หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ฟรักโทส (fructose) หรือลีวูโลส (levulose) หรือน้ำตาลผลไม้ (fruit sugar) (1) เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวพบในผัก ผลไม้ และน้ำผึ้ง (2) ฟรักโทสเป็นน้ำตาลที่มีความหวานสูงสุดในกลุ่มน้ำตาลธรรมชาติ โดยมีความหวานเป็น 1-1.8 เท่าของซูโครส ทั้งนี้ขึ้นกับสภาพการใช้งาน (1-4)

ฟรักโทสมีคุณสมบัติที่ดีเด่น เมื่อเทียบกับน้ำตาลทรายหรือซูโครส (2, 5-6) คือ

1. มีรสดีกว่า
2. ไม่ตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำ สามารถเก็บได้นานในรูปน้ำเชื่อมที่อุณหภูมิห้อง
3. มีความดันออสโมติกสูง
4. สารละลายฟรักโทสมีจุดเยือกแข็งต่ำ
5. รักษาสภาพของเนื้อเยื่อของอาหารแช่แข็ง
6. ดูดความชื้นได้ดี
7. ร่างกายดูดซึมได้ช้ากว่า
8. สามารถเกิดคีเลตกับโลหะ

ฟรักโทสที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นของฟรักโทสในปริมาณต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 1 (7) ส่วนฟรักโทสในรูปผงนั้นเพิ่งเริ่มมีวางตลาดในปี ค.ศ. 1987 (2) และใช้ในวงจำกัดมาก (8)

1.1 ประวัติความเป็นมา

กลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase) เป็นเอนไซม์ที่ให้ปฏิกิริยาจำเพาะในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส เดิมการเตรียมฟรักโทสจากกลูโคสนั้นทำได้โดยกระบวนการเคมีในสภาวะที่เป็นด่างและอุณหภูมิสูง เรียกปฏิกิริยาการเกิดไอโซเมอร์ในสภาวะด่างนี้ว่า "Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein Transformation" (9) แต่วิธีนี้ไม่สามารถใช้

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบและการใช้งานของน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูง (High Fructose Syrup , HFS) (7)

ชนิดของน้ำเชื่อมฟรักโทส	ส่วนประกอบ	การใช้งาน
ความเข้มข้น 42%	42% ฟรักโทส 52% เด็กซ์โทรส 6% น้ำตาลหลายโมเลกุล	ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหวาน น้ำอัดลม น้ำผลไม้ อาหารกระป๋อง ขนมปัง ขนมหวาน นมและผลิตภัณฑ์นม ไอศกรีม เป็นต้น
ความเข้มข้น 55%	55% ฟรักโทส 42% เด็กซ์โทรส 3% น้ำตาลหลายโมเลกุล	
ความเข้มข้น 90%	90% ฟรักโทส 9% เด็กซ์โทรส 1% น้ำตาลหลายโมเลกุล	ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทจำกัดพลังงาน อาหารสุขภาพ และอาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน

ผลิตในเชิงการค้าได้เพราะประสิทธิภาพในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสต่ำและได้สารประกอบที่เกิดจากการสลายตัวของกลูโคสและฟรักโทสมากกว่า 30% ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความหวานลดลง มีสีและกลิ่นที่ไม่ต้องการ ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกำจัดสิ่งเจือปนเหล่านี้ (10) ต่อมาในปี ค.ศ. 1957 Marshall และ Kooi (11) ค้นพบเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสใช้ในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส ดังแสดงในรูปที่ 1 (12) แต่ผลที่ได้ยังไม่สามารถนำไปผลิตในเชิงการค้าได้

ในปี ค.ศ. 1965 Tsumura, Sato และ Takasaki ได้ค้นพบจุลินทรีย์ และระบบเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับผลิตในเชิงการค้าได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1967 ได้มีโรงงานผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากข้าวโพด (High Fructose Corn Syrup) โดยใช้ระบบเอนไซม์เกิดขึ้นเป็นครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา ภายใต้ความร่วมมือของบริษัท Clinton Corn Processing Company และรัฐบาลญี่ปุ่น (3)

