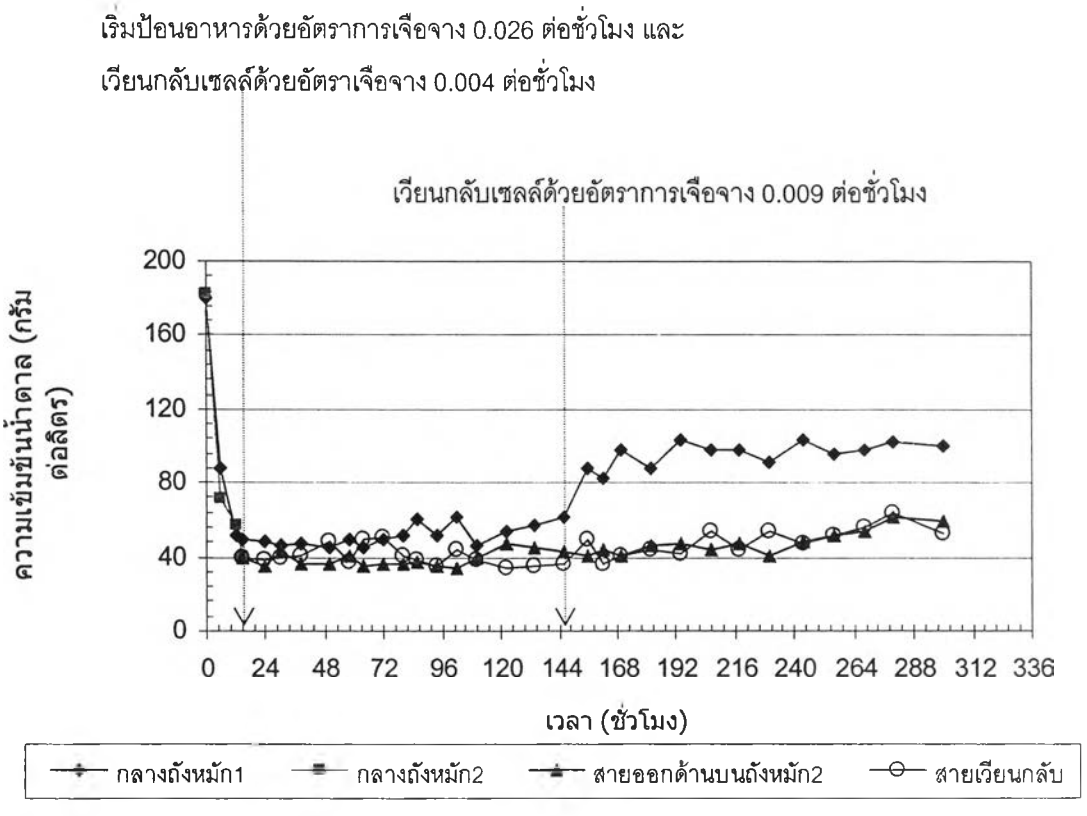
โดยการทดลองจะเริ่มจากการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในช่วง 15 ชั่วโมงแรก ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ ในช่วงต้น หลังจากนั้นอัตราการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของเซลล์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่อเริ่มป้อนอาหารเข้าสู่ระบบแบบต่อเนื่อง(หลังจากการหมัก 16 ชั่วโมง) จะมีพฤติกรรมคล้าย ๆ กับการหมักแบบต่อเนื่องที่ผ่านมาความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์จะเริ่มคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 56 ในส่วนของเซลล์และความเข้มข้นเอทานอล เซลล์มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกจนถึงชั่วโมงที่ 24 จะเริ่มคงที่ และพบว่าความเข้มข้นน้ำตาลของถังหมักที่ 1 จะมีค่ามากกว่าถังหมักที่ 2 แต่จำนวนเซลล์และปริมาณของเอทานอลในถังหมักที่ 2 จะสูงกว่าถังหมักที่ 1 หลังจากเริ่มมีการเวียนกลับเซลล์จากถังหมักที่ 2 กลับไปสู่ถังหมักที่ 1 พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ของทั้งสองถังจะค่อยๆเพิ่มขึ้นและเข้าสู่สภาวะคงที่อีกครั้งแต่จะมีความเข้มข้น

