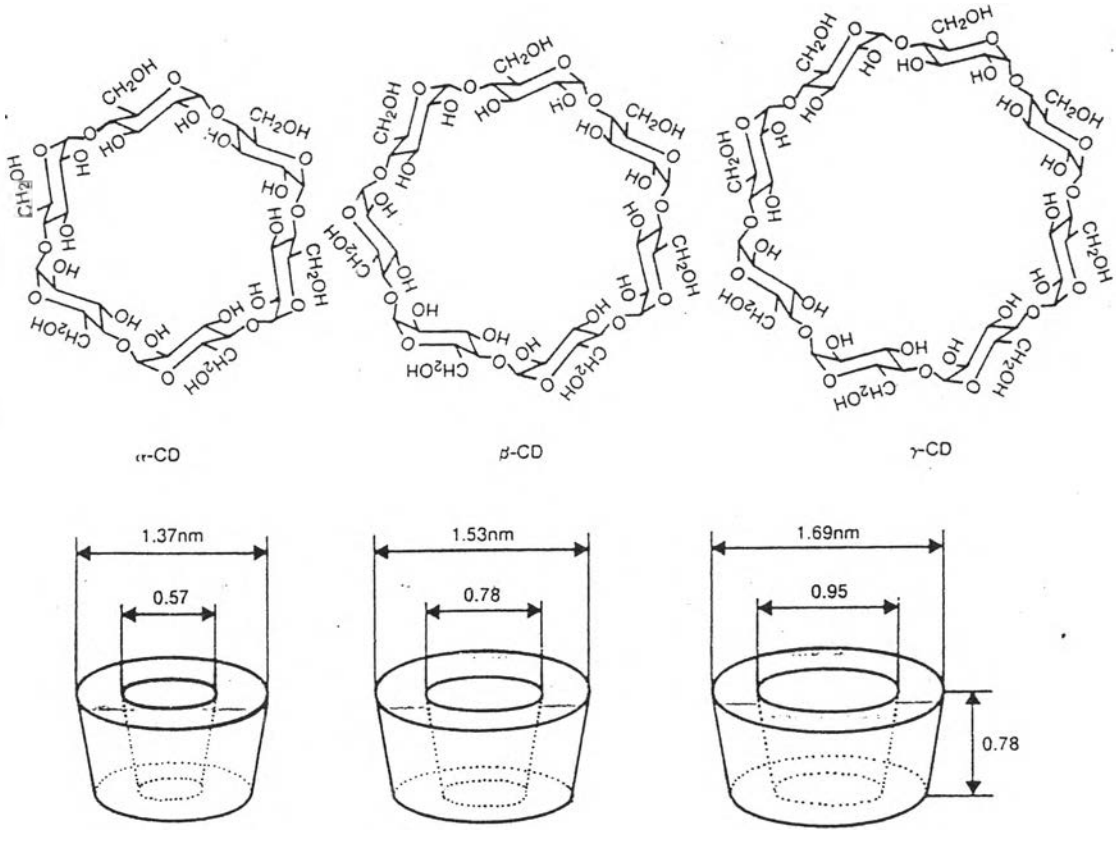
บทที่ 1

# บทนำ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin, CD) เป็นสารโอลิโกแซคคาไรด์ ประกอบด้วยกลูโคสต่อกันเป็นวงแหวนปิดด้วยพันธะ α-1,4 (Schardinger, 1903; French และคณะ, 1965) สารไซโคลเดกซ์ทรินที่สามารถแยกได้ในธรรมชาติมี 3 ชนิด คือ α-, β- และ ɣ- CDs ซึ่งมีกลูโคสจำนวน 6,7 และ 8 หน่วยตามลำดับ จากการที่กลูโคสต่อกันเป็นวงแหวนนี้ทำให้มีโพรงตรงกลางดังรูปที่ 1.1 ภายในโพรงมีสมบัติเป็น hydrophobic เนื่องจากหมู่ C-H และ C-O-C ของกลูโคสจะหันเข้าด้านในของโมเลกุล ทำให้บริเวณนี้สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน แรงแวนเดอร์วาลล์ (Van der Vaal force) และ hydrophobic interaction กับสารบางชนิดทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (inclusion complex) ได้ ส่วนบริเวณผิวภายนอกมีสมบัติเป็น hydrophilic ทำให้ไซโคลเดกซ์ทรินสามารถละลายน้ำได้ ซึ่งสมบัติของไซโคลเดกซ์ทรินแต่ละชนิดได้สรุปไว้ในตารางที่ 1.1 (Szejtli, 1990)

