หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ

กัม (gum) เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากสาหร่ายธรรมชาติมีหลายชนิด เช่น อัลจิเนท (alginates) คาราจีแนน (carageenans) หรือผลิตได้จากพืชเช่น กัมแอโรบิค (gum arobic) (Cottrell และ Kang,1978) กัมเหล่านี้นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากราคาไม่แพง มีคุณสมบัติทำให้อาหารมีลักษณะดีขึ้น แต่การผลิตสารดังกล่าวจากธรรมชาติไม่เพียงพอสำหรับความต้องการทางตลาดในเชิงพาณิชย์ หลังสงครามโลกครั้งที่ 2 จึงได้เริ่มมีการวิจัยเพื่อหาแหล่งของกัมมาทดแทนผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายและพืชกันอย่างกว้างขวาง ทั้งโดยวิธีเคมีสังเคราะห์ มีการใช้สาร เช่น propylene glycol alginate , กัวกัม (guar gum) ตลอดจนสารเซลลูโลส ได้แก่ คาร์บอกซีเมทธิวเซลลูโลส (carboxymetyl cellulose) หรือเมทธิลเซลลูโลส (methyl cellulose) (Rock,1971) ประเทศไทยได้มีการนำเข้าของสารในกลุ่มกัมเป็นมูลค่าปีละหลายล้านบาท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณ (กิโลกรัม)และมูลค่า (บาท) ของการนำเข้าของกัมที่ได้จากธรรมชาติ (จากข้อมูลสถิติการค้าระหว่างประเทศของไทย)

ปี	ปริมาณที่นำเข้า (กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)
1985	15,739	1,297,495
1986	10,106	1,900,476
1987	19,419	4,095,193
1988	68,183	7,788,705
1989	131,872	6,307,504
1990	781,664	14,376,236

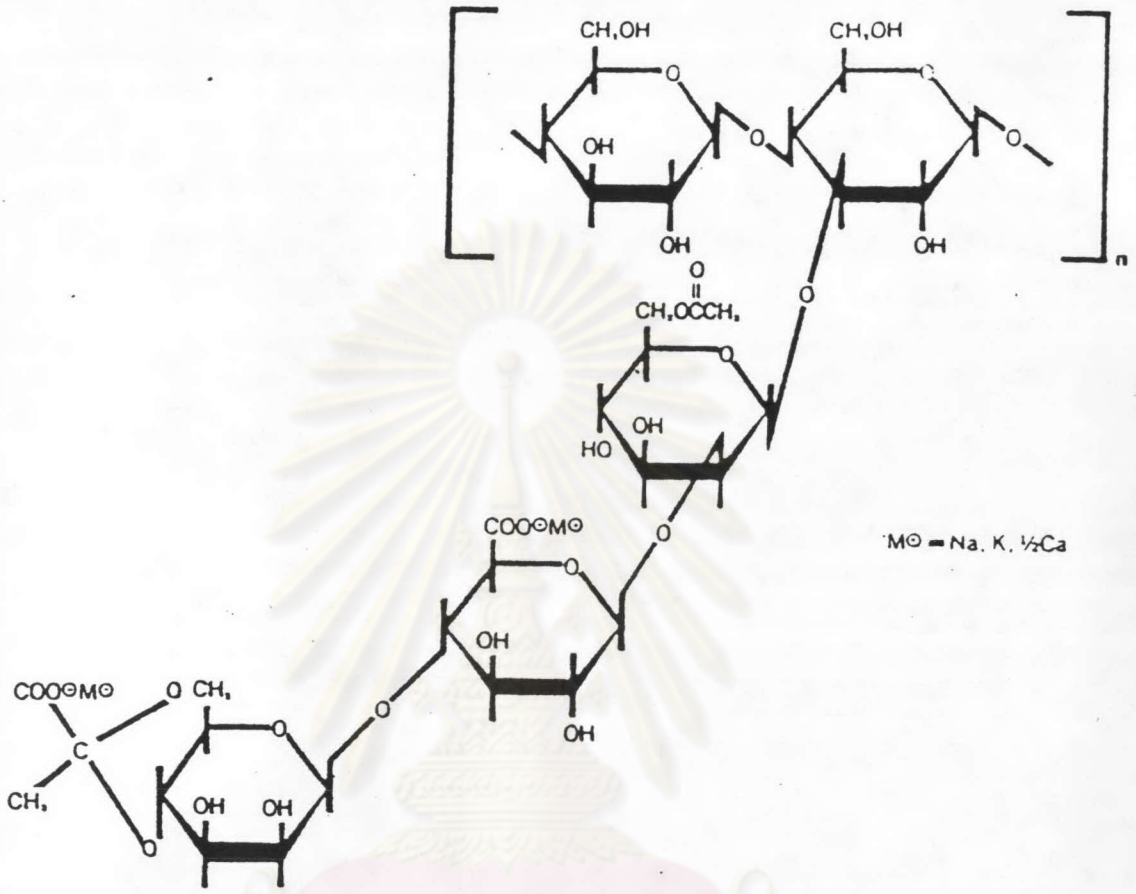
ประเทศที่ไทยสั่งซื้อได้แก่ จีน, อินเดีย, อังกฤษ, ฮอนดูรัส, ซูดาน, แคนาดา, สหรัฐ, เยอรมัน, ญี่ปุ่น เป็นต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปี 1950 สถาบัน NRRL (The Northern Regional Research Laboratories) แห่งสหรัฐอเมริกาค้นพบจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกัม ซึ่ง Rogovin และคณะ (1961) ได้ให้ชื่อว่าสารโพลีแซคคาไรด์ B-1459 นับเป็นสารชนิดแรกที่ผลิตโดยการหมักของจุลินทรีย์ *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ซึ่งต่อมาเป็นที่รู้จักและเริ่มใช้แพร่หลายในอุตสาหกรรมว่าแซนแทน กัม หรือ แซนแทน Sloneker และ Jeanes,1962 พบว่าแซนแทน กัมเป็นสารจำพวกเฮทเทอโรโพลีแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ $13x10^6$ ถึง $50x10^6$ ล้านดาลตัน ประกอบขึ้นด้วย D-glucose,D-mannose, D-glucoronic acid ในอัตราส่วน 2:2:1 เป็นโครงสร้างแกนและมีกลุ่มไพรูวิล (pyruvyl group) กับกลุ่มอะซิติล (acetyl group) เกาะอยู่ที่โมเลกุลของโมโนแซคคาไรด์ด้วย (Jansson และคณะ,1975) (รูปที่ 1) โครงสร้างของแซนแทน กัม เป็นโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่มีโครงสร้างซ้ำกัน (repeating unit) ของโมโนเมอร์ที่ประกอบด้วย β-D-glucose จับกันที่ตำแหน่ง 1 และ 4 คล้ายกันกับโมเลกุลของเซลลูโลส ในแต่ละหน่วยย่อยประกอบด้วย 2 โมเลกุลของ mannose และ 1 โมเลกุลของ glucoronic acid จับกันโดยที่เป็นพันธะแบบ β-D-mannose ตัวสุดท้ายเป็น glycosidic linkage ที่ตำแหน่ง4 ของ β-D-glucoronic acid ที่จับกับตำแหน่งที่ 2 ของ α-D-mannose อีกทีหนึ่ง สูตรโดยทั่วไปกว่าครึ่งหนึ่งของ D-mannose ตัวสุดท้ายจะมีกลุ่มไพรูวิกเกาะที่ตำแหน่ง 4 และ 6 ในขณะที่กลุ่มอะซิติลจะจับที่ตำแหน่งที่ 6 ของหน่วยย่อย D-mannose ที่ไม่ใช่ตัวสุดท้าย (Cottrell และคณะ,1980)

