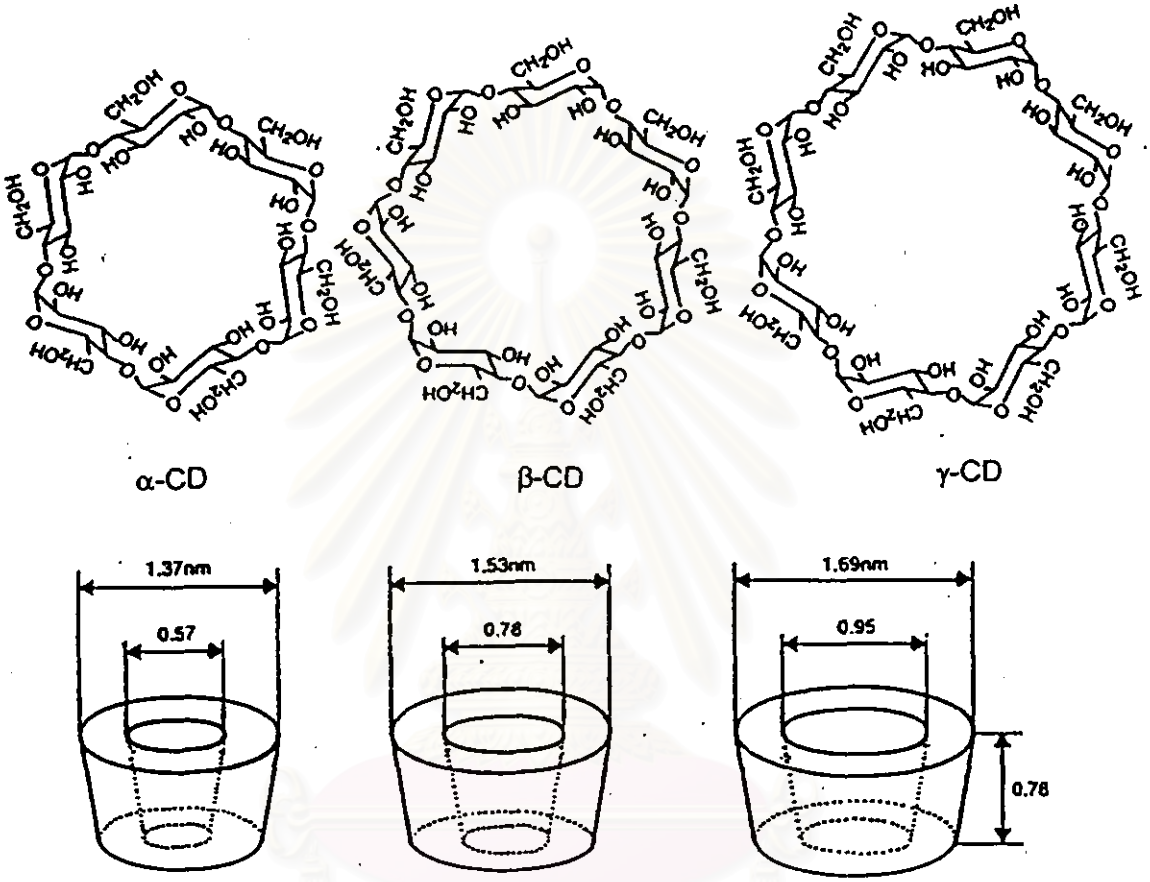
บทที่ 1

บทนำ

ไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrins, Cycloamyloses, Cyclomaltose-Oligoses, Schardinger dextrins, CDs) เป็นสารประกอบประเภทโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มีลักษณะเป็นวงแหวนปิด (Close ring structure) มีโครงสร้างประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 Glycosidic ไซโคลเดกซ์ทรินที่เกิดขึ้นถูกสังเคราะห์จากไซโคลเดกซ์ทรินกลูคาโนทรานสเฟอเรส (Cyclodextrin Glucanotransferase ; CGTase : 1,4-α-D-glucan :1,4-α-D-glucopyranosyl transferase; E.C.2.4.1.19) ไซโคลเดกซ์ทรินที่พบทั่วไปในธรรมชาติ สามารถแบ่งได้ 3 ชนิด ตามโครงสร้างที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคส 6, 7 และ 8 หน่วย ซึ่งมีชื่อเรียกว่า α-CDs (Cyclohexaamylose), β-CDs (Cycloheptaamylose) และ γ-CDs (Cyclooctaamylose) ตามลำดับ (รูปที่ 1) (French และ Rundle, 1942 ; Frendenberg และ Cramer, 1948)