ผลึกของไซโคลเดกซ์ทรินแต่ละชนิดจะมีรูปร่างผลึกต่าง ๆ กัน ผลึกไซโคลเดกซ์ทรินจะไม่อยู่โดดเดี่ยวแต่จะรวมตัวเป็นผลึกร่วมกับโมเลกุลของน้ำ เช่น α-cyclodextrin $\cdot 6H_2O$, β-cyclodextrin $\cdot 11H_2O$, β-cyclodextrin $\cdot 12H_2O$, ɣ-cyclodextrin $\cdot 13.3H_2O$ โดยโมเลกุลของน้ำบางส่วนจะอยู่ภายในโพรงตรงกลางของไซโคลเดกซ์ทริน และบางส่วนจะเกาะอยู่บริเวณรอบนอกโมเลกุล และโมเลกุลของน้ำภายในโพรงตรงกลางนั้นจะถูกแทนที่ด้วยสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ที่มีขนาดพอเหมาะต่อโพรงนั้น ๆ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งยังผลให้สมบัติทางเคมีหรือกายภาพของสารนั้นเปลี่ยนไป จึงมีผู้นำไซโคลเดกซ์ทรินมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ หลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมยา อาหาร เครื่องสำอาง โดยใช้เป็นสารเพิ่มความเสถียร เพิ่มการละลาย ลดการระเหย หรือใช้ในการรักษากลิ่น รส ตลอดจนใช้กำจัดสารที่ไม่ต้องการออกจากสารละลาย (Saenger, 1980; Szejtli,1981; Fromming, 1981) และปัจจุบันได้มีรายงานถึงการนำไซโคลเดกซ์ทรินมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านอื่น ๆ อีกเช่น ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา(catalytic activity) โดยการสังเคราะห์อนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อให้ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์ substituted




<u>รูปที่ 1.1</u> โครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทรินและโพรงว่างภายในโมเลกุล

(Szejtli, 1990)

| | α | β | γ |
|---|---|---|---|
| No. of glucose units | 6 | 7 | 8 |
| Molecular weight | 972 | 1135 | 1297 |
| Solubility in water (g/100ml at r.t.*) | 14.5 | 1.85 | 23.2 |
| $[\alpha]D^{25}$ (optical rotation) | 150+0.5 | 162.5+0.5 | 177.4+0.5 |
| Cavity diameter ($^{o}$A) | 4.7-5.3 | 6.0-6.5 | 7.5-8.3 |
| Height of torus ($^{o}$A) | 7.9-0.1 | 7.9-0.1 | 7.9-0.1 |
| Diameter of outer periphery ($^{o}$A) | 14.6+0.4 | 15.4+0.4 | 17.5+0.4 |
| Approx. cavity volume | | | |
| in 1 mol CD (ml) | 104 | 157 | 256 |
| in 1 g CD (ml) | 0.1 | 0.14 | 0.22 |