แซนแทน กัม มีคุณสมบัติเป็นสารจำพวกโพลีอิเลคโตรไลต์ (polyelectrolyte) ที่ละลายน้ำได้ดี โดยมากในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของเกลือของสารประกอบต่างๆผสมกัน เช่น โปแตสเซียม, โซเดียม, แคลเซียม ฯลฯ โดยโลหะเหล่านี้จะเข้าทำปฏิกิริยาที่กลุ่มคาร์บอกซิล (carboxyl group) พบว่าโปแตสเซียมจะมีการทำปฏิกิริยาได้ดีที่สุด เนื่องจากกลุ่มคาร์บอกซิลของแซนแทน กัมมีน้อยดังนั้นจะไม่เกิดปฏิกิริยาไขว้ข้าม (cross-linking) กับ divalent cation เช่น แคลเซียม, แมกนีเซียม (Rock,1971) ฯลฯ

Sanford และคณะ (1977) ได้รายงานว่าแซนแทน กัม ที่ผลิตจาก *Xanthomonas spp.* ที่ต่างสายพันธุ์กันจะมีปริมาณกรดไพรูวิก และกลุ่มอะซิติลต่างกันทำให้คุณสมบัติทางฟิสิกส์อื่นๆต่างกันด้วย



รูปที่1 แสดงสูตรโครงสร้างของแซนแทน กัม (Janssan และคณะ, 1977)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 คุณสมบัติทั่วไปของแซนแทน กัม

1.2.1 ความสามารถในการละลายและความหนืด

แซนแทน กัม สามารถละลายได้อย่างรวดเร็วทั้งในน้ำร้อนหรือน้ำเย็น และให้ความหนืดสูงแม้จะใช้กัมในปริมาณต่ำซึ่ง Rocks (1971) ได้รายงานว่า กัมที่ละลายน้ำเพียง 1% จะให้ความหนืดประมาณ 800-1000เซนติพอยซ์ (Brookfield Viscosimeter model LVT ที่ความเร็ว 60 รอบต่อนาที)

1.2.2 Pseudoplasticity

เป็นคุณสมบัติพิเศษของแซนแทน กัม ที่ต่างออกไปจากสารจำพวกคอลลอยด์ละลายน้ำ (hydrocolloid)ชนิดอื่น กล่าวคือถ้ามีแรงกระทำต่อสารละลายกัมน้อยๆ (shear rate ต่ำ) สารละลายกัมจะมีแรงต้านทานสูง ในทำนองเดียวกันเมื่อเพิ่มแรงกระทำขึ้น (shear rate สูง) ความหนืดก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว (Betz, 1979) ซึ่งคุณสมบัตินี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารละลายสูงขึ้น ลักษณะการเป็น pseudoplasticity จะช่วยป้องกันการตกตะกอนของสารขนาดใหญ่ ป้องกันหยดน้ำมันไม่ให้ลอยขึ้นข้างบน และยังช่วยให้การปั๊ม การบรรจุสะดวกขึ้นด้วย (Anonymous,1974)

1.2.3 ความคงตัวต่ออุณหภูมิ

Kovacs (1973) ได้รายงานถึงคุณสมบัติของกัมทั่วไปว่าเมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายกัมในระยะเวลาสั้นๆ ความหนืดของสารละลายจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และเมื่อสารละลายนี้มีอุณหภูมิลดลงจนเท่าอุณหภูมิห้องแล้วจะมีความหนืดเท่ากับเมื่อเริ่มต้น แต่สำหรับสารละลายแซนแทนนั้น Betz (1979) กล่าวว่ามีความสามารถที่จะรักษาความหนืดให้คงที่เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง เช่น สารละลายแซนแทน 1 % ซึ่งมีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.1 % มีความหนืดประมาณ 1000 เซนติพอยซ์ ที่ 25 °ซ เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิในช่วง 0-95 °ซ พบว่าความหนืดจะเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 100 เซนติพอยซ์ จากคุณสมบัตินี้ เมื่อเติมลงในอาหารจะทำให้อาหารมีความคงตัวสูงและไม่เกิดการแยกชั้น ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ (hydrolyse)แม้อุณหภูมิ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในขณะที่เก็บหรือขณะแปรรูปอาหารจะเปลี่ยนแปลง Betz ได้นำสารละลายแซนแทน กัมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121°ซ เป็นเวลา 15-30 นาที หรือนำมาให้ความร้อนที่ 80 °ซ เป็นเวลานานๆ พบว่าความหนืดเปลี่ยนแปลงน้อยมาก นอกจากนี้การมีเกลือเล็กน้อยในอาหารจะช่วยให้แซนแทน กัมมีความต้านทานต่อการแตกตัวด้วยความร้อนได้สูงขึ้น