ต่อมา ได้มีการค้นพบไซโคลเดกซ์ทรินที่มีวงแหวนขนาดใหญ่ขึ้น ประกอบด้วยกลูโคส 9, 10, 11, 12 และ 13 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 Glycosidic ได้แก่ δ-CDs (Cyclonanoamylose) , ε-CDs (Cyclodecaamylose), ζ,-CDs (Cycloundecamylose), η-CDs (Cyclododecaamylose), และ θ-CDs (Cyclotridecamylose) (French และคณะ, 1965) สำหรับโครงสร้างหน่วยย่อยกลูโคสที่ต่ำกว่า 6 หน่วยนั้น ไม่สามารถประกอบเป็นไซโคลเดกซ์ทรินได้ เนื่องจากเส้นผ่าศูนย์กลางของ Cycloamylose ที่มีกลูโคส 5 หน่วย หรือต่ำกว่านั้นไม่เหมาะสมทำให้หมู่ CH_2OH เกิด Steric overlabs ระหว่างกันขึ้นทำให้เกิดแรงต้านการม้วน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 1 โครงสร้างไซโคลเดกซ์ทรินชนิด α-CD, β-CD และ γ-CD ตามลำดับ (Szjetli, 1988)

(Cyclization) (Sundararajan และ Rao, 1970) แม้ว่าไซโคลเดกซ์ทรินที่มีวงแหวนขนาดใหญ่นี้ยังไม่เป็นที่ต้องการใช้เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำ รวมทั้งการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนต่ำ(Inclusion Complex) (Szejtli, 1994) อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาโครงสร้างของ δ-CD (Fujiwara, 1990) สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของ δ-CD (Miyazawa, 1993) รวมถึงการทำให้บริสุทธิ์และศึกษาลักษณะของ η-CD (Tomohiro และคณะ, 1994) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาต่อไป (ตารางที่1)

เมื่อพิจารณาโครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทริน จะเห็นว่ามีลักษณะเคมีและกายภาพของโมเลกุลเป็นวงแหวน มีโพรงอยู่ตรงกลาง ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของ Functional group อย่างจำเพาะ ทำให้สมบัติของ α– CDs , β-CDs และ γ- CDs แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น โครงสร้างของ β-CD (รูปที่2) หมู่ OH ของ C_2 และ C_3 O(2)H และ O(3)H จะอยู่ด้านในของวงแหวน หมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตัวที่สองของกลูโคสแต่ละโมเลกุล สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตัวที่สามของกลูโคสที่อยู่ติดกันได้เกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า Secondary belt ของพันธะไฮโดรเจนทั้งเจ็ดพันธะ ทำให้ β-CD มีความเสถียรมากที่สุด ในขณะที่ α–CD จะมีโมเลกุลของกลูโคสหนึ่งหน่วยที่อยู่ในตำแหน่งบิดงอ (Distorted position) ทำให้สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลูโคสที่อยู่ติดกันได้เพียง 4 พันธะ ส่วน γ-CD มีขนาดของโพรงที่ใหญ่ขึ้นโมเลกุลของน้ำเข้าไปภายในโพรงได้มากทำให้มีความยืดหยุ่นและละลายได้ดี (Szejtli, 1988) ในขณะที่หมู่ OH ของ C_6 และ C_3 O(6)H จะอยู่ด้านนอกโพรงของโมเลกุลจึงมีลักษณะเป็น Hydrophilic สามารถละลายน้ำหรือสารละลายโพลาร์ได้ดี ส่วนด้านในของวงแหวนมี Hydrogen atom และ Glycoside oxygen atoms ทำให้มีสมบัติเป็น non-polar หรือ Hydrophobic สามารถจับกับสารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์บางชนิด (Guest) ที่มีขนาดโมเลกุลเหมาะสมกับขนาดโพรงของไซโคลเดกซ์ทริน (Host) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (รูปที่ 3) ซึ่งจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน แรงวานเดอร์วาลล์ (Van der Waals)

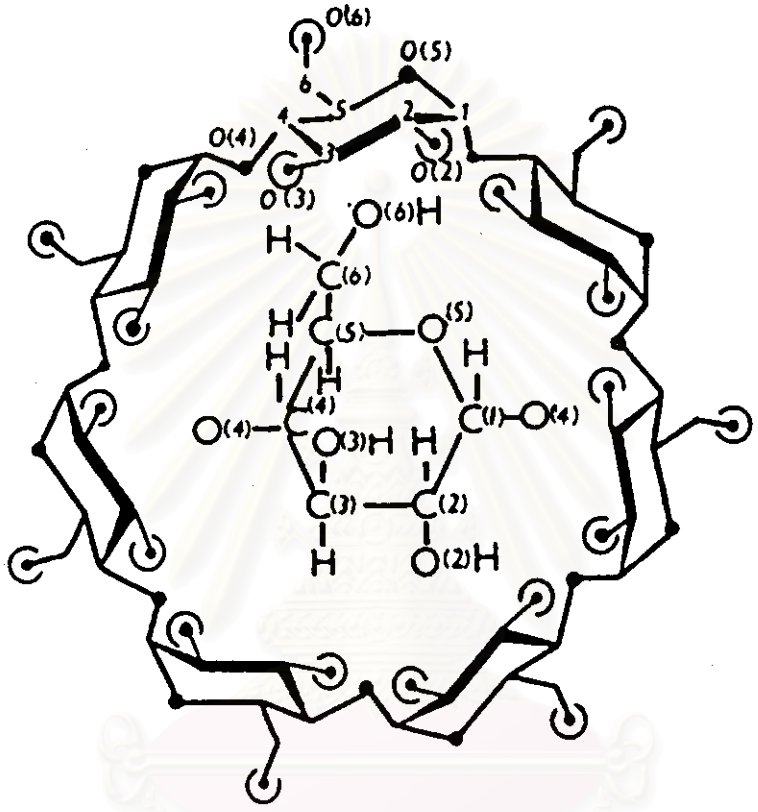
ตารางที่ 1 คุณสมบัติบางประการของไซโคลเดกซ์ทริน (Szejtli, 1988)