* room temperature

ตารางที่ 1.1 สมบัติบางประการของไซโคลเดกซ์ทริน (Szejtli, 1990)

pyrophosphates, substituted phenyl acetates (Marzona และ Roda, 1990; Hennrich และ Cramer, 1965; Bender, 1978) นอกจากนี้ยังมีการนำไซโคลเดกซ์ทรินมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแยก racemic mixture ออกจากกัน ด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้ β-CD column (Florance และคณะ, 1987) ศักยภาพการใช้งานของไซโคลเดกซ์ทรินในปัจจุบันและอนาคตอาจสะท้อนให้เห็นได้จากตาราง 1.2 อนึ่งตลาดของไซโคลเดกซ์ทรินจะสามารถขยายได้มากกว่านี้ ถ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตให้ดียิ่งขึ้น

ไซโคลเดกซ์ทรินผลิตได้จากการย่อยแป้ง ด้วยเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (cyclodextrin glycosyltransferase, CGTase, E.C.2.4.1.19) ซึ่งเอนไซม์นี้จะเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแป้งเป็นไซโคลเดกซ์ทริน โดยมีกลไกการทำงานเป็น 3 แบบ (Bender, 1986) คือ 1) cyclization เป็นการสังเคราะห์วงแหวนปิดของไซโคลเดกซ์ทรินจากโอลิโกหรือโพลีแซคคาไรด์ที่มีปลายเปิด 2) coupling reaction เป็นการสลายไซโคลเดกซ์ทรินเมื่อมีโอลิโกหรือโพลีแซคคาไรด์ตัวอื่นมารับไซโคลเดกซ์ทรินที่ถูกสลายนั้นและเกิดเป็นโอลิโกหรือโพลีแซคคาไรด์ที่มีปลายเปิด เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของ cyclization และ 3) disproportion ซึ่งเป็นการโยกย้ายหมู่ glycosyls ระหว่างโอลิโกหรือโพลีแซคคาไรด์ โดยปฏิกิริยาทั้ง 3 สามารถแสดงได้ดังนี้

$$G_n \underset{\text{coupling}}{\overset{\text{cyclization}}{\rightleftharpoons}} G_{(n-x)} + cG_x$$

$$G_n + G_m \rightleftharpoons G_{(n-x)} + G_{(m+x)}$$

disproportion

เมื่อ $G_n$ และ $G_m$ คือ 1,4-α-D-glucopyranosyl chains

n และ m คือ D-glucopyranosyl residues

x คือ ส่วนของ 1,4-α-D-glucopyranosyl chain

$cG_x$ คือ cyclodextrins

| Application | Market (ton year$^{-1}$) | |
|---|---|---|
| | 1989 | Expect for 1995 |
| Pharmaceutics | 50 | 2,000 |
| Food | 700 | 2,500 |
| Cosmetics | 50 | 500 |
| Agriculture | 10 | 100 |
| Chemical industry (separation, biotransformations, catalysis) | 30 | 300 |
| Other purposes (e.g. diagnostics) | 10 | 200 |

Source:Consortium fur electrochemische Industrie GmbH. (Schmid, 1989)

ตารางที่ 1.2 ปริมาณการใช้ไซโคลเดกซ์ทรินในตลาดโลก

ปฏิกิริยา cyclization จะเกิดได้ดี เมื่อสับสเตรทเป็นโอลิโกหรือโพลีแซคคาไรด์ที่มีสายยาว โดยมีโมเลกุลลูกโซ่ของกลูโคส 16-80 หน่วย (Szejtli, 1988) และมีค่า dextrose equivalent ต่ำ แต่เมื่อมีโอลิโกหรือโพลีแซคคาไรด์สายสั้นหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น glucose, maltose, α-methyl glucoside, sucrose, cellobiose และ maltobionic acid เป็นต้น จะทำให้เกิดปฏิกิริยา coupling มากกว่า ส่วนปฏิกิริยา disproportion จะเกิดเมื่อสับสเตรทเป็นแป้งที่มีสายยาวโดยจะไม่มีผลกระทบต่อการเกิดไซโคลเดกซ์ทริน

เอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส(CGTase) ผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด แต่ส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* เช่น *B. macerans* (Depinto และ Campbell, 1968; Lane และ Pirt, 1973), *B. circulans* (Okada และ Kitahata, 1973), *B. stearothermophilus* (Shiosaka และ Fumiya, 1973), Alkalophilic *Bacillus* sp. (Nakamura และ Horikoshi, 1976) ส่วนแบคทีเรียสกุลอื่นที่มีรายงานได้แก่ *K. pneumoniae* (Bender, 1977), *Thermoanaerobacter* sp. ATCC 53627 (Starnes, 1990) แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ CGTase แล้วขับออกมานอกเซลล์โดยเอนไซม์ที่แต่ละสายพันธุ์ผลิตอาจมีสมบัติต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1.3

เอนไซม์ CGTase จากแบคทีเรียต่างสกุลหรือสายพันธุ์นอกจากจะมีสมบัติต่างกันบางอย่าง เช่น ช่วงการทำงานที่ pH ต่างกัน ความทนต่อ pH และอุณหภูมิ น้ำหนักโมเลกุลแล้วที่สำคัญคือ เอนไซม์ CGTase เหล่านี้ ยังอาจผลิตไซโคลเดกซ์ทรินทั้ง 3 ชนิด ในอัตราส่วนต่างกัน เช่น *B. macerans* (Depinto และ Campbell, 1968) และ *B. circulans* (Pongsawasdi และ Yakisawa, 1987) จะผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนของ α : β : ɣ-CD เป็น 2.7:1:1 และ 1:10.5:0 ตามลำดับ ซึ่งจากตารางที่ 1.3 จะเห็นว่าเอนไซม์ CGTase ส่วนใหญ่จะผลิต β-CD เป็นผลิตภัณฑ์สำคัญ ซึ่งทำให้มีรายงานการผลิตและการใช้งานของ β-CD อย่างกว้างขวางมากกว่าไซโคลเดกซ์ทรินชนิดอื่น ในปัจจุบันได้มีความพยายามในการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่ผลิต ɣ-CGTase มากขึ้น เนื่องจาก ɣ-CD มีศักยภาพสูงกว่า β-CD ในการใช้งานในอุตสาหกรรม เพราะ ɣ-CD มีโพรงใหญ่และละลายน้ำได้ดีกว่าไซโคลเดกซ์ทรินตัวอื่น ๆ ปัจจุบันมีรายงานเกี่ยวกับบางสายพันธุ์ที่ผลิต ɣ-CGTase

| Organism | Predominant product | Optimum pH (activity) | Mol. wt. | pI | Reference |
|---|---|---|---|---|---|
| *B. stearothermophilus* | α-CD | 6 | 68,000 | 4.5 | Kitahata และ Okada (1982) |
| *K. pneumoniae* M 5al | α-CD | 6-7.2 | 68,000 | 4.8 | Bender (1982) |
| *B. megaterium* | β-CD | 5-5.7 | ND | 4.6 | Kitahata และ Okada (1974) |
| Alkalophilic Bacillus 38-2* | β-CD | 1)4.6 | 88,000 | 5.4 | Nakamura และ Horikoshi (1976) |
| | | 2)7.0 | 85,000-88,000 | 5.3 | |
| | | 3)9.5 | 85,000-88,000 | 5.4 | |
| Micococcus sp. | β-CD | 5.8 | 88,000 | 4.2 | Yagi และคณะ (1980) |
| Alkalophilic Bacillus 17-1 | β-CD | 6 | 74,140 | ND | Yamamoto และคณะ (1972) |
| *B. firmus/lentus* 290-3 | γ-CD | 6.8 | 75,000 | 4.1 | Englbrecht (1990) |

ND, ไม่มีข้อมูล

* แบคทีเรียผลิต CGTase ที่มี optimum pH 3 ค่า โดยอยู่ในช่วงกรด เป็นกลางและเบส

ตารางที่ 1.3 สมบัติบางประการของ เอนไซม์ CGTase

เช่น Kato และ Horikoshi (1986) พบ *B. subtilis* 313 และ Englbrecht และคณะ (1990) คัดเลือกได้สายพันธุ์ *B. firmus/lentus* 290-3 เป็นต้น