1.2.4 การตอบสนองต่อ pH

กัมหลายชนิดที่ละลายน้ำ จะมีความหนืดเปลี่ยนแปลงไปตาม pH ของตัวทำละลาย บางชนิด ถึงแม้ว่าค่า pH คงที่ในสภาวะเป็นกรด ความหนืดจะลดลงได้ แต่สำหรับสารละลายแซนแทน สามารถรักษาความหนืดให้คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อ pH เปลี่ยน จึงได้มีการใช้แซนแทนในอุตสาหกรรมค่อนข้างสูง เช่น เป็นสารให้ความข้นในสารละลายที่มีกรดไฮโดรคลอริกสูงถึง 8% และโซเดียมไฮดรอกไซด์สูงถึง 5 เปอร์เซนต์ (Rocks, 1971)

1.2.5 การตอบสนองต่อเกลือ

จากที่กล่าวมาแล้วว่าเกลือมีส่วนช่วยให้สารละลายแซนแทน กัมมีความคงตัวเมื่อได้รับความร้อน สารละลายที่มีแซนแทน กัมมากกว่า 0.5 % การเติมเกลือลงไปเพียงเล็กน้อยจะช่วยเพิ่มความหนืดได้ อาหารส่วนมากมีเกลือปริมาณมากพออยู่แล้ว การเติมแซนแทนในอาหารประเภทเข้มข้น เช่น ซ๊อส น้ำสลัด หรืออาหารกระป๋อง ที่ต้องให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำเป็นเวลาหลายชั่วโมงจึงสามารถปกป้องอาหารจากการสูญเสียคุณสมบัติไปได้ แต่ถ้าสารละลายที่มีแซนแทน กัมความเข้มข้นต่ำ การเติมเกลือลงไปเพียงเล็กน้อยอาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืด Kovacs (1973) พบว่าสารละลายกัมที่มีความเข้มข้น 0.15 % เมื่อเติม monovalent salt เช่น เกลือโซเดียมคลอไรด์ลงไปจะทำให้ความหนืดลดลงเล็กน้อย ซึ่ง Betz (1979) สรุปว่าความหนืดของสารละลายแซนแทน กัมขึ้นกับปริมาณกัมและปริมาณเกลือ

1.2.6 การละลายร่วมกับสารอื่น (Compatibility)

1.2.6.1 กรด แซนแทน กัมมีความคงตัวดีมากเมื่อมีกรดอินทรีย์อยู่ Kovacs และ Kang (1977) พบว่าแซนแทนละลายได้ในกรดอะซิติก 5 % กรดไฮโดรคลอริก 10 %

กรดฟอสฟอริก 25 % และความหนืดของสารละลายเหล่านี้จะคงที่เป็นเวลาหลายเดือนถ้าอุณหภูมิไม่เปลี่ยนแปลงมาก

1.2.6.2 ด่าง Kovacs และ Kang (1977) รายงานว่าแซนแทน กัม ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 % และให้ความหนืดคงที่เป็นเวลานาน

1.2.6.3 เกลือ สารละลายแซนแทน กัม สามารถละลายได้ดีในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 25 เปอร์เซนต์(Rocks, 1971) ภาวิณี (2524) ได้อ้างถึง General Mills Chemicals ที่พบว่ามีสารละลายบางอย่างที่แซนแทนละลายได้ไม่ดี ได้แก่ สารละลายซึ่งมี polyvalent metal ion บางชนิด เช่น แคลเซียมอิออนที่ pH สูงๆ quaternary ammonium compound สารเหล่านี้จะทำให้แซนแทน กัมตกตะกอนลงมา หรืออาจเกิดลักษณะเจล (gel) ขึ้น

1.2.6.4 ตัวทำละลาย (solvent) แซนแทน กัมสามารถละลายตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ที่ละลายน้ำได้ เช่น เมทธานอล เอธิลแอลกอฮอล์ ไอโซโปรปิลแอลกอฮอล์ และอะซีโตน ซึ่งมีปริมาณสูงถึง 50 % ได้โดยต้องเติมตัวทำละลายอย่างช้าๆ พร้อมกับคนให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอด้วย แต่กัมจะตกตะกอนทันทีถ้ามีความเข้มข้นของตัวทำละลายเหล่านี้สูงขึ้นอีก (Rocks, 1971 และ ภาวิณี, 2524) นอกจากนี้ยังพบว่าแซนแทนสามารถละลายได้ในไกลซีน หรือ เอธิลลีนไกลคอลโดยจะต้องให้ความร้อนถึงประมาณ 65 °ซ (Kelco, Co.)

1.2.6.5 สารละลายเพิ่มความข้น (thickener) แซนแทน กัมสามารถละลายเข้ากันได้ดีกับสารเพิ่มความข้นชนิดอื่น เช่น คาราจีแนน (caragenan) โซเดียมอัลจิเนท (sodium alginate) แป้งมันสำปะหลัง กัวกัม (guar gum) โลคัสบีน กัม (Locust bean gum) เป็นต้น Kovacs (1973) ได้รายงานถึงการนำแซนแทนมาละลายผสมกับโลคัสบีน กัม ปริมาณต่ำๆ หรือกัวกัม 0.1 % พบว่าจะช่วยทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น แต่ถ้าให้ความเข้มข้นของแซนแทนและโลคัสบีน กัม สูงขึ้นถึง 1 %โดยน้ำหนัก (โดยมีอัตราส่วนของแซนแทน กัมต่อโลคัสบีน กัมเท่ากับ 95 ต่อ 5 ถึง 5 ต่อ 95) พบว่าจะทำให้เกิดลักษณะเจลขึ้น แต่อัตราส่วนของแซนแทนต่อโลคัสบีน กัม ที่จะมีผลทำให้เจลเกิดความคงตัวสูงสุด คือ 75 ต่อ 25 ถึง 40 ต่อ 60 (Schuppner, 1971)

1.2.7 คุณสมบัติและประโยชน์ของแซนแทนในการเติมลงในอาหาร

เนื่องจากแซนแทน กัมเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ มีการย่อยในลำไส้น้อยและช่วยเพิ่มปริมาณกากในลำไส้ จึงนิยมนำมาใช้ประโยชน์ในรูปของส่วนประกอบ เพื่อปรับปรุงให้อาหารมีคุณภาพดีขึ้น Kennedy และ Bradshaw (1984) ได้อ้างถึง Robbins และคณะ (1964) ว่าได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของแซนแทนที่ช่วงระยะเวลาสั้น (12 อาทิตย์) ไม่พบความเป็นพิษตลอดจนการยับยั้งการเจริญในสุนัข นอกจากนี้ยังมีรายงานที่อ้างถึง Woodward และคณะ (1973) ที่ศึกษาความเป็นพิษในระยะยาว (2 ปี) ของการบริโภคแซนแทนของหนูและสุนัข พบว่ากัมไม่ถูกย่อย ไม่เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตรวมทั้งเป็นสารก่อมะเร็งแต่อย่างใด และถ้าให้กัมปริมาณมากๆแก่สุนัขจะทำให้ปริมาณโคเลสเตอรอลลดลงอย่างรวดเร็วได้อีกด้วย