สูงกว่าสภาวะคงที่เดิม ปริมาณเซลล์ของถังหมักที่ 1 ค่อยเพิ่มขึ้นจนเข้าสู่สภาวะคงที่ที่สูงกว่าเดิมเล็กน้อย ในขณะที่ความเข้มข้นเอทานอลจะลดลงเล็กน้อย

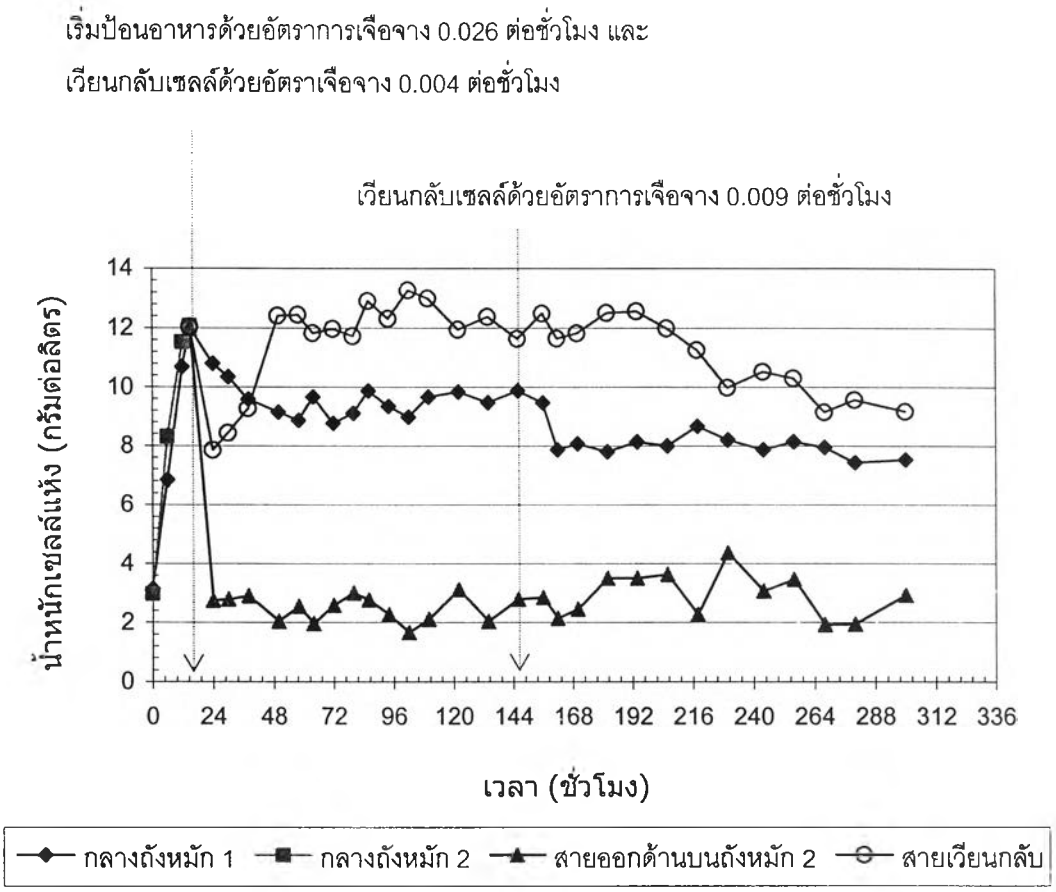
สามารถสรุปผลที่ได้จากการหมักต่อเนื่องชนิด 2 ขั้นตอนได้ดังนี้ ณ สภาวะคงที่ ที่อัตราการป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง ความเข้มข้นน้ำตาลตั้งต้น 220 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส ในถังหมักที่ 1 ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือประมาณ 83 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 7.9 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเอทานอลประมาณ 52 กรัมต่อลิตร ในถังหมักที่ 2 ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือประมาณ 50 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 8.5 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเอทานอลประมาณ 72 กรัมต่อลิตร และที่สภาวะคงที่หลังจากมีการเวียนกลับเซลล์ด้วยอัตรา 1 ใน 6 ของอัตราการป้อนอาหาร ในถังหมักที่1 ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือประมาณ 105 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 7.5 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเอทานอลประมาณ 48 กรัมต่อลิตร ในถังหมักที่ 2 ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือที่สายออกทางด้านบนประมาณ 78 กรัมต่อลิตร ส่วนทางด้านสายเวียนกลับจะประมาณ 80 