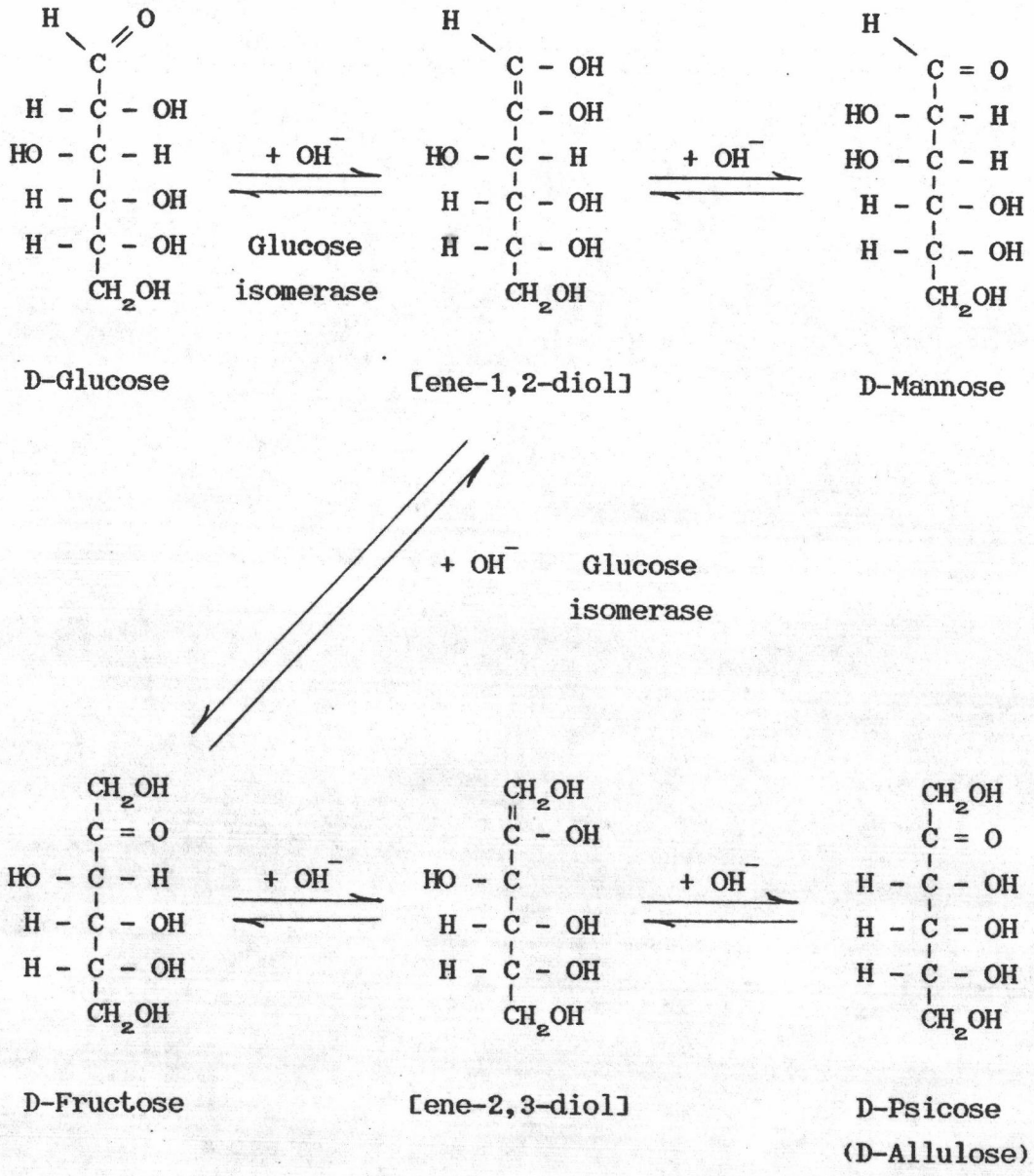
1.2 ประเภทของกลูโคสไอโซเมอเรส

กลูโคสไอโซเมอเรส เป็นชื่อรวมที่ใช้เรียกเอนไซม์ที่มีปฏิกิริยาเฉพาะในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส เอนไซม์ที่ถูกเรียกรวมในกลุ่มกลูโคสไอโซเมอเรสมี 4 ชนิด คือ

1.2.1 ไซโลสไอโซเมอเรส (xylose isomerase หรือ D-xylose ketol-isomerase, EC 5.3.1.5)

รายงานโดย Marshall และ Kooi ในปี ค.ศ. 1957 (11) เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก Pseudomonas hydrophila สามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลูโลส (xylulose) และกลูโคสเป็นฟรักโทสได้ โดยมีค่าคงที่ไมคาลิส (K_m) ของปฏิกิริยาเท่ากับ 0.5 และ 3×10^{-3} โมลาร์ ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานคือที่พีเอช 8.5 และอุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียส การสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำ

ต่อมา Tsumura และ Sato (13) พบว่า Streptomyces phaeochromogenes SK. สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้โดยมีไซโลสเป็นสารชักนำ การทำงาน



รูปที่ 1 การเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสโดยปฏิกิริยาในด่างและด้วยกลูโคสไอโซเมอเรส

ของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการไดวาเลนท์แคทอิออน (divalent cation) 2 ชนิดร่วมกัน คือ แมกนีเซียมอิออน (Mg^{2+}) และโคบอลท์อิออน (Co^{2+}) สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์คือที่พีเอช 9.3-9.5 และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ต่อมานักวิจัยชาวญี่ปุ่นได้ค้นพบสเตรพโตมัยซีสอีกหลายสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ เช่น S. albus YT-5 (14), S. bikiniensis, S. flavogriseus และ S. olivochromogenes ฯลฯ (15) เอนไซม์ที่พบภายหลังนี้มีข้อดีคือทนอุณหภูมิสูงและทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกลาง ซึ่งป้องกันการเกิดสารเจือปนที่ไม่ต้องการในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสได้

1.2.2 กลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส (D-glucose 6-phosphate ketol-isomesase, EC. 5.3.1.9)

ค้นพบในปี ค.ศ. 1963 โดย Natake และ Yoshimura (16) เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก Escherichia intermedia เอนไซม์นี้ไม่มีกิจกรรมของไซโลสไอโซเมอเรสร่วมด้วยจึงไม่ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำในการสร้างเอนไซม์ การทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ต้องการอาร์ซิเนท (arsenate) ในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์คือที่พีเอช 7.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากเอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนกลูโคส 6- ฟอสเฟต เป็นฟรักโทส 6- ฟอสเฟตได้ด้วย จึงเรียกเอนไซม์นี้ว่ากลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส

1.2.3 กลูโคสไอโซเมอเรส (D-glucose ketol-isomerase, EC 5.3.1.18)

Takasaki และ Tanake (17) แยกเอนไซม์นี้ได้จาก Bacillus megaterium A1 ในปี ค.ศ. 1962 เอนไซม์นี้ให้ปฏิกิริยาจำเพาะในการเปลี่ยนแปลงกลูโคสเป็นฟรักโทสเท่านั้น โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซมคือที่พีเอช 7.8 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส การทำงานของเอนไซม์นี้ต้องการ NAD^+ ด้วย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2.4 เอนไซม์ประเภทที่ 4 นี้ คาดว่าเป็นกลุ่มย่อยของกลูโคสไอโซเมอเรส (D- glucose ketol-isomerase, E.C. 5.3.1.18)

Takasaki และ Tanake (18) แยกได้จาก Paracolobacterium aerogenoides ในปี ค.ศ. 1964 เอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสได้ โดยต้องการ NAD^+ และแมกนีเซียมอิออนในปฏิกิริยา สภาวะการทำงานที่เหมาะสมคือที่พีเอช 7.5 และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในเชิงการค้าในกลุ่มกลูโคสไอโซเมอเรสทั้ง 4 ประเภทนี้ คือ ไซโลสไอโซเมอเรส โดยเฉพาะที่ได้จากสเตรพโตมัยซิสเนื่องจากเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสได้ที่พีเอชค่อนข้างเป็นกลางและที่อุณหภูมิสูง อีกทั้งมีความคงทนต่อความร้อนสูง ทำให้สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตได้

1.3 จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

มีการค้นพบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบนี้มีทั้งในกลุ่มแบคทีเรียแอคติโนมัยซิติส รา และยีสต์ (19)

จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสและสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ (identify) ได้ในระดับสกุล (genus) และชนิด (species) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 (3, 20-24) เอนไซม์นี้ส่วนใหญ่พบในรูปของเอนไซม์ที่เก็บอยู่ภายในเซลของจุลินทรีย์ (intracellular enzyme) แต่จุลินทรีย์บางชนิดสร้างและขับกลูโคสไอโซเมอเรสออกมานอกเซล (extracellular enzyme) เช่น Streptomyces glaucescens (25) เอนไซม์ที่ผลิตในเชิงการค้าส่วนมากได้แก่ Streptomyces sp., Bacillus sp., Actinoplanes sp. และ Arthrobacter sp. (3)

1.4 สมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรส

ในบรรดาเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสทั้ง 4 ประเภทนี้ ไซโลสไอโซเมอเรสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางที่สุด แม้ว่ากลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์ชนิด

ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส (Glucose Isomerase)(3,20-24)

Genus	Species
Streptomyces	bobilai, flavovirens, echinatus, achromogenes, phaeochromogenes, fradiae, roseochromogenes, olivaceus, californicas, venuceus, virginial, olivochromogenes, venezulae, wedmorensis, griseolus, glaucescens, bikiniensis, albus, rubiginosus, flavogriseus, thermoviolaceus, nigrificans
Lactobacillus	brevis, mannitopoeus, pentoaceticus, gayonii, plantarum
Brevibacterium	pentoso-aminoacidicum, imperiale, incertum
Micrococcus	agilis
Pseudomonas	hydrophila
Leuconostoc	mesenteroides
Aerobacter	aerogenes, levanicum
Bacillus	coagulans, stearothermophilus
Escherichia	coli
Aspergillus	oryzae
Mycobacterium	
Nocardia	asteroides, dassonvillei, corallia
Micromonospora	rosae, rosae monnitrogenes
Microellobospora	flavea
Arthrobacter	
Actinoplanes	missouriensis
Thermopolyspora	
Pseudonocardia	
Streptosporangium	albus, vulgare
Curtobacterium	
Flavobacterium	devorans
Agrobacterium	
Actinomycetes	albogriseolus

ต่างๆจะมีสมบัติคล้ายคลึงกัน แต่ก็ยังมีสมบัติบางประการที่แตกต่างกันออกไปตามแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ (3)

กลูโคสไอโซเมอเรสจัดเป็นเอนไซม์ที่เสถียรต่อการใช้งานที่อุณหภูมิสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ มีช่วงกว้างตั้งแต่ 45-90 องศาเซลเซียส และส่วนใหญ่จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นยังพบว่ามีกลูโคสไอโซเมอเรสที่ทนอุณหภูมิเป็นพิเศษที่สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส(20) ไปจนถึง 130 องศาเซลเซียส (25)

โดยปกติกลูโคสไอโซเมอเรสจะทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 7.0-9.0 แต่กลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์บางชนิดสามารถทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่สูงกว่า 9.0 (26) แต่โดยทั่วไปแล้วกลูโคสไอโซเมอเรสที่ทำงานได้ดีที่พีเอชใกล้เคียงกับพีเอช 7.0 เหมาะสมที่จะนำมาใช้ประโยชน์มากกว่า เพราะถ้าปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่พีเอชสูง กลูโคสและฟรักโทสในสารละลายจะเปลี่ยนเป็นไซโคส (psicose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ร่างกายย่อยสลายไม่ได้ (27) อย่างไรก็ตามพีเอชที่เหมาะสมต่อสับสเตรทแต่ละชนิดไม่จำเป็นต้องเหมือนกัน นอกจากนี้ยังได้มีรายงาน (3) ว่าองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเปลี่ยนแปลงพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ได้ ตัวอย่างเช่นกลูโคสไอโซเมอเรสจาก Streptomyces phaeochromogenes ซึ่งมีพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานอยู่ในช่วง 9.0-9.5 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เสริมโคบอลท์อิออน แต่ถ้าเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคบอลต์อิออนเข้มข้น 0.001 โมลาร์ จะมีช่วงพีเอชที่เหมาะสมกว้างขึ้นจนถึงพีเอช 7.5 (3)

ในการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส โดยทั่วไปต้องการไดวาเลนท์แคทอิออน (divalent cation) (3) เช่น แมงกานีสอิออน (Mn^{2+}), แมกนีเซียมอิออน (Mg^{2+}), โคบอลท์อิออน (Co^{2+}), โครเมียมอิออน (Cr^{2+}) และเฟอรัสอิออน (Fe^{2+}) (28) กลูโคสไอโซเมอเรสที่ได้จากบางสายพันธุ์ต้องการอิออนเพียงชนิดเดียว บางสายพันธุ์ก็ต้องการหลายชนิดร่วมกัน อิออนเหล่านี้มีหน้าที่กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ป้องกันเอนไซม์ไม่ให้สูญเสียสภาพธรรมชาติโดยความร้อน และต่อต้านการทำงานของสารยับยั้ง หน้าที่ความต้องการและปริมาณที่ต้องการของอิออนแต่ละชนิดของกลูโคสไอโซเมอเรสแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ (3)

ค่า K_m ของกลูโคสไอโซเมอเรสสำหรับกลูโคสและไซโลสแปรผันตามชนิดของจุลินทรีย์เช่นกัน แต่โดยทั่วไปแล้วพบว่าค่า K_m สำหรับกลูโคสอยู่ในช่วง 0.086-0.500โมลาร์ และสำหรับไซโลสประมาณ 0.032-0.093 โมลาร์ (26) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า K_m ยังสามารถ

แปรผันได้โดยขึ้นกับปริมาณและชนิดของไดวาเลนท์ แคทไอออนที่ใช้ (3)

1.5 การตรึงกลูโคสไอโซเมอเรส

เนื่องจากกลูโคสไอโซเมอเรสเป็นเอนไซม์ที่มีศักยภาพสูงในเชิงการค้า จึงมีผู้คิดค้นวิธีการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสด้วยเทคนิคต่าง ๆ กันหลายแบบ การตรึงเอนไซม์นี้เป็นวิธีที่จะนำเอนไซม์มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะทำให้สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้งานได้หลายครั้ง และวิธีการตรึงที่เหมาะสมยังสามารถเพิ่มของเอนไซม์อีกด้วย จึงเป็นเทคนิคที่สามารถลดค่าใช้จ่ายในการผลิตเอนไซม์และการใช้งาน

เทคนิคการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ การตรึงเอนไซม์ (enzyme immobilization) และการตรึงเซลที่มีเอนไซม์บรรจุอยู่ภายใน (whole cell immobilization)

