บทที่ 4
การหมักแบบเก็บกักไม่ถ่ายเทและแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่าน
(BATCH AND PLUG-FLOW FERMENTATION)

การหมักหรือเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อาจถูกแบ่งออกได้เป็นสองระบบคือ ระบบเปิด (open system) และระบบปิด (closed system) ในระบบเปิดสารทุกอย่างที่ประกอบกันเป็นระบบจะเข้าแล้วก็ออกไปจากระบบ ในระบบปิดเป็นระบบที่ส่วนประกอบสำคัญบางอย่างของระบบไม่สามารถนำเข้าหรือนำออกไปได้ การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลต่อเนื่อง (Continuous-flow fermentation) โดยมีการไหลเข้าไปของสื่อกลางอาหารแล้วมีการไหลออกไปของชีวมวลและผลผลิตอื่น ๆ จึงถือได้ว่าเป็นระบบเปิด การหมักแบบไม่ถ่ายเทหรือเก็บกักอย่างง่าย (simple batch fermentation) ประกอบด้วยสื่อกลางอาหารเริ่มต้นจำนวนจำกัดเป็นตัวอย่างของระบบปิด ในระบบปิดอัตราการเจริญเติบโตของชีวมวลจะเข้าใกล้ศูนย์ทั้งนี้อาจเนื่องจากขาดแคลนสารอาหารหรือมีการสะสมผลผลิตยับยั้งในเวลาต่อมาจนกระทั่งเชื้อจุลินทรีย์ไม่อาจจะทนทานได้ ดังนั้นระบบนี้จึงอยู่ในสถานะชั่วคราว (transient state) เสมอ ตรงกันข้ามกับระบบเปิดซึ่งอัตราความเร็วในการเปลี่ยนแปลงซับสเตรทให้เป็นผลผลิตและชีวมวลมีความสมดุลย์กันกับอัตราความเร็วในการเข้ามาและออกไปของสื่อกลางอาหารนั่นก็คืออยู่ในสถานะมั่นคง (Steady state) นั่นเอง

4.2 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในการหมักแบบเก็บกักไม่ถ่ายเทอย่างง่าย

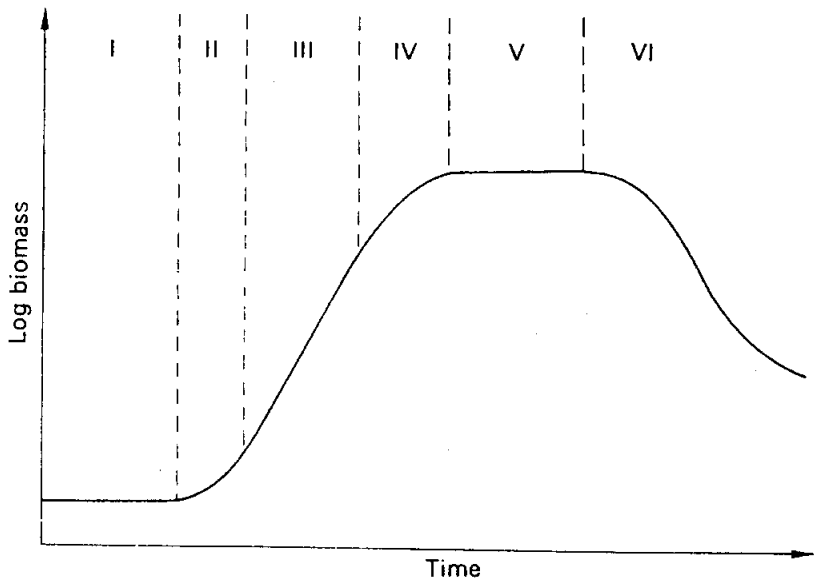
ในของเหลวที่เป็นสื่อกลางการหมักแบบเก็บกักไม่ถ่ายเทที่เป็นเนื้อเดียวกันถูกถือเอาอย่างง่ายว่าทุกส่วนตกอยู่ภายใต้สภาวะเดียวกันหรือเหมือนกันหมด ระยะต่าง ๆ ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในการหมักแบบนี้อาจถูกทำนายได้ดังรูปที่ 4.1 ระยะต่าง ๆ เหล่านี้เป็นผลสะท้อนเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงในชีวมวลและสภาพแวดล้อม ภายหลังจาก

