

ดังนั้น

$$\frac{\text{อัตราการผลิตโดยการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง}}{\text{อัตราการผลิตโดยการเพาะเลี้ยงแบบเบซท์}} = \frac{\mu_m Y_{X/S} S_0}{\mu_m Y_{X/S} S_0 + \ln(X/X_0) + \mu_m t_{\text{turn}}}$$
$$= \ln(X/X_0) + \mu_m t_{\text{turn}}$$

ในทางปฏิบัติแล้วอัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์สุดท้ายต่อปริมาณเซลล์เริ่มต้น หรือ X/X_0 นั้น มักมีค่าประมาณ 10 หรือมากกว่า จึงทำให้อัตราการผลิตสูงสุดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องนั้น มีค่าอย่างน้อยที่สุดเป็น 2.3 เท่าของอัตราการผลิตสูงสุดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบเบซท์ เมื่อกำหนดให้ t_{turn} เท่ากับ 0 แต่เนื่องจาก t_{turn} มักมีค่าที่มากกว่า 0 จึงทำให้อัตราการผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องนั้นมีค่ามากกว่า 2.3 เท่าของการเพาะเลี้ยงแบบเบซท์

การจำกัดองค์ประกอบที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์

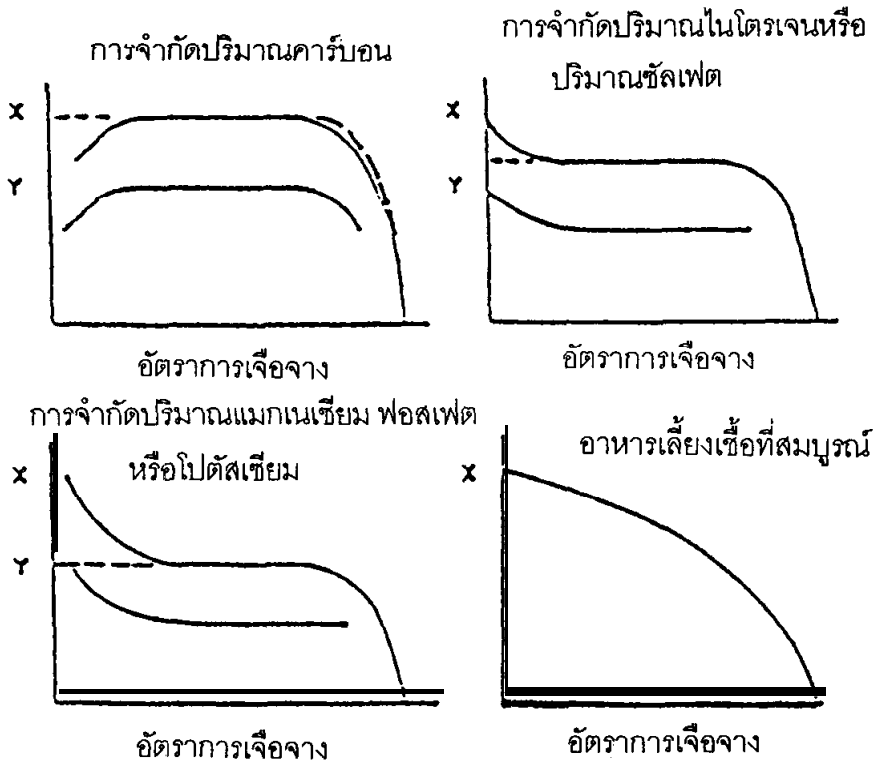
การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องมีหลายวิธี แต่ที่พบมากที่สุด คือ การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องโดยวิธีคัสเทต ซึ่งวิธีนี้เป็นการจำกัดองค์ประกอบของสับสเตรตที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ไว้ชนิดหนึ่ง ในขณะที่สารอาหารอื่นยังคงมีอยู่ในปริมาณที่มากเพียงพอ โดยสับสเตรตที่ถูกจำกัดนี้ จะมีปริมาณจำกัดเพียงเพื่อการสร้างเซลล์เท่านั้น ทั้งนี้เพื่อการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ให้คงอยู่ในระบบในปริมาณที่คงที่