คุณสมบัติ	α-CD	β-CD	γ-CD	δ-CD
Member of glucose unit	6	7	8	9
Molecular Weight	973	1,135	1,297	1,459[a]
Cavity Dimensions :				
Cavity Diameter (A°)	4.7-5.2[b]	6.0-6.4[b]	7.5-8.3[b]	10.3-11.2[c]
Cavity Depth (A°)	7.9±0.1	7.9±0.1	7.9±0.1	-
Cavity Volume (A°)	174	262	472	-
Solubility in Water (g/100ml at 25°C)	14.5	1.85	23.2	8.19
Crystal form from Water	hexagonal plates	monoclinic pavalelograms	quadratic prism	-
Surface tension (mN/m CD 0.1 % in water at 25°C)	73	73	73	72
Half life of ring opening(hours)	6.2	5.4	3.0	1.1
Specific Rotation-$[\alpha]_D^{25}$	+150.5	+162.5	+177.4	+187.5

(a) Determined by FAB-MS

(b) K. Uekama และ Yakugaku Zasshi, 1981

(c) T. Fujiwara, N. Tanaka and Kobayashi S., 1990 ; Chem Lett:739.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

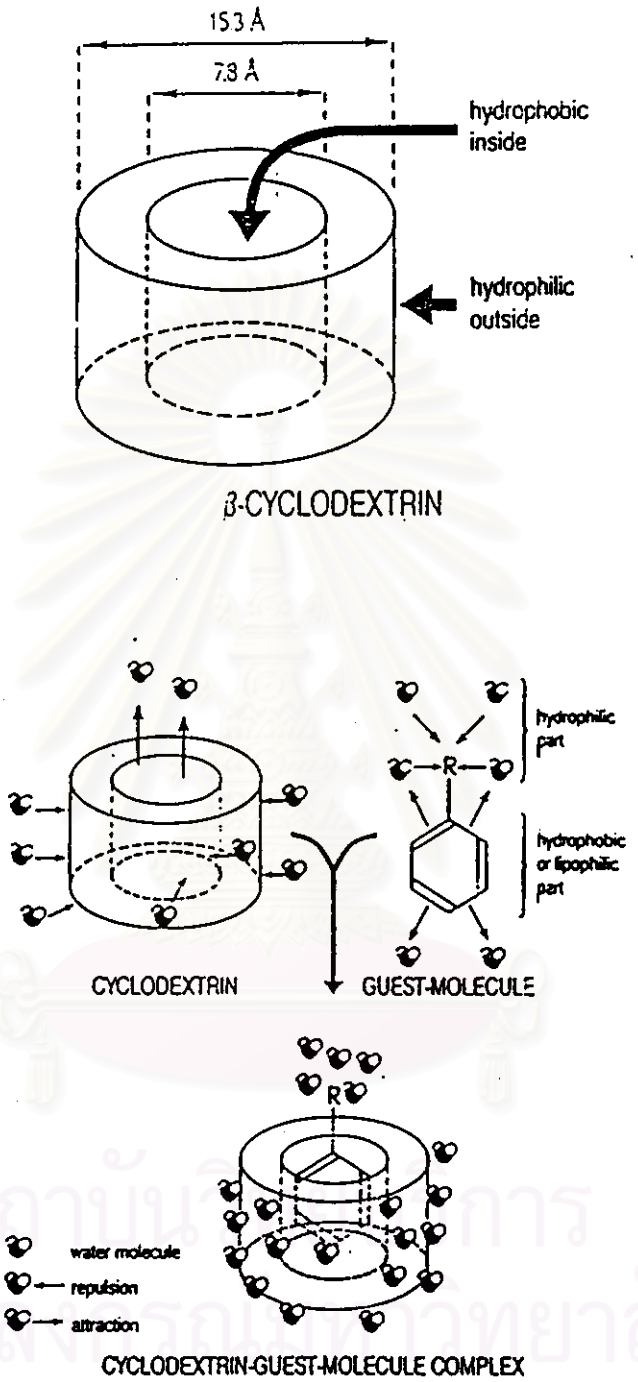
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างการจัดเรียงตัวของ β-CD (Keulemansova, 1982)

