บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 มันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Manihot esculenta* หรือ *Manihot utilissima* หรือ *Manihot aipi* อยู่ในตระกูล Euphorbiaceae มันสำปะหลังมีชื่อเรียกที่หลากหลายในแต่ละทวีป ในภาษาอังกฤษเรียกมันสำปะหลังว่า cassava ในทวีปอเมริกาใต้แถบประเทศบราซิล ปารากวัย อาร์เจนตินาเรียกมันสำปะหลังว่า madioca ขณะที่ประเทศในทวีปแอฟริกาที่ใช้ภาษาฝรั่งเศสเป็นหลักเรียกมันสำปะหลังว่า manioc ส่วนประเทศที่พูดสเปนในอเมริกากลับเรียกว่า yuca สำหรับในทวีปเอเชียของเราเรียกว่า tapioca หากจะสืบหาแหล่งกำเนิดของมันสำปะหลังก็จะพบว่ามีหลายถิ่นด้วยกัน แต่แหล่งใหญ่ที่สุดอยู่ที่เขตร้อนในทวีปอเมริกา โดยเฉพาะในอเมริกาใต้แถบประเทศกัวเตมาลา เม็กซิโก เปรู ฮอนดูรัส ได้มีการปลูกมันสำปะหลังมากว่า 3,000-7,000 ปีมาแล้ว ก่อนที่จะกระจายไปจนทั่วเขตร้อนของทวีปอเมริกา และได้แพร่ขยายไปสู่แหล่งอื่นๆ ในยุคล่าอาณานิคมสมัยคริสต์ศตวรรษที่ 15 โดยพวกค้าทาสและชาวโปรตุเกสได้นำเอามันสำปะหลังไปแพร่พันธุ์ตามที่ต่างๆ ในทวีปแอฟริกา ส่วนการแพร่ขยายพันธุ์มาสู่ประเทศในแถบเอเชียนั้นเกิดขึ้นในศริสต์ศตวรรษที่ 17 เมื่อชาวสเปนได้นำพันธุ์จากประเทศเม็กซิโกมาปลูกในฟิลิปปินส์ และต่อมาในคริสต์ศตวรรษที่ 18 ชาวฮอลแลนด์ก็ได้นำมันสำปะหลังจากประเทศสุรินัมมาขยายพันธุ์ในอินโดนีเซีย

สำหรับในประเทศไทยนั้นไม่มีหลักฐานที่ชัดเจนพอที่จะยืนยันว่ามีการนำมันสำปะหลังมาปลูกเมื่อใด แต่คาดกันว่ามันสำปะหลังได้เข้ามาสู่ประเทศไทยจากทางมาเลเซียเมื่อประมาณ พ.ศ. 2329 ซึ่งแต่เดิมคนไทย เรียกว่า มันไม้ หรือ มันสำโรง ส่วนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า มันต้นเตี้ย ในภาคใต้เรียกว่า มันเทศ แต่ปัจจุบันนี้คนส่วนใหญ่จะเรียกว่า มันสำปะหลัง ซึ่งคล้ายกับภาษาชวาตะวันตกที่เรียกว่า สัมเปอ (sampeu) ในปัจจุบันมันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศไทยเป็นจำนวนมหาศาล เพราะประเทศไทยผลิตและส่งออกแป้งมันสำปะหลังเป็นรายใหญ่ของโลก การปลูกมันสำปะหลังเพื่อการค้าในประเทศไทยนั้น เริ่มจากทางภาคใต้ โดยเป็นการปลูกระหว่างแถวของต้นยางพารา ซึ่งมีการปลูกกันมากในจังหวัดสงขลา จนมีการตั้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและเม็ดสาคู เพื่อส่งออกไปยังประเทศสิงคโปร์ และประเทศมาเลเซีย แต่การปลูกมันสำปะหลังในภาคใต้ได้ลดจำนวนลงเรื่อยๆ เนื่องจากต้นยางเติบโตคลุมพื้นที่หมด จึงได้มีการขยายการปลูกมันสำปะหลังไปยังจังหวัดทางภาคตะวันออก แถบ

ชลบุรี ระยอง และจังหวัดใกล้เคียง และเมื่อความต้องการของตลาดมีเพิ่มมากขึ้น จึงมีการขยายพื้นที่ปลูกมันไปยังจังหวัดอื่นๆโดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สมาคมการค้าอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังไทย, 2540)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ปลูกทั่วไปในแถบเมืองร้อน ปลูกได้ตลอดทั้งปี ทนต่อความแห้งแล้ง ปลูกง่ายไม่ต้องการน้ำมาก ไม่มีแมลง และโรคพืชรบกวน นอกจากนี้ยังให้ผลผลิตค่อนข้างสูงจึงเพาะปลูกกันมาก ปัจจุบันประเทศไทยมีแหล่งเพาะปลูกมันสำปะหลังรวม 48 จังหวัด คิดเป็นพื้นที่เพาะปลูกราว 9 ล้านไร่ และมีผลผลิตรวมกว่า 20 ล้านตันต่อปี โดย 30 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนนี้ถูกแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลัง และอีกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ถูกแปรรูปไปเป็นมันเส้นและมันอัดเม็ด (สมาคมวิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย, 2541) มีอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังต่างๆมากมาย ซึ่งมีแนวโน้มของกำลังการผลิตได้ จะขยายตัวเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ในปี 2540 ประเทศไทยส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้ประมาณ 5,125,000 ตัน คิดเป็น 19,850 ล้านบาท (กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, 2540) จึงกล่าวได้ว่ามันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สินค้าส่งออกดังกล่าวนั้นได้แก่ มันอัดเม็ด มันเส้น แป้งมันสำปะหลัง โมดิไฟด์สตาร์ช เดกซ์ตริน และผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังอื่นๆ

แป้งมันสำปะหลังมีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งอื่นๆ เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวสาลี ฯลฯ (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2544) คือ

1. สามารถผลิตได้ทั้งปี เนื่องจากมันสำปะหลังสามารถเก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่ 8 เดือนขึ้นไป หากสามารถจัดการกับวัตถุดิบได้อย่างถูกต้องจะทำให้มีการจำหน่ายให้กับผู้บริโภคได้ตลอดปี

2. ราคาสามารถแข่งขันกับแป้งชนิดอื่นๆได้

3. เป็นผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากการดัดแปลงทางพันธุกรรม (Genetic Modified Organisms, GMOs) กล่าวคือ เป็นที่ยอมรับว่ามันสำปะหลังของไทยไม่เคยมีการปรับปรุงด้านพันธุกรรมตัดต่อยีนส์ ซึ่งทำให้เป็นที่ต้องการของหลายประเทศ

4. ปราศจากสีและกลิ่น ซึ่งเป็นจุดเด่นในการใช้ประกอบอาหารเพราะทำให้อาหารไม่เสียคุณลักษณะไปเพราะแป้งที่ใช้ อีกทั้งยังสามารถทำให้การใช้สีหรือกลิ่นในอาหารดีขึ้นอีกด้วย

5. มีความบริสุทธิ์สูง เพราะโดยธรรมชาติแล้วหัวมันสำปะหลังจะไม่สะสมสารอื่นๆเช่น ฟอสฟอรัส หรือเกลือแร่ต่างๆในปริมาณมาก ทำให้แป้งมันสำปะหลังมีความบริสุทธิ์สูง เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเคมี เช่น การผลิตแป้งดัดแปร หรือทำปฏิกิริยากับสารเคมีต่างๆ ได้ดี

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีขั้นตอนดังที่กล่าวมาแล้ว กากมันสำปะหลังจะมีราคาต่ำ ถูกนำไปใช้ผสมเป็นอาหารสัตว์ แต่เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง ดังตารางที่ 1.1 มีปริมาณแป้งประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก กากมันสำปะหลังจึงมีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นที่

มีราคาถูก หาได้ง่าย และมีปริมาณมาก สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ต่อไปอีก งานวิจัยนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลัง เพื่อนำวัตถุดิบที่เหลือใช้กลับมาทำให้เกิดประโยชน์มากที่สุด และเป็นการเพิ่มมูลค่าของกากมันสำปะหลังด้วย

ตารางที่ 1.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง

องค์ประกอบ	ปริมาณเฉลี่ย
แป้ง	59.77 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
ไนโตรเจน	0.29 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
ความชื้น	9.25 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
Fe^{+2}	155 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
Mn^{+2}	4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
Mg^{+2}	1100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
Cu^{+2}	4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
Zn^{+2}	21 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ที่มา : จิราภรณ์ โล่ห์วงศ์วัฒน (2525)

สมบัติทางกายภาพและเคมีของแป้งมันสำปะหลัง

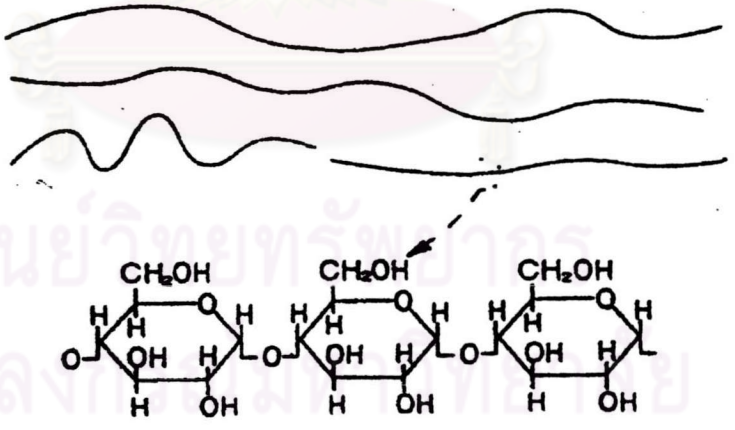
แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน ในอัตราส่วน 6:10:5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไป คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งเป็นโพลีเมอร์ของกลูโคสประกอบด้วย โพลีเมอร์เชิงเส้น คือ อะไมโลสที่หน่วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ ∝-D-(1-4)-glucosidic linkage โดยมีหน่วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย และ โพลีเมอร์เชิงกิ่ง คือ อะไมโลเพกติน ซึ่งหน่วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ ∝-D-(1-4)-glucosidic linkage เป็นส่วนใหญ่ และส่วนที่แตกสาขาเป็นกิ่งนั้นจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ ∝-D-(1-6)-glucosidic linkage แต่ละสาขาประกอบด้วยหน่วยกลูโคสประมาณ 15-25 หน่วย สำหรับแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยอะไมโลสคิดเป็นค่าเฉลี่ย 17 เปอร์เซ็นต์ (Swinkels, 1983) มีน้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินประมาณ 2.1×10^4 และ 3×10^6 ดาลตัน ตามลำดับ (Peat, 1954) โดยทั่วไปเม็ดแป้งจะมีขนาดตั้งแต่ 2-100 ไมครอน อาจมีรูปกลม รูปไข่ และ อื่นๆ เมื่อตรวจเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่อยู่ในหัวมันสำปะหลังจะมีรูปกลมปลายด้านหนึ่งเป็นรอยตัด จึงมีลักษณะคล้ายรูปถ้วย (Wurzburg, 1972) มีขนาดตั้งแต่ 5-35 ไมครอน (0.005-0.035 มิลลิเมตร) เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 15 ไมครอน (Brautlecht, 1953)

เมื่อตรวจดูเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโพลาไรซ์ จะเห็นลักษณะกากบาทสีขาวบนพื้นสีดำ เรียกว่า Birefringence

ภายในเม็ดแป้งประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพกติน ซึ่งมีการเรียงตัวต่างกัน แบ่งได้เป็น 2 แบบ แบบแรก สายโพลีเมอร์ของอะไมโลสเรียงตัวขนานกันอย่างเป็นระเบียบ มีอะไมโลสบางส่วนเรียงขนานกับส่วนที่เป็นสายตรงส่วนนอกของอะไมโลเพกติน และยึดติดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้โมเลกุลบริเวณนี้จับกันอย่างหนาแน่น และมีแรงยึดเหนี่ยวสูง บริเวณนี้เรียกว่า Crystalline regions หรือ Micelles เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดลักษณะ Birefringence ของเม็ดแป้ง Crystalline regions นี้ มีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวต่ำมาก ส่วนแบบที่สองโมเลกุลเรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ แรงดึงดูดระหว่างสายโพลีเมอร์ของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินต่ำกว่าแบบแรก บริเวณที่มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแบบนี้เรียกว่า Amorphous regions เป็นส่วนที่ดูดน้ำได้ดี และพองตัวได้ง่าย (Fennema, 1976)