ในกรณีที่แหล่งคาร์บอนเป็นสารอาหารที่จำกัดในการควบคุมระบบ เช่น การควบคุมปริมาณน้ำตาลในการผลิตเอทานอล เป็นต้น จะพบว่าที่อัตราการเจือจางต่ำๆ ปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ยังมีปริมาณที่น้อย ดังนั้นสารอาหารส่วนใหญ่จึงถูกนำไปใช้เพื่อการยังชีพ ยังไม่มีการสร้างเซลล์ ในขณะที่อัตราการเจือจางสูงๆ นั้น จะมีสารอาหารอยู่เป็นปริมาณมาก ปริมาณสารอาหารจึงถูกใช้ไปไม่หมด ทำให้เกิดสถานะที่เรียกว่า shock load หรือกรณีที่เชื้อจุลินทรีย์มีการสร้างผลิตภัณฑ์เป็นจำนวนมาก จนอาจยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่น การผลิตเอทานอล ซึ่งถ้ามีปริมาณเอทานอลที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายกับเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ปริมาณของเซลล์ลด

ต่ำลง

สำหรับการจำกัดปริมาณไนโตรเจน หรือปริมาณซิลเฟต จะพบว่าที่อัตราการเจริญต่าง ๆ ค่า X และ $Y_{X/S}$ จะมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณคาร์บอนที่มีอยู่เป็นปริมาณมาก แต่ขาดเพียงแหล่งไนโตรเจนหรือสารอาหารประเภทซิลเฟตนั้น จะทำให้เชื้อจุลินทรีย์นำสารอาหารเหล่านี้ไปสร้างส่วนอื่นๆ เช่น พอลิแซคคาไรด์ สารที่เป็นเมือกต่างๆ จึงทำให้มวลของเซลล์ที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งที่ปริมาณของเซลล์ยังคงมีค่าที่เท่าเดิม

ส่วนการจำกัดปริมาณของสารอาหารประเภทโปตัสเซียม แมกเนเซียมหรือฟอสเฟตนั้น จะทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ช้า เนื่องจากปริมาณอาร์เอ็นเอมีปริมาณลดลง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณเซลล์แล้วจะพบว่าปริมาณเซลล์ที่สูงกว่าทฤษฎี



รูปที่ 18 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการจำกัดสารอาหาร โดยการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

เสถียรภาพของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่อง

โดยธรรมชาติของการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ซึ่งมีการป้อนสารอาหารพร้อมกับการดึงเอาน้ำหมักออกเป็นกลไกที่สามารถป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นได้ แม้ว่าระบบดังกล่าวจะเป็นระบบเปิดที่ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ยาวนาน และอาจทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นได้สูง โดยเฉพาะกรณีที่จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมีการเจริญได้น้อยกว่าจุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงแล้ว เชื้อปนเปื้อนนั้นถูกกำจัดออกไปได้โดยไม่กระทบกระเทือนต่อระบบ ซึ่งอาจพิจารณาได้ดังนี้

กรณีที่จุลินทรีย์ปนเปื้อน Y มีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ_Y) ที่มีค่าน้อยกว่าอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ที่ต้องการ (μ_X) การควบคุมระบบจะต้องควบคุมให้อัตราการเจริญเท่ากับ μ_X โดยมีความเข้มข้นของสารอาหารเท่ากับ S ดังแสดงในรูปที่ 19 (ก) ที่ความเข้มข้นนี้ จุลินทรีย์ปนเปื้อนจะมีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น μ_Y ซึ่งมีค่าน้อยกว่าอัตราการเจริญที่ควบคุม ทำให้ผลสุดท้ายจุลินทรีย์ปนเปื้อน Y จะถูกชะล้างออกไป และเมื่อพิจารณาสมดุลของจุลินทรีย์ จะพบว่า