ห้องสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

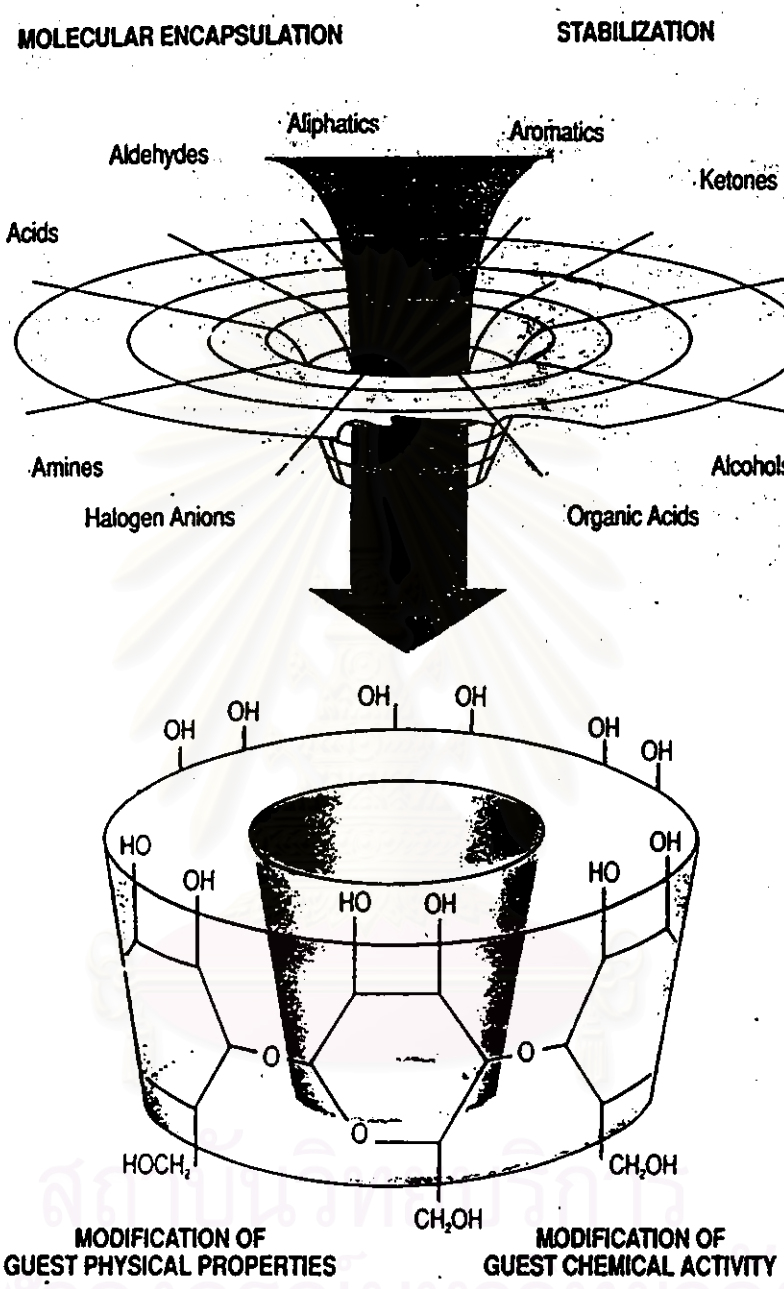
ไดโพล (Dipoles), London Dispersion force (E. Smolkova-keulemansova, 1982) และ Hydrophobic Interactions (Komiyama และ Bender, 1984) โมเลกุลของ Guest นี้เป็นได้ทั้งสารประกอบ Non-Polar, Aromatic Hydrocarbon รวมทั้งสารประกอบ Polar เช่น acids และ amines (รูปที่4)

ได้มีการนำไซโคลเดกซ์ทรินมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆมากมายเช่น อุตสาหกรรมอาหาร โดยนำไปใช้ในการปรับปรุงรักษากลิ่น รส ลดความขมของอาหาร ช่วยป้องกันการเสียสภาพของสารต่างๆ อันเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับแสงอัลตราไวโอเลต เพิ่มความสามารถในการละลายของสารประกอบประเภทไฮโดรโฟบิกในสารละลายโพลาร์หรือน้ำ ช่วยให้สารระเหยประเภทต่างๆ มีความเสถียรในรูปของแข็งมากขึ้น ช่วยเปลี่ยนรูปของของเหลวให้อยู่ในรูปผง (Powderization) และเป็น Antioxidants ในอุตสาหกรรมยาไซโคลเดกซ์ทรินจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของยาโดยทำหน้าที่เป็นระบบขนส่งยาไปยังอวัยวะเป้าหมาย ส่วนในอุตสาหกรรมเคมีไซโคลเดกซ์ทรินจะใช้ในการเตรียมการแยกและการทำให้สารบริสุทธิ์ นอกจากนี้ไซโคลเดกซ์ทรินยังใช้ในการกำจัดสารที่ไม่ต้องการออกได้ เช่น ยาฆ่าแมลง (Saenager, 1980)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 แสดงการเกิด **Inclusion Complex** ของไซโคลเดกซ์ทรินกับสารอื่น **(Janssen, 1992)**