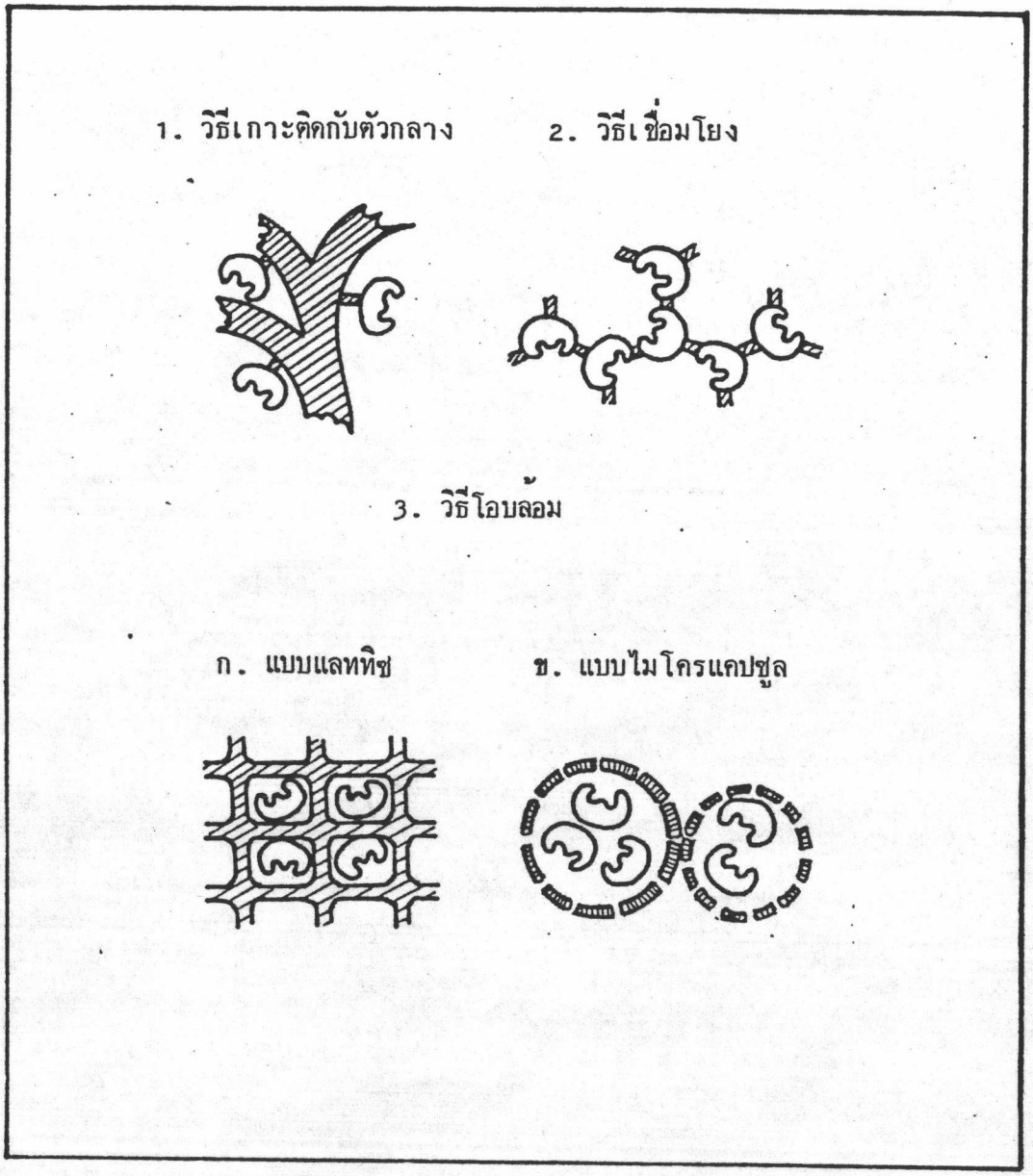
1.5.1 การตรึงเอนไซม์

การตรึงเอนไซม์นั้นทำได้โดยนำเอนไซม์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว (purified enzyme) มาตรึงบนตัวยึด (supporter) ที่เหมาะสม (3) วิธีตรึงเอนไซม์นี้มีข้อดีคือมีการถ่ายเทมวลดีเนื่องจากสับสเตรทสามารถสัมผัสกับเอนไซม์ได้โดยไม่ต้องแพร่ผ่านเยื่อเซล (cell membrane) หรือผนังเซล (cell wall) ก่อน และการตรึงเอนไซม์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วเป็นการขจัดปัญหาการเกิดปฏิกิริยาอันเนื่องมาจากเอนไซม์ตัวอื่น ๆ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือเสียค่าใช้จ่ายในการเตรียมเอนไซม์บริสุทธิ์สูง

วิธีการตรึงเอนไซม์นี้สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ ๆ (29) คือ การตรึงเอนไซม์กับตัวยึด (carrier-binding method) การเชื่อมโยง (cross-linking method) และการโอบล้อมเอนไซม์ (entrapping method) ดังแสดงในรูปที่ 2

1.5.1.1 การตรึงเอนไซม์กับตัวยึด (carrier-binding method)

วิธีนี้เป็นวิธีตรึงเอนไซม์ที่เก่าแก่ที่สุด ปริมาณของเอนไซม์ที่เกาะกับ



รูปที่ 2 การตรึงเซลด้วยวิธีการต่าง ๆ (29)

ตัวยึดและแอคติวิตีหลังการตรึงขึ้นอยู่กับธรรมชาติของตัวยึด ดังนั้นการเลือกตัวยึดและวิธีการตรึงเอนไซม์กับตัวยึดจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญในการตรึงแบบนี้

วัสดุที่ใช้เป็นตัวยึดที่นิยมใช้กันมากได้แก่ อนุพันธ์ของโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เช่น เซลลูโลส (cellulose), เด็กซ์แทรน (dextran), อากาโรส (agarose) และโพลีอะครีลามีดเจล (polyacrylamide gel)

วิธีตรึงเอนไซม์กับตัวยึดก็มีหลายวิธีโดยอาศัยหลักการต่าง ๆ กัน ได้แก่ หลักการยึดติด (adsorption) การเกิดพันธะอิออนิก (ionic binding) และการเกิดพันธะโควาเลนท์ (covalent binding)

1.5.1.2 การเชื่อมโยง (cross-linking method)

เป็นการเชื่อมโยงโมเลกุลของเอนไซม์เข้าเป็นกลุ่มใหญ่ โดยไม่ต้องอาศัยตัวยึด แต่อาศัยการเกิดพันธะโควาเลนท์กับสารเชื่อมโยง (cross-linking reagent) ซึ่งอาจเป็นสารพวกไบฟังก์ชันแนล (bifunctional reagent) หรือสารพวกมัลติฟังก์ชันแนล (multifunctional reagent) สารเชื่อมโยงนี้มีหลายตัว เช่น บิสไดเอโซเบนซิดีน (bisdiazobenzidine), อนุพันธ์ไอโซไซอาเนท (isocyanate derivative), และกลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ซึ่งสารแต่ละตัวจะเลือกจับกับหมู่ฟังก์ชันแนล (functional group) ต่าง ๆ กัน สารเชื่อมโยงที่ใช้มากในการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสคือ กลูตารัลดีไฮด์

1.5.1.3 การโอบล้อม (entrapping method)

เป็นการกักเอนไซม์อยู่ในตัวกลาง โดยที่เอนไซม์ไม่เกิดพันธะใด ๆ กับตัวกลาง ถ้าตัวกลางเป็นโพลิเมอร์ที่เป็นโพรง (polymer matrix) เรียกว่าเป็นการตรึงแบบแลททิซ (lattice type) ถ้าเป็นการตรึงในเยื่อกึ่งผ่านได้ (semipermeable membrane) เรียกว่าเป็นการตรึงแบบไมโครแคปซูล (microcapsule type)