ในปี 1971 สำนักงานอาหารและยาของโลก (FDA) (Food and Drug Administration) ได้ออกประกาศอนุญาตให้ใช้แซนแทนเติมลงไปในอาหารและยาได้ (Betz, 1979) ตามหน้าที่และลักษณะของการใช้ประโยชน์ (ตารางที่ 2)

ด้วยคุณสมบัติประโยชน์ของแซนแทนดังได้กล่าวมาแล้ว ปัจจุบัน แซนแทน จึงเข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องกับสินค้าเครื่องอุปโภค และบริโภคมากมายไม่ว่าจะเป็นในทางอาหารและยา เช่น ใช้ทำน้ำสลัด, น้ำซ๊อส, ผลิตภัณฑ์เนยและเนยแข็ง, พุดดิ้ง, ไซรัป, เบียร์ เป็นต้น ส่วนในอุตสาหกรรมที่ไม่ใช่อาหาร ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในทางการเกษตร โดยผสมเป็นส่วนประกอบของยาฆ่าหญ้า ยาฆ่าแมลง ยาฆ่าราอื่นๆ อุตสาหกรรมสี กระดาษ ปิโตรเลียม เครื่องสำอางค์ เป็นต้น ตารางที่ 3 แสดงถึงสัดส่วนการใช้แซนแทนในอุตสาหกรรมต่างๆ

ปัจจุบันมีรายงานว่า แซนแทน กัม สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดในสกุล *Xanthomonas spp.* เช่น *X. begoniae, X. malvacearum, X. carotae, X. incanae, X. phascoli, X. vesicatoria, X. papavericola, X. translucens, X. vasculorum* และ *X. hedrae* (U.S. Patent 4,299,825) ในบรรดาแบคทีเรียสกุลที่ผลิตแซนแทน กัมได้นี้ พบว่า *X.campestris* เป็นจุลินทรีย์ชนิดที่ให้ผลิตภัณฑ์แซนแทน กัมซึ่งมีคุณภาพมาตราฐานดีและใช้ได้ในเชิงพาณิชย์ทั่วไป

1.3 การผลิตแซนแทน กัม

เนื่องจากความสำคัญของแซนแทน กัม ดังกล่าวแล้วข้างต้น จึงมีนักวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 2 แสดงถึงหน้าที่ของกัมและการใช้ประโยชน์(เปอร์เซนต์)

หน้าที่และการใช้ประโยชน์ของแซนแทน	การใช้ประโยชน์ (เปอร์เซนต์)
สารรักษาความคงตัว สารทำให้กระจาย (stabilizer, suspending agent and dispersant)	25
สารเพิ่มความข้น (thickener)	23
สารทำให้เกิดฟิล์ม (film foaming agent)	17
สาร water-retention agent	12
สารทำให้ตกตะกอน (coaggulant)	7
สารทำให้เกิดแขวนลอย (colloid)	6
สารหล่อลื่นและลดแรงเสียดทาน (lubricant or friction reducer)	5
อื่นๆ	5

ที่มา : Wells, J. (1977)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงถึงปริมาณการใช้แซนแทน(เปอร์เซนต์)ในอุตสาหกรรม

ประเภทของอุตสาหกรรม	เปอร์เซนต์
ผลิตภัณฑ์ผงซักฟอก และซักรีด (Detergents and laundry products)	16
เส้นใย (Textiles)	14
กาว (Adhesives)	12
กระดาษ (Paper)	10
สีทา (Paint)	9
อาหาร (Food)	8
ยาและเครื่องสำอางค์ (Pharmaceutical and cosmatics)	7
อื่นๆ	24

ที่มา : Well, J. (1977)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

และเทคโนโลยีให้ความสนใจศึกษา วิจัยคุณสมบัติ วิธีการเพาะเลี้ยงตลอดจนการประยุกต์เทคนิคต่างๆทางด้านสรีระวิทยา ชีวเคมี และเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อเพิ่มผลผลิตของ *X. campestris* ให้สามารถเพิ่มผลผลิตถึงระดับอุตสาหกรรมกันมากมาย โดยศึกษาปัจจัยต่างๆดังนี้

1.3.1 สารต้นตอคาร์บอน

ปี 1958 Lilly และคณะ ได้รายงานว่า *Xanthomonas spp.* สามารถเจริญและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้เมื่อใช้แหล่งต้นตอคาร์บอนหลายชนิด เช่น กลูโคส ซูโครส soluble starch แป้งข้าวโพด และ casein hydrolysate Leach และคณะ (1957) ที่ทดลองเลี้ยง *X. phaseoli* ในแหล่งต้นตอคาร์บอนที่ต่างกัน พบว่าถ้าเป็นโมโนแซคคาไรด์ กลูโคสและแมนโนสให้ผลผลิตของแซนแทนดีที่สุด แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นไดแซคคาไรด์แล้วซูโครสจะเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุด

ในปี 1961 Rogovin และคณะ เลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 2.5 % เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าน้ำตาลกลูโคสเพียง 50 % เท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นแซนแทน กัม การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นสูงมากกว่านี้จะไม่เพิ่มปริมาณกัมขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากความจำกัดของออกซิเจนในอาหาร การเพิ่มความเข้มข้นกลูโคสเป็น 3 % หมักเป็นเวลา 96 ชั่วโมง จะได้ผลผลิตกัมสูงสุด 1.6 % และไม่สามารถเพิ่มปริมาณกัมให้ได้มากกว่านี้ แม้จะมีการเพิ่มน้ำตาลในอาหารให้สูงขึ้นไปอีกก็จะได้ค่าความหนืดสูงสุดในช่วงระหว่าง 7,000 ถึง 8,000 เซนติพอยซ์เท่านั้น เพราะมีความหนืดสูงไปกว่านี้จะทำให้อากาศไม่สามารถกระจายได้ทั่วถึง การทดลองใช้น้ำตาลเริ่มต้นเพียง 2 ถึง 2.5 % ปรากฏว่าจุลินทรีย์สามารถใช้น้ำตาลได้หมด ได้กัมประมาณ 1.5 เปอร์เซนต์ ได้ผลผลิตเป็นสารละลายที่มีค่าความหนืดประมาณ 3,000 เซนติพอยซ์ ในเวลา 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 28 ถึง 30 °ซ Rogovin และคณะ,1965;McNeely (1968a)