ถึงแม้ว่าไซโคลเดกซ์ทรินจะมีศักยภาพในการใช้งานได้หลายประเภท แต่การนำไซโคลเดกซ์ทรินมาใช้ในอุตสาหกรรมจริง ๆ ยังมีข้อจำกัดอยู่มาก โดยข้อจำกัดประการหนึ่งคือราคาของไซโคลเดกซ์ทรินยังค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงมีผู้พยายามคิดหาวิธีที่จะลดต้นทุนในการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินลงให้ได้มากที่สุดไม่ว่าจะเป็นการหาสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ CGTase ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง เช่น สายพันธุ์ *Thermoanaerobacter* sp.(Starnes, 1990) เพื่อเพิ่มความเสถียรในการทำงานของเอนไซม์ในระหว่างกระบวนการเร่งปฏิกิริยา หรือการหาแบคทีเรียที่ผลิตแต่ไซโคลเดกซ์ทรินชนิดที่ต้องการเท่านั้น และนอกจากนี้ยังได้มีการนำเทคนิคพันธุวิศวกรรมมาใช้ในการพัฒนาวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ CGTaseให้ได้ปริมาณมากขึ้น

ในเชิงอุตสาหกรรมการผลิตเอนไซม์ CGTaseในถังหมักก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะสามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้ในปริมาณสูง ปัจจัยสำคัญที่จะต้องคำนึงถึง คือการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไม่ว่าจะเป็นแหล่งอาหาร เช่น แหล่งต้นคาร์บอน แหล่งต้นไนโตรเจน pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อหรือ อุณหภูมิ ซึ่ง Makela และคณะ (1990) พบว่าเมื่อเลี้ยง *Bacillus circulans* var.*alkalophilus* (ATCC 21783) ในถังหมักขนาด 10 ลิตร แบคทีเรียจะมีรูปแบบการเจริญและการผลิตเอนไซม์คล้ายคลึงกับเมื่อเลี้ยงแบคทีเรียนี้ในขวดเขย่า นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ เช่นกระบวนการผลิตของถังหมัก ซึ่งมีทั้งแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง อัตราการป้อนสับสเตรท อัตราการกวน อัตราการป้อนอากาศ ปัจจัยเหล่านี้ล้วนแต่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ CGTase ทั้งสิ้น

นอกจากการเพิ่มผลผลิตไซโคลเดกซ์ทรินจะมุ่งไปที่ขั้นตอนการผลิตเอนไซม์ CGTase แล้ว ยังได้มีผู้สนใจต่อขั้นตอนการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินเองด้วย ดังเช่นชนิดของ solvent สำหรับตกตะกอนไซโคลเดกซ์ทรินออกไประหว่างการเกิดปฏิกิริยา (Starnes, 1990) และอีกวิธีหนึ่งที่มีผู้ศึกษากันมากในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาคือ การตรึงเอนไซม์ CGTase เพื่อที่จะทำให้สามารถใช้เอนไซม์ผลิตไซโคลเดกซ์ทรินได้หลายครั้ง และผลิตไซโคลเดกซ์ทรินอย่างต่อเนื่อง

การตรึงเอนไซม์มีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีจะมีผลต่อคุณสมบัติของเอนไซม์ที่ถูกตรึงต่างกัน การตรึงเอนไซม์สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ การตรึงเอนไซม์กับตัวค้ำที่