ตัวกลางที่ใช้ในการตรึงแบบแลททิซมักเป็นโพลีเมอร์ ซึ่งสังเคราะห์จากโมโนเมอร์ (monomer) อีกทีหนึ่ง เช่น โพลีอะครีลามีด (polyacrylamide) หรืออาจ

เป็นโพลีเมอร์ธรรมชาติ เช่น แป้ง เป็นต้น

ตัวกลางที่ใช้ในการตรึงแบบไมโครแคปซูลได้แก่ ไนลอน (nylon), โพลีสไตรีน (polystyrene) และไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose) เป็นต้น

1.5.1.4 วิธีอื่น ๆ

นอกจากนี้ยังมีวิธีอื่น ๆ ในการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสบางวิธีอาศัยหลายหลักการร่วมกัน เช่นการตรึงโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์เชื่อมโยงเอนไซม์กับโพลีเอธีลีนอิมีน (polyethyleneimine) แล้วนำไปตรึงกับอะลูมินา (alumina) อีกครั้งหนึ่ง (30) การตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสร่วมกับอัลฟาอะไมเลส (α-amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) บนตัวยึดเดียวกัน (31)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรส โดยอาศัยหลักการต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วได้รวบรวมและแสดงไว้ในตารางที่ 3 (25, 30-35) ส่วนการเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของแต่ละแบบแสดงไว้ในตารางที่ 4 (29)

1.5.2 การตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรส

หลักการสำคัญที่เกิดขึ้นภายหลังการตรึงเอนไซม์ คือ การตรึงเซลที่มีเอนไซม์อยู่ภายใน โดยทั่วไปแล้วการตรึงเซลมีข้อได้เปรียบการตรึงเอนไซม์คือทำได้ง่ายกว่าโดยลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ มีการสูญเสียแอคติวิตีน้อยกว่า เอนไซม์บางชนิดต้องการปัจจัยร่วม (cofactor) ในการทำงาน ดังนั้นการตรึงเซลจะทำให้เอนไซม์ใช้ปัจจัยร่วมที่มีอยู่ภายในเซลได้โดยไม่ต้องตรึงปัจจัยร่วมหรือเติมปัจจัยร่วมลงไปในปฏิกิริยาอีก และนอกจากนี้เอนไซม์บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาพใกล้เคียงสภาวะธรรมชาติจะมีสูงกว่าสภาพที่แยกออกมาให้บริสุทธิ์ ดังนั้นในลักษณะนี้การตรึงเซลจะให้ผลดีกว่าการตรึงเอนไซม์ (36)

การตรึงเซลมีข้อเสียเปรียบการตรึงเอนไซม์ คือการถ่ายเทมวลทำได้ยาก เนื่องจากมีผนังเซล (cell wall) หรือเยื่อเซล (cell membrane) กั้นอยู่ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า และนอกจากนี้ในระหว่างการใช้งานเซลอาจปล่อยสารภายในเซลหรือเกิดการย่อยสลาย

ตารางที่ 3 วิธีการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรส

วิธีการตรึง	เอกสารอ้างอิง
1. การตรึงกับตัวกลาง (carrier binding)	
การตรึงโดยการยึดเกาะทางกายภาพ (physical adsorption)	
- การใช้แทนนินอะมิโนเฮ็กซิลเซลลูโลส (Tannin-aminohexyl cellulose) ตกตะกอนร่วมกับสารละลายโพลิเมอร์สังเคราะห์	29
การตรึงโดยพันธะอิออนิก (ionic binding)	
- การตรึงบนดีอีเอดี เซลลูโลส (DEAE-cellulose)	32
- การตรึงบนดูโอไลท์ เอ-7 (Dolite-A7)	33
- การตรึงบนแอมเบอร์ไลท์ ไออาร์เอ-904 (Amberlite IRA-904)	34
การตรึงโดยพันธะ โควาเลนท์ (covalent binding)	
- การตรึงบนแก้วพรุนอะมิโนสิเลไนส์ (aminosilanized porous glass)	29
- การตรึงบนไคตินที่ดีเอซิลเลทบางส่วน (partially deacylated chitin)	29
2. การตรึงโดยการเชื่อมโยง (cross-linking)	
- ไม่มีรายงาน	
3. การตรึงโดยการโอบล้อม (entrapping)	
- การตรึงบนโพลีอะครีลามีดเจล (polyacrylamide gel)	29
- การตรึงบนโพลีอะครีลามีดเจลร่วมกับเม็ดแก้วพรุน (porous glass bead)	35
- การตรึงด้วยเซลลูโลสไตรอะซีเตต (cellulose triacetate)	29
4. วิธีอื่น ๆ	
- การตรึงกับโพลีเอธิลีนอีมีน (polyethyleneimine) ซึ่งเชื่อม	

ตารางที่ 3 (ต่อ)