กรัมต่อลิตร ส่วนสายออกด้านบนและสายเวียนกลับด้านล่างของถังหมักที่ 2 จะได้น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 3.4 และ 8.0 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ความเข้มข้นเอทานอล ณ สายออกทางด้านบนประมาณ 65 กรัมต่อลิตร ส่วนทางด้านสายเวียนกลับประมาณ 60 กรัมต่อลิตร จากการทดลองความเข้มข้นของเซลล์ที่อยู่ทางด้านล่างของถังหมักที่ 2 (ใช้สำหรับการเวียนกลับ) จะมีปริมาณมากกว่า 2 เท่าของเซลล์ที่อยู่ทางด้านบนของถังหมักที่ 2 แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากอัตราการเวียนกลับเซลล์ไม่สูงมากนัก เซลล์ที่ถูกเวียนกลับส่วนหนึ่งจะติดค้างในสายท่อ เนื่องจากอัตราการไหลค่อนข้างต่ำจึงต้องใช้เวลาที่อยู่ในท่อมากพอสมควร อีกประการหนึ่งเซลล์จะมีการรวมตัวเกาะกันเป็นกลุ่ม ทำให้เกิดการตกตะกอนเกาะที่ด้านล่างของท่อ การที่ปริมาณเซลล์เวียนกลับที่มีไม่มากพอ ความสมบูรณ์ของเซลล์ต่ำลง ผลกระทบจากการเวียนกลับของเอทานอล และอาจรวมถึงสารอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นหลังการหมักอาจมีผลไปเพิ่มการยับยั้งการเจริญของเซลล์และสัดส่วนของเซลล์ที่มีชีวิตต่อเซลล์ที่ตายในสายเวียนกลับมีค่าต่ำ ส่งผลทำให้ความเข้มข้นของเซลล์ในถังหมักที่1 โดยผลรวมไม่เพิ่มขึ้นแต่กลับทำให้ปริมาณเอทานอลลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับในกรณีที่ไม่มีการเวียนกลับเซลล์ อย่างไรก็ตามการหมักแบบสองขั้นตอนจะได้ค่าอัตราการผลิตเอทานอลประมาณ 1.12 เท่าของการหมักแบบขั้นตอนเดียว