อะไมโลส (Amylose)

อะไมโลสประกอบด้วย D-glucose ประมาณ 100 - 1,000 หน่วย ยึดต่อกันด้วยพันธะ α(1-4) glycosidic linkage เป็นสายโซ่ยาว (linear chain) ไม่มีกิ่งก้าน โดยทั่วไปแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยอะไมโลสประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ อะไมโลสเป็นส่วนที่ละลายน้ำได้ เมื่อทำปฏิกิริยากับสารไอโอดีนให้สีน้ำเงินเข้ม (intense blue) โครงสร้างของอะไมโลสแสดงดังรูปที่ 1.1

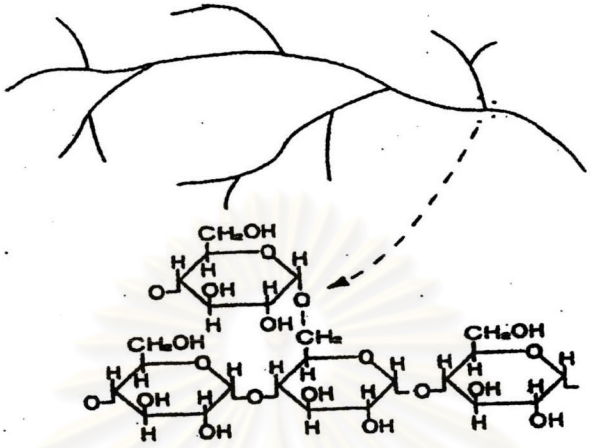


รูปที่ 1.1 โครงสร้างของอะไมโลส (Dziedzic and Kearsley, 1984)

อะไมโลเพกติน (Amylopectin)

อะไมโลเพกตินประกอบด้วย D-glucose ต่อกันเป็นสายโซ่ยาวด้วยพันธะ α(1-4) glycosidic linkage และ D-glucose ที่มีแขนงแยกออกทุก ๆ 20 - 30 หน่วย ตรงจุดแยกของกลูโคสจะต่อกันด้วยพันธะ α(1-6) glycosidic linkage อะไมโลเพกตินเป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ

โดยทั่วไปแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วย อะไมโลเพกตินประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยอย่างน้อยที่สุดประมาณ 1,000,000 และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนจะให้สีม่วงแดง (violet red) โครงสร้างของอะไมโลเพกตินแสดงดังรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของอะไมโลเพกติน (Dziedzic and Kearsley, 1984)

เนื่องจากแป้งประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพกตินซึ่งมีสมบัติแตกต่างกัน ดังนั้นสมบัติของแป้งจึงขึ้นอยู่กับอัตราส่วนเชิงโมลของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน

แป้งมันสำปะหลังมีไขมันต่ำกว่าแป้งจากธัญพืชโดยทั่วไป ส่วนองค์ประกอบอื่นนั้น มีในปริมาณใกล้เคียงกันกับแป้งชนิดอื่น องค์ประกอบทางเคมีของแป้งมันสำปะหลังโดยทั่วไป แสดงในตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งมันสำปะหลังโดยทั่วไป

องค์ประกอบ	ปริมาณเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)
ความชื้น	13.0
แป้ง	87.0
ไขมัน	0.1
โปรตีน	0.1
เถ้า	0.2
ฟอสฟอรัส	0.01
สารที่ให้กลิ่นรส	(ต่ำมาก)

ที่มา Swinkels (1983)

ไฮโดรไลเซท

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยเรียกว่า ไฮโดรไลเซท ในปัจจุบันนิยมใช้เอนไซม์ย่อยแป้งมากกว่าการย่อยแป้งด้วยกรด เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยามีความจำเพาะต่อชนิดของผลิตภัณฑ์ ควบคุมปฏิกิริยาง่าย ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียง หรือการมีสีคล้ำ หรือมีรสขมในผลิตภัณฑ์ รวมทั้งไม่ต้องการอุปกรณ์ที่มีความทนทานการกัดกร่อนสูงเช่นเดียวกับการใช้กรด (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535) โดยทั่วไปการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์อะไมเลสจะใช้กับแป้งที่ทำให้สุกก่อน เนื่องจากแป้งดิบมีคุณสมบัติไม่กระจายตัวในน้ำ (non-dispersible) และต้านทานต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ แป้งที่อยู่ในรูปแกรนูล (granule) หรือแป้งดิบจะไม่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ต้องให้ความร้อนแก่แป้งให้อยู่ในรูปสารละลายจะทำให้เกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization) มีความหนืดเพิ่มขึ้นเนื่องจากแกรนูลของแป้งขยายตัวดูดซึมน้ำเข้าไปทำให้สูญเสียลักษณะ birefringence การย่อยสลายด้วยเอนไซม์จึงเกิดได้เร็วขึ้น (กล้าณรงค์ ศรีรอต และคณะ, 2540)

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ได้แก่ กลุ่มเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งเป็น extracellular enzyme พบทั้งในสัตว์ เซลล์พืช และจากการสร้างของจุลินทรีย์ (Adam, 1953; Underkofler, 1954)

เอนไซม์อะไมเลสสามารถแบ่งตามตำแหน่งการย่อยแป้งได้ 2 ประเภท (กล้าณรงค์ ศรีรอต และคณะ, 2540) คือ

(1) Endoamylase

ย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่ง α(1-4) ทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์และเดกซ์ตริน เอนไซม์ประเภทนี้คือ แอลฟาอะไมเลส หรือ amylo (1-4) dextrinase มีชื่อตาม Commision on enzymes หรือชื่อทางเคมีว่า 1,4-α-D-glucan glucohydrolase (EC 3.2.1.1) มีชื่อสามัญว่า ไดแอสเทส (diastase) ถ้าย่อยไม่สมบูรณ์จะได้ กลูโคส มอลโตส และเด็กซ์ตริน ถ้าการย่อยสมบูรณ์จะได้มอลโตส และกลูโคส และไม่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของแป้งที่ α-1,6 linkage ในลักษณะที่ตัดภายในสาย โพลีเมอร์แบบเอนโดไฮโดรเลส (endohydrolase)

(2) Exoamylase

ย่อยแป้งจากปลาย non-reducing เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ เบต้าอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส

- เบต้าอะไมเลส หรือ amylo (1-4) maltosidaseหรือ 1,4-α-D-glucan maltohydrolase (EC 3.2.1.2) จะย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α(1-4) glycosidic linkage เข้าไปทีละ 2 หน่วย ของกลูโคสแต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะที่ต่อแบบ α-D(1-6) ได้ ดังนั้นผลที่ได้นอกจากน้ำตาลมอลโตสแล้วจะมีพวกลิมิตเด็กซ์ตรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปนอยู่ด้วย เอนไซม์ชนิดนี้พบมากในพืชชั้นสูง เช่นธัญพืชและมันเทศ

- กลูโคอะไมเลส หรือ แกมมาอะไมเลส หรือ amylo (1-4,1-6) glucosidase หรือ 1,4-α-D-glucan glucohydrolase (EC 3.2.1.3) สามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์จากปลาย non - reduce ที่ตำแหน่ง α(1-4) , α(1-3) และ α(1-6) เข้าไปทีละหน่วย ถ้าผลการย่อยสมบูรณ์จะได้กลูโคสเพียงอย่างเดียว

การย่อยแป้ง

สำหรับการย่อยแป้งโดยทั่วไปประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. การเตรียมน้ำแป้ง

เป็นขั้นตอนที่ทำให้แป้งสุกหรือเกิดเจลาติไนเซชันโดยการต้มแป้งในน้ำ ซึ่งแป้งจะเกิดการดูดซึมน้ำในระหว่างการให้ความร้อนทำให้เม็ดแป้งมีปริมาตรเพิ่มขึ้น 25-30 เท่า และหากมีการให้ความร้อนสูงขึ้นจะทำให้อะไมโลสแพร่ออกจากเม็ดแป้งทำให้เม็ดแป้งยุบตัวส่งผลให้แป้งละลายน้ำได้ดีขึ้นเกิดเป็นเจลที่ผันกลับไม่ได้และทำให้น้ำแป้งมีความหนืดเพิ่มขึ้น ในการเตรียมน้ำแป้งนี้นอกจากจะทำให้เม็ดแป้งแตกตัวแล้วยังทำให้โปรตีนและไขมันในแป้งถูกทำลายซึ่งจะเป็นผลดีต่อการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย สำหรับช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเกิดเจลาติไนเซชันขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง โดยแป้งมันสำปะหลังมีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชันเท่ากับ 60-70 องศาเซลเซียส (สุดจิตต์ พรหมจิตติพงศ์ และเอี่ยมอนงค์ เริงชัยชนะวงษ์, 2537)

2. กระบวนการลิเคอแฟคชัน (Liquefaction)

กระบวนการลิเคอแฟคชันเป็นขั้นตอนที่ทำให้แป้งที่ผ่านการเจลาติไนเซชันแล้วมีความหนืดลดลง โดยการย่อยโมเลกุลแป้งแบบสุ่มด้วยกรดหรือเอนไซม์ประเภท endoenzyme ในทางปฏิบัติควรย่อยแป้งให้ได้สมมูลเดกซโตรส (Dextrose Equivalent, DE) เท่ากับ 10-15 เพื่อป้องกันการรวมตัวกันของแป้งที่มีโมเลกุลใหญ่ (retrogradation) ซึ่งจะทำให้เกิดตะกอนแขวนลอยยากแก่การแยกออก (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2538)

3. กระบวนการแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification)

กระบวนการแซคคาริฟิเคชันเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการย่อยแป้งขั้นสุดท้ายซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลกลูโคส ในขั้นตอนนี้โดยมากมักใช้เอนไซม์ในการย่อยร่วมกับใช้เวลาในการย่อยนานประมาณ 8-72 ชั่วโมง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

2.2 กัม (Gum)

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารภายในประเทศได้มีการพัฒนาก้าวหน้ามากขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์ที่นำออกจำหน่ายมีความหลากหลายทั้งชนิดและรูปแบบ เป็นผลให้มีการใช้วัตถุดิบทางการเกษตรตลอดจนวัตถุเสริมแต่งต่างๆเช่น สารแขวนลอย (colloidal agent) สารคงสภาพ (stabilizer) สารพองตัว (swelling agent) สารเพิ่มความข้นหนืด (thickening agent) สารเคลือบ (coating agent)เป็นต้น เพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย วัตถุเสริมแต่งเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและมีด้วยกันหลายชนิดรวมเรียกว่า กัม (gum) ซึ่งสามารถแบ่งกัมได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ กัมที่ได้จากธรรมชาติ และกัมที่ได้จากการสังเคราะห์ กัมมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารเป็นอย่างมากในการเป็นสารช่วยเพิ่มความหนืดในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดซึ่งถือเป็นจุดประสงค์หลักของกัม และยังมีบทบาทอื่นๆที่เป็นประโยชน์อีกเช่น ช่วยเพิ่มอายุการเก็บ เพิ่มเสถียรภาพ และปรับปรุงเนื้อสัมผัสเป็นต้น ตัวอย่างกัมที่สำคัญได้แก่ กัมอะราบิก คาราจีแนน เดกซ์แทรน เมทิล-เซลลูโลส ไฮดรอกซิลโพรพิลเมทิลเซลลูโลส และแซนแทนกัมเป็นต้น ซึ่งกัมต่างๆเหล่านี้แซนแทนกัมถือว่าเป็นกัมที่มีบทบาทมาก เนื่องจากคุณสมบัติเด่นเฉพาะตัวที่แตกต่างจากกัมชนิดอื่นคือ มีความเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ เอนไซม์ และไอออน ทั้งยังใช้ได้ในทุกสภาวะไม่ว่าจะเป็นกรด เบส เกลือ สารลดแรงตึงผิว หรือใช้ร่วมกับสารเพิ่มความหนืดตัวอื่น โดยให้ความหนืดที่สูงแม้ใช้ความเข้มข้นที่ต่ำ นอกจากจะใช้กัมในอุตสาหกรรมอาหารแล้วยังมีการใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ อีกหลายประเภทเช่น อุตสาหกรรมการผลิตยา เครื่องสำอาง สิ่งทอ และการขุดเจาะน้ำมันเป็นต้น สำหรับประเทศไทยพบว่ายังต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์ของกัมในรูปแบบต่าง ๆ ปีละหลายสิบล้านบาทเพื่อใช้ใน อุตสาหกรรมต่างๆ (กรมศุลกากร, 2546) ดังตารางที่ 1.3