วิธีการตรึง	เอกสารอ้างอิง
4. วิธีอื่น ๆ	
- การตรึงกับโพลีเอธิลีนอีมีน (polyethyleneimine) ซึ่งเชื่อมโยงกับอะลูมินา (alumina) ด้วยกลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde)	30
- การตรึงเอนไซม์อัลฟา อะไมเลส (α-amylase), กลูโคอะไมเลส(glucoamylase) และกลูโคสไอโซเมอเรสบนเซฟาโรส-6เอ็มบีที่กระตุ้นด้วยไซยาโนเจนโปรไมด์ (cyanogenbromide activated sepharose-6 MB)	31
- กลูโคสไอโซเมอเรสเชื่อมกับโครงโพลิเมอร์ด้วยพันธะโควาเลนท์และ/หรือพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และพันธะไฟฟ้าสถิต (electrostatic bond)	25

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบการตรึงเอนไซม์ (29)

หัวข้อเปรียบเทียบ	การตรึงกับตัวกลาง			วิธีเชื่อมโยง	วิธีโอบล้อม
	การยึดเกาะทางกายภาพ	พันธะอิออนิก	พันธะโควาเลนท์		
การเตรียม	ง่าย	ง่าย	ยาก	ยาก	ยาก
แอคติวิตีของเอนไซม์	ต่ำ	สูง	สูง	ปานกลาง	สูง
ความจำเพาะต่อสับสเตรท	ไม่เปลี่ยน	ไม่เปลี่ยน	เปลี่ยนได้	เปลี่ยนได้	ไม่เปลี่ยน
แรงยึดเหนี่ยว	อ่อน	ปานกลาง	สูง	สูง	สูง
การนำกลับมาใช้งานใหม่	ได้	ได้	ไม่ได้	ไม่ได้	ไม่ได้
ค่าใช้จ่ายในการตรึง	ต่ำ	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	ต่ำ

014445

ตัวเอง (autolysis) (3) ทำให้ได้สารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์

ในปี ค.ศ. 1972 Lloyd และคณะ (37) รายงานว่าเมื่อนำสเตรพโตมัยซิสไปให้ความร้อนที่ 70-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-20 นาที เอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสจะถูกตรึงอยู่ในเซล Lloyd ให้เหตุผลว่าสาเหตุทำให้เซลไม่แตกสลายเนื่องจากเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลนั้นสูญเสียสภาพธรรมชาติ(denature)ไประหว่างการตรึงเอนไซม์ด้วยความร้อน

จากสมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ทนอุณหภูมิสูงทำให้การตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรสอยู่ภายในมีข้อได้เปรียบมากขึ้น เพราะสามารถนำไปผ่านกระบวนการตรึงด้วยความร้อน (heat fixation) ก่อนครั้งหนึ่งเพื่อทำลายเอนไซม์ที่ไม่ต้องการอื่น ๆ จากนั้นจึงนำไปผ่านกระบวนการตรึงโดยวิธีอื่น ๆ ต่อไป

การตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรสสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มเหมือนกับการตรึงเอนไซม์ คือมีการยึดเกาะกับตัวกลาง การเชื่อมโยง การโอบล้อม และกลุ่มวิธีพิเศษอื่นๆ

1.5.2.1 การตรึงเซลกับตัวกลาง (carrier binding method)

โดยมากเป็นการตรึงกับตัวแลกเปลี่ยนประจุลบ (anion exchanger) หรือเชื่อมโยงด้วยพันธะโควาเลนท์กับตัวกลางประเภทโพลีเมอร์

1.5.2.2 การตรึงเซลด้วยการเชื่อมโยง (cross-linking method)

เป็นการเชื่อมโยงเซลโดยไม่มีตัวกลาง (carrier) คงใช้เพียงสารเชื่อมโยง (cross-linking reagent) สารเชื่อมโยงที่นิยมใช้ในการตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรส ได้แก่ กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde)

1.5.2.3 การโอบล้อม (entrapping method)

การตรึงเซลโดยวิธีโอบล้อมในโพรงของโพลีเมอร์ (polymer matrix) เป็นวิธีที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางที่สุดในบรรดาวิธีการตรึงเซลต่าง ๆ (29) โพลิเมอร์ที่ใช้ในการตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรส ได้แก่ คาราจีแนน (karageenan), เซลลูโลส ไตรอะซีเตท (cellulose triacetate), คอลลาเจน (collagen) และโพลีอะคริลามีด (polyacrylamide) สำหรับวุ้น (agar) และเจลาติน (gelatin) ไม่นิยมใช้

เพราะมีจุดหลอมเหลวต่ำ ส่วนอัลจิเนทนั้นต้องตรึงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งแคลเซียมเป็นตัวยับยั้งการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (26) ดังนั้นจึงเป็นตัวกลางที่ไม่เหมาะสม

1.5.2.4 วิธีอื่น ๆ

นอกจากนี้ยังมีวิธีการตรึงอื่น ๆ เช่น การตรึงด้วยไคโตแซน การตรึงในเกรดอินทรีย์ และการตรึงโดยใช้รังสีเบตาเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดโพลีเมอร์ เป็นต้น การตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรสโดยวิธีต่าง ๆ ได้รวบรวมแสดงไว้ในตารางที่ 5

จากที่ได้กล่าวมาแล้วการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสโดยการตรึงเซลมีข้อดีหลายประการในที่นี้จะยกตัวอย่างการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรส 2 วิธี คือ การตรึงโดยใช้สารตกตะกอน (flocculating agent) และการตรึงโดยแบบพันธะเชื่อมโยง (cross-linking) โดยใช้สารไบฟังก์ชันแนล (bifunctional reagent)