สมดุลของมวลจุลินทรีย์

ปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่สะสมอยู่ = ปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่เข้ามาในระบบ + ปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่ออกจากระบบ + ปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่เพิ่มขึ้นจากการเจริญ

$$\frac{dY}{dt} = D Y_{in} - D Y_{out} + \mu_Y Y_{out}$$

เมื่อ $D Y_{in} = 0$ เนื่องจากระบบการป้อนอาหารเป็นแบบปราศจากเชื้อ

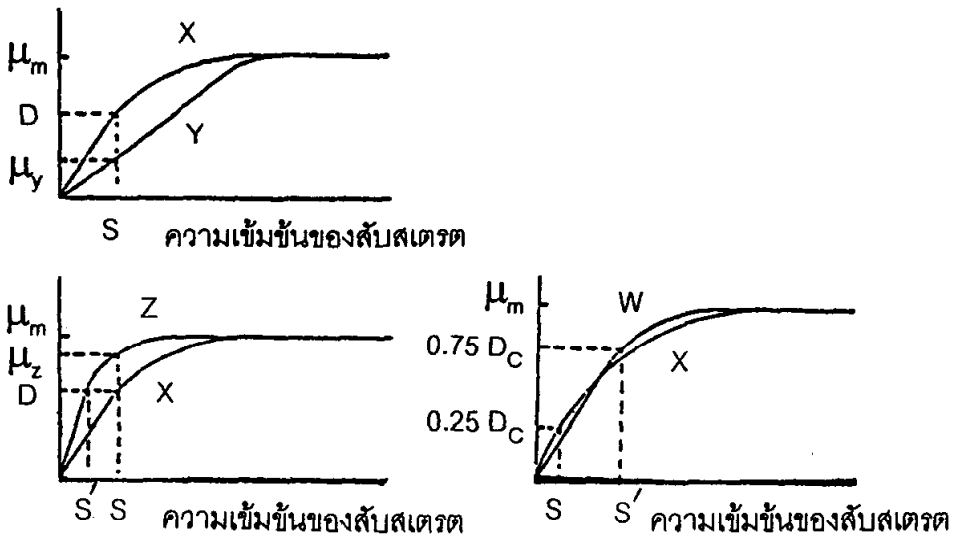
$$\text{ดังนั้น } \frac{dY}{dt} = (\mu_Y - D) Y_{out}$$

เมื่อ μ_Y มีค่าน้อยกว่าอัตราการเงิอจางที่ใช้ ทำให้ $(\mu_Y - D)$ มีค่าเป็นลบ แสดงว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจะมีปริมาณที่ลดลง และถูกชะล้างออกไปจนหมด

กรณีที่จุลินทรีย์ปนเปื้อน Z มีอัตราการเจริญที่สูงกว่าจุลินทรีย์ที่ต้องการ โดยที่ μ_Z มีค่ามากกว่า μ_X ดังแสดงในรูปที่ 19 (ข) จะทำให้ระบบมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อมีการควบคุมให้อัตราการเงิอจางเท่ากับ μ_X โดยมีความเข้มข้นของสารอาหารเท่ากับ S แต่เมื่อมีจุลินทรีย์ปนเปื้อน Z จะทำให้การใช้สารอาหารเพิ่มมากขึ้น จนความเข้มข้นของสารอาหารเท่ากับ S นี้ ซึ่งมีผลให้อัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ Z มีปริมาณที่ลดลงจนมีค่าเท่ากับอัตราการเงิอจางที่ใช้ นั่นคือ $\mu_Z = D$ แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ต้องการมีค่า μ_X ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอัตราการเงิอจางที่ใช้ที่สภาวะที่มีสารอาหาร S นี้ จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการ คือ เชื้อจุลินทรีย์ X ถูกชะล้างออกจากระบบ ทำให้ระบบเสถียรภาพไป

ส่วนรูปที่ 19 (ค) แสดงให้เห็นว่าการควบคุมให้อัตราการเงิอจางเท่ากับ $0.25 D_c$ จะทำให้เชื้อ W ถูกชะล้าง ในขณะที่การควบคุมอัตราการเงิอจางเท่ากับ $0.75 D_c$ เชื้อ X จะถูกชะล้าง และที่อัตราการเงิอจางเป็น $0.5 D_c$ จะพบว่าเชื้อทั้งสองจะอยู่ในสภาวะที่เสถียรในลักษณะของเชื้อผสม