ตารางที่ 1.3 มูลค่าการนำเข้ากัมชนิดต่าง ๆ

ปี พ.ศ.	กัมชนิดต่าง ๆ (บาท)
2544	116,048,725
2545	103,400,944
2546	133,575,852

ที่มา : กรมศุลกากร (2546)

* กัมที่นำเข้าได้แก่ shellac, stick lac, other lac, gum arabic, gum damar, gumbier, gumboge, balsams, kubuak powder, gum tragachanth, natural resins unmodified, กัมธรรมชาติอื่นๆ และ gumresins

นอกจากนี้ยังพบว่ามีการสั่งแซนแทนกัมเข้ามาใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์ช่วยในการขุดเจาะน้ำมัน เนื่องจากเป็นสารที่มีความหนืดสูงและเป็นสารบริสุทธิ์ที่สามารถแยกออกจากน้ำมันได้โดยง่าย หลังจากผ่านการกลั่นให้บริสุทธิ์อีกด้วย กัมจากธรรมชาตินั้นได้มาจากสิ่งมีชีวิตแทบทุกชนิด ทั้งพืชชั้นต่ำ พืชชั้นสูง สัตว์ และจุลินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 1.4

ตารางที่ 1.4 กัมจากสาหร่าย พืช และจุลินทรีย์

Algal	Botanical	Microbial
Agar, Algin, Carrageenan, Furcellaran	Guar gum, Gum arabic, Gum ghatti, Gum tragacanth, Karaya gum, Locust bean gum, Pectin	Dextran, Xanthan gum, Gallan gum, Curdlan, Pullulan

ที่มา : Baird และ Pettitt (1991)

สำหรับโพลีแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์มีด้วยกันหลายชนิดซึ่งสร้างขึ้นภายในเซลล์และขับออกสู่ภายนอกเซลล์ จึงเรียกว่า เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ (exopolysaccharide) ซึ่งมีชื่อแตกต่างกันตามโครงสร้างและชนิดของจุลินทรีย์ exopolysaccharide บางชนิดได้มีการผลิตเชิงการค้าบ้างแล้วแต่บางชนิดยังอยู่ในระหว่างการทดลอง ตารางที่ 1.5 แสดงถึงปริมาณการใช้และราคาของกัมชนิดต่าง ๆ ที่มีการใช้เฉลี่ยเป็นรายปี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1.5 ปริมาณการใช้และราคาของกัมชนิดต่าง ๆ

ชนิดของกัม	ปริมาณการใช้ในแต่ละปี (ตัน)		ราคา (US $/kg)
	สหรัฐอเมริกา	ทั่วโลก	
Alginate	-	23,000	5 - 15
Curdlan	-	-	940
Dextran	2,000	-	35 - 390
Dextran derivative	600	-	400 - 2,800
Gellan	-	-	66 - 75
Hyaluronic acid	500	-	2,000 - 100,000
Pullulan	-	-	11.5
Rhamsan gum	-	-	25
Welan gum	-	-	25
Xanthan gum	20,000	-	10 - 14
Gum arabic	-	25,000 – 40,000	2.8
Gum guar	-	10,000 – 15,000	0.9
Gum tragacanth	-	-	25

ที่มา : Sutherland (1990)

2.3 แซนแทนกัม (Xanthan Gum)

สารพวก exopolysaccharide จากจุลินทรีย์ที่สำคัญที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวางได้แก่ แซนแทนกัม (xanthan gum) ซึ่งผลิตได้จากเชื้อ *Xanthomonas campestris* แซนแทนกัม เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม อาหาร ยา เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอื่น ๆ เนื่องจากแซนแทนกัมมีลักษณะทาง rheology ที่โดดเด่นคือ มีความคงตัวของความหนืดต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และความเข้มข้นของสารละลายเกลือ สามารถให้ความหนืดที่ค่อนข้างสูงแม้จะใช้ในปริมาณน้อย จึงนิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมมากมายทั้งในเรื่องคุณสมบัติของการละลายที่ดี การเป็น pseudoplastic รวมทั้งคุณสมบัติในการกระจายตัวที่ดี จึงถูกใช้เป็น suspending, stabilizing, thickening และ emulsifying agent เป็นต้น (Moreno et al., 1998) มีการประมาณการว่าทั่วโลกผลิตแซนแทนกัม

ประมาณ 20,000 ตันต่อปี (Swings et al., 1993) แซนแทนกัมเป็น secondary metabolite polysaccharide (Pinches et al., 1986) ที่ผลิตได้จากกระบวนการ biotechnological fermentation โดยเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *X. campestris* ในสภาวะที่มีการให้อากาศในระหว่างการหมัก ถูกค้นพบเมื่อประมาณ 50 ปีที่แล้ว ในรัฐ Illinois ประเทศสหรัฐอเมริกา แซนแทนกัมเป็น microbial polysaccharides ที่มีการผลิตกันอย่างกว้างขวางในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ แซนแทนกัมยังใช้ในการเพิ่มปริมาตรและความหนืดให้กับขนมปังและผลิตภัณฑ์ขนมอบอื่นๆ เพื่อเป็นสารทดแทนกลูเตน สำหรับผู้บริโภคในกลุ่มที่มีอาการแพ้กลูเตนได้อีกด้วย และแซนแทนกัมยังเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ชนิดที่เมื่อรับประทานเข้าไปในลักษณะที่เป็นส่วนประกอบของอาหารจะมีการย่อยในลำไส้น้อยได้ จึงเป็นการเพิ่มปริมาณกากในลำไส้ซึ่งเป็นผลดีต่อระบบขับถ่าย (ศศิธร โชติศศิธร, 2535) ในปี 1971 สำนักงานอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration, USFDA) ได้ออกประกาศอนุญาตให้ใช้แซนแทนกัมในอาหารและยาได้ (Betz, 1979) ตารางที่ 1.6 แสดงถึงหน้าที่ของ แซนแทนกัมที่ใช้ใส่ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ

ตารางที่ 1.6 การใช้แซนแทนกัมทางด้านอาหาร

หน้าที่	ผลิตภัณฑ์อาหาร
เป็นกาว (adhesive)	น้ำตาลเคลือบขนมและเคลือบเงา
สารเชื่อม (binding agent)	อาหารสัตว์
สารเคลือบ (coating)	ลูกกวาด
สารอิมัลชั่น (emulsifying agent)	น้ำสลัด
สารเคลือบหุ้ม (encapsulation)	ผงกลิ่นรส
สร้างฟิล์ม (film formation)	เคลือบป้องกัน เปลือกไส้กรอก
สารทำให้ฟองคงสภาพ (foam stabilizer)	เบียร์
ตกตะกอนเบา (colloid precipitation)	ไวน์และเบียร์
สารให้ความคงตัว (stabilizer)	ไอศกรีม น้ำสลัด
สารพองตัว (swelling agent)	ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์
สารยับยั้งการแยกตัว (syneresis inhibitor)	เนยแข็ง อาหารแช่แข็ง
สารให้ความข้นหนืด (thickening agent)	แยม ซอส น้ำเชื่อม

ที่มา : Sutherland (1993)

2.4 จุลินทรีย์ที่สร้างแซนแทนกัม

เชื้อ *X. campestris* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ใน Family Pseudomonadaceae ที่ก่อโรคใบจุด ใบไหม้ในพืช ค้นพบครั้งแรกโดยสถาบัน NRRL (Northern Religion Research Laboratory) (Pettitt, 1978) แบคทีเรียชนิดนี้ต้องการอากาศในการเจริญ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน (rod) มีขนาดกว้าง 0.2 – 0.8 ไมครอน ยาว 0.6-2.0 ไมครอน เซลล์ส่วนใหญ่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ บ้าง อยู่เป็นคู่ หรือเกาะเป็นโซ่ มีแฟลกเจลลา (flagella) จำนวน 1 เส้น หรือมากกว่าที่ปลายข้างหนึ่งของเซลล์เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ เซลล์ย้อมติดสีแกรมลบ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 27–30 องศาเซลเซียส ไม่สามารถเจริญได้ที่มีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.5 และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารแข็งจะให้โคโลนีมีสีเหลืองกลมนูนขอบเกลี้ยง (Jacob and Genstein, 1960) และมีลักษณะเป็นเมือกซึ่งเกิดจากการสะสมแซนแทนกัมรอบ ๆ ผนังเซลล์

ขนาดโคโลนีของเชื้อมีความสัมพันธ์ต่อความสามารถในการผลิตแซนแทนกัมโดยโคโลนีขนาดใหญ่จะมีประสิทธิภาพในการผลิตสูงกว่าโคโลนีที่มีขนาดเล็ก (Rodriguez and Aguilar, 1997) จากงานวิจัยของ ศศิธร โชติศศิธร (2535) ซึ่งทำการเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีโคโลนีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4–5 มิลลิเมตร และโคโลนีขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร พบว่าแซนแทนกัมที่ผลิตจากเชื้อที่มีโคโลนีขนาดใหญ่ให้ความหนืดสูงกว่าเชื้อที่มีโคโลนีขนาดเล็ก 2 เท่า และเมื่อเลี้ยง *X . campestris* ในอาหารที่มีการเขย่าหรือกวนเพื่อให้อากาศ แรงเฉือนจากการให้อากาศนี้จะทำให้แซนแทนกัมที่สะสมอยู่รอบ ๆ เซลล์หลุดลงสู่น้ำหมักทำให้น้ำหมักมีความหนืดเพิ่มขึ้น (Hen et al., 1989) การดำรงชีวิตเป็นแบบต้องการสารอาหารจากภายนอก (chemoorganotrophic) สภาพความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6-7.5

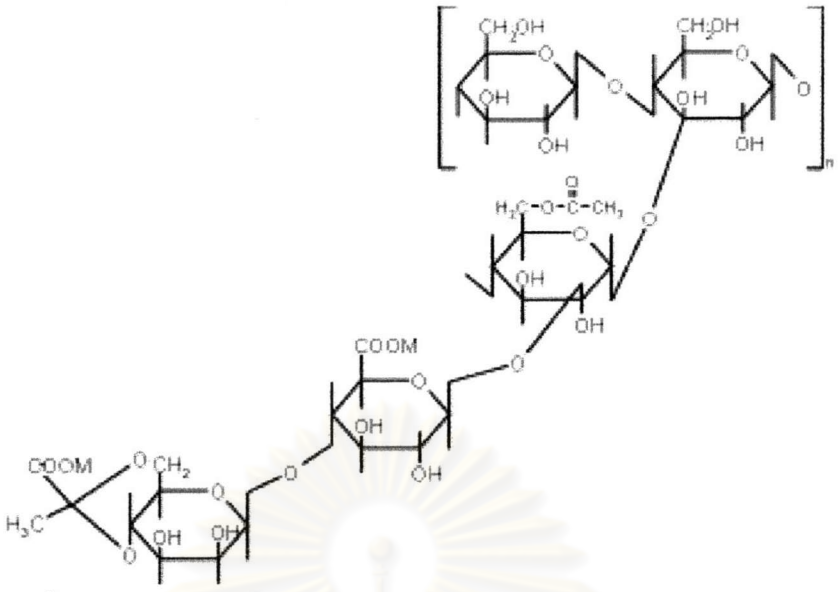
ปัจจุบันมีรายงานว่าแซนแทนกัมสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดในสกุล *Xanthomonas spp.* นอกจาก *X. campestris* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ให้แซนแทนกัมที่มีคุณภาพมาตรฐานและนิยมใช้ในเชิงพาณิชย์ทั่วไป เช่น *X. begoniae, X. malvacearum, X. carotae, X. incanae, X. phascoli, X. vesicatoria, X. apavericola, X. translucens, X. vasculorum* และ *X. hedrae* (Lee, 1981)