4.5 การหมักแบบต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์

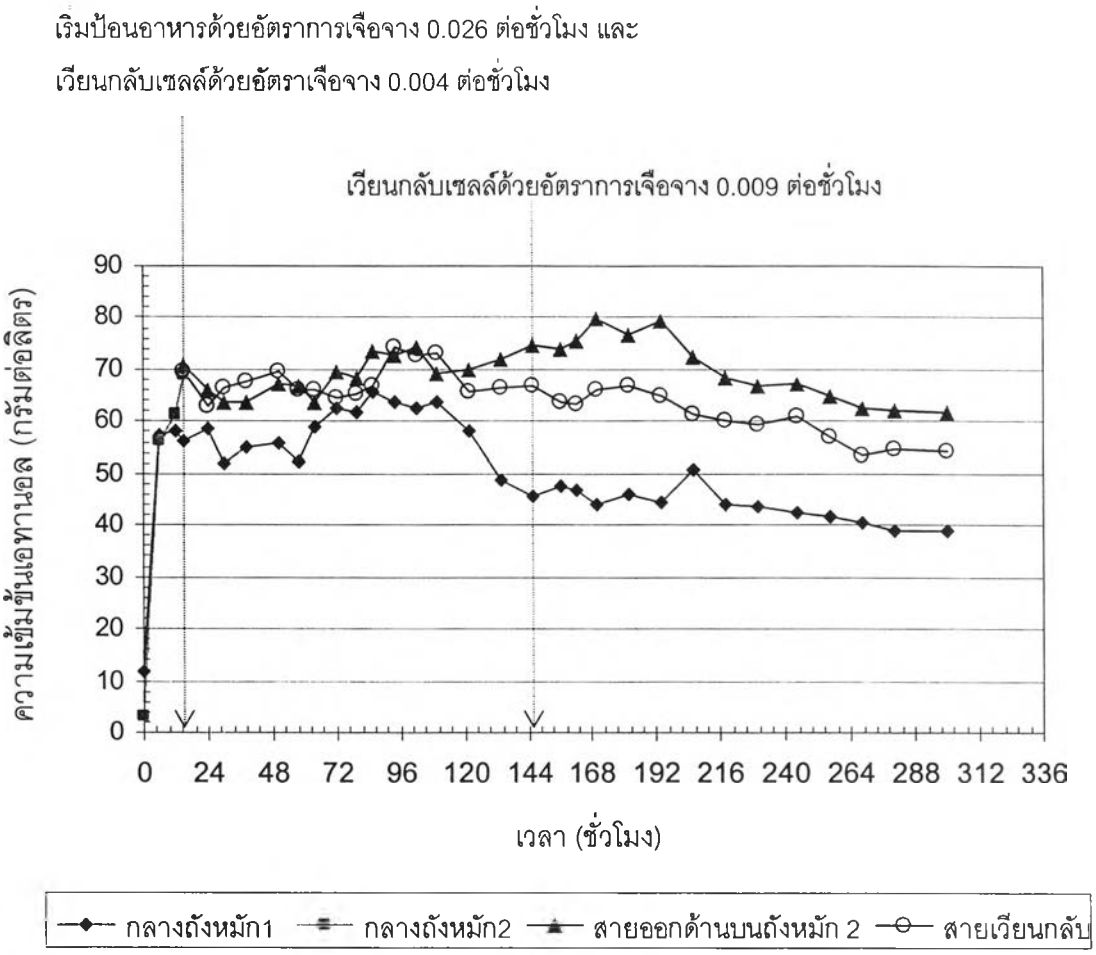
ทำการปรับปรุงประสิทธิภาพของ การหมักต่อเนื่องชนิดสองขั้นตอนและมีการเวียนกลับเซลล์ โดยการเพาะเลี้ยงแบบการใช้หัวเชื้อตั้งต้นมากขึ้นประมาณ 4-5 เท่าของการหมักต่อเนื่องแบบมีการเวียนกลับเซลล์ชนิดสองขั้นตอน (ทำการหมักแบบ repeat batch 1 ครั้งใช้เวลาประมาณ 18 ชั่วโมง) เพื่อเป็นการลดเวลาในการทดลอง และใช้การต่อกับถังตกตะกอนแทนเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ที่จะเวียนกลับ (ในถังตกตะกอนมีการปั่นกวนด้วยอัตราเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีทุกๆ 90 นาที) และทำการศึกษาผลของการปรับเพิ่มอัตราการเวียนกลับเซลล์ โดยในการทดลองจะปรับเวลาในการเวียนกลับเซลล์ใช้เร็วขึ้น (ชั่วโมงที่ 15) เมื่อทำการทดลองแล้วจะได้ผลการทดลองดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.15 - 4.17



รูปที่ 4.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ตามเวลา ที่ได้จากการหมักต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์



รูปที่ 4.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งตามเวลาที่ได้จากการหมักต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์



รูปที่ 4.17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเอทานอลตามเวลาที่ได้จากการหมักต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์

จากผลการทดลองหมักต่อเนื่องแบบมีการเวียนกลับเซลล์ ในช่วงแรกจะทำการหมักแบบไม่ต่อเนื่องเป็นเวลา 15 ชั่วโมงก่อนแล้วทำการป้อนอาหารและเวียนกลับเซลล์ ณ ชั่วโมงที่ 15 ป้อนอาหารด้วยอัตราการอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง และ อัตราการเวียนกลับเซลล์ 1 ใน 6 ของอัตราการป้อนอาหาร พบว่าระบบจะมีการเปลี่ยนแปลงเร็วขึ้นและเข้าสู่สภาวะคงที่ได้เร็วกว่าการหมักต่อเนื่องและเวียนกลับเซลล์ครั้งที่1 กล่าวคือเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ (ชั่วโมงที่ 120) ในถังที่ 1 จะมีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เหลือประมาณ 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 9.4 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเอทานอลประมาณ 62 กรัมต่อลิตร ส่วนในถังที่ 2 จะมีความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เหลือประมาณ 35 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งบริเวณสายออกด้านบน