กรณีที่จุลินทรีย์ปนเปื้อนมีอัตราการเจริญจำเพาะที่ต่ำกว่าอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ที่ต้องการทุกอัตราการเงิอจาง ที่อัตราการเงิอจางต่างๆจะให้เสถียรภาพของระบบที่ดีกว่าและให้ผลผลิตที่สูงได้ในระยะเวลาอันสั้น ในขณะที่อัตราการเงิอจางสูงๆ ระบบจะเกิดการปนเปื้อนได้ง่ายกว่า



รูปที่ 19 แสดงการเจริญของเชื้อ (X) ในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (เมื่อ Y Z และ W เป็นเชื้อปนเปื้อนในระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อ X ที่ต้องการ)

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องหลายถังหมัก (Multistage Continuous Culture)

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องหลายถังหมัก เป็นการเพาะเลี้ยงที่ถังหมักแต่ละถังนั้นมีสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น กระบวนการผลิตสารทุติยภูมิ โดยการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นในขั้นตอนแรกของการหมัก ส่วนขั้นตอนที่สองจะเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ ซึ่งทั้งสองขั้นตอนนี้ต่างต้องการชนิดและปริมาณของสารอาหาร ตลอดจนสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องในระบบ CSTF(Continuous stirred-tank fermenter) กับ PFF (Plug-flow fermenter)

ปริมาณสับสเตรต ปริมาณเซลล์ และปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องในระบบ CSTF กับ PFF แสดงได้ดังนี้ โดยปริมาณสับสเตรต ปริมาณเซลล์ และปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถังหมักที่ 1 ที่เป็นลักษณะ CSTFแสดงได้ดังนี้

$$s_1 = \frac{K_S}{\tau_m \mu_m - 1}$$

$$X_1 = Y_{X/S} \left(S_i \cdot \frac{K_S}{\tau_m \mu_m - 1} \right)$$

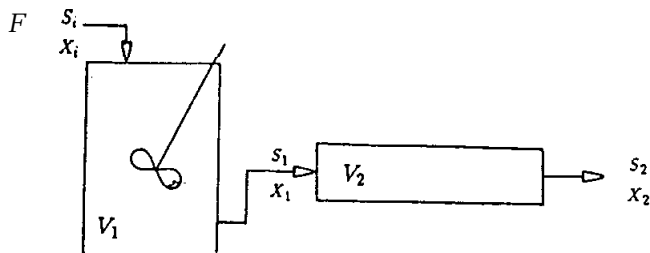
$$P_i = P_i + Y_{P/S} \left(S_i \cdot \frac{K_S}{\tau_m \mu_m - 1} \right)$$

ส่วนปริมาณสับสเตรต ปริมาณเซลล์ และปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้จากถังหมักที่ 2
ที่เป็นลักษณะ PFF แสดงได้ดังนี้

$$\tau_{p2} = \int_{X_1}^{X_2} \frac{dX}{r_X} = \int_{X_1}^{X_2} \frac{(K_S + S) dX}{S X \mu_m} \quad \text{สมการที่ 59}$$

จาก
$$Y_{X/S} = \frac{X_2 - X_1}{S_1 - S_2}$$

$$\tau_{p2} \mu_m = \left(\frac{K_S Y_{X/S} + 1}{X_1 + S_1 Y_{X/S}} \right) \ln \frac{X_2}{X_1} + \frac{K_S Y_{X/S}}{X_1 + S_1 Y_{X/S}} \ln \frac{S_1}{S_2} \quad \text{สมการที่ 60}$$



รูปที่ 20 แสดงการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในระบบ CSTF กับ PFF