2.5 โครงสร้างแซนแทนกัม

แซนแทนกัมเป็นสารจำพวก extracellular anionic heteropolysaccharide (Rajeshwari, Prakash and Ghosh, 1995) ผลิตได้จากเชื้อ *X. campestris* โครงสร้างของ แซนแทนกัมประกอบไปด้วยหน่วยย่อยที่มีโครงสร้างซ้ำกัน (repeating unit) ซึ่งประกอบไปด้วย D-glucose,

D-mannose และ D-glucuronic acid ในอัตราส่วน 2 : 2 : 1 (Jansson, Kenne and Lindberg, 1975) โดยมี β-(1,4)–D–glucose เป็นสายโซ่หลักและมี trisaccharide เป็น side chain ซึ่งประกอบด้วย mannose–(β-1,4)-glucuronic acid-(β-1,2)–mannose โดย side chain ต่อกับ glucose ซึ่งเป็นสายโซ่หลักด้วยพันธะ α-1,3–linkage (Harding, Cleary and Ielpi, 1995) mannosyl residue ตัวที่ติดกับ side chain มี acetyl group เกาะอยู่ ในขณะ mannosyl residue ตัวนอกมี pyruvyl group เกาะอยู่ ดังรูปที่ 1.3 องค์ประกอบของ organic acid ในแซนแทนกัม ได้รับผลกระทบจากแหล่งของคาร์บอน ออกซิเจน และไนโตรเจนที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบต่างๆโดยเฉพาะจำนวน acetylation ส่งผลกระทบต่อสมบัติของสารละลายแซนแทนกัม (Moreno et al., 1998) ปริมาณกลุ่ม O-acetyl และ pyruvate ketal จะมีมากน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียและสภาวะแวดล้อมของการเจริญเติบโต (ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และ รำไพ เกณฑ์สาคู, 2537) มีรายงานว่าความแตกต่างของปริมาณ pyruvyl group เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดความแปรผันของคุณภาพแซนแทน Sanford และคณะ (1977) ได้ศึกษาถึงสารละลายแซนแทนกัมที่มีความแตกต่างของปริมาณกรดไพรูวิคพบว่า ความหนืดของสารละลายแซนแทนกัมจะแปรผันตามปริมาณกลุ่มไพรูวิคที่มีในโมเลกุลของแซนแทนด้วย ถ้าแซนแทนกัมมีหมู่อะซิติลและโดยเฉพาะหมู่ไพรูวิลจำนวนมากจะส่งผลให้สารละลายมีความหนืดสูงเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลได้ดี ส่วนแซนแทนกัมที่ปราศจากหมู่ไพรูวิลจะเหมาะสำหรับใช้ในงานการขุดเจาะน้ำมัน (Casas, Santos and Garcia-Ochoa, 2000) นอกจากนี้ความแตกต่างของปริมาณกลุ่มไพรูวิลที่แทนที่บนโมเลกุลของแซนแทนกัม จะมีผลให้ได้แซนแทนกัมที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป ซึ่งปริมาณกรดไพรูวิคสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงคุณภาพของแซนแทนกัมได้ (Cadmus et al., 1978) โดยทั่วไปแซนแทนกัมจะมีปริมาณกรดไพรูวิคโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4 - 5 เปอร์เซนต์ ในขณะที่ปริมาณกลุ่มอะซิติลมีค่าไม่แตกต่างกันมากนักคืออยู่ในช่วง 4 - 4.5 เปอร์เซนต์

แซนแทนกัมมีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ประมาณ 5×10^6 - 5×10^7 และมีสมบัติเป็นสารจำพวกโพลีอิเลคโตรไลต์ (polyelectrolyte) ที่ละลายน้ำได้ดี โดยมากในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของเกลือของสารประกอบต่าง ๆ ผสมกัน เช่น โปแตสเซียม โซเดียม แคลเซียม ฯลฯ โดยโลหะเหล่านี้จะเข้าทำปฏิกิริยาที่กลุ่มคาร์บอกซิล (carboxyl group) พบว่า โปแตสเซียมจะมีการทำปฏิกิริยาได้ดีที่สุด เนื่องจากกลุ่มคาร์บอกซิลของแซนแทนกัมมีน้อย ดังนั้นจะไม่เกิดปฏิกิริยาเชื่อมขวาง (cross-linking) กับ divalent cation เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม (Rocks, 1971)



รูปที่ 1.3 โครงสร้างของแซนแทนกัม (Baird and Pettitt, 1991)

2.6 การผลิตแซนแทนกัมโดย *X. campestris*

2.6.1 ชีวเคมีของการผลิตแซนแทนกัมโดย *X. campestris*

กระบวนการทางชีวเคมีในการสังเคราะห์แซนแทนกัมเกิดขึ้นในไซโตพลาสซึมของเซลล์แบคทีเรีย และมีการขับแซนแทนกัมออกนอกเซลล์โดยการควบคุมของ xanthan polysaccharide synthesis (xps) gene (Harding, Cleary and Ielpi, 1995)

การสังเคราะห์สารโพลีแซคคาไรด์ แบ่งได้เป็น 4 ขั้นตอนคือ

1. การดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย
2. การเกิดเมแทบอลิซึม
3. การเกิดสารโพลีแซคคาไรด์
4. การขับสารโพลีแซคคาไรด์ออกนอกเซลล์

โดยทำการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต (Abe et al., 1994) ก่อนแล้วสารอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียและมีการเคลื่อนย้ายหมู่ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการฟอสฟอรีเลชัน (phosphorylation) ทำการย่อยสลายและสังเคราะห์สารโพลีแซคคาไรด์โดยอาศัยน้ำตาลจากนิวคลีโอไทด์หลายชนิดนำมาเติมและเรียงต่อกันในตำแหน่งที่ถูกต้องโดยมีไอโซปรินอยด์ (isoprenoid) และแอลกอฮอล์ฟอสเฟตเป็นตัวนำ ซึ่งสารโพลีแซคคาไรด์จะถูกขับออกจากเซลล์โดยผ่านเซลล์เมมเบรน (membrane) และผนังเซลล์ (อรพิน ภูมิภมร, 2526)

Pettitt (1978) เสนอว่ากลไกการสังเคราะห์แซนแทนกัมมี 3 ขั้นตอนคือ

1. จุลินทรีย์ใช้น้ำตาลในรูปสารอาหารผ่านกระบวนการฟอสฟอรีเลชัน (phosphorylation)

2. น้ำตาลที่ถูกย่อยแล้วผ่านเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์แซนแทนกัม โดยการ activate monosaccharide จาก sugar nucleotide ไปยังตำแหน่งและลำดับที่ถูกต้อง

3. หมู่อะซีทิล และไพรูวิลจะเข้าจับกับโมเลกุลของแซนแทนกัม และเคลื่อนที่มายังผิวเซลล์และถูกขับออกสู่ภายนอก

Leigh และ Coplin (1992) และ Harding, Cleary และ Ielpi (1995) เสนอว่าการสังเคราะห์แซนแทนกัมประกอบด้วย 4 ขั้นตอนด้วยกันคือ

1. สารอาหารในรูปน้ำตาลผ่านเข้าสู่ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ จากนั้นจะเกิดการสังเคราะห์น้ำตาลไดฟอสเฟต (sugar nucleotide diphosphate) ผ่าน Pentose Phosphate Pathway และ Entner-Doudoroff Pathway (รูปที่ 1.4)

2. sugar nucleotide ถูกต่อเข้ากับสารตัวรับคือ polyprenol เพื่อสังเคราะห์ lipid intermediate โดยการต่อกันของ sugar nucleotide ชนิดต่างๆในลำดับและตำแหน่งที่ถูกต้อง (รูปที่ 1.5)

3. หมู่อะซีทิล และไพรูวิลที่ได้จาก Phosphoenol pyruvate และ Acetyl-Co A ถูกต่อเข้ากับโมเลกุลของแซนแทนกัม การสังเคราะห์แซนแทนกัมต้องใช้พลังงานซึ่งมาจากการ oxidize $NADH,H^+$ ดังนั้นออกซิเจนเป็นสารสำคัญในการสร้างพลังงานเพื่อผลิตแซนแทนกัม

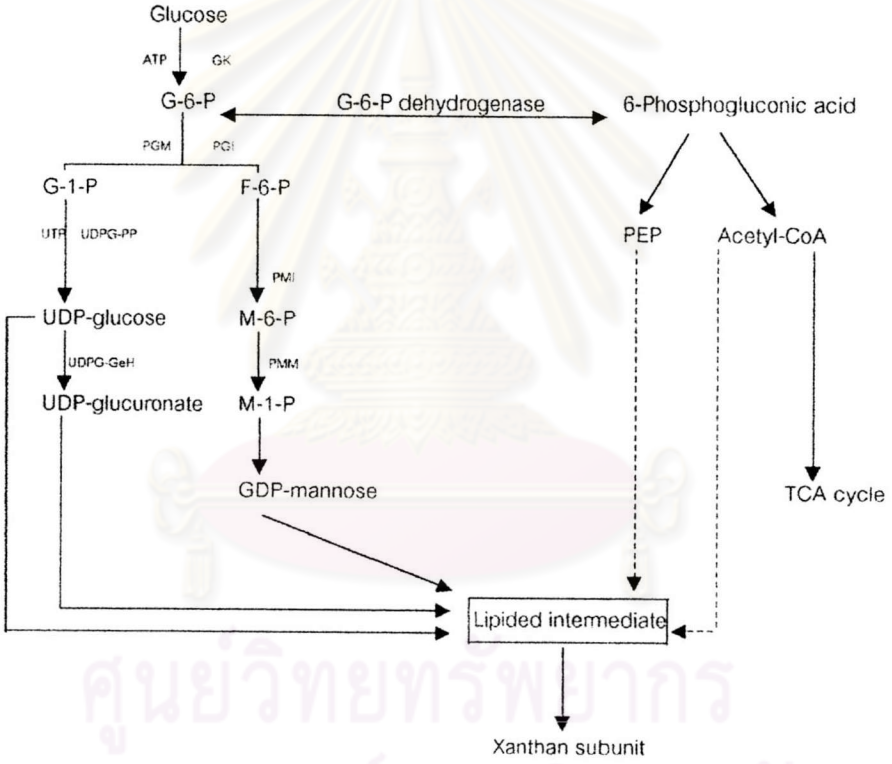
4. แซนแทนกัมถูกเคลื่อนย้ายออกจากเซลล์โดยอาศัยเอนไซม์โพลีเมอร์เรส (polymerase) (รูปที่ 1.6)

2.6.2 การผลิตแซนแทนกัม

กระบวนการผลิตแซนแทนกัมในอุตสาหกรรมคือ หลังจากที่ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อตั้งต้นของ *X. campestris* ที่ทำการคัดเลือกสายพันธุ์มาอย่างดีแล้ว จึงนำไปทำการหมักและเมื่อได้น้ำหมักมาแล้ว นำไปให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ให้เหลืออยู่น้อยที่สุด นำไปตกตะกอนแซนแทนกัมแล้วนำไปเข้าเครื่องเหวี่ยงแยกก่อนนำไปอบแห้ง บด แล้วร่อนเพื่อคัดขนาดก่อนบรรจุจำหน่าย

นอกจากนี้วิธีการหมักแบบต่าง ๆ ก็มีผลต่อการผลิตแซนแทนกัม โดย Lo, Yang และ Min (1997) รายงานว่าการหมักโดยวิธี two-stage fermentation ใช้อัตราส่วนระหว่างกลูโคสต่อ yeast extract ที่ต่ำก่อนเพื่อให้เซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วและเมื่อเข้าสู่ช่วงปลายของ log phase จึงเติมกลูโคสลงไปเพื่อเพิ่มอัตราส่วนระหว่างกลูโคสต่อ yeast extract ให้สูงขึ้นมากในครั้งเดียวทำให้เซลล์มีกลูโคสเพียงพอที่จะผลิตแซนแทนกัมได้ในปริมาณที่สูง ในทางตรงกันข้ามวิธี fed-batch fermentation ใช้อัตราส่วนระหว่างกลูโคสต่อ yeast extract ที่ต่ำเพื่อให้เซลล์มีการ