Miescher และ Haute (1969) ใช้ Dry-milled corn starch เป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนแทนกลูโคส ที่มีความเข้มข้น 4.7 % และควบคุม pH ให้คงที่ที่ 7.2 อุณหภูมิ 30 °ซ ตลอดการทดลอง พบว่าที่ 96 ชั่วโมงได้ความหนืดสูงถึง 11,000 เซนติพอยซ์ McNeely (1969a;b) รายงานว่าการใช้แป้งข้าวจ้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซ์เป็นกลูโคสบางส่วนจะช่วยให้มีการเจริญของเซลล์และการสร้างกัมของ *X. campestris* สูงขึ้น และลดเวลาในการหมักจากเดิมซึ่งใช้กลูโคส 2 % ใช้เวลาหมักนาน 72 ชั่วโมงให้เหลือ 55 ชั่วโมง

รวมทั้งให้ความหนืดสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังเสนอแนะว่า การใช้แป้งหรือร่ำที่ได้จากเมล็ดธัญญพืชอื่นๆและพืชตระกูลถั่ว มาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อควรผ่านการไฮโดรไลซ์มาแล้วบ้างบางส่วน

ในปี 1971 Moraine และ Rogovin ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเชื้อ *X. campestris* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 2 และ 5 % ทำการหมักนาน 36 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณกัม 1.4 % เท่ากัน แต่อาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 2 % เชื้อสามารถใช้น้ำตาลได้เกือบหมดแต่ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 5 % การใช้กลูโคสจะหยุดชะงัก เมื่อ pH ในอาหารลดลงมาถึง 5.5 และตรวจพบกลูโคสในอาหารเหลืออยู่มากกว่า 3 %

Souw และ Demain (1979) รายงานการผลิตแซนแทนในอาหารที่มีกลูโคสเริ่มต้น 2 % และศึกษาผลของการเสริมแหล่งของต้นตอคาร์บอนต่างๆ พบว่าการเลี้ยงจุลินทรีย์ในแหล่งคาร์บอนที่มี 1 % ซูโครส 0.5 % ฟรุกโตส และ 0.5 % ไซโลส (Xylose) สามารถกระตุ้นการผลิตแซนแทนได้ดีที่สุด และเมื่อให้ซูโครสในปริมาณมากเกินกว่านี้จะไม่มีการเพิ่มผลผลิตของการเจริญและการผลิตแซนแทนเลย อย่างไรก็ตามการเติมฟรุกโตสหรือไซโลสในปริมาณที่มากเกินพอ จะมีผลยับยั้งการเจริญและการผลิตแซนแทน นอกจากนี้ได้เสนอแนะว่าการใช้ซูโครสเป็นต้นตอคาร์บอนในการเลี้ยงทดแทนและได้ดีกว่าการใช้กลูโคสเล็กน้อย

1.3.2 สารอาหารไนโตรเจน

McNeely (1968a) ได้รายงานว่าการใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งต้นตอไนโตรเจนในอาหารที่เลี้ยง *Xanthomonas spp.* จะมีผลทำให้กัมที่ได้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น การใช้แอมโมเนียมไนเตรตในความเข้มข้นที่มากเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญและการผลิตกัมของเซลล์ ในทำนองเดียวกันถ้าใช้ในปริมาณน้อยเกินไป จะทำให้ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ยังรายงานว่าการใช้แหล่งต้นตอไนโตรเจนผสมโดยใช้ soy peptone type T ผสมกับแอมโมเนียมไนเตรตจะให้การเจริญของจุลินทรีย์สูงกว่าอาหารที่ใช้แอมโมเนียมไนเตรตอย่างเดียว ในปี 1972 Colin และคณะ ได้ทดลองใช้สารอาหารไนโตรเจนจากวัสดุเหลือใช้บางชนิด เช่น หางน้ำนม (milk serum) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเคซีน (casein) หรือเนยแข็ง(cheese) จากนม พบว่าสามารถเร่งเวลาของการหมัก และการได้กัมสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ distillers' soluble

Souw และ Demain (1979) ศึกษาผลกระทบของแหล่งต้นตอไนโตรเจน อนินทรีย์ และอินทรีย์หลายชนิดที่มีต่อการเจริญและการผลิตแซนแทนของเซลล์ เช่น แอมโมเนียม-

ซัลเฟต กรดอะมิโน 21 ชนิด เกลือแอมโมเนียม 6 ชนิด (อะซิเตท ออกซาเลท แลคเตท คลอไรด์ ฟอสเฟต และไนเตรต) โซเดียมไนเตรต และยูเรีย โดยเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตแซนแทนและการเจริญเมื่อให้มีความเข้มข้นของไนโตรเจนสมมูลกับไนโตรเจนของแอมโมเนียมซัลเฟต 2 กรัมต่อลิตร ในอาหารที่มีซูโครส 4 % จากผลการทดลอง พบว่า ไม่มีการเจริญและการผลิตกัมเลยในอาหารที่มี อาร์จีนีน ทริปโตแฟน หรือ ซีสเตอีน ใช้เวลาหมักนาน 96 ชั่วโมง ผลผลิตกัมและความหนืดที่ได้จากแหล่งไนโตรเจนที่เหลือมีปริมาณสูงกว่าแหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ โดยที่แอล-กลูตามิค แอซิค ให้ความหนืดสูงสุด 15,610 เซนติพอยซ์ แอมโมเนียมไนเตรต 13,800 เซนติพอยซ์ ขณะที่แอมโมเนียมซัลเฟตให้ความหนืดเพียง 3,840 เซนติพอยซ์เท่านั้น จากรายงานที่พบว่าชัคชิเนทสามารถทำให้การผลิตแซนแทนสูงขึ้น จึงนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนเสริมในอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต (2 กรัมต่อลิตร) แอมโมเนียมไนเตรต (0.6 กรัมต่อลิตร) โซเดียมไนเตรต (1.25 กรัมต่อลิตร) และกลูตาเมต (2.2 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าแหล่งไนโตรเจนผสมเหล่านี้จะไปยับยั้งการเจริญและการผลิตแซนแทน แต่ถ้าหากใช้สารแหล่งไนโตรเจนเหล่านี้เสริมแอมโมเนียมซัลเฟตจะสามารถกระตุ้นการเจริญ และการผลิตแซนแทนในอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟตให้สูงขึ้นได้เกือบ 3 เท่า ปี 1988 Downsได้เลี้ยง *X.campestris* NCIB 11845 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมไนเตรทและโซเดียมกลูตาเมตในปริมาณที่เท่ากัน พบว่า ที่มีโซเดียมกลูตาเมตให้การเจริญและผลผลิตแซนแทนสูงสุด Souw และ Demain (1979) สรุปว่า การมีปริมาณไนโตรเจนที่มากพอจะทำให้มีการสร้างแซนแทนที่ดี แต่ถ้ามีมากเกินพอก็จะไปยับยั้งการเจริญและการสร้างแซนแทนได้