ระยะล้าหลัง (lag period) แล้วจะมีการเจริญเติบโตเกิดขึ้นด้วยอัตราความเร็วสูงสุด แล้วท้ายที่สุดก็จะหยุดลงทั้งนี้อาจเนื่องจากขาดแคลนสารอาหาร หรือการสะสมผลผลิตยับยั้ง หรือการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางกายภาพ หลังจากที่ชีวมวลมีปริมาณถึงจุดสูงสุดของตนแล้วก็จะเป็นระยะคงที่ (stationary phase) ซึ่งชีวมวลจะมีปริมาณคงที่แต่ในไม่ช้าชีวมวลก็จะมีปริมาณลดลง เป็นผลเนื่องมาจากเมตาโบลิซึ่มเพื่อการยังชีพหรือการทำนุบำรุง (maintenance metabolism) หรือการแตกสลายตัวเอง (autolysis) ของเซลล์

ช่วงระยะเวลาของการเจริญเติบโตแบบขยาย (exponential growth phase) จะขึ้นอยู่กับอิทธิพลแต่เพียงบางส่วนจากความเข้มข้นเริ่มต้นของซับสเตรตที่กำหนดจำกัดการเจริญเติบโต ถ้าซับสเตรตเริ่มต้นมีความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร และ $K_s = 4$ มก/ลิตร ซึ่งก็เป็นไปตามสมการที่ 3.12 จะได้ว่า $\mu > 0.95\mu_m$ จนกระทั่งประมาณ 92% ของซับสเตรตที่กำหนดจำกัดการเจริญเติบโตได้ถูกใช้ไป ระยะเวลาต่อมาเมื่อความจำกัดของสารอาหารมีผลอย่างมีนัยสำคัญอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตจะถูกจำกัดเป็นเพียงเศษส่วนย่อยส่วนหนึ่งของชั่วอายุสุดท้ายเท่านั้น พฤติการณ์เช่นนี้เป็นแบบฉบับของการหมักหรือการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบบไม่ถ่ายเทอย่างง่ายและมีความหมายว่าการหมักแบบนี้ตกอยู่ภายใต้อิทธิพลของกฎเกณฑ์ทางโภชนาการเป็นอย่างมาก นั่นก็คือเป็นลักษณะการเจริญเติบโตแบบที่มีซับสเตรตอย่างเหลือเฟือในตอนเริ่มต้นแล้วต่อมาก็อดตายหรืออดอยากอย่างกระทันหัน ดังนั้นช่วงระยะเวลาในการเจริญเติบโตที่อัตราต่ำกว่าอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตสูงสุดของตนจึงไม่ยาวนานพอที่จะทำให้จุลินทรีย์ปรับตัวหรือปรับปรุงโครงสร้างของตนให้เหมาะสมต่ออัตราความเร็วในการเจริญเติบโต ข้อจำกัดเช่นนี้อาจถูกแก้ไขได้ในขอบเขตหนึ่งโดยการกระทำอย่างปราณีตรอบคอบต่อการหมักแบบเก็บกักไม่ถ่ายเทแล้วมีการป้อนซับสเตรตเพิ่มให้ในภายหลัง (Fed batch fermentation) และจะถูกแก้ไขได้อย่างสมบูรณ์โดยการหมักแบบคงที่ทางเคมี (chemostat fermentation) ดังจะได้กล่าวถึงต่อไป

พฤติกรรมของชีวมวลที่ไม่เจริญเติบโตซึ่งปรากฏอยู่ในระยะคงที่ (stationary phase) และระยะถดถอย (decline phase) จะได้กล่าวถึงในบทต่อไป ลักษณะการ

เจริญเติบโตที่ลดถอยลง (decelerating growth) เช่นระยะคงที่หรือระยะลดถอย อาจปรากฏขึ้นได้ถ้ามีการรุกโจมด้วยสภาวะซึ่งทำให้ตาย (lethal condition) บางอย่าง ดังนั้นอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตสุทธิ (net growth rate) ก็คือความแตกต่างระหว่างอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตและอัตราการตายของเซลล์



รูปที่ 4.1 Batch growth curve with six phases: I, lag; II, accelerating growth; III, exponential growth; IV, decelerating growth; V, stationary; VI, decline.