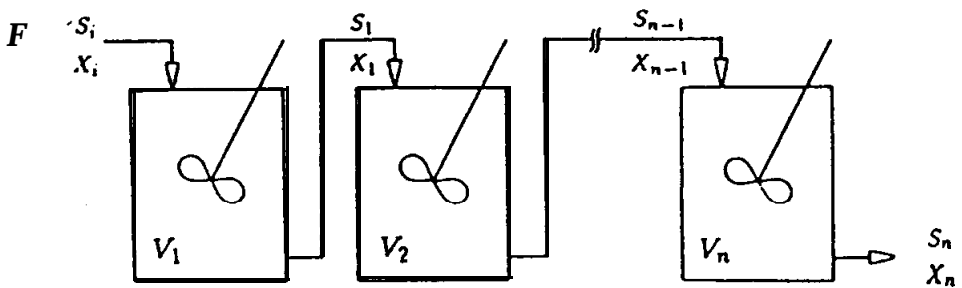
การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องในระบบ CSTFs

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องในระบบ CSTFs แสดงสมดุลของเซลล์ที่เกิดขึ้นได้ดังนี้

ปริมาณเซลล์ที่เข้าถังหมัก n - ปริมาณเซลล์ที่ออกจากถังหมัก n + อัตราการเพิ่มปริมาณเซลล์
= อัตราการสะสมของเซลล์

เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ จะได้

$$F(X_{n-1} - X_n) + V_n r_X = 0$$



รูปที่ 21 แสดงการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในระบบ CSTFs

เมื่อพิจารณาถังหมักที่ 1

$$\text{จะได้} \quad F(-X_1) + V_1 r_{X1} = 0$$

$$F X_1 = V_1 r_{X1}$$

$$\frac{r_{X1}}{X_1} = \frac{F}{V_1}$$

หรือ $D_1 = F$

$$V_1$$

เมื่อพิจารณาดังหมักที่ 2

จะได้ $F(X_1 - X_2) + V_2 r_{X_2} = 0$

$$F(X_2 - X_1) = V_2 r_{X_2}$$

$$\frac{r_{X_2}}{(X_2 - X_1)} = \frac{F}{V_2}$$

$$D_2 = F$$

$$V_2$$

เมื่อ $r_{X_n} = \frac{\mu_m S_n X_n}{K_s + S_n}$

$$Y_{xs} = \frac{X_n - X_{n-1}}{S_{n-1} - S_n}$$

ปริมาณเซลล์ที่ได้จากถังหมักที่หนึ่งนั้น คำนวณได้เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องถังเดียว ส่วนสมดุลของเซลล์ในถังหมักที่ 2 แสดงได้ดังนี้

$$\frac{dX_2}{dt} = \frac{FX_1 - FX_2}{V_2} + \mu_2 X_2$$

ที่สภาวะคงที่ $\frac{dX_2}{dt} = 0$

ดังนั้น $0 = D_2 X_1 - D_2 X_2 + \mu_2 X_2$

$$\mu_2 = D_2 (1 + X_1 / X_2)$$

สมดุลของสับสเตรตที่จำกัด

$$\frac{dS_2}{dt} = \frac{FS_1}{V_2} - \frac{FS_2}{V_2} - X_2 \mu_2$$

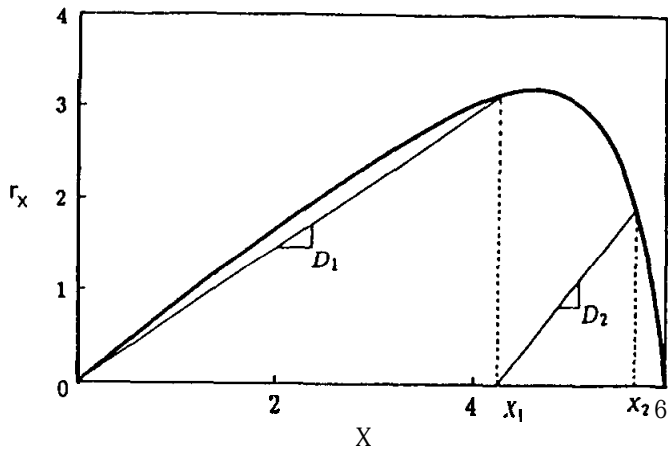
ที่สภาวะคงที่ $\frac{dS}{dt} = 0$

ดังนั้น $0 = \frac{D_2 S_1 - D_2 S_2 - \mu_2 X_2}{Y_{X/S}}$

$$X_2 = \frac{D_2 Y_{X/S} (S_1 - S_2)}{\mu_2}$$

ตารางที่ 21 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะและปริมาณสับสเตรตในแต่ละถังหมัก