ในปี 1982 Kennedy และคณะ รายงานถึงผลของการใช้แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ต่างๆ เพื่อเพิ่มผลผลิตของแซนแทน เช่น Corn steep liquor, Soya flour, Distillers' solubles, Peptone, Yeast extract พบว่า Corn steep liquor สามารถให้ผลผลิตแซนแทนสูงสุด รองลงมาคือ Peptone และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนทั้งสองสูงขึ้นก็จะมีผลให้ได้ผลผลิตกัมสูงขึ้นตาม ไม่ว่าจะทำในห้องปฏิบัติการหรือในถังหมักขนาด 5 ลิตร

Cadmus และ Knutson (1983) ได้พบว่าการใช้ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 0.15 % (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) เป็นแหล่งต้นตอไนโตรเจน และมีปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดมากกว่า 0.25 % จะได้ผลผลิตกัมที่มีกรดไพรูวิกสูงอย่างน้อย 3.3 %โดยน้ำหนัก

1.3.3 สารอาหารอื่นๆ

Whistler และ Bermiller (1973) ได้รายงานถึงแร่ธาตุที่จุลินทรีย์มีความต้องการเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แมงกานีส แคลเซียม โมลิบดินัม เหล็ก ทองแดง และสังกะสี ซึ่งถ้ามีการให้มากหรือน้อยเกินไปจะมีผลไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ Godet (1973) ได้เสนอว่าแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับการสร้างโพลีแซคคาไรด์ สำหรับฟอสเฟตควรใช้ โซเดียม โปแตสเซียม หรือแอมโมเนียม ฟอสเฟต ซัลเฟอร์ควรใช้ โซเดียม หรือโปแตสเซียม ซัลเฟต แมกนีเซียม ควรใช้ แมกนีเซียมซัลเฟต Souw และ Demain (1979) ได้รายงานถึงอิทธิพลของฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญและการผลิตแซนแทนว่า ปริมาณที่เหมาะสมของโปแตสเซียมฟอสเฟตที่มากเกินพอจะมีผลทำให้มีการผลิตแซนแทนลดลง แต่จะไม่มีผลต่อการเจริญ

1.3.4 พีเอช (pH)

McNeely (1968a,1969a) ได้รายงานว่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตแซนแทนคือช่วง 6.5-7.5 ถ้า pH ในการผลิตต่ำกว่า 6.1 จะทำให้ผลผลิตแซนแทนลดต่ำลง

ในปี 1971 Moraine และ Rogovinได้ทดลองควบคุม pH ของอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนไว้ที่ pH 7 เปรียบเทียบกับการทดลองที่ไม่มีการปรับ pH เลยตลอดการทดลอง พบว่าจะได้ความหนืดมากกว่าไม่ได้ปรับ pH นอกจากนี้ยังได้รายงานว่าโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นด่างที่เหมาะสมในการใช้ปรับ pH มากกว่าแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ภาวิณี (2524) ได้อ้างถึง Pettitt (1978) ว่า pH เป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องติดตามและควบคุมตลอดระยะเวลาของการหมัก ถ้า pH ของอาหารต่ำกว่าจุดวิกฤติ คือประมาณ pH 5.0 จุลินทรีย์จะสร้างโพลีแซคคาร์ไรด์ได้ลดลง การลดลงของ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเกิดขึ้นจากการที่จุลินทรีย์ได้มีการผลิตกรดอินทรีย์ขึ้นในขณะที่ทำการหมัก

Cadmus และคณะ (1978) รายงานว่าการปรับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ให้ต่ำกว่า 6.8 จะมีผลให้การเจริญของจุลินทรีย์ดีขึ้นสามารถใช้น้ำตาลได้หมด และมีการสร้างกัมได้มากขึ้น และยังได้ศึกษาถึงผลของไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) และไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ปริมาณต่างๆ กัน ต่อการผลิตแซนแทนและการเจริญของ *Xanthomonas spp.* พบว่า ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และ

ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต สามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีทั้ง 2 ชนิดให้ผลผลิตกัมที่มีค่ากรดไพรูวิก 4.1 % ซึ่งจัดว่าเป็นกัมที่มีคุณภาพดี

1.3.5 การให้อากาศ

McNeely (1968a, 1969a) พบว่า อากาศเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ ถ้ามีการให้อากาศมากหรือน้อยเกินไป จะทำให้การผลิตแซนแทนลดลงได้ ในสภาวะที่จุลินทรีย์มีการสร้างโพลีแซคคาร์ไรด์มากขึ้น ทำให้อาหารมีความหนืดมากขึ้น จะมีผลทำให้การแพร่กระจายของอากาศลดลง เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพในการสร้างโพลีแซคคาไรด์ลดลง (Whistier และ Bemiller, 1973) Cadmus และคณะ (1978) ศึกษาอัตราการให้อากาศในถังหมักขนาด 10 ลิตร พบว่าอากาศมีผลต่อการผลิตโพลีแซคคาร์ไรด์ เมื่อปรับอัตราการให้อากาศเป็น 0.75 ปริมาตรต่อลิตรต่อนาที จะให้ผลผลิตกัมที่มีปริมาณกรดไพรูวิกสูงสุด การให้อัตราการให้อากาศสูงขึ้นจะลดเวลาของการหมักที่ให้ผลผลิตแซนแทนสูงสุดได้เร็วขึ้น Peters และคณะ (1989) ทำการศึกษาอิทธิพลอัตราการกวน (Agitation rate) ต่อการผลิตแซนแทนของถังหมัก (baffled stirred tank reactor) ขนาด 15 ลิตร ที่มีการให้อากาศ 0.33 ปริมาตรต่อลิตรต่อนาที โดยทำการแปรผันความเร็วของการกวนตั้งแต่ 200 ถึง 800 รอบต่อนาที พบว่าที่ความเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณกัมพอๆกับการกวนที่ความเร็ว 800 รอบต่อนาที แต่ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีจะให้ผลผลิตลดลงเกือบ 3 เท่า