และในสายเวียนกลับของปั๊น 2.5 และ 12 กรัมต่อลิตร จะผลิตเอทานอลบริเวณสายออกด้านบนและในสายเวียนกลับเป็น 69 และ 72 กรัมต่อลิตร โดยความเข้มข้นเซลล์ด้านล่างของถังหมักที่ 2 (ในสายเวียนกลับ) จะเพิ่มขึ้น คือประมาณ 4 เท่าของความเข้มข้นเซลล์ด้านบนของถังหมัก(สายออก) จากนั้นทำการปรับเพิ่มอัตราการเวียนกลับเป็น 1 ใน 3 ของอัตราการป้อนอาหาร พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลในถังหมักที่ 1 จะเพิ่มขึ้นอย่างๆช้าจนในที่สุดจะเข้าสภาวะคงที่ใหม่โดยจะใช้เวลาประมาณ 48 ชั่วโมง (หรือประมาณชั่วโมงที่ 192) จะเหลือน้ำตาลประมาณ 100 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์จะลดลงอย่างช้าๆโดยจะมีน้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 8.0 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นเอทานอลที่ได้ก็จะลดลงจนเหลือประมาณ 45 กรัมต่อลิตร ส่วนในถังที่ 2 ก็จะมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกับถังหมักที่ 1 โดย จะมีปริมาณน้ำตาลเหลือประมาณ 50 กรัมต่อลิตรทั้งด้านบนและด้านล่างของถัง น้ำหนักเซลล์แห้งด้านบน(สายออก) และด้านล่าง(ในสายเวียนกลับ) เป็น 3.0 และ 11.0 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และความเข้มข้นเอทานอลด้านบน(สายออก)และด้านล่าง(ในสายเวียนกลับ) เท่ากับ 62 และ 55 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ จากการป้อนอาหารด้วยอัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมงที่อัตราการเวียนกลับ 1 ใน 6 และ 1 ใน 3 ของอัตราการป้อนอาหารพบว่าการเพิ่มอัตราการเวียนกลับเซลล์ให้เร็วขึ้นจะทำให้อัตราการผลิตเซลล์และเอทานอลลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในระบบจะมีมากกว่า ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความสมบูรณ์ของเซลล์ที่ลดลง ในขณะที่สารจากการหมักที่เซลล์ผลิตขึ้นมาที่อาจเป็นอันตรายต่อเซลล์จะกลับเข้าสู่ระบบมากขึ้น และสัดส่วนของเซลล์ที่มีชีวิตต่อเซลล์ตายมีค่าต่ำในสายเวียนกลับ ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า อัตราการเวียนกลับเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับการหมักแบบต่อเนื่องและมีการเวียนกลับเซลล์ชนิด 2 ขั้นตอน คือ ที่อัตราการเวียนกลับ 1 ใน 6 เท่าของอัตราการป้อน จากการตรวจสอบระบบพบว่าแม้ว่าจะมีการดัดแปลงถังหมักที่ 2 จากถังกวนเป็นถังตกตะกอน ซึ่งทำให้ความเข้มข้นของเซลล์ที่ส่วนก้นถังเพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่าของเซลล์ที่ส่วนบนของถัง (ในขณะการหมักแบบต่อถังกวน 2 ถัง และทิ้งให้ตกตะกอนเป็นระยะ ความเข้มข้นของเซลล์ที่ส่วนก้นถังเพิ่มขึ้นประมาณ 2.4 เท่าของเซลล์ที่ส่วนบนของถัง) แต่ปัญหาที่พบก็จะมีลักษณะเหมือนเดิม คือระบบที่ใช้ทำการทดลองมีขนาดไม่ใหญ่พอเมื่อควบคุมอัตราการไหลเวียนกลับต่ำ มีผลให้เซลล์จะมีการตกตะกอนและติดค้างอยู่ในท่อบางส่วนทำให้การเวียนกลับไม่สมบูรณ์ และสัดส่วนของเซลล์ที่มีชีวิตต่อเซลล์ตายที่เวียนกลับมีค่าน้อย นอกจากนี้เอทานอลและสารอื่น ๆ ที่ถูกเวียนกลับยังอาจส่งผลยับยั้งการเจริญของเซลล์อีกประการหนึ่ง จึงทำให้ความเข้มข้นของเซลล์ในถังหมักที่ 1 ไม่เพิ่มมากตามต้องการ อย่างไรก็ตามในระบบที่ทดลองสามารถคงความเข้มข้นเซลล์อยู่ในช่วง 9 ถึง 10 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเวียนกลับเซลล์ 1 ใน 6 อัตราการป้อนอาหาร ซึ่งจะสูงกว่าการหมักต่อเนื่องสองขั้นตอนแบบมีการเวียนกลับเซลล์ (ความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 7 ถึง 8 กรัมต่อลิตร) สูงกว่าการหมัก