	อัตราการเจริญจำเพาะ	ปริมาณเซลล์
ถังหมักแรก	$\mu_2 = D_1$	$x_1 = Y_{X/S} (S_0 - S_1)$
ถังหมักที่สอง	$\mu_2 = D_2 (1 - X_1/X_2)$	$X_2 = \frac{D_2 Y_{X/S} (S_1 - S_2)}{\mu_2}$
ถังหมักที่สอง	$\mu_2 = D_2 - \frac{F_1 X_1}{V_2 X_2}$	$X_2 = Y_{X/S} \frac{F_1 S_1 + F' S' - D_2 S_2}{V_2 V_2}$
ที่มีการเติมสับสเตรตเพิ่ม		



รูปที่ 22 แสดงอัตราการเจริญที่เกิดขึ้นในแต่ละถังหมัก

ตัวอย่างที่ 33 ถ้ากำหนดให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์เป็นไปตามสมการ Monod โดยที่ $\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S X}{K_s + S}$ เมื่ออัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเป็น 0.7 ต่อชั่วโมง K_s เป็น 5 กรัมต่อลิตร

ผลได้การเจริญจากสับสเตรต ($Y_{X/S}$) เป็น 0.65 กรัมต่อกรัม โดยอัตราการป้อนของกลูโคสและความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 500 ลิตรต่อชั่วโมง และ 85 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ถ้ากำหนดให้ความเข้มข้นของกลูโคสที่ออกจากถังหมักเป็น 5 กรัมต่อลิตร

- จงคำนวณ 1. ถ้ากำหนดให้กระบวนการเพาะเลี้ยงเป็นแบบต่อเนื่องถังหมักเดียว จงคำนวณขนาดของถังหมัก และความเข้มข้นของเซลล์ที่ออกจากถังหมัก
2. ถ้ากระบวนการเพาะเลี้ยงเป็นแบบต่อเนื่อง 2 ถังหมัก จงคำนวณขนาดของถังหมักที่ต้องใช้
3. จงแสดงลักษณะการต่อกันของถังหมักที่ดีที่สุด และขนาดของถังหมักที่ต้องใช้

วิธีทำ

จาก

$$D = \frac{F}{V}$$

$$= \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0.7 (5)}{5 + 5} \\
 &= 0.35 \\
 V &= \frac{F}{D} \\
 &= \frac{500}{0.35} \\
 &= 1,429 \text{ ลิตร}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{ปริมาณเซลล์ที่ออกจากถังหมัก (X)} &= Y_{X/S} (S_i - S) \\
 &= 0.65 (85 - 5) \\
 &= 52 \text{ กรัมต่อลิตร}
 \end{aligned}$$

2. กระบวนการเพาะเลี้ยงเป็นแบบต่อเนื่อง 2 ถังหมัก โดยกำหนดให้ถังหมักใบแรกนั้นดำเนินการจนได้ X_{opt} และ S_{opt}

$$\begin{aligned}
 \text{จาก } \alpha &= \sqrt{\frac{K_S + S_i}{K_S}} \\
 &= \sqrt{\frac{5 + 85}{5}} \\
 &= 4.2 \\
 X_i &= X_{opt} \\
 &= Y_{X/S} S_i \left(\frac{\alpha}{\alpha + 1} \right)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= 0.65 (85) \frac{4.2}{4.2 + 1} \\
&= 45 \text{ g/l} \\
S_1 &= S_{\text{opt}} \\
&= \frac{S_i}{\alpha + 1} \\
&= \frac{85}{4.2 + 1} \\
&= 16 \text{ กรัมต่อลิตร} \\
\tau_{m1} &= \tau_{m,\text{opt}} \\
&= \frac{a}{\mu_m (\alpha - 1)} \\
&= \frac{4.2}{0.7 (4.2 - 1)} \\
&= 1.9 \text{ ชั่วโมง} \\
V_1 &= \tau_{m1} F \\
&= 1.9 (500) \\
&= 950 \text{ ลิตร}
\end{aligned}$$