4.3 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตที่เวลาใดเวลาหนึ่ง

บางครั้งขอบเขตการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในการหมักแบบเก็บกัก ก็จำเป็นต้องนำมาเปรียบเทียบโดยไม่ใช้เส้นกราฟการเจริญเติบโตทั้งเส้นแต่จะเปรียบเทียบการเจริญเติบโตที่จุดใดจุดหนึ่งเพียงจุดเดียวภายหลังจากระยะเวลาซึ่งแล้วแต่จะกำหนด เป็นที่น่าสังเกตุว่าความแตกต่างในการเปรียบเทียบที่จุดเดียวสามารถแปลความหมายไปได้ในหลายอย่างทั้งนี้อาจเป็นผลสืบเนื่องมาจากความแตกต่างในช่วงระยะเวลาล้าหลัง อัตราความเร็วในการเจริญเติบโตสูงสุดเฉพาะ ความหนาแน่น

สูงสุดของประชากร ความเข้มข้นของสารยับยั้งหรืออัตราความเร็วในการลดถอยลงของชีวมวล ดังนั้นจนกว่าจะมีหลักฐานเป็นอย่างอื่นที่ทราบแน่ชัดแล้วว่าการแปลความหมายไปต่าง ๆ อย่างนั้นสามารถละทิ้งได้ การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตที่จุดเดียวจะต้องหมายรวมถึงผลสะท้อนต่าง ๆ ทั้งหมดและไม่อาจประเมินค่าโดยใช้ตัวแปรเสริมทางคณิตศาสตร์ได้อย่างเฉพาะเจาะจง

4.4 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เกี่ยวกับการหมักแบบเก็บกักอย่างง่าย

เมื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในการหมักแบบเก็บกักถูกกำหนดโดยปริมาณของซับสเตรตเริ่มต้นที่ให้ไว้แต่เพียงอย่างเดียว เส้นกราฟการเจริญเติบโตอาจถูกทำนายได้ในแง่ของตัวแปรเสริมทางคณิตศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตตามแบบจำลองที่ถูกเสนอโดย Monod (1942) เป็นครั้งแรก(บทที่ 3) จะได้ว่า

$$dx/dt = \mu x \qquad 4.1$$

$$\mu = \mu_m s/(s+K_s) \qquad 4.2$$

$$x - x_0 = Y(s_0 - s) \qquad 4.3$$

x_0 และ s_0 เป็นค่าเริ่มต้นของชีวมวลและความเข้มข้นของซับสเตรตที่กำหนดจำกัดการเจริญเติบโตตามลำดับ เมื่อแทนค่า μ และ s ในสมการที่ 4.1 จะได้ว่า

$$dx/dt = \mu_m(Ys_0 + x_0 - x)x/(K_s Y + s_0 Y + x_0 - x) \qquad 4.4$$

ต่อจากนั้นสามารถคำนวนหาค่า x ได้ในรูปของ t โดยการอินติเกรต

$$\int_{x_0}^{x} \frac{(K_s Y + s_0 Y + x_0 - x)\,dx}{(Ys_0 + x_0 - x)\,x} = \mu_m \int_0^t dt \qquad 4.5$$

โดยการแยกเป็นเศษส่วนย่อย(partial fractions) ตามหลักวิชาคณิตศาสตร์ทางด้านซ้ายมือของสมการ 4.5 จะได้ว่า

$$P\int_{x_0}^{x} \frac{dx}{x} + Q\int_{x_0}^{x} \frac{dx}{Ys_0 + x_0 - x} \qquad 4.6$$