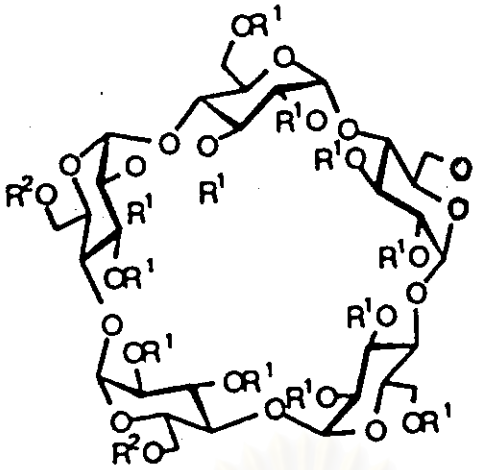


รูปที่ 4 แสดงการเกิด **Modification of Guest Physical Properties และ Guest Chemical Activity (Amaizo, 1993)**

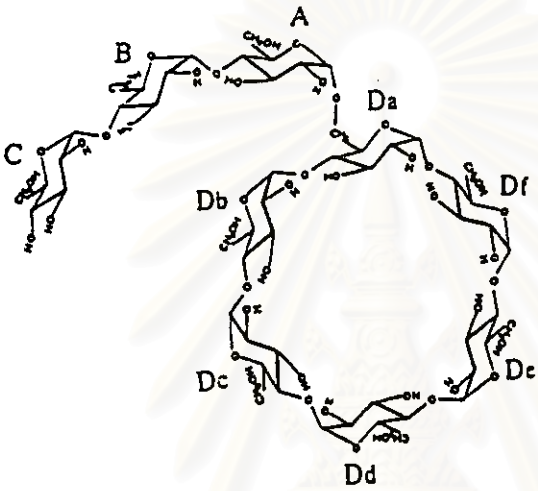
ในปัจจุบันได้มีการสร้างอนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin derivatives) โดยการแทนที่หมู่ไฮโดรเจนของไซโคลเดกซ์ทรินด้วยหมู่ functional อื่นๆ เช่น หมู่เมทิล, การเติม Branched chain หรือมีการเชื่อมโมเลกุลของไซโคลเดกซ์ทรินเข้าด้วยกัน (CD-polymer) (รูปที่5) อนุพันธ์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่ได้จากการแทนที่ด้วยหมู่ functional อื่นๆ มีสมบัติเปลี่ยนแปลงไป เช่น การแทนที่หมู่ไฮดรอกซิล(Hydroxyl group) ด้วยหมู่เมทิล (Methyl group) ในไซโคลเดกซ์ทริน ทำให้เกิดเป็นเมทิลเลท-ไซโคลเดกซ์ทริน (Methylated cyclodextrin) ซึ่งละลายน้ำได้ดีขึ้นและมีความเสถียรมากขึ้น (Cusa and Reggiani, 1979)

ส่วน Branched-CD ได้จากการที่กลูโคส (Glucose; G), มอลโตส (Maltose; G_2), มอลโตไตรโอส (Maltotriose; G_3) จับกับไซโคลเดกซ์ทรินด้วยพันธะ α-1,6-D-glycosidic เกิดเป็น G-α-CD, G-β-CD และ di-G2-β-CD โดยปฏิกิริยาที่เร่งโดย CGTase จาก *Bacillus ohbenesis* (Koizumi และ Utamura, 1986) นอกจากนั้น Pullanase และ Isomerase ก็สามารถเร่งปฏิกิริยาได้เช่นกัน (Abe และคณะ, 1988) Branched-CD เหล่านี้จะมีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น