เป็นของแข็งด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent attachment to support) หรือแรงดูดซับ (adsorption) ส่วนอีกวิธีคือการดักจับ (entrapment) เอนไซม์ไว้ใน matrix หรือ lattice ของพอลิเมอร์หรือ semi-permeable membrane การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนท์จะเป็นการใช้พันธะโควาเลนท์ระหว่างเอนไซม์และตัวค้ำ โดยตัวค้ำจะต้องมีหมู่ฟังก์ชันอยู่ด้วย ส่วนการตรึงโดยใช้แรงดูดซับจะแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ การดูดซับทางกายภาพ (physical adsorption) โดยตัวค้ำที่นิยมใช้คือ activated carbon, silica gel, alumina เป็นต้น ส่วนการดูดซับอีกประเภทหนึ่งจะอาศัยแรงระหว่างประจุ (ionic binding) ของตัวค้ำและเอนไซม์ ซึ่งตัวค้ำที่นิยมใช้คือ CM-cellulose, amberlite และ DEAE-cellulose เป็นต้น การจะเลือกวิธีใดในการตรึงเอนไซม์จะต้องพิจารณาหลายปัจจัย เช่น แอคติวิตีของเอนไซม์หลังถูกตรึง การใช้งาน การ regenerate เอนไซม์ และราคาต้นทุนการผลิต ข้อดีและข้อเสียของแต่ละวิธีได้สรุปไว้ในตารางที่ 1.4

การพิจารณาวิธีที่เหมาะสมต่อการตรึงเอนไซม์นั้นจะต้องพิจารณาถึงผลของการตรึงเอนไซม์ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์นั้น โดยถ้าสภาวะที่ใช้ในการตรึงรุนแรงเกินไป อาจทำให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีได้ นอกจากนี้ยังต้องพิจารณาถึงสภาวะของเอนไซม์ที่ถูกตรึงแล้วจะเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์หรือไม่ เช่น ถ้าใช้วิธีการดักจับเอนไซม์ (entrapment) เอนไซม์จะต้องเข้าไปอยู่ใน lattice ซึ่งถ้าเป็นกรณีของเอนไซม์ CGTase ที่มีแป้งเป็นสับสเตรทแล้ว แป้งซึ่งมีโมเลกุลใหญ่อาจไม่สามารถผ่านเข้าไปถึงเอนไซม์ได้ และที่สำคัญสำหรับการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในระดับอุตสาหกรรมนั้น ค่าใช้จ่ายในการตรึงเอนไซม์ควรจะต่ำ ซึ่งการตรึงเอนไซม์โดยใช้ตัวค้ำนั้นค่าใช้จ่ายจะค่อนข้างต่ำกว่าการดักจับ และนอกจากนี้การตรึงเอนไซม์กับตัวค้ำโดยอาศัยแรงดูดซับยังสามารถ regenerate เอนไซม์ได้ง่ายด้วย ซึ่งการดักจับและการตรึงโดยพันธะโควาเลนท์ไม่สามารถทำได้ ดังนั้นการจะเลือกวิธีใดในการตรึงเอนไซม์จะต้องพิจารณาปัจจัยหลายอย่างประกอบกัน สำหรับการตรึงเอนไซม์ CGTase นี้ มีผู้ทำการศึกษากันมาก โดยมีวิธีการตรึงหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้คือการตรึงโดยใช้แรงดูดซับ (adsorption) โดย Kato และ Horikoshi (1984)ได้ตรึงเอนไซม์บนตัวค้ำที่สังเคราะห์ขึ้นมา (synthetic adsorption resin) DIAON HP-20 ซึ่งการตรึงเอนไซม์บนตัวค้ำนี้ทำให้ acid CGTase สูญเสียแอคติวิตีไป แต่เอนไซม์ที่ถูกตรึงมีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงได้ดีกว่าเอนไซม์อิสระและเอนไซม์สามารถทำงานได้นานถึง 2 สัปดาห์โดยไม่สูญเสียแอคติวิตี ส่วน

| Characteristic | Carrier binding method | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Physical adsorption | Ionic adsorption | Covalent binding | Cross-linking method | Entrapping method |
| Preparation | Easy | Easy | Difficult | Difficult | Difficult |
| Enzyme activity | Low | High | High | Moderate | High |
| Binding force | Weak | Moderate | Strong | Strong | Strong |
| Regeneration | Possible | Possible | Impossible | Impossible | Impossible |
| General applicability | Low | Moderate | Moderate | Low | High |
| Cost of immobilization | Low | Low | High | Moderate | Low |