ต่อเนื่องแบบขั้นตอนเดียว (ความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 5 กรัมต่อลิตร) และสูงกว่าการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (ความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 7 กรัมต่อลิตร) โดยความเข้มข้นของเอทานอลที่ไหลออกจากถังตกตะกอนทางด้านบน ที่อัตราการเจือจาง 0.026 ต่อชั่วโมง (อัตราการป้อนอาหาร 0.184 ลิตรต่อชั่วโมง) และอัตราการเวียนกลับเซลล์ 0.004 ต่อชั่วโมง (0.031 ลิตรต่อชั่วโมง) จะประมาณ 72.49 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 9.25 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้จากการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง แต่กำลังการผลิตเอทานอลจะมีมากกว่าการหมักแบบไม่ต่อเนื่องประมาณ 7 เท่า

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลที่ได้จาก การหมักต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์ในงานวิจัยนี้กับงานวิจัยอื่นๆจะพบว่าจะ มีอัตราการผลิตเอทานอลมากกว่าการหมักต่อเนื่องที่ใช้น้ำตาลแล็กโทสโดยเชื้อ Recombinant Flocculating *Saccharomyces cerevisiae* ในถังหมักแบบอากาศยก (Airlift bioreactor) ถึง 2.35 กรัมต่อลิตรชั่วโมง (Domingues, 1999) มีอัตราการผลิตเอทานอลมากกว่าการหมักต่อเนื่องที่ใช้น้ำตาลจากหัวบีทโดยเชื้อ Recombinant Flocculating *Saccharomyces cerevisiae* IR2 ในถังหมักแบบอากาศยก (bubble column bioreactor) ประมาณ 2 กรัมต่อลิตรชั่วโมง (Ogbonna, 2001) จะได้ความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดใกล้เคียงกับการหมักต่อเนื่องแบบเวียนกลับเซลล์ใน Tower reactor โดยใช้ยีสต์ตกตะกอน (Flocculating yeast) คือได้ประมาณ 72 กรัมต่อลิตร (Oliveira,1999) เป็นต้น ดังนั้นผลของการหมักต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์ในงานวิจัยนี้ แสดงให้เห็นว่าสามารถจะปรับปรุงอัตราการผลิตเอทานอลให้มีประสิทธิภาพมากกว่าการผลิตแบบที่นิยมใช้ในปัจจุบัน (การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง และการหมักแบบต่อเนื่อง) โดยวิธีการหมักต่อเนื่องชนิดหนึ่งขั้นตอนต่อกับถังตกตะกอนเพื่อเวียนกลับเซลล์ในงานวิจัยนี้ เป็นกระบวนการที่ง่ายต่อการดำเนินการในกระบวนการผลิตจริงโดยไม่ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายทางด้านพลังงานหรืออุปกรณ์เพิ่มเติมแก่ระบบ เมื่อเทียบกับระบบเวียนกลับเซลล์ระบบอื่น ๆ ทำให้มีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อทำให้ราคาต่อหน่วยของการผลิตเอทานอลมีราคาต่ำลง