สำหรับถังหมักที่สอง

$$\text{จาก } F(X_1 - X_2) + \frac{V_2 \mu_m S_2 X_2}{K_S + S_2} = 0$$

$$\text{หรือ } V_2 = \frac{F(X_2 - X_1)}{\mu_m S_2 X_2 (K_S + S_2)}$$

$$= \frac{500 (52-45)}{0.7 (5) (52) / (5+5)}$$

$$= 192 \text{ ลิตร}$$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้นปริมาตรของถังหมักทั้งสอง (V)} &= V_1 + V_2 \\ &= 950 + 192 \\ &= 1,142 \text{ ลิตร} \end{aligned}$$

ขนาดของถังหมักที่ใช้ทั้งหมดจะมีขนาดที่เล็กกว่าการใช้ถังหมักแบบต่อเนื่องใบเดียวประมาณร้อยละ 20

3. ลักษณะการต่อกันของถังหมักที่ดีที่สุด จะเป็นการต่อในลักษณะที่ถังหมักแรกเป็น CSTF ซึ่งใช้ปริมาตรเป็น 950 ลิตร เช่นเดียวกับกรณีที่ 2 ส่วนถังหมักที่ 2 จะเป็น PFF ซึ่งสามารถคำนวณ τ_{P2} ได้โดย

$$\begin{aligned} \tau_{P2} &= \frac{1}{\mu_m} \left[\left(\frac{K_s Y_{X/S}}{X_1 + S_1 Y_{X/S}} + 1 \right) \frac{\ln X_2}{X_1} + \frac{K_s Y_{X/S}}{X_1 + S_1 Y_{X/S}} \frac{\ln S_1}{S_2} \right] \\ &= \frac{1}{0.7} \left[\left(\frac{5 (0.65)}{45 + 16 (0.65)} + 1 \right) \frac{\ln 52}{45} + \frac{5 (0.65)}{45 + 16 (0.65)} \ln \frac{16}{5} \right] \\ &= 0.32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_2 &= \frac{\tau_{P2} F}{0.32 (500)} \\ &= 160 \text{ ลิตร} \end{aligned}$$

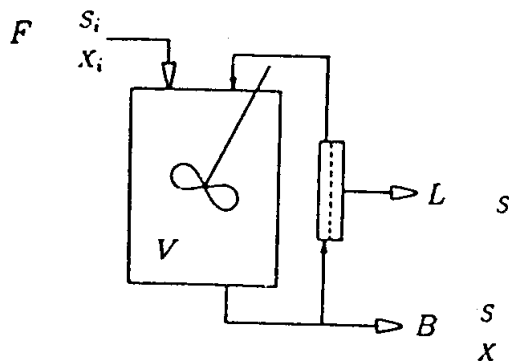
ดังนั้น

$$\begin{aligned}
 V &= V_1 + "2 \\
 &= 950 + 160 \\
 &= 1.100 \text{ ลิตร}
 \end{aligned}$$

ขนาดของถังหมักที่ใช้ทั้งหมด จะมีขนาดที่เล็กกว่าการใช้ถังหมักแบบต่อเนื่องถึงเดี่ยวร้อยละ 20

การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง และมีการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ (Continuous Culture with Recycle Cell)

การนำเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกดึงออกจากถังหมักกลับมาใช้อีกนั้น เป็นการเพิ่มเสถียรภาพของระบบ ทำให้ปริมาณสับสเตรตที่เหลือมีปริมาณที่น้อยกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง เป็นผลทำให้ผลผลิตและมวลของเซลล์ที่ได้มีปริมาณเพิ่มขึ้น รวมทั้งทำให้ D_c มีค่าเพิ่มขึ้นด้วย โดยเซลล์จุลินทรีย์ส่วนเกินที่ออกจากระบบ จะถูกนำกลับเข้าสู่ระบบอีกโดยการผ่านเข้าเครื่องแยก ซึ่งอาจเป็น เครื่องเหวี่ยง เครื่องตกตะกอน เป็นต้น โดยกระบวนการดังกล่าวจำเป็นต้องระมัดระวังในเรื่องของการปนเปื้อนของเชื้ออื่นที่ไม่ต้องการ



รูปที่ 23 แสดงการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง และมีการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่

เมื่อพิจารณาสมดุลของเซลล์

$$\begin{aligned} \text{อัตราที่เซลล์เข้าระบบ} - \text{อัตราที่เซลล์ออกจากระบบ} + \text{อัตราการเพิ่มปริมาณของเซลล์} \\ = \text{อัตราการสะสมของเซลล์} \end{aligned}$$

$$FX_0 - BX + V\mu X = \frac{VdX}{dt}$$

เมื่อพิจารณาในสภาวะคงที่ และไม่มีการเติมเซลล์เข้าไปในระบบ จะได้

$$-BX + V\mu X = 0 \quad \text{สมการที่ 61}$$

จัดสมการที่ 60 ใหม่ จะได้

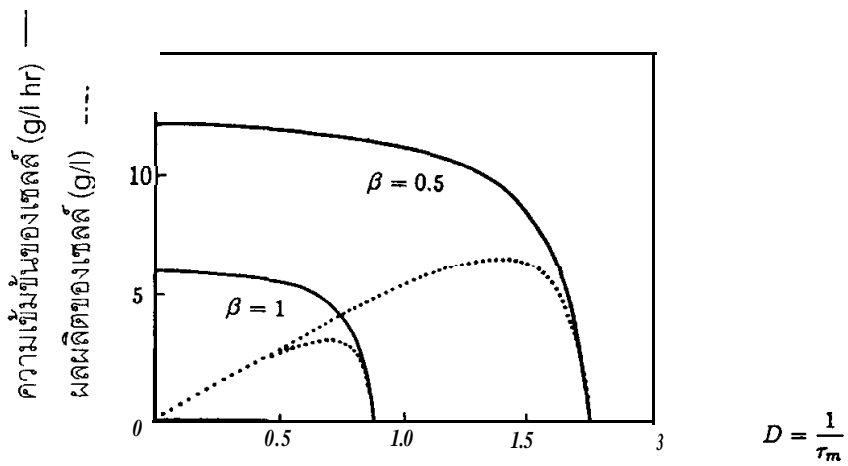
$$\begin{aligned} V\mu &= B \\ \mu &= B/V \end{aligned}$$

เมื่อกำหนดให้ β เป็นสัดส่วนการป้อนกลับ

$$\text{โดยที่} \quad \beta = \frac{B}{F}$$

$$\text{ดังนั้น} \quad \beta D = \frac{\beta}{\tau_m} = \mu$$

เมื่อ β มีค่าเท่ากับ 1 จะทำให้อัตราการเจือจางเท่ากับอัตราการเจริญ
จำเพาะ ซึ่งแสดงว่ากระบวนการหมักนั้นไม่มีการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ โดยผลของ β ที่มีต่อ
ปริมาณเซลล์ที่ได้ แสดงได้ดังรูปที่ 24 เมื่อการเปลี่ยนแปลงของ β ลดลงจาก 1 เป็น 0.5 จะมีผล
ทำให้ได้ปริมาณเซลล์และผลผลิตของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า



รูปที่ 24 แสดงผลของ β ต่อปริมาณเซลล์และผลผลิตของเซลล์ที่ได้

ในกรณีที่กำหนดให้ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์เป็นไปตามสมการของ Monod แล้ว จะได้

$$S = \frac{\beta K_s}{\tau_m \mu_m - \beta}$$

$$X = \frac{Y_{X/S} (S_0 - S)}{\beta}$$