1.3.6 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต และการสร้างโพลีแซคคาร์ไรด์ของจุลินทรีย์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างแซนแทน กัม คือ 28-30 °ซ Moraine และ Rogovin (1966) ได้ศึกษาที่อุณหภูมิ 28 °ซ ซึ่งได้ผลดีเช่นเดียวกันกับ Lloski และ Cadmus (1978), Rye และคณะ (1989) ขณะที่งานวิจัยของ Roseiro และคณะ (1991) เสนอว่าควรใช้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ

1.4 การตกตะกอนแซนแทน กัม

McNeely (1966) ทำการตกตะกอนกัมโดยใช้เมทานอล 5 เท่าของสารละลายแซนแทน ในปี 1967 O'Connell ศึกษาเปรียบเทียบสารที่ใช้ในการตกตะกอนกัมโดยใช้แอลกอฮอล์ เช่น เมทธิล เอทธิล ไอโซโปรพิลแอลกอฮอล์ พบว่าการใช้จำนวน 55 ส่วนของแอลกอฮอล์ต่อสารละลายแซนแทน 45 ส่วน จะให้ผลิตภัณฑ์ที่สูงสุด Leder และ Miescher (1967) พบว่าการตกตะกอน 2 ครั้ง โดยการปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ในช่วง pH 5-6 แล้วจึงเติมเมทานอลลงไป 25 % โดยปริมาตร เพื่อตกตะกอนครั้งแรก แล้วจึงเติมโปแตสเซียมคลอไรด์ เพื่อตกตะกอนกัมพร้อมกับเติมเมทานอลลงไป 50 % โดยปริมาตร จะให้กัมที่บริสุทธิ์ขึ้น Buchanan และ Cottle (1973) พบว่าสามารถใช้โปแตสเซียมอลูมินัมซัลเฟตในการตกตะกอนแซนแทนได้เช่นกัน

Sanford และคณะ (1977) พบว่า การตกตะกอนแซนแทนโดยเติมเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ 1 % เอทธิลแอลกอฮอล์ 2 ส่วนโดยปริมาตร จะมีผลทำให้แซนแทนที่มีไพรูเวทสูง (มากกว่า 4 %) มีแรงยึดเกาะกันสูง ตกตะกอนได้ดี ส่วนแซนแทนที่มีไพรูเวทต่ำ (2.5 %) เมื่อตกตะกอนโดยวิธีนี้จะได้ตะกอนที่มีลักษณะด้อยกว่า

ปี 1982 Inkson และ Wilkinson ทำการปรับปรุงวิธีตกตะกอนแซนแทนจากวิธีของ Collin และคณะ (1971) ; Corley และคณะ (1979) โดยเติมตัวทำละลายจำพวกไอโซบิวทานอล (Isobutanol) ไอโซโพรพานอล (Isopropanol) เมทานอล แอลกอฮอล์ อะซีโตน ฯลฯ ลงไปในสารละลายอัตราส่วน 0.8 ต่อ 1 แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 105 °ซ และทำการกรองขณะที่ร้อน หลังจากนั้นเติมตัวทำละลายอีกครั้งด้วยอัตราส่วน 2 ต่อ 1 ของตัวทำละลายต่อสารละลายแซนแทน จะทำให้แซนแทน กัม ตกตะกอนออกมา วิธีนี้จะทำให้ได้กัมที่มีความหนืดและความบริสุทธิ์สูงมาก

1.5 ความสำคัญของกรดไพรูวิคในแซนแทน กัม

มีรายงานว่าความแตกต่างของปริมาณกลุ่มไพรูวิลเป็นสาเหตุหลักทำให้เกิดความแปรผันของคุณภาพแซนแทน Sandford และคณะ (1977) ได้ศึกษาถึงสารละลายแซนแทนที่มีความแตกต่างของปริมาณกรดไพรูวิค พบว่าความหนืดของสารละลายแซนแทนจะแปรผันตามปริมาณกลุ่มไพรูวิกที่มีในโมเลกุลของแซนแทนด้วย นอกจากนี้ความแตกต่างของปริมาณกลุ่มไพรูวิลที่แทนที่บน

019115

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าทางทฤษฎีของความเป็นไปได้ขององค์ประกอบของแซนแทนที่มีกรดไพรูวิก, กรดอะซิติกและปริมาณโมโนแซคคาไรด์ของหน่วยย่อยที่มีโครงสร้างซ้ำกัน (repeating unit) Sanford และคณะ, 1977)

Theoretical[1]	Pyruvic acid		O-Acetyl	D-glucose	D-mannose	D-glucoronic acid
	Type	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	
Theory-1	Max[2]	8.7	4.3	35.6	35.6	19.2
Theory-2	High[3]	4.6	4.5	37.6	37.6	20.3
Theory-3	Low[4]	2.4	4.6	38.7	38.7	20.8
Theory-4	Min[5]	0	4.8	39.8	39.8	21.5

1. กำหนดให้เป็นโมโนแซคคาไรด์ตามรูปที่ 1
2. มีกลุ่มไพรูวิคเกาะทุกๆโมเลกุลสุดท้ายของ D-manose
3. มีกลุ่มไพรูวิคเกาะทุกๆ 2-3 repeating unitของ D-mannose
4. มีกลุ่มไพรูวิคเกาะทุกๆ 4repeating unit ของ D-mannose
5. ไม่มีกลุ่มไพรูวิคเกาะที่โมเลกุลสุดท้ายของ D-mannose เลย