ซึ่ง $P=(K_sY+s_0Y+x_0)/(Ys_0+x_0)$ และ $Q=K_sY/(Ys_0+x_0)$ ดังนั้นสมการที่ 4.5 จึงถูกสรุปได้เป็น

$$P\ln(x/x_0)-Q\ln\{(Ys_0+x_0-x)/Ys_0\}=\mu_m t \qquad 4.7$$

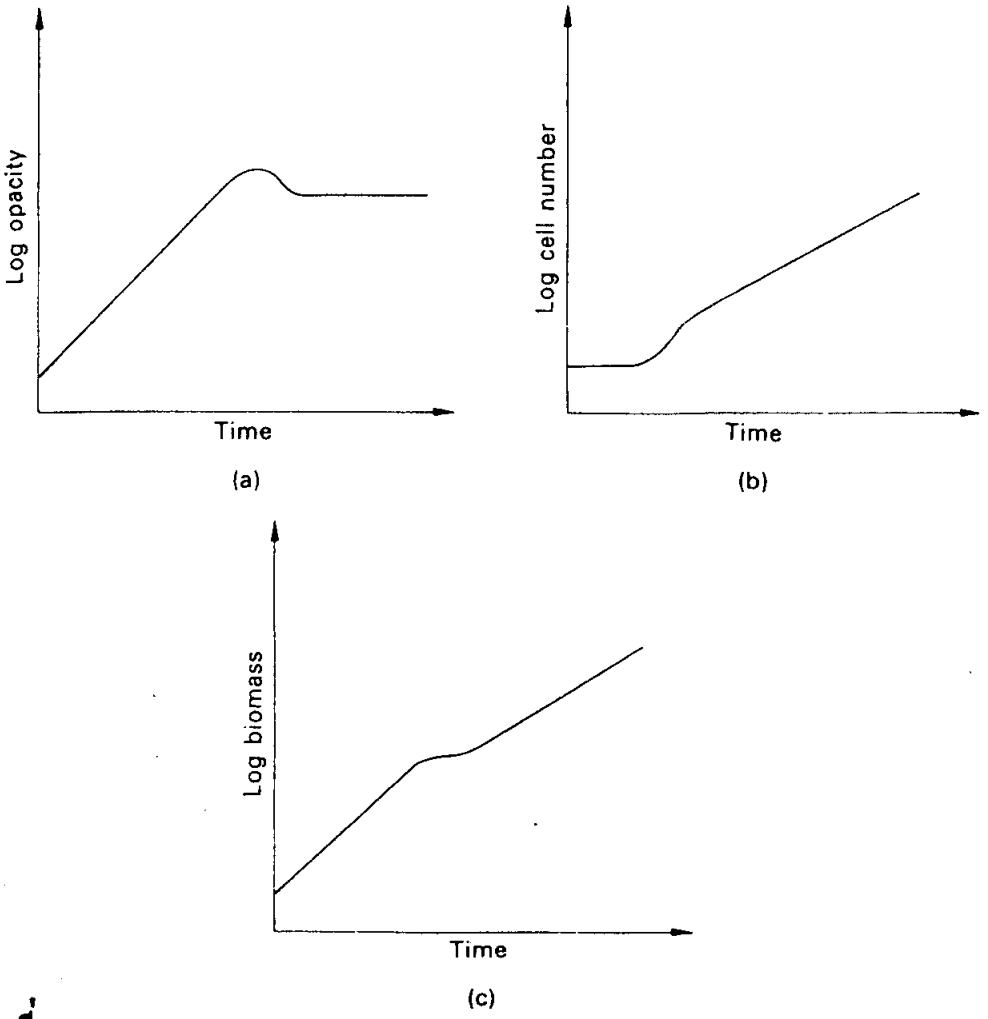
สมการที่ 4.7 จะให้เส้นกราฟเป็นรูปตัวอักษร เอส (s-shaped curve) ดังที่ได้เคยพบเห็นกันโดยทั่วไปสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในการหมักแบบเก็บกัก ซึ่งค่าของ มีแนวโน้มที่จะเข้าใกล้หรือเท่ากันกับค่า (Ys_0+x_0) ตามหลักความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์แบบ asymptote คือถ้า x มีค่าเข้าใกล้หรือเท่ากับ (Ys_0+x_0) จะทำให้สมการมีค่าสูงขึ้นหรือมากเหลือประมาณ(infinity) Monod (1942) ได้แสดงให้เห็นว่าสมการแบบนี้สอดคล้องเป็นอย่างดีกับการเจริญเติบโตของ Escherichia coli