ตารางที่ 1.4 เปรียบเทียบคุณสมบัติของวิธีตรึงเอนไซม์แต่ละวิธี (Chibata, 1978)

Nakamura และ Horikoshi (1977) ได้ตรึงเอนไซม์บน vinylpyridine copolymer ซึ่งเป็น ion-exchange resin พบว่าเอนไซม์ที่ถูกตรึงแล้ว จะมีความเสถียรต่อ pH และอุณหภูมิคงเดิม แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะสูงขึ้นดังตารางที่ 1.5 นอกจากนี้ Yang และ Su (1989) ได้ตรึงเอนไซม์บน chitosan โดยใช้พันธะโคเวาเลนท์ ซึ่งทำให้เอนไซม์มีความเสถียรต่ออุณหภูมิดีขึ้น และเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงนั้นสามารถผลิตไซโคลเดกซ์ทรินซ้ำกันได้ถึง 4 ครั้ง แต่เมื่อผลิตแบบต่อเนื่องแล้วเอนไซม์จะมี half life เพียง 6 วัน

ประเทศไทยมีผลิตผลหลักที่สำคัญจากภาคเกษตรกรรมคือ ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง ปัจจุบันได้มีการมุ่งเน้นที่จะทำการแปรรูปผลิตผลเหล่านี้ให้เป็นสารที่มีคุณค่าและมีราคาสูงขึ้น การแปรรูปแป้งให้เป็นไซโคลเดกซ์ทรินเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่รองรับ จึงน่าจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อเกษตรกรและประเทศไทยโดยส่วนรวม ซึ่งนอกจากจะเป็นการเพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจแล้ว ยังเป็นการลดต้นทุนการผลิตในอุตสาหกรรม และลดการพึ่งพาต่างประเทศลงได้อีกด้วย

โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยต่อเนื่องจากงานที่กลุ่มวิจัยที่ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ทำการศึกษาเชื้อ *Bacillus* A11 ที่แยกจากดินในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และสามารถผลิตเอนไซม์ CGTase ได้ในปริมาณสูง (Pongsawasdi และ Yakisawa, 1987; วัลยา, 2534) งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการผลิตเอนไซม์ CGTase โดย *Bacillus* A11 โดยเน้นการใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อและทำการเลี้ยง *Bacillus* A11 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีวัตถุประสงค์ดังต่อไปนี้

1. คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ CGTase ด้วย *Bacillus* A11 ในระดับขวดเขย่า และเน้นการใช้แป้งข้าวเจ้าทดแทน soluble starch ซึ่งต้องซื้อจากต่างประเทศ

2. หาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ CGTase โดย *Bacillus* A11 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

3. หาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ CGTase บน DEAE-cellulose ซึ่งเป็น anion exchanger รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบสมบัติของเอนไซม์ก่อนและหลังตรึง

4. หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน โดยใช้เอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงนั้น

| Property | Immobilized CGTase | Native CGTase |
|---|---|---|
| Optimum pH | 5.5-6.0 | 4.5-5.0;7.5-8.5 |
| Optimum temperature, °c | 55 | 50 |
| Stable pH[a] | 6.0-8.0 | 6.0-9.0 |
| Stable temperature[b], °c | Up to 60 | Up to 60 |
| Yield of CDs from potato starch[c], % | 75 | 76 |

[a] For 30 min at 60 °c, [b] For 30 min at pH 7.0, [c] Reaction at pH 8.0

ตารางที่ 1.5 สมบัติของเอนไซม์ CGTase จาก Bacillus sp. No 38-2 (Nakamura และ Horikoshi, 1977) เปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์อิสระกับเอนไซม์ที่ถูกตรึง