เจริญอย่างรวดเร็วและเมื่อเข้าสู่ช่วงปลายของ log phase จึงเติมกลูโคสลงไปเป็นระยะๆในช่วง stationary phase เนื่องจากระหว่างการเติมกลูโคสเซลล์มีการใช้กลูโคสร่วมไปด้วย ทำให้อัตราส่วนระหว่างกลูโคสต่อ yeast extract ไม่สูงขึ้นมากเหมือนกับการเติมกลูโคสครั้งเดียวในวิธี two-stage fermentation ทำให้เซลล์มีกลูโคสไม่เพียงพอที่จะผลิตแซนแทนกัมได้ในปริมาณที่สูง ทำให้ได้ xanthan production rate และ yield ต่ำ Amanullah, Satti และ Nienow (1998) ทำการหมักแบบขั้นตอนเดียวโดยใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 50 กรัมต่อลิตรและมีการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ไม่ให้ต่ำกว่า 15 เปอร์เซนต์ของอากาศอิ่มตัว พบว่าได้ปริมาณแซนแทนกัมเมื่อสิ้นสุดการหมักเท่ากับ 33.1 กรัมต่อลิตร ส่วนการหมักแบบป้อนเป็นช่วงที่ใช้น้ำตาลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร และเติมลงไปอีก 10 กรัมต่อลิตรเมื่อเชื้อเจริญถึงจุดสิ้นสุดของช่วง log phase ทำการเลี้ยงในสภาวะเดียวกันพบว่าให้แซนแทนเมื่อสิ้นสุดการหมักเท่ากับ 33.8 กรัมต่อลิตร



GK : Glucokinase

PGM : Phosphoglucomutase

PGI : Phosphoglucose isomerase

UDPG-PP : UDP-glucose pyrophosphorylase

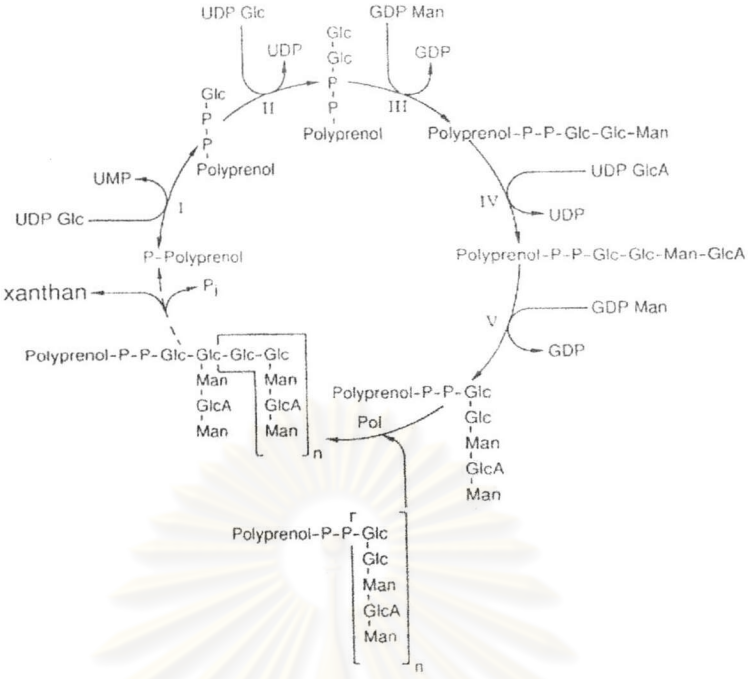
UDPG-GH : UDP-glucose dehydrogenase

PMI : Phosphomannose isomerase

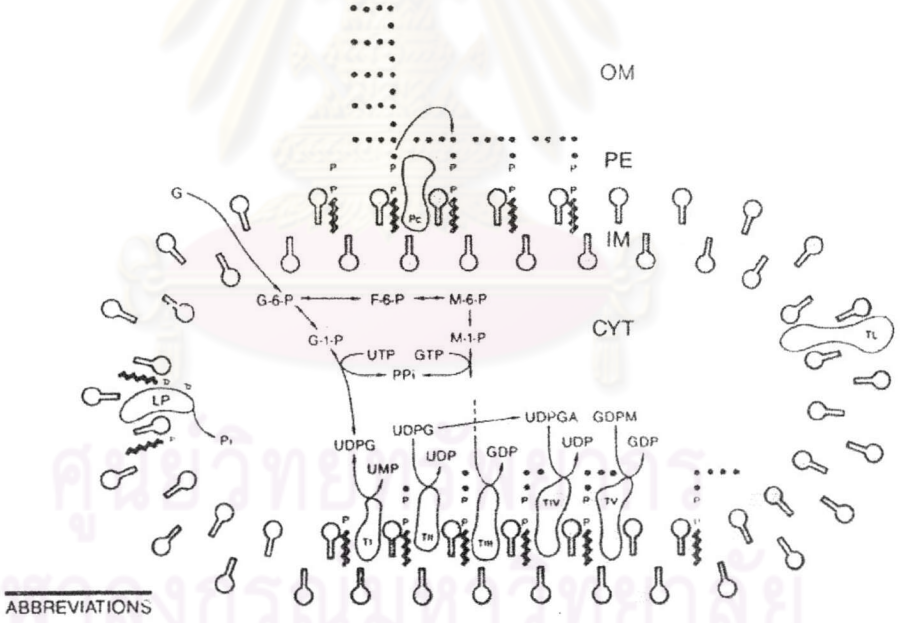
PMM : Phosphomannomutase

G-6-Pdehydrogenase : Glucose – 6 – Phosphate dehydrogenase

รูปที่ 1.4 กลไกการสังเคราะห์แซนแทนกัม (Roseiro et al., 1993)



รูปที่ 1.5 กลไกการสังเคราะห์ Lipid-intermediate ของแซนแทนกัม (Ielpi, Couso and Dankert, 1993)



รูปที่ 1.6 แผนผังการสังเคราะห์แซนแทนกัมภายในไซโตพลาสซึม(Harding, Cleary and Ielpi, 1995)

2.7 สมบัติทางกายภาพของแซนแทนกัม

สมบัติทางกายภาพ (physical properties) เป็นคุณสมบัติที่แตกต่างกันของสารโพลีแซคคาไรด์แต่ละชนิด ในการเลือกใช้จะต้องพิจารณาคุณสมบัติทางกายภาพประกอบด้วยซึ่ง Davidson (1980) ได้เสนอสมบัติทางกายภาพของแซนแทนกัมที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (food grade) ดังแสดงในตารางที่ 1.7

ตารางที่ 1.7 สมบัติทางกายภาพของแซนแทนกัมที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

สมบัติ	ค่าที่ยอมรับได้
สถานะ	แห้งเป็นผง
ความชื้น (เปอร์เซนต์)	11
เถ้า (เปอร์เซนต์)	9
สี	70
ความถ่วงจำเพาะ	1.5
ความหนาแน่น (กิโลกรัม / ลูกบาศก์เมตร)	836
อุณหภูมิที่เกิดการเปลี่ยนสี (องศาเซลเซียส)	165
อุณหภูมิที่เกิดการไหม้ (องศาเซลเซียส)	240
อุณหภูมิที่เกิดเถ้า (องศาเซลเซียส)	470
สารละลายแซนแทนกัม 1 เปอร์เซ็นต์	
ความร้อนของสารละลาย (แคลอรี / กรัม)	0.080
ค่าดรรชนีการสะท้อนกลับที่ 20 องศาเซลเซียส	1.3338
ค่าความเป็นกรด – ด่าง	7
แรงตึงผิว (ดายน์ / เซนติเมตร)	75
จุดเยือกแข็ง (องศาเซลเซียส)	0
ความหนืดเมื่อมีอิเล็คโตรไลต์ 1 เปอร์เซ็นต์	1,400
ขนาดอนุภาค (Tyler standard)	80,200

ที่มา : Davidson (1980)

2.8 สมบัติโดยทั่วไปของแซนแทนกัม

2.8.1. ความสามารถในการละลาย

แซนแทนกัมสามารถละลายได้อย่างรวดเร็วทั้งในน้ำร้อนหรือน้ำเย็นและให้ความหนืดที่สูงแม้จะใช้กัมในปริมาณต่ำ ซึ่ง Rocks (1971) ได้รายงานว่าแซนแทนกัมที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะให้ความหนืดประมาณ 800-1,000 เซนติพอยซ์ (Brookfield Viscosimeter model LVT ที่ความเร็ว 60 รอบต่อนาที) และยังสามารถละลายได้ดีในกรด ด่างและสารละลายเกลือหลายชนิด และสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นไม่เกิน 50 เปอร์เซนต์ เช่น เมธานอล เอธานอล ไอโซโพรพรานอล และอะซิโตน (Rocks, 1971)

2.8.2 สมบัติทางการไหล

สารละลายแซนแทนกัมเป็นของไหลประเภท Non-Newtonian fluid ที่มีสมบัติเป็น pseudoplastic สูง คือ ถ้ามีแรงกระทำต่อสารละลายกัมน้อย ๆ (shear rate ต่ำ) สารละลายกัมจะมีความต้านทานสูง แต่เมื่อเพิ่มแรงกระทำขึ้น (shear rate สูง) ความหนืดก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ไหลได้ง่ายขึ้น (Betz, 1979) ระดับความเป็น pseudoplasticity ของแซนแทนกัมจะสูงขึ้นด้วยการเพิ่มความเข้มข้น สมบัติเช่นนี้จะช่วยป้องกันการตกตะกอนของสารขนาดใหญ่ ป้องกันหยดน้ำมันไม่ให้ลอยขึ้นบนผิวหน้าและยังช่วยในการปั๊มทำให้สะดวกในการบรรจุ (Anonymous, 1974)

2.8.3 ความคงตัวของความหนืด

2.8.3.1 ความคงตัวของความหนืดต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

เมื่อเปรียบเทียบความหนืดของสารละลายแซนแทนกัมกับความหนืดของสารละลายกัมทั่วๆ ไปพบว่าสารละลายแซนแทนกัมสามารถคงความหนืดให้คงที่แม้จะมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงกว้าง อุณหภูมิมีผลน้อยมากต่อความหนืดของสารละลายแซนแทนกัมที่มีความเข้มข้นสูง โดย Betz (1979) ได้ทดลองเพิ่มอุณหภูมิในช่วง 0-95 องศาเซลเซียส ให้แก่สารละลายแซนแทนกัม 1 เปอร์เซนต์ ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซนต์ ซึ่งมีความหนืด 1,000 เซนติพอยซ์ ที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่าความหนืดเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 100 เซนติพอยซ์ เมื่อเติมลงในอาหารทำให้มีความคงตัวสูงไม่เกิดการแยกชั้นขณะแปรรูปหรือเก็บรักษาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ส่วนสารละลายกัมทั่วไปเมื่อให้ความร้อนในเวลาสั้นๆความหนืดจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและเมื่อสารละลายนี้มีอุณหภูมิลดลงจนเท่าอุณหภูมิห้องแล้วจะมีความ

หนืดเท่ากับเมื่อเริ่มต้น (Kovacs, 1973) การมีเกลือเล็กน้อยช่วยให้แซนแทนกัมมีความต้านทานการแตกตัวด้วยดี ทนความร้อนได้สูงขึ้น จากคุณสมบัตินี้เมื่อเติมแซนแทนกัมลงในอาหารจะทำให้อาหารมีความคงตัวสูงและไม่เกิดการแยกชั้น ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) แม้อุณหภูมิในขณะที่เก็บหรือขณะที่แปรรูปอาหารจะเปลี่ยนแปลง

2.8.3.2 ความคงตัวของความหนืดต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง

สารละลายกัมหลายชนิดจะมีความหนืดเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่เปลี่ยนไป แต่ในสารละลายแซนแทนกัมจะเกิดการเปลี่ยนแปลงความหนืดน้อยมากเมื่อความเป็นกรดหรือด่างเปลี่ยนแปลง แซนแทนกัมสามารถใช้เป็นสารให้ความหนืดในสารละลายที่มีกรดไฮโดรคลอริกหรือกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ และในสารละลายที่มีโซเดียมไฮดรอกไซด์สูงถึง 5 เปอร์เซนต์ ได้โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความหนืดแต่อย่างใด (Rocks, 1971) ฒาลิศา ยุวอมรพิทักษ์ และ รำไพ เกณฑ์สาคู (2537) กล่าวว่าสารละลายแซนแทนกัมที่มีสภาพกรดและด่างต่าง ๆ กันสามารถคงสภาพความหนืดได้ดีแม้เก็บไว้เป็นเวลานาน เมื่อเก็บแซนแทนกัม 1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ NaOH สามารถเก็บได้นาน 7 วัน โดยความหนืดของสารละลายไม่เปลี่ยนแปลง แต่ถ้าเก็บในสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ KOH เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน มีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

2.8.3.3 ความคงตัวของความหนืดต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลือ

แซนแทนกัมเป็นสารเพิ่มความข้นหนืดชนิดเดียวที่เมื่อเติมเกลือโมโนวาเลนซ์ลงไปแล้วไม่มีผลต่อสารละลาย ซึ่งในทางตรงกันข้ามสารละลายของสารให้ความข้นหนืดชนิดอื่น ๆ จะสูญเสียความหนืดไปมากหลังจากเติมเกลือลงไปในปริมาณน้อย เกลือมีส่วนช่วยให้สารละลายแซนแทนกัมมีความคงตัวเมื่อได้รับความร้อน สารละลายที่มีแซนแทนกัมมากกว่า 0.5 เปอร์เซนต์ การเติมเกลือลงไปเพียงเล็กน้อยจะช่วยเพิ่มความหนืดได้ แต่ถ้าสารละลายที่มีแซนแทนกัมความเข้มข้นต่ำการเติมเกลือลงไปเล็กน้อยอาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืด สารละลายแซนแทนกัมสามารถละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 25 เปอร์เซนต์ (Rocks, 1971) Betz (1979) กล่าวว่าในสารละลายแซนแทนกัมที่มีความเข้มข้นต่ำการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือเพียงเล็กน้อยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืด

2.9 ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตแซนแทนกัม

การผลิตแซนแทนกัมให้ได้ทั้งคุณภาพ และปริมาณที่สูงมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น แหล่งอาหาร, ความเป็นกรด-ด่าง, อุณหภูมิ, ปริมาณอากาศ, อายุและปริมาณหัวเชื้อ

2.9.1 แหล่งอาหาร

อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย แหล่งคาร์บอนซึ่งมีความสำคัญต่อการผลิตแซนแทนกัม, แหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อ, และแหล่งเกลือแร่เป็นองค์ประกอบของ coenzyme ใน metabolism ของเชื้อ

2.9.1.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการผลิตแซนแทนกัมมากกว่าการเจริญของเชื้อ (Moraine and Rogovin, 1966) เพราะโครงสร้างหลักของแซนแทนกัมประกอบด้วยน้ำตาลซึ่งได้จากแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อจะทำการย่อยคาร์โบไฮเดรตให้อยู่ในรูปน้ำตาล แล้วจึงดูดซึมเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียเพื่อสังเคราะห์แซนแทนกัม ปี 1958 Lilly, Wilson และ Leach รายงานว่า *Xanthomonas spp.* สามารถเจริญและผลิตโพลีแซคคาไรด์ โดยใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิดเช่น กลูโคส ซูโครส soluble starch แป้งข้าวโพด และ casein hydrolysate แสดงว่า *Xanthomonas spp.* สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากๆได้ โดยจะต้องใช้เอนไซม์มาย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนแล้วจึงนำไปใช้ในการผลิตแซนแทนกัมและกิจกรรมต่างๆของเซลล์ต่อไป แต่ที่นิยมใช้ส่วนใหญ่คือกลูโคสที่ความเข้มข้น 2 – 4 เปอร์เซ็นต์ (20 – 40 กรัมต่อลิตร) รองลงมาคือซูโครสแต่ให้ประสิทธิภาพในการผลิตแซนแทนกัมที่ต่ำกว่า

Funahashi และคณะ (1987) ได้ศึกษาผลกระทบความเข้มข้นของกลูโคสต่อการเจริญของเซลล์และการผลิตแซนแทนกัมพบว่าที่ความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นมากกว่า 50 กรัมต่อลิตร จะไปจำกัดการเจริญของเซลล์และทำให้การผลิตแซนแทนกัมลดลง ในปี 1961 Rogovin, Anderson และ Cadmus เลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส 2.5 เปอร์เซ็นต์ (25 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าน้ำตาลกลูโคสเพียง 50 เปอร์เซนต์เท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นแซนแทนกัมและให้ผลผลิตกัมสูงสุดเพียง 1.6 เปอร์เซนต์ การใช้น้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูงกว่านี้จะไม่เพิ่มปริมาณกัมขึ้น Wernau (1979) พบว่าการใช้ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสเริ่มต้นมากกว่า 5 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะมีผลไปยับยั้งการเจริญของเชื้อและทำให้กระบวนการหมักหยุดชะงักก่อนเวลาอันสมควร Amanullah, Satti และ Nienow (1998) พบว่าความเข้มข้นของแซนแทนกัมสูงๆ นั้นสามารถเกิดขึ้นได้ถ้ามีการ

ควบคุมอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งในขั้นตอนที่เชื้อมีการเจริญเพิ่มจำนวนและในขั้นตอนที่มีการผลิตแซนแทนกัม และได้ทำการทดลองใช้ความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น 54 กรัมต่อลิตร ให้ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Funahashi และคณะ (1987) ที่กล่าวถึงการหมักที่ไม่มีประสิทธิภาพเมื่อใช้ความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นมากกว่า 50 กรัมต่อลิตร ส่วน Zhao และคณะ (1991) รายงานว่าการหมักแบบขั้นตอนเดียวที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส 24 กรัมต่อลิตร จะให้แซนแทนกัมที่มีความเข้มข้น 18 กรัมต่อลิตร และ Rajeshwari และคณะ (1995) พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแซนแทนกัมคือ 50 กรัมต่อลิตร Moraine และ Rogovin (1966) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเชื้อ *X. campestris* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณกัม 1.4 เปอร์เซนต์เท่ากัน แต่อาหารที่มี น้ำตาลกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้เกือบหมด ส่วนในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ การใช้กลูโคสจะหยุดชะงักเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงมาถึง 5.5 และตรวจพบกลูโคสในอาหารเหลืออยู่มากกว่า 3 เปอร์เซ็นต์

2.9.1.2 **แหล่งไนโตรเจน**

แหล่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญโดยตรงต่อการเจริญของเชื้อ (Moraine and Rogovin, 1966) ซึ่งกระตุ้นให้เชื้อมีการเจริญสูง ส่งผลให้อัตราการผลิตแซนแทนกัมเพิ่มมากขึ้นด้วย โดย specific rate ของการผลิตแซนแทนกัมจะขึ้นกับความเข้มข้นมากกว่าชนิดของไนโตรเจนที่ใช้ (Pinches and Pallent, 1986) McNeely (1968) รายงานว่าการใช้แอมโมเนียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีผลทำให้กัมที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น การใช้แอมโมเนียมไนเตรตที่มีความเข้มข้นมากเกินไปจะไปยับยั้งการเจริญและการผลิตกัมและถ้าใช้ในปริมาณที่น้อยเกินไปจะทำให้ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเซลล์

Godet (1973) กล่าวว่าไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ถ้าไนโตรเจนมากเกินไปจะไปลดประสิทธิภาพในการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นโพลีแซคคาไรด์ (Whistler and Bemiller, 1973) ซึ่งสอดคล้องกับ Souw และ Demain (1979) ไนโตรเจนจะมีความสำคัญต่อการเจริญของเซลล์แบคทีเรียแต่ไม่ค่อยมีความสำคัญในช่วงการผลิตแซนแทนกัม ดังนั้นอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำๆ จะเป็นที่ต้องการในช่วงแรกที่เชื้อมีการเจริญเติบโตเพื่อให้เกิดความเข้มข้นของเซลล์ที่สูงๆ (Amanullah, Satti and Nienow,1998)

การควบคุมอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมทั้งในระยะที่เชื้อมีการเจริญเติบโตและระยะที่มีการผลิตแซนแทนกัม ทำให้ได้แซนแทนกัมที่มีความเข้มข้นสูงเพราะไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญของเซลล์มากกว่าในขั้นตอนการผลิต

แซนแทนกัม โดยอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต่ำจะเป็นที่ต้องการในช่วงที่เซลล์มีการเจริญเติบโตเพื่อให้เกิดการสร้างปริมาณเซลล์ให้มีความเข้มข้นสูงๆ ทำให้ specific growth rate สูงด้วยซึ่งอาจส่งผลให้ xanthan productivity rate สูงตามด้วยเช่นกัน ในทางตรงกันข้ามระยะที่มีการสังเคราะห์แซนแทนกัมจะต้องการอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงๆ (Amanullah, Satti and Nienow, 1998) De Vuyst, Van Loo และ Vandamme (1987) ทำการหมักแบบ 2 ขั้นตอนโดยให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำในช่วงแรกของ cell propagation และให้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูงในระยะที่มีการผลิตทำให้ได้แซนแทนกัมที่มีความเข้มข้นสูงถึง 30 กรัมต่อลิตร และยังกล่าวอีกว่าระหว่างการหมักแบบขั้นตอนเดียวของ *X. campestris* นั้นมี 2 ระยะ โดยระยะแรกคือ troprophase เป็นระยะที่เซลล์เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนซึ่งมีความสัมพันธ์กับความต้องการปริมาณออกซิเจนที่สูงและในอาหารเลี้ยงเชื้อควรจะมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ต่ำ และระยะที่ 2 คือ idiophase เป็นระยะที่เริ่มมีการผลิตแซนแทนกัม ความต้องการออกซิเจนจะลดลงแต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อควรมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง Davidson (1978) รายงานว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนจำกัดจะให้ปริมาณกรดไพรูวิคที่เป็นหมู่แทนที่สูงและปริมาณอะซิเตทน้อย

2.9.1.3 แหล่งเกลือแร่

แหล่งเกลือแร่จะทำหน้าที่เป็น cofactor และเป็นองค์ประกอบของ coenzyme ในเมแทบอลิซึมของเชื้อ (Roseiro et al., 1992) เกลือแร่เป็นสารอาหารที่เชื้อต้องการในปริมาณน้อยแต่ก็ขาดไม่ได้ ถ้าปริมาณเกลือแร่ในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เหมาะสมอาจยับยั้งการสร้างแซนแทนกัมได้ แร่ธาตุที่จุลินทรีย์ต้องการเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส แคลเซียม โมลิบดินัม เหล็ก ทองแดง และสังกะสี ซึ่งถ้าให้มากหรือน้อยเกินไปจะมีผลในการไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Whistler and Bemiller, 1973) Souw และ Demain (1979) รายงานถึงอิทธิพลของฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญและการผลิตแซนแทนกัมว่า ปริมาณของโปแตสเซียมฟอสเฟตที่มากเกินพอ จะทำให้การผลิตแซนแทนกัมลดลง แต่จะไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ

2.9.2 ความเป็นกรด – ด่าง (pH)

Pettitt (1978) ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยที่ต้องติดตามและควบคุมตลอดระยะเวลาของการหมัก ให้เกิดความเหมาะสมในระหว่างการผลิต หากค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำหมักลดต่ำกว่าจุดวิกฤตคือ ประมาณ 5.0 จะทำให้เชื้อสร้างแซนแทนกัมได้น้อยลง ดังนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมควรอยู่ที่ 6.0 - 7.5 การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของ

อาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเกิดจากการที่จุลินทรีย์ได้มีการผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นในขณะที่ทำการหมัก (Pettitt, 1978) Moraine และ Rogovin (1971) สรุปผลการทดลองไว้ว่าเมื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสม จะสามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อและเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างแซนแทนกัมได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังได้รายงานว่า โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นด่างที่เหมาะสมในการใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่าแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ส่วน Cadmus และคณะ (1978) รายงานว่าการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ให้ต่ำกว่า 6.8 จะมีผลให้การเจริญของจุลินทรีย์ดีขึ้น สามารถใช้ น้ำตาลได้หมด และมีการสร้างกัมได้มากขึ้น