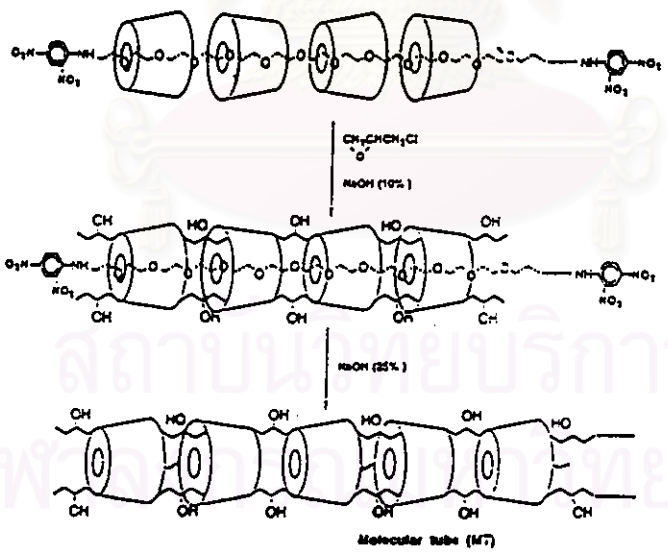
สมบัติเฉพาะของไซโคลเดกซ์ทรินยังคงอยู่เช่นเดิม เช่น เมื่อไซโคลเดกซ์ทรินอยู่ในรูปของไซโคลเดกซ์ทรินโพลีเมอร์ (Cyclodextrin polymer ; CD-polymer) ซึ่งอาจเป็นโพลีเมอร์ของไซโคลเดกซ์ทรินชนิดเดียว(Homopolymer)หรือหลายชนิดประกอบกันเข้าก็ได้ (Copolymers) จะทำให้ไม่สามารถละลายน้ำได้ แต่สมบัติเฉพาะของไซโคลเดกซ์ทรินยังคงอยู่เช่นเดิม สามารถนำมาใช้เป็น Stationary phase ใน Liquid Chromatography ตัวอย่างเช่น α–CD , β-CD และ γ- CD polymer ใช้ในการแยก Aromatic amino acids (phenylalanine, tyrosine, tryptophan) ออกจาก non-aromatic acids (lysine, alanine) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ



A



B



C

รูปที่ 5 อนุพันธ์ชนิดต่าง ๆ ของไซโคลเดกซ์ทริน (Wacker, 1994 : Ensulko, 1994)

A. substitute CD (R = functional group)

B. branched CD

C. CD-polymer

จากประโยชน์ของไซโคลเดกซ์ทรินที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้ความต้องการใช้ไซโคลเดกซ์ทรินมีปริมาณสูงขึ้น ไซโคลเดกซ์ทรินผลิตได้จากการไฮโดรไลส์แป้งหรือโอลิโกแซคคาไรด์โดยไซโคลเดกซ์ทรินกลูคาโนทรานสเฟอเรส (CGTase) CGTase สามารถแบ่งออกได้เป็นสามชนิด คือ α-, β- และ γ- CGTase ตามชนิดของไซโคลเดกซ์ทรินที่ผลิตได้เป็นส่วนใหญ่ โดยปกติ CGTase สามารถผลิต CDs ได้ทั้ง α–CDs , β-CDs และ γ- CDs แต่สัดส่วนของ CDs แต่ละชนิดจะต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดและแหล่งของเอนไซม์

จากการศึกษาการทำงานของเอนไซม์พบว่า CGTase สามารถทำงานได้ 3 แบบคือ Cyclization, Coupling และ Disproportionation (Okada และ Kitahara, 1975) ดังแสดงในปฏิกิริยา

$$Gn \underset{\text{Coupling}}{\overset{\text{Cyclization}}{\rightleftharpoons}} G(n-x)+cGx$$

$$Gm+Gn \xrightarrow{\text{Disproportionation}} G(m-y)+G(n+y)$$

Gm, Gn = α-1,4-D-glucopyranosyl Chains

m, n, y = α-D-glucosylpyranosyl residues

cGx = Cyclodextrin (x=6,7 หรือ 8)

จากกลไกการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวข้างต้น สรุปได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สรุปกลไกการทำงานของ CGTase (Okada and kitahara, 1975)

ปฏิกิริยา	ทิศทางการเกิดปฏิกิริยา
Cyclization	Starch ⟶ Cyclodextrins
Coupling	Cyclodextrin+Glucose⟶Oligosaccharide terminated at the reducing end by the added glucose
Disproportion	$(\text{Oligosaccharide})_m+(\text{Oligosaccharide})_n\rightarrow$ Various oligosaccharides

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปฏิกิริยา Cyclization เป็นปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไซโคลเดกซ์ทริน และเกิดปฏิกิริยาได้ดีเมื่อสับเสตรตเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มีกลูโคส 16-80 หน่วย (residues) ถ้าโมเลกุลของกลูโคสเป็นลูกโซ่น้อยกว่า 14 หน่วย เอนไซม์จะเร่งปฏิกิริยา Coupling ได้ดี ในทางกลับกันหากสับสเตรทที่มีความยาวมากกว่า 100 หน่วย ปฏิกิริยา Disproportionation จะเกิดได้ดีขึ้น ซึ่งปฏิกิริยาทั้ง 3 แบบนี้จะเกิดควบคู่พร้อมกันไป (Lloyed และ Nelson, 1984)