4.5 การเปลี่ยนแปลงของเส้นกราฟการเจริญเติบโตในการหมักแบบเก็บกักอย่างง่าย

เส้นกราฟการเจริญเติบโตที่แสดงไว้ในรูปที่ 4.1 เป็นแบบอย่างซึ่งสมบูรณ์แบบแต่ที่ช่วงระยะเวลาต่าง ๆ ของการเจริญเติบโตในทางปฏิบัติอาจเปลี่ยนแปลงได้ตั้งแต่ศูนย์จนถึงระยะเวลาหลายวัน รายละเอียดที่ได้จากเส้นกราฟแบบนี้ก็เป็นพื้นฐานอย่างหนึ่งเกี่ยวกับชีววิทยาของเซลล์

เส้นกราฟการเจริญเติบโตที่แตกต่างออกไปสามรูปแบบซึ่งมักพบเห็นกันอยู่เสมอได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.2 เมื่อมวลของแบคทีเรียถูกวัดด้วยค่าความขุ่นมักพบว่ามีความทึบแสงลดน้อยลงเมื่อเข้าสู่ระยะคงที่(stationary phase) ดังรูปที่ 4.2 (a) ปรากฏการณ์เช่นนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนองค์ประกอบของชีวมวลซึ่งทึบแสงแตกต่างกัน การเปลี่ยนแปลงแบบอื่นดังแสดงในรูปที่ 4.2(b) จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้นของการหวีคูณ ผลเช่นนี้แสดงว่ามีการแบ่งตัวอย่างพร้อมเพรียงกัน(synchrony) ของประชากรจุลินทรีย์ที่เป็นเซลล์เดียว การแบ่งตัวตามปกติจะกลายเป็นไม่พร้อมเพรียงกัน(asynchronous) อย่างสมบูรณ์ภายหลังจากระยะเวลาประมาณสองชั่วอายุ การเปลี่ยนแปลงแบบที่สามดังรูปที่ 4.2 (c)ถูกเรียกว่า

diauxie แสดงถึงการใช้ซับสเตรตอย่างมีลำดับตัวอย่าง เช่น เมื่อใช้น้ำตาลกลูโกสแล้ว ต่อมาจึงใช้น้ำตาลแลคโตสโดย Escherichia coli การเปลี่ยงเบนของเส้นกราฟ หรือแม้แต่การลดน้อยถอยลงของชีวมวลอาจเกิดขึ้นเมื่อซับสเตรตแรกถูกใช้หมดไปแล้ว ต่อมาระบบเอนไซม์ใหม่สำหรับซับสเตรตที่สองก็จะถูกกระตุ้นให้เกิดขึ้น



รูปที่ 4.2 Some observed variations in the batch growth curve: (a) fall in opacity before entry of bacterial culture into stationary phase; (b) synchronized division of cells after lag; (c) diauxie.

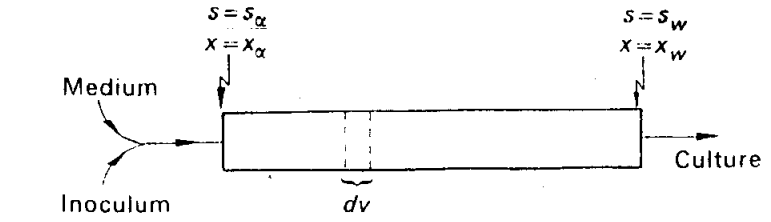
4.6 การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่าน (PLUG-FLOW FERMENTATION)