2.9.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการสร้างโพลีแซคคาไรด์ของจุลินทรีย์ Harding และคณะ (1995) เสนอว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแซนแทนกัมคือ 30–33 องศาเซลเซียส ต่างกับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อซึ่งเท่ากับ 24-27 องศาเซลเซียส Lilly และคณะ (1958) พบว่า *Xanthomonas phaseoli* สามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25 - 35 องศาเซลเซียส ผลผลิตสูงสุดอยู่ในช่วง 33 องศาเซลเซียส และไม่สร้างสารดังกล่าวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

2.9.4 ปริมาณอากาศ

เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นทำให้น้ำหมักมีความหนืดสูงขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์มีการสร้างโพลีแซคคาไรด์มากขึ้น ซึ่งจะไปขัดขวางการแพร่กระจายของอากาศเข้าสู่เซลล์ ทำให้การสร้างแซนแทนกัมลดลง สามารถเพิ่มอากาศให้แก่เชื้อได้ โดยเพิ่มความเร็วรอบของการเขย่าและเพิ่มอัตราการกวนของใบพัดหรือเพิ่มอากาศเข้าสู่ระบบ Salam, Fadel และ Murad (1994) รายงานว่าที่อัตราส่วนของอากาศต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 3 : 2 จะให้ประสิทธิภาพในการผลิตแซนแทนกัมสูงเนื่องจากกระบวนการผลิตแซนแทนกัมจำเป็นต้องมีออกซิเจนที่เพียงพอ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic conditions) การเพิ่มความเร็วรอบในการกวนให้อากาศของใบพัดสามารถช่วยให้ออกซิเจนละลายได้มากขึ้นเมื่อน้ำหมักมีความหนืดสูงขึ้น และยังช่วยในเรื่องของการถ่ายเทมวลของก๊าซและของเหลวในน้ำหมักอีกด้วย เมื่อเพิ่มความเร็วรอบในการกวนให้อากาศที่อัตราสูงขึ้นเรื่อย ๆ นอกจากจะพบว่ามีการถ่ายเทมวลของออกซิเจนสูงขึ้นแล้ว ปริมาณเซลล์ที่บาดเจ็บก็เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Casas et al., 2000) Asim และ Ghosh (1999) ได้ทำการทดลองแบบ batch fermentation พบว่าเมื่อ specific xanthan productivity ลดลงเพราะมีการจำกัดการถ่ายเทออกซิเจนด้วยความหนืดของน้ำหมักสามารถแก้ไขได้โดยเพิ่มความเร็วใน

การกวนจาก 600 รอบต่อนาที เป็น 1,000 รอบต่อนาที แม้ว่าการเจริญของเซลล์จะไม่แตกต่างกัน แต่ yield ของแซนแทนกัมเพิ่มขึ้นเนื่องจากออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น

Peter และคณะ (1989) รายงานถึงผลการทดลองศึกษาอิทธิพลของอัตราเร็วในการกวนของใบพาย (Agitation rate) ต่อการเจริญของเซลล์และการผลิตแซนแทนกัมในถังหมักขนาด 15 ลิตร ที่มีการให้อากาศ 0.33 ปริมาตรต่อลิตรต่อนาที โดยทำการแปรความเร็วของการกวนของ ใบพัดตั้งแต่ 200 ถึง 800 รอบต่อนาที พบว่าอัตราเร็วในการกวนที่ 200 รอบต่อนาทีทำให้การเจริญของเซลล์ต่ำสุดและให้ผลผลิตลดลงเกือบ 3 เท่า ส่วนที่ความเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณกัมพอ ๆ กับการกวนที่ความเร็ว 800 รอบต่อนาที แสดงว่าการผลิตแซนแทนกัมสูงขึ้นเมื่อใช้ความเร็วรอบในการกวนให้อากาศสูงขึ้นซึ่งชี้ให้เห็นว่าอัตราการสร้างแซนแทนกัมขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจน Cadmus และคณะ (1978) ศึกษาอัตราการให้อากาศในถังหมักขนาด 10 ลิตร พบว่าอากาศมีผลต่อการผลิตโพลีแซคคาไรด์ เมื่อปรับอัตราการให้อากาศเป็น 0.75 ปริมาตรต่อลิตรต่อนาทีจะให้กัมที่มีปริมาณกรดไพรูวิคสูงสุด การให้อัตราการให้อากาศสูงขึ้นจะลดเวลาของการหมักที่ให้ผลผลิตแซนแทนกัมสูงสุดได้เร็วขึ้น Peter และคณะ (1989) พบว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของแซนแทนกัมจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณออกซิเจนไม่ถูกจำกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Flores, Torres และ Galindo (1994) ในปี ค.ศ. 2000 Casas และคณะรายงานว่า การเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตแซนแทนกัมจะมีค่าสูงสุดเมื่อให้อัตราเร็วในการกวนให้อากาศที่ 500 รอบต่อนาที และที่ 800 รอบต่อนาที แต่การเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตแซนแทนกัมค่อนข้างต่ำทั้งนี้อาจเนื่องจากเซลล์เกิดการเสียหายเพราะแรงจากการกวน ส่วนที่อัตราเร็วในการกวนให้อากาศที่ 100 รอบต่อนาที ให้ทั้งปริมาณเซลล์และแซนแทนที่ต่ำเพราะออกซิเจนถูกจำกัด สภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอและแหล่งของคาร์บอนที่เหมาะสมมีผลต่อ mass transfer, nutrient feed และ homogenization ทำให้มีการขับแซนแทนออกนอกเซลล์อย่างต่อเนื่องจนกระทั่งเกิดการยับยั้งโดยตัวผลิตภัณฑ์เอง (Amanullah et al., 1998)

2.9.5 อายุและปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น

Pinches และ Pallent (1986) และ Harding และคณะ (1995) ได้รายงานว่าแซนแทนกัมเป็นสารทุติยภูมิซึ่งเชื้อ *X. campestris* สร้างขึ้นที่ปลาย log phase จนถึง stationary phase ของการเจริญ ดังนั้นหัวเชื้อที่นำมาใช้ควรเจริญอยู่ในช่วงกลาง log phase จนถึง stationary phase ซึ่งมีอายุประมาณ 24 – 48 ชั่วโมง ส่วนปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมส่วนใหญ่นิยมใช้ 10 เปอร์เซนต์ (ปริมาตรหัวเชื้อ / ปริมาณการผลิต)

2.9.6 การแยกแซนแทนกัมออกจากน้ำหมัก

การแยกแซนแทนกัมออกจากน้ำหมักต้องแยกเอาเซลล์ออกจากน้ำหมักก่อน แล้วจึงนำส่วนน้ำใสมาตกตะกอนแยกแซนแทนกัมออกด้วยตัวทำละลาย (Gonzales et al.,1989) Sanford และคณะ (1977) พบว่า การตกตะกอนแซนแทนกัมโดยเติมเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ และเอธิลแอลกอฮอล์ 2 ส่วนโดยปริมาตร จะมีผลทำให้แซนแทนกัมที่มีไพรูเวทสูง (มากกว่า 4 เปอร์เซนต์) มีแรงยึดเกาะกันสูง ตกตะกอนได้ดี ส่วนแซนแทนกัมที่มีไพรูเวทต่ำ (2.5 เปอร์เซนต์) เมื่อตกตะกอนด้วยวิธีนี้จะได้ตะกอนที่มีลักษณะด้อยกว่า

2.10 การหมักแบบต่อเนื่อง

การหมักแบบเป็นครั้งนั้น การเจริญของจุลินทรีย์อยู่ในระบบปิด และวัฏจักรการเจริญไม่ได้เป็นคุณสมบัติที่มีมาแต่เดิม (inherent property) ของจุลินทรีย์ แต่เป็นผลมาจากการเจริญในสภาพแวดล้อมที่มีสารอาหารจำกัด การที่การเจริญหยุดชะงักลงเป็นผลมาจากการขาดแคลนอาหาร หรือมีการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่เป็นพิษ แม้แต่ในระยะที่มีการเจริญแบบเอกซ์โปเนนเชียล (exponential growth phase) องค์ประกอบของสารและเซลล์ก็ยังมีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการเจริญที่สภาวะคงที่ ซึ่งเป็นการเจริญที่สภาพแวดล้อมที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง จึงไม่ปรากฏในระบบการหมักแบบเป็นครั้ง (Marison, 1988)

ส่วนการหมักแบบต่อเนื่อง เป็นระบบที่การเจริญของเซลล์อยู่ในระบบเปิดซึ่งประชากรจุลินทรีย์ถูกรักษาให้อยู่ในสภาพการเจริญที่สมดุลย์อย่างต่อเนื่อง โดยมีการดึงน้ำหมักบางส่วนออกไปอย่างต่อเนื่อง และป้อนน้ำหมักใหม่เข้ามาแทนที่ในอัตราเดียวกัน

ระบบการหมักแบบต่อเนื่องแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. เคโมสแตท (chemostat) เป็นระบบที่ป้อนสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญในอัตราที่คงที่ เป็นผลให้ความหนาแน่นและอัตราการเจริญของจุลินทรีย์มีการปรับตัวเองไปตามสารอาหารที่ป้อนเข้ามา
2. เทอร์บิโดสแตท (turbidostat) เป็นระบบที่ควบคุมให้ความหนาแน่นของเซลล์คงที่โดยการป้อนน้ำหมักใหม่เข้ามาตามที่ต้องการ

แม้ว่าระบบทั้ง 2 มีการควบคุมอัตราการเจริญแตกต่างกัน แต่ก็มีความซับซ้อนทั้งคู่ และสามารถอธิบายได้โดยใช้สมการจลนศาสตร์ที่คล้ายคลึงกัน

ระบบดังกล่าวมีความต้องการพื้นฐานเหมือนกัน คือ วิธีการควบคุมให้ปริมาตรของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพคงที่ ซึ่งมีหลายวิธี วิธีที่ง่ายที่สุด คือ การใช้ท่อไหลล้น (overflow tube) หรือใช้ขอบ

กั้นที่มีความสูงคงที่อยู่ภายในเครื่องปฏิกรณ์ ดังนั้นเมื่อมีการป้อนน้ำหมักใหม่เข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ น้ำหมักที่มีปริมาตรเท่ากันจะไหลผ่านท่อไหลล้น แล้วไหลเข้าสู่ถังเก็บตามแรงโน้มถ่วงโลก นอกจากนี้อาจต่อปั๊มเข้ากับท่อทางออกของน้ำหมัก และควบคุมอัตราการปั๊มออกให้เท่ากับอัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก

ส่วนวิธีที่ซับซ้อนนั้น คือ วางเครื่องปฏิกรณ์ทั้งหมดบนเครื่องชั่ง และพยายามควบคุมให้น้ำหนักของเครื่องปฏิกรณ์คงที่ โดยการควบคุมอัตราการปั๊มน้ำหมักออก

ในระบบการหมักแบบเทอร์บิโดสแตทมีการติดตั้งระบบการวัดเซลล์ด้วยแสง (photocell system) ซึ่งทำหน้าที่วัดความหนาแน่นของเซลล์อย่างต่อเนื่อง และรักษาความหนาแน่นของเซลล์ให้คงที่โดยการควบคุมอัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก

นอกจากการควบคุมการไหลเข้าออกของน้ำหมักให้คงที่แล้ว ยังต้องควบคุมสิ่งแวดล้อมสำคัญอื่นด้วย ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง และออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักเป็นต้น

เนื่องจากระบบการหมักแบบเคโมสแตทเป็นระบบหมักที่ใช้ทั่วไปมากที่สุด ดังนั้นจึงจะกล่าวอธิบายรายละเอียดของระบบเคโมสแตท ซึ่งทฤษฎีดังกล่าวยังสามารถใช้อธิบายระบบหมักแบบเทอร์บิโดสแตทได้อีกด้วย