การตรึงโดยใช้สารตกตะกอน ใช้หลักการยึดเกาะ (adsorption) และจับตัวกันเป็นกลุ่มก้อน (aggregation) ของเซลและสารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์บางตัว เช่น ไคโตแซน (chitosan) อนุพันธ์ของโพลีอะคริลามีด (polyacrylamide derivative) (36)

การจับตัวระหว่างเซลและสารตกตะกอนได้แสดงไว้ในรูปที่ 3 โดยเฉพาะการใช้สารไคโตแซนมีรายงานว่าให้แอคติวิตีคงเหลือสูงราว 70-100% (26, 29) แต่มีข้อเสียคือแรงยึดต่ำ (29) เซลที่เกาะกันอยู่จะหลุดจากกันได้ง่ายกว่าวิธีอื่น ๆ

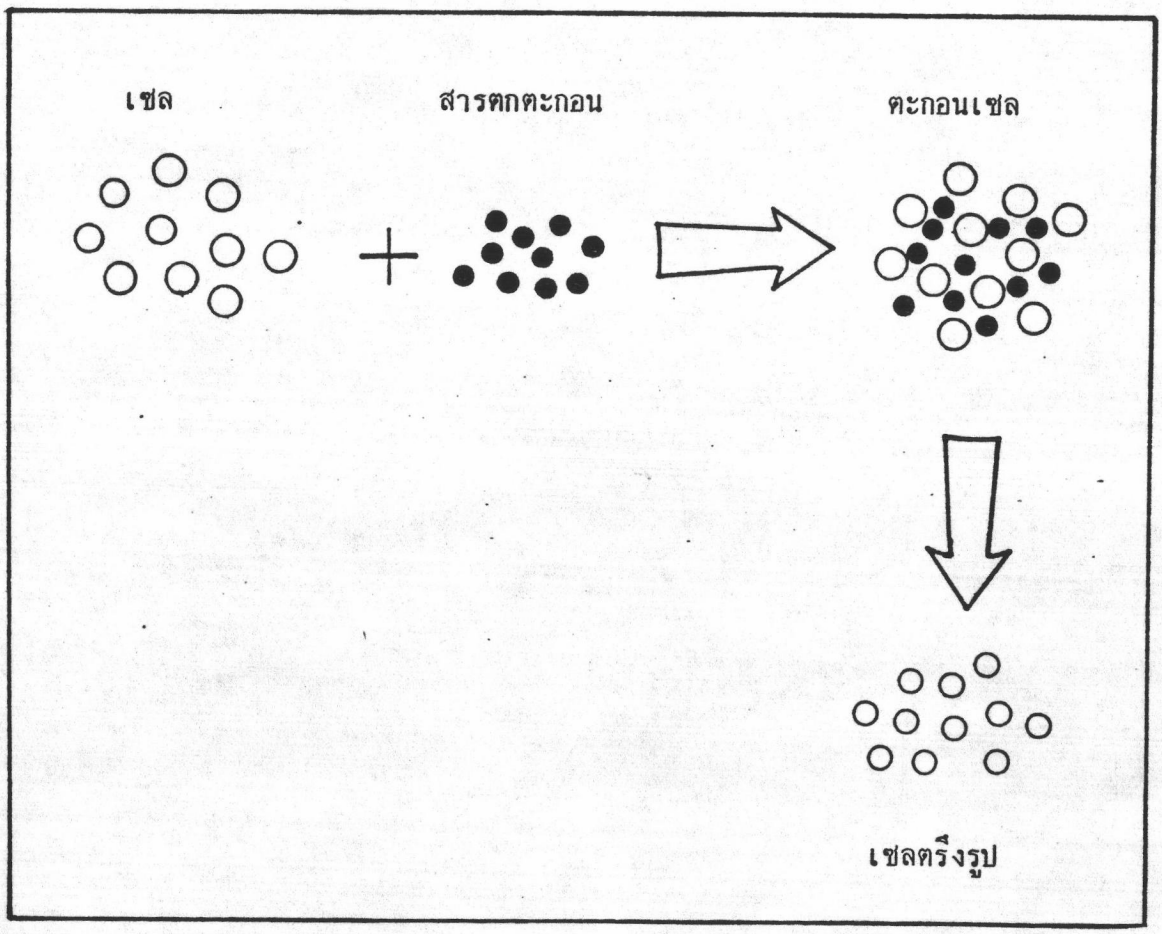
การตรึงโดยใช้สารไบฟังก์ชันแนลเป็นการตรึงแบบเชื่อมโยงโดยใช้พันธะโควาเลนท์ (covalent) สารไบฟังก์ชันแนลที่นิยมใช้ในการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรส ได้แก่ กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ในการตรึงโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์นั้นหมู่อะมิโน (amino group) ของเอนไซม์จะถูกจับโดยกลูตารัลดีไฮด์เชื่อมกันเป็นพันธะเชื่อมโยง (cross-linking) กลไกของการเชื่อมโยงนี้เรียกว่า Schiff-base formation (3) ดังแสดงในรูปที่ 4 Ahn และคณะ (41) รายงานว่าแอคติวิตีคงเหลือของเซลที่ตรึงแล้วขึ้นกับความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์และเวลาที่ใช้ในการตรึงซึ่งจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความแข็งของเม็ดเซล (cell pellet) จากสภาพการตรึงที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้งาน พบว่าเม็ดเซลมีแอคติวิตีคงเหลือประมาณ 26%

ตารางที่ 5 การตรึงเซลที่มีกลูโคสไอโซเมอเรส