4.6.1 หลักการโดยทั่วไป

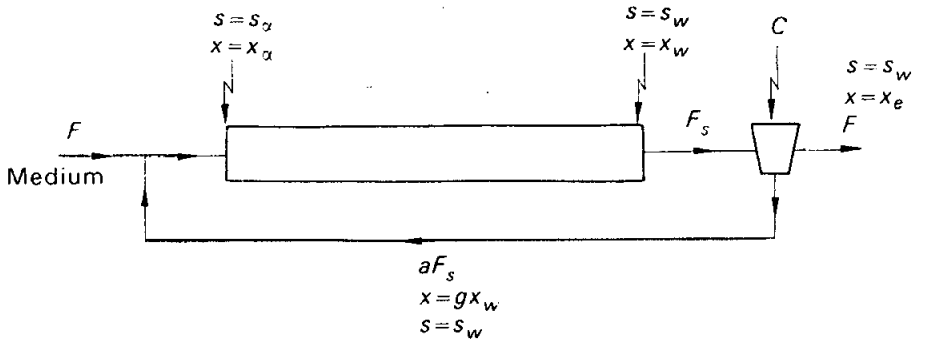
การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านไปในท่อหรือถังหมัก (fermenter) ดังรูปที่ 4.3 เป็นเครื่องช่วยกระตุ้นให้การหมักแบบเก็บกักกลายเป็นระบบเปิด ตามแบบฉบับแล้วแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum) และอาหารจะถูกทำให้ผสมกันในขณะที่เข้าสู่ระบบและเชื้อจุลินทรีย์จะไหลผ่านไปในท่อหรือถังหมักด้วยอัตราความเร็วคงที่โดยไม่มีการปั่นกวนหรือคนให้ผสมกันอีก ดังนั้นทุกส่วนในของเหลวที่เป็นสื่อกลางการหมักจึงถูกถือว่ามีช่วงระยะเวลาคงอยู่ (residence time) ในภาชนะหมักเท่ากันหรือเหมือนกัน ถ้าให้ V = ปริมาตรเป็นลิตร (l) ของถังหมักและ F = อัตราการไหลของของเหลวผ่านถังหมักเป็นลิตรต่อชั่วโมง (l/h) ดังนั้นช่วงระยะเวลาคงอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์หรือระยะเวลาแทนที่ (replacement time) ของเชื้อจุลินทรีย์จะถูกคำนวนได้ว่า $t_r = V/F/F$ การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านไปในท่อหรือถังหมักมักไม่อาจหลีกเลี่ยงการผสมกันบางส่วนขณะอยู่ในถังหมักได้และนอกจากนี้ยังมีความแตกต่างกันของอัตราความเร็วในการไหลผ่านพื้นที่หน้าตัดตามขวางของท่อภาชนะด้วยโดยที่ตรงบริเวณกึ่งกลางจะมีการไหลเร็วที่สุด ถ้ามีการผสมกันบางส่วนเกิดขึ้นในขณะที่ของเหลวที่เป็นสื่อกลางการหมักไหลผ่านไปในท่อหรือถังหมักมักพบว่าค่าตัวเลขของระยะเวลาคงอยู่มีลักษณะการกระจายหรือแจกแจงทางสถิติตามแบบฉบับของ Gaussian distribution โดยมีค่าเฉลี่ยประมาณ t_r ดังรูปที่ 4.4

4.6.2 โดยไม่มีการเติมชีวมวลย้อนกลับ (Without biomass feedback)

ระบบนี้ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.3 (a) เมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของซับสเตรตที่กำหนดจำกัดการเจริญเติบโต $S_o \gg K_s$ การเจริญเติบโตของชีวมวลในแต่ละส่วนหรือแต่ละปริมาตรย่อยของเชื้อ (dv) อาจถูกแทนค่าได้ด้วยสมการการเจริญเติบโตแบบเก็บกักโดย $\mu = \mu_m$ จนกระทั่งซับสเตรตที่กำหนดจำกัดการเจริญเติบโตหมดไป จะได้สมการทำนอง