2.10.1 ทฤษฎีเกี่ยวกับระบบหมักแบบเคโมสแตท

ในระบบหมักแบบเคโมสแตท อัตราการเจริญสามารถหาได้โดยแปรค่าอัตราการป้อนสารอาหารที่จำเป็น ซึ่งอาจเป็นคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส หรือวิตามิน โดยสารอาหารจำเป็นดังกล่าวต้องมีอยู่มากเกินพอ ความสามารถในการแปรค่าอัตราการเจริญโดยการเปลี่ยนอัตราการป้อนสารอาหาร เป็นข้อได้เปรียบมากที่สุดของการหมักแบบต่อเนื่องที่มีต่อการหมักแบบเป็นครั้ง และยังเป็นสิ่งที่อธิบายคุณสมบัติเฉพาะของเคโมสแตทอีกด้วย โดยการควบคุมให้อัตราการป้อนสารอาหารคงที่ ก็เป็นการควบคุมระบบการหมักให้มีการเจริญอยู่ในสภาวะคงที่ (Marison, 1988)

2.10.2 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางกับความเข้มข้นของเซลล์

คุณสมบัติเฉพาะของเคโมสแตทและการเจริญที่สภาวะคงที่สามารถแสดงได้โดยใช้สมการต่อไปนี้ ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์และความเข้มข้นของสารอาหารกับอัตราการป้อนสารอาหารหรืออัตราการเจือจางนั่นเอง สมการดังกล่าวได้จากการทำสมดุลมวลสารของเซลล์และสารอาหารในเครื่องปฏิกรณ์

สำหรับเซลล์ :

เซลล์ที่สะสม = เซลล์เข้า - เซลล์ออก + เซลล์ที่เจริญ - เซลล์ที่ตาย

$$\frac{dX}{dt} = \frac{FX_0}{V} - \frac{FX}{V} + \mu X - \alpha X \qquad (2.1)$$

เมื่อ F = อัตราการไหลของสารอาหารที่ป้อนเข้ามา มีหน่วยเป็น ลิตรต่อชั่วโมง

V = ปริมาตรของน้ำหมักในเครื่องปฏิกรณ์ มีหน่วยเป็น ลิตร

X_0 = ความเข้มข้นของเซลล์ในสารอาหารที่ป้อนเข้ามามีหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร

X = ความเข้มข้นของเซลล์ในเครื่องปฏิกรณ์ มีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร

μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ มีหน่วยเป็น $ชั่วโมง^{-1}$

α = อัตราการตายจำเพาะ มีหน่วยเป็น $ชั่วโมง^{-1}$

สำหรับกรณีเคโมสแตทขั้นตอนเดียว เนื่องจากสารอาหารที่ป้อนเข้ามามีการฆ่าเชื้อแล้ว (สมมติว่าไม่มีการนำเซลล์ย้อนกลับมาใช้) และ $\mu >> \alpha$ จึงสามารถจัดรูปสมการ (2.1) ได้ใหม่เป็น

$$\frac{dX}{dt} = -\frac{FX}{V} + \mu X \qquad (2.2)$$

ความสัมพันธ์ระหว่าง F / V คือ อัตราการไหลของอาหารเข้าสู่ภาชนะต่อปริมาตรของน้ำหมักที่มีในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งเรียกว่า อัตราการเจือจาง (D) จึงเขียนสมการ (2.2) ได้ใหม่เป็น

$$\frac{dX}{dt} = -DX + \mu X = X(\mu - D) \qquad (2.3)$$

ในช่วงการเจริญที่สภาวะคงที่ ค่า dX/dt = 0 ดังนั้น μ = D ตามสมการ (2.3) แสดงให้เห็นว่าถ้าแปรค่าอัตราการป้อนสารอาหารแล้ว อัตราการเจริญมีการเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ซึ่งความสัมพันธ์ดังกล่าวใช้ได้จนถึงจุดที่ D > μ_m (อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด) เนื่องจากเมื่อ D > μ_m ภายใต้สภาวะดังกล่าว สารอาหารมีไม่จำกัด และเทอม (μ - D) จึงมีค่าเป็นลบ ผล

ที่ตามมาคือความเข้มข้นของเซลล์ลดลง และเกิดการล้างเชื้อ (wash - out) ในทางปฏิบัติอัตราการเจือจางวิกฤต (D_c) จะมีค่าประมาณเท่ากับ μ_m

เมื่ออัตราการเจือจางเข้าใกล้ D_c ระบบหมักแบบเคโมสแตทจะมีความเสถียรลดลง เนื่องจากถ้ามีการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราการไหลแม้เพียงเล็กน้อย เช่น การปั๊มออกผิดพลาดและอื่นๆ ก็จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่า X อย่างมากมาย ทำให้เกิดสภาวะไม่คงที่ ซึ่งนำไปสู่การล้างเชื้ออย่างรวดเร็ว ดังนั้นข้อเสียเปรียบข้อใหญ่ของเคโมสแตทคือใช้งานได้ดีที่อัตราการเจือจางต่ำๆ ซึ่งทำให้การเปลี่ยนแปลงค่า X และ S มีเพียงเล็กน้อยและการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราการไหลก็มีผลเพียงเล็กน้อยต่อสภาวะคงที่

สำหรับเทอร์บิโดสแตท ซึ่งเป็นระบบที่มีการรักษาความหนาแน่นของเซลล์โดยการควบคุมอัตราการไหลเข้าของน้ำหมัก เพราะฉะนั้นระบบจึงมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงค่า X แม้เพียงเล็กน้อย และทำงานได้ดีที่อัตราการเจือจางสูงๆ ดังนั้นเคโมสแตทและเทอร์บิโดสแตทจึงเป็นสิ่งที่ประกอบกันให้สมบูรณ์

2.10.3 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจือจางกับความเข้มข้นของสารอาหาร

ความสัมพันธ์ดังกล่าวได้จากการทำสมดุลมวลสารรอบระบบเคโมสแตทโดยพิจารณาสารอาหาร

สารอาหารที่สะสม = สารอาหารเข้า - สารอาหารออก - สารอาหารที่ถูกใช้ไป - สารอาหารที่ใช้ในการบำรุงรักษา - สารที่เกิดขึ้น

$$\frac{dS}{dt} = \frac{FS_R}{V} - \frac{FS}{V} - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - mX - \frac{q_p X}{Y_{P/S}} \qquad (2.4)$$

เมื่อ S_R = ความเข้มข้นของสารอาหารในถังเก็บ มีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร

$Y_{X/S}$ = สัมประสิทธิ์ผลิตผลของเซลล์ (biomass yield coefficient)
= มีหน่วยเป็น กรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์ต่อกรัมสารอาหารที่ใช้

$Y_{P/S}$ = สัมประสิทธิ์ผลิตผลของผลิตภัณฑ์ (product yield coefficient)
= มีหน่วยเป็น กรัมผลิตภัณฑ์ที่เกิดต่อกรัมสารอาหารที่ใช้

S = ความเข้มข้นของสารอาหารในระบบเคโมสแตท มีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร

m = ความต้องการพลังงานในการบำรุงรักษา (maintenance requirement)
= มีหน่วยเป็น กรัมสารอาหารที่ใช้ต่อกรัม น้ำหนักแห้งของเซลล์ต่อชั่วโมง

μ = อัตราการเจริญจำเพาะ

= มีหน่วยเป็น อัตราการไหลของอาหารต่อปริมาตรน้ำหมักในถังหมัก

q_P = อัตราการเกิดผลิตภัณฑ์จำเพาะ

= มีหน่วยเป็น กรัมผลิตภัณฑ์ที่เกิดต่อลิตรต่อชั่วโมง

โดยทั่วไป $mX << \mu X / Y_{X/S}$ และสามารถตัดทิ้งได้ เมื่อพิจารณากรณีที่ไม่เกิดผลิตภัณฑ์สมการ (2.4) เหลือ

$$\frac{dS}{dt} = \frac{FS_R}{V} - \frac{FS}{V} - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \qquad (2.5)$$

ที่สภาวะคงที่ $D = F / V$ และ $dS/dt = 0$ จะได้ว่า

$$\frac{\mu \bar{X}}{Y_{X/S}} = D (S_R - \bar{S}) \qquad (2.6)$$

ที่สภาวะคงที่ $\mu = D$ สามารถจัดรูปได้ใหม่เป็น

$$\bar{X} = Y_{X/S} (S_R - \bar{S}) \qquad (2.7)$$

ในที่นี้ $\bar{X}$ และ $\bar{S}$ คือค่า X และ S ที่สภาวะคงที่ตามลำดับ

สมการ (2.7)มีการตั้งสมมติฐานว่า สัมประสิทธิ์ผลิตผล, Y (yield coefficient) ไม่ขึ้นกับอัตราการเจริญซึ่งใช้ไม่ได้กับทุกกรณี และยังสมมติอีกว่าค่า X ไม่ขึ้นกับสารอาหารอื่นใด ยกเว้นสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญ (growth-limiting nutrient)

ข้อดีของการหมักแบบต่อเนื่องเทียบกับการหมักแบบเป็นครั้ง

ข้อได้เปรียบหลักๆ ได้แก่

1. สามารถควบคุมและรักษาอัตราการเจริญของเชื้อได้
2. สามารถตรวจสอบผลกระทบที่มีต่อการเจริญและการเกิดผลิตภัณฑ์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ทางกายภาพและทางเคมี
3. สามารถรักษาความเข้มข้นของเซลล์ให้คงที่ โดยการแปรค่าอัตราการเจือจาง

4. สามารถรักษาความเข้มข้นสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญให้คงที่ และสามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเซลล์และขบวนการเมตาโบลิซึมได้โดยการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารที่มีผลต่อการเจริญ
5. อาศัยเทคนิคการกระตุ้นและเลื่อน (pulse and shift technique) ทำให้สามารถหาปริมาณน้ำหมักที่เหมาะสม สำหรับการเกิดเซลล์และผลิตภัณฑ์ เทคนิคดังกล่าวใช้วิธีฉีดน้ำหมักโดยตรงเข้าสู่เคโมสแตทแล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงของ X และ S ถ้า X เพิ่มขึ้นก็จะเติมน้ำหมักเพิ่มลงไป จนเข้าสู่สภาวะคงที่
6. สามารถใช้หาค่าคงที่อัตราเร็ว พลังงานที่ใช้ในการบำรุงรักษาเซลล์และผลิตผลการเจริญจริง (Y_G) ได้
7. ผลที่ได้จากการหมักแบบต่อเนื่องมักเชื่อถือได้และสามารถทำซ้ำได้
8. การหมักแบบต่อเนื่องมักให้ผลคุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์ เนื่องจากให้กำลังการผลิตต่อหนึ่งหน่วยปริมาตรสูงกว่า เสียเวลาน้อยกว่าในการทำความสะอาด "down time" คือ ล้างทำความสะอาดเตรียมเครื่องและฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ยังใช้แรงงานคนน้อยกว่าและใช้เงินลงทุนเริ่มต้นน้อยกว่าด้วย
9. สามารถใช้ระบบหมักเคโมสแตท ในการเลี้ยงรักษาสายพันธุ์ผสมที่สภาวะคงที่ ถ้าใช้การหมักแบบเป็นครั้งแล้ว มักมีจุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งที่เจริญเติบโตเด่นชัดออกมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ

ข้อเสียเปรียบของการหมักแบบต่อเนื่องเทียบกับการหมักแบบเป็นครั้ง

ข้อเสียเปรียบหลักๆได้แก่

1. การผลิตผลิตภัณฑ์ที่ไม่สัมพันธ์กับการเจริญมักไม่ได้ผลดีเท่าที่ควรและนิยมผลิตโดยใช้การหมักแบบเป็นครั้งมากกว่า
2. การสร้างผนังเซลล์ และการรวมตัวของเซลล์ สามารถทำให้เกิดการล้างเชื้อ และป้องกันไม่ให้เกิดสภาวะคงที่ของการเจริญที่แท้จริง
3. การเจริญอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานทำให้สายพันธุ์ดั้งเดิมสูญไป เนื่องจากมีสายพันธุ์อื่นที่เจริญได้ดีกว่า
4. การเจริญของจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นเส้นใยจะเกิดได้ยาก เนื่องจากธรรมชาติของน้ำหมักที่มีความหนืดและไม่เป็นเนื้อเดียวกัน จะป้องกันไม่ให้เกิดสภาวะคงที่ของการเจริญ
5. การเจริญเป็นระยะเวลานานๆ ทำให้เกิดการปนเปื้อนได้