โมเลกุลของแซนแทน กัม จะมีผลให้ได้กัมที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป ซึ่งถ้าทุกตำแหน่งของ D-mannose โมเลกุลสุดท้ายถูกแทนที่ด้วยหมู่ไพรูวิล จะได้เปอร์เซนต์กรดไพรูวิคเฉลี่ยประมาณ 8.7 % (High Pyruvic Xanthan) แต่ถ้ากลุ่มไพรูวิลเข้าแทนที่เฉพาะตำแหน่ง 2,3 และ 4 ของโมเลกุล D-mannose ก็จะได้กัมที่มีเปอร์เซนต์กรดไพรูวิคแตกต่างกันเป็น 4.6 % 2.4 % และ 0 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยทั่วไปแล้วแซนแทน กัม จะมีปริมาณกรดไพรูวิก โดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4-5 % ในขณะที่ปริมาณกลุ่มอะซิติลมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก คืออยู่ในช่วง 4 ถึง 4.5 %

1.6 <u>การขยายขนาดและการพัฒนาการผลิตแซนแทน กัมในถังหมัก</u>

จากการที่แซนแทน กัม เป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ จึงมีการศึกษาวิธีการขยายการผลิตแซนแทนเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมให้ได้ปริมาณเพียงพอสำหรับความต้องการ เริ่มตั้งแต่ปี 1969 Rogovin ได้ศึกษาวิธีการผลิตแซนแทน กัม จาก *Xanthomonas campestris* แบบกึ่งต่อเนื่องในถังหมักซึ่งมี 2.25 % น้ำตาลจากแป้งข้าวโพดเป็นแหล่งต้นคาร์บอน มีการให้อากาศและมีใบพัดกวนตลอดเวลา เมื่อครบ 20 ชั่วโมงของการเริ่มหมักจะมีความหนืด 2200 เซนติพอยซ์ ซึ่งแสดงว่าเซลล์เจริญเต็มที่แล้ว (logarithmic phase) จึงมีการให้อาหารเพิ่มเข้าไปใหม่พร้อมกับชักตัวอย่างของอาหารเดิมออกในอัตราส่วนที่เท่ากันแบบสมดุลย์ พบว่าที่ชั่วโมงที่ 48 ของการหมักจะเข้าสู่สภาวะคงที่ (steady-state) pH 6.25 ความหนืด 5200 เซนติพอยซ์ ได้ปริมาณกัม 27.5 กรัมต่อวัน Rogovin เลี้ยงได้เป็นเวลา 11 วัน หลังจากนั้นเกิดการปนเปื้อนขึ้น (contamination)

Silmon และ Rogovin(1970) ได้รายงานเพิ่มเติมถึงการผลิตแซนแทนแบบต่อเนื่องในถังหมักแบบใบพัดที่มีกลูโคส และยูเรียเป็นสารอาหาร สามารถเลี้ยงได้นานถึง 20 วันจึงเกิดการปนเปื้อน และสังเกตได้ว่า pH และ dilution rate เป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตแซนแทน

ในปี 1982 Weisrock และ Okla ได้ศึกษาการผลิตแซนแทนโดยนใช้ *Xanthomonas campestris* ATCC 31601 แบบวิธีกึ่งต่อเนื่อง (Semi- Continuous) โดยทำการหมักเชื้อในถังหมักจนเชื้อเจริญเติบโตและผลิตแซนแทนได้อย่างสมบูรณ์ จึงทำการชักตัวอย่างออกประมาณ 20-90 เปอร์เซนต์ของปริมาตรทั้งหมดและใส่อาหารใหม่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเข้าไปในถังหมักในปริมาตรที่เท่ากัน จุลินทรีย์ที่ยังคงเหลืออยู่ก็จะเจริญได้ในอาหารใหม่และผลิตแซนแทนได้อีก หลังจากนั้นการหมักก็จะหมักแบบสมบูรณ์อีกทำการชักตัวอย่างและใส่อาหารเข้าไปใหม่ซ้ำดังที่กล่าวแล้ว

ซึ่งเรียกว่า serial culture หรือ serial transfer การหมักแบบกึ่งต่อเนื่องจะไม่มีระยะสมดุลย์ (steady-state) เหมือนการหมักแบบต่อเนื่อง จากผลการทดลองนี้ได้พบว่าเชื้อ *X. campestris* ATCC 31601 สามารถผลิตแซนแทนได้มากกว่า 10 serial transfer โดยไม่มีการลดลงของผลผลิตในแต่ละช่วงแต่อย่างใด เมื่อเทียบกับ *X. campestris* B-1459 ที่ผลิตแซนแทนได้เพียง 4-5 serial transfer เท่านั้นผลผลิตก็จะเริ่มลดลง

สำหรับประเทศไทย ยังไม่มีรายงานว่าสามารถผลิตแซนแทนเพื่อใช้ประโยชน์ภายในประเทศจำเป็นต้องมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์แซนแทน กัม ในรูปต่างๆเป็นมูลค่าปีละหลายสิบล้านบาท (ตารางที่ 1) เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า มีการสั่งแซนแทน กัม เข้ามาใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์ช่วยในการขุดเจาะน้ำมัน เนื่องจากเป็นสารที่มีความหนืดสูงและเป็นสารบริสุทธิ์ที่แยกออกจากน้ำมันได้ง่ายหลังจากการผ่านการกลั่นให้บริสุทธิ์อีกด้วย ในงานวิจัยนี้จึงตั้งวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาและพัฒนากระบวนการผลิตแซนแทน กัม จากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* โดยเริ่มต้นจากการหาสภาวะที่สามารถควบคุมการผลิตกัมให้ได้ปริมาณและคุณภาพสูง แล้วจึงขยายสเกลสู่กระบวนการผลิตแซนแทน กัม ในถังชีวปฏิกรณ์ (Bioreactor) เพื่อนำข้อมูลไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. จำแนกลักษณะและคัดเลือกสายพันธุ์ *Xanthomonas campestris* ที่เหมาะสมกับการใช้ในการศึกษาการเจริญและความสามารถในการผลิตแซนแทน กัม จากสายพันธุ์ *Xanthomonas campestris* ที่ได้รับจากสถาบัน NRRL
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของสายพันธุ์ *Xanthomonas campestris* ในการเจริญและผลิตแซนแทน กัม ในขวดเขย่า
3. ศึกษาวิธีการตกตะกอน คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกัมที่แยกได้จากผลผลิตของการเพาะเลี้ยง *Xanthomonas campestris* ในสภาวะควบคุม
4. ศึกษาวิธีการและสภาวะของการผลิตแซนแทน กัม ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพชนิด Air bubble ขนาดปริมาตร 2 ลิตร ที่ออกแบบขึ้นเอง