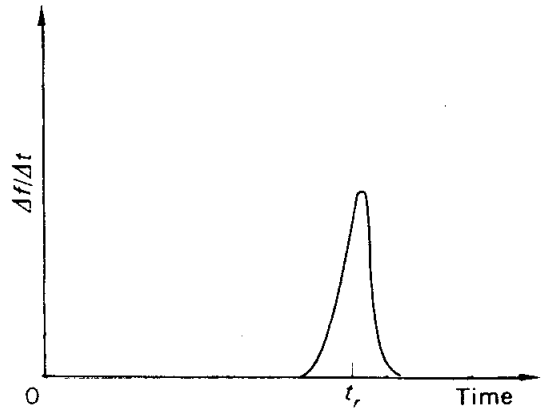


(a)



(b)

รูปที่ 4.3 Plug-flow culture (diagrammatic): (a) without biomass feedback; (b) with biomass feedback. *Symbols:* F, F_s and aF_s are flow rates at the various points; x = biomass concentration; s = growth-limiting substrate concentration; V = culture volume; dv is a small element of the culture volume; C, device to concentrate biomass.



รูปที่ 4.4 Distribution of residence times in a near ideal plug-flow culture; Δf is the fraction of a small volume of material injected initially, which will emerge from the vessel in each small time interval, Δt.

เดียวกันกับสมการที่ 3.6 คือ

$$x = x_\alpha e^{\mu_m t} \qquad 4.8$$

x_α = ความเข้มข้นเริ่มต้นของชีวมวลและ x คือความเข้มข้นที่เวลา t ถ้า v = ปริมาตรของของเหลวที่เป็นสื่อกลางการหมักซึ่งถูกแทนที่ไปในท่อหรือถังหมักด้วยเวลา t ดังนั้น $t = v/F = v/VD$ ซึ่ง D คืออัตราความเร็วในการเจือจาง (dilution rate) มีค่าเท่ากับ F/V เมื่อแทนค่า t ในสมการที่ 4.8 จะได้ว่า

$$\ln x = \ln x_\alpha + v\mu_m/DV \qquad 4.9$$

4.6.3 <u>โดยมีการเติมชีวมวลย้อนกลับ</u> (with biomass feedback)

ท่อหรือถังเพื่อการหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านอาจถูกทำให้เป็นอิสระจากแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ภายนอกได้ถ้าชีวมวลบางส่วนที่ปล่อยออกมาถูกเติมกลับ (feedback) เข้าไปในทางเข้าของถังหมักอีกดังรูปที่ 4.3 อัตราการไหลออกมาจากถังหมักทั้งหมดจะได้

$$F_s = F + aF_s \qquad 4.10$$

a คือเศษส่วนของสื่อกลางทั้งหมดที่ไหลมาจากถังหมักซึ่งถูกเติมกลับเข้าไปดังนั้น

$$F_s = F/(1-a) \qquad 4.11$$

ถ้าชีวมวลถูกทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยปัจจัย (g) ก่อนถูกเติมกลับเข้าไปในถังหมัก ดังนั้นเศษส่วนของชีวมวลซึ่งถูกเติมกลับเข้าไปคือ ag และที่สภาวะมั่นคงคือ $x_\alpha = agx_w$ ซึ่ง x_w คือความเข้มข้นสุดท้ายของชีวมวล เวลาสำหรับปริมาตรของสื่อกลางซึ่งถูกแทนที่คือ $t = v(1-a)/F$ เมื่อให้ $v = V_e$ คือปริมาตรที่หมดไปหรือออกไปจากถังหมักในขณะเดียวกันก็มีการหมดไปของซับสเตรตที่กำหนดจำกัดการเจริญเติบโตไปพร้อมกันด้วย ดังนั้น $t = V_e(1-a)/F$. แทนค่า x และ t ในสมการที่ 4.8 โดยที่ $x = x_w$ จะได้สมการที่สภาวะมั่นคงหรือสมดุลย์ (steady state) คือ

$$V_e = \frac{F}{(1-a)\mu_m}\left(\ln \frac{1}{ag}\right) \qquad 4.12$$

เมื่อ $V_e = V$ จะได้จากสมการที่ 4.12 เป็น

$$t_r = \frac{1}{D_c} = \frac{1}{(1-a)\mu_m}\left(\ln \frac{1}{ag}\right) \qquad 4.13$$

และ x_w จะอยู่ที่จุดสูงสุดคือ $x_w = x_m$ เช่นเดียวกันกับสมการที่ 3.15 จะได้ว่า

$$x_m = YS_\alpha + x_\alpha \qquad 4.14$$

D_c คืออัตราความเร็วในการเจือจางวิกฤต (Critical dilution rate) ถูกกำหนดโดยสมการที่ 4.13 เมื่อ $x_w \to 0$ ถ้า D มีค่าเกินกว่า D_c จะทำให้ $x_w < x_m$ และชีวมวลที่เติมกลับเข้าไปไม่เพียงพอที่จะรักษา x_w ไว้ได้ กรณีเช่นนี้จะเกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่าการล้างออกไป (wash out) ดังจะกล่าวถึงต่อไปในบทที่ 6 ตอนที่ 6.5

4.7 ประโยชน์จากการหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่าน

การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านมีความสามารถเพียงแค่เป็นการกระตุ้นเชื้อจุลินทรีย์ในระบบแบบเก็บกักเท่านั้นและในวิธีการนี้ไม่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม ลักษณะใหม่ของการหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านคือระยะต่าง ๆ ของเชื้อจุลินทรีย์แบบเก็บกักจะถูกแบ่งแยกได้อย่างเด็ดขาดหรือทำให้เกิดขึ้นได้ตามต้องการ

ในระดับห้องปฏิบัติการได้พิสูจน์แล้วว่าไม่มีทางเป็นไปได้ที่การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านจะทำให้เกิดระยะต่าง ๆ ในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์เรียงกันอยู่เป็นลำดับภายในท่อหรือถังหมักอย่างแท้จริง ปัญหาใหญ่ที่สุดก็คือมีการไหลแบบขนานหรือการไหลแยกเป็นแผ่นบาง(laminar flow) เกิดขึ้นภายในท่อภาชนะที่ใช้หมักจนกระทั่งมีความแตกต่างกันในระยะการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นตามหน้าตัดขวางของท่อ อีกทั้งอัตราการไหลซึ่งช้ามากที่ผนังของท่อหรือภาชนะยังช่วยส่งเสริมให้ชีวมวลเกาะติดกับผนังอีกด้วยและถ้าจำเป็นต้องมีการให้อากาศก็จะเกิดการผสมกันอย่างหลีกเลี่ยงไม่พ้น ที่ใกล้เคียงกันกับระบบการหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านเป็นอย่างดีก็คือการหมักแบบคงที่ทางเคมี (Chemostat-Culture) เป็นลำดับโดยมีการ

เติมชีวมวลย้อนกลับดังจะได้กล่าวถึงในบทที่ 6 ตอน 6.5

การหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่านถูกใช้ในขบวนการกำจัดน้ำเสียแบบเคลื่อนไหว (activated sludge process) ขนาดใหญ่ ตะกอนที่เติมกลับเข้าไปเปรียบเหมือนเป็นชีวมวลที่เติมกลับแต่อาจถูกถือได้ว่าเป็นซับสเตรตเข้มข้นอีกรูปแบบหนึ่งที่ถูกเติมกลับเข้าไปก็ได้ การหมักภายใต้สภาพที่ปราศจากแกสออกซิเจนซึ่งถูกใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมเช่นโยเกิต (yoghurt) และเนยแข็ง (cheese) มักได้รับผลดีจากการหมักแบบปล่อยให้เชื้อจุลินทรีย์ไหลผ่าน นอกจากนี้ยังอาจใช้วิธีการอันนี้ช่วยกระตุ้นสภาวะต่าง ๆ ของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้เป็นประจำ (intestinal flora) ได้อีกด้วย.