CGTase เป็นเอนไซม์ที่ต้องการการชักนำจึงจะมีการผลิต (Inducible enzyme) ซึ่งแบคทีเรียจะผลิต CGTase เฉพาะเมื่อมีแป้งเป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Bender, 1981) CGTase ที่ถูกผลิตขึ้นจากแบคทีเรียต่างชนิดกัน (ตารางที่ 3) จะมีสมบัติทางกายภาพและทางชีวเคมีต่างกัน เช่น pH ที่เหมาะสม, อุณหภูมิที่เหมาะสม ต่อการเร่งปฏิกิริยาได้สูงสุด และมวลโมเลกุล (Molecular weight) รวมถึงให้สัดส่วนของไซโคลเดกซ์ทรินชนิดต่างๆ แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) เช่น *B.* macerans ผลิต α:β:γ Cyclodextrin ในสัดส่วน 2.7:1.0:1.0 (Depinto และ Campbell, 1968) ในขณะที่ GGTase จาก *Bacillus* no. 38-2 ผลิต α : β : γ Cyclodextrin ในสัดส่วน 1.0:11.0:1.5 (Matzuzawa และคณะ, 1975) เป็นต้น

แบคทีเรียที่ผลิต CGTase ที่แยกได้จากธรรมชาติส่วนใหญ่ ให้ผลผลิตหลักเป็น β -CD ซึ่งสามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ง่าย เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำต่ำ ทำให้สามารถผลิต β -CD ได้ในปริมาณที่สูง จึงมีการนำ β -CD ไปใช้ประโยชน์มากที่สุด อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันมีความต้องการใช้ γ -CD เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมยา เนื่องจาก γ-CD มีคุณสมบัติเด่นคือ สามารถละลายน้ำได้ดีและมีโพรงขนาดใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ α -CD และ β -CD จึงสามารถบรรจุตัวยาได้มากกว่า

การที่จะผลิต CGTase ในปริมาณมากออกมานี้มีวิธีการผลิตประกอบกัน 2 ประการ คือ ประการแรก การเลือก Complexing substance สำหรับ γ-CD โดยเฉพาะซึ่งจะทำหน้าที่

ตกตะกอน γ-CD แยกออกมาจากไซโคลเดกซ์ทรินชนิดอื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ และประการที่สอง การใช้วิธีทางพันธุวิศวกรรมโดยการตัดต่อยีนเพื่อทำให้เกิดแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีการผลิต γ–CGTase ในปริมาณสูง

ได้มีการศึกษาถึงการแยก γ -CD ออกจาก CD ชนิดอื่นๆด้วยการใช้ Complexing agent จับกับ γ -CD ให้ตกตะกอนออกมา พบว่าสารประกอบที่เป็นวงขนาดใหญ่ (Macrocyclic substance) จำพวก Cyclotetradec-7-en-1-one และ cyclohexadec-8-en-1-one สามารถตกตะกอน γ -CD ได้ดีกว่าการจับกับไซโคลเดกซ์ทรินชนิดอื่นๆ ทำให้สามารถเพิ่มผลผลิต γ -CD ได้มากกว่า 40 เปอร์เซนต์ (Schmid และคณะ, 1988) และเนื่องจาก γ -CD ที่ใช้ในอุตสาหกรรมยานั้นต้องการความบริสุทธิ์สูงมาก จึงไม่สามารถแยก γ -CD ให้มีความบริสุทธิ์โดยใช้วิธีการจับกับ Organic precipitants ตกตะกอนออกมาได้แต่จำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Affinity Chromatography โดยอาศัยความจำเพาะระหว่าง γ -CD กับ 1, 8-naphthylic acid anhydride ที่จับอยู่กับ Aminated Biogel P-6 ชะออกด้วย 25 mM $NaHCO_3$ ด้วยอัตราการชะ 80 มิลลิลิตร/ชั่วโมง ที่ 22 องศาเซลเซียส แล้ว γ -CD จะถูกชะออกจาก α- , β- CD, Maltodextrins และน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการศึกษาพบว่า เจล 1 ลิตร สามารถทำการแยก γ -CD ได้มากกว่า 20 กรัมต่อครั้ง และมีความบริสุทธิ์ถึง 100 เปอร์เซนต์ (Mattsson และคณะ, 1988)

เนื่องจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ผลิต γ -CD นั้นยังมีอยู่น้อย จึงได้มีความพยายามในการทำการศึกษาบริเวณของลำดับรหัส γ-CGTase gene เปรียบเทียบกับ α-CGTase และ β-CGTase เพื่อทำการโคลนยีน (clone gene) เพื่อสร้างแบคทีเรียที่เป็นสายพันธุ์ผลิต γ-CGTase รวมถึงการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต γ -CD (Schmid และคณะ, 1988) เพื่อให้ได้กระบวนการผลิต γ -CD ที่มีประสิทธิภาพและมีราคาถูกลง

ตารางที่ 3 การแบ่งกลุ่มแบคทีเรียตามชนิดของ CGTase (Szejtli, 1988)

ชนิด CGTase	แบคทีเรีย
กลุ่ม α CGTase	*Klebsiella oxytoca* M5a1 *Bacillus macerans* *Bacillus stearothermophilus*
กลุ่ม β CGTase	*Bacillus circulans* *Bacillus megaterium* *Bacillus ohbensis* *Micrococcus sp.* *Alkalophilic Bacillus* 38-2 *Alkalophilic Bacillus* 17-1 *Alkalophilic Bacillus* 1011 *Alkalophilic Bacillus* 1-1
กลุ่ม γ CGTase	*Bacillus subtilis* No.313 *Alkalophilic Bacillus* 290-3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่4 แสดงคุณสมบัติของ CGTase ที่สร้างจากแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ (Szejtli, 1988)

Bacteria	Optimum pH	Optimum temp. (°C)	MW.	pI	Stable pH	Stable temp.(°C)
B. macerans IFO 3490	5.0-5.7	55	65,000	4.6	8.0-10.0	60
B. macerans IMA 1243	6.0	60	14,500	ND.	5.5-9.5	50
B. macerans ATCC 8514	6.2	ND.	139300	ND.	ND.	ND.
B. macerans CHINOIN	5.9	60	72000	4.45-4.65	5.0-8.0	60
B. magaterium	5.0-5.7	55	66,000	6.07-6.80	7.0-10.0	55
B. strearothermophilus	5.0-5.5	ND.	ND.	ND.	5.5-8.8	70
B. circulans	6.0-6.5	ND.	ND.	ND.	7.5-9.0	60
Klebsiella pneumoniae	5.2	ND.	ND.	ND.	5.0-7.5	50
Alkalophilic Bacillus 38-2	4.5-9.0	45-50	85-88,000	5.4	6.0-10.0	65
Alkalophilic Bacillus 17-1	5.0-9.0	ND.	ND.	ND.	6.5-10.0	ND.
B. ohbensis	5.5	ND.	ND.	ND.	ND.	ND.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Abelyan และคณะ (1994) ทำการแยกและศึกษาลักษณะไอโซไซม์ของ CGTase จากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. INMIA-T42, INMIA-56, INMIA-A7/1 และ INMIA-1919 และศึกษาผลของสับสเตรทน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ (Maltose, Maltotriose, Maltohexaose, Maltoheptaose, Maltooctaose, Maltononaose และ Maltodecaose) พบว่าไอโซไซม์ที่แยกได้แต่ละส่วนสามารถเปลี่ยนสับสเตรทขนาดต่างๆเหล่านี้เป็นผลิตภัณฑ์ไซโคลเดกซ์ทรินในสัดส่วน α:β:γ ไซโคลเดกซ์ทรินที่แตกต่างกัน

กลุ่มวิจัยภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ทำการศึกษา CGTase จาก *Bacillus sp.* A11 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากดินในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Pongsawasdi และ Yagisawa, 1987, วัลยา, 2534) อย่างต่อเนื่อง และพบว่าให้ β-CD เป็นผลิตภัณฑ์หลัก และสามารถใช้แป้งข้าวเจ้าในการชักนำให้เกิดการผลิต CGTase ได้ (วัลยา, 2534) มีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ให้ได้ปริมาณมากในถังหมัก (อุไรวรรณ, 2536) รวมทั้งการตรึงเอนไซม์บน DEAE-cellulose และบนตัวค้ำอนินทรีย์ (วรรณรัตน์, 2537) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเพิ่มผลผลิตไซโคลเดกซ์ทรินจากแป้งข้าวเจ้า โดยใช้ Complexing agent ช่วยแยกผลิตภัณฑ์ β-CD ออกมา (ทิพย์สุภา, 2538)

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาถึงการชักนำการผลิต CGTase ใน *Bacillus* sp. A11 ให้มีปริมาณสูงขึ้น โดยการใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันเป็นตัวชักนำและหาสับสเตรทและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินชนิดที่ต้องการในสัดส่วนที่สูงขึ้นได้ วัตถุประสงค์ของงานวิจัย ระบุได้ดังนี้

1. ศึกษาชนิดของคาร์โบไฮเดรต ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดการสร้าง CGTase เพิ่มขึ้น
2. ศึกษาแอคติวิตีและสมบัติบางประการของเอนไซม์ที่ได้จากการชักนำด้วยคาร์โบไฮเดรตต่างชนิดกัน
3. ศึกษาการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน (Cyclodextrin) จากสับสเตรทโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบ 2-7 หน่วย
4. ศึกษาผลของตัวแปรต่อสัดส่วน α : β : γ ไซโคลเดกซ์ทรินที่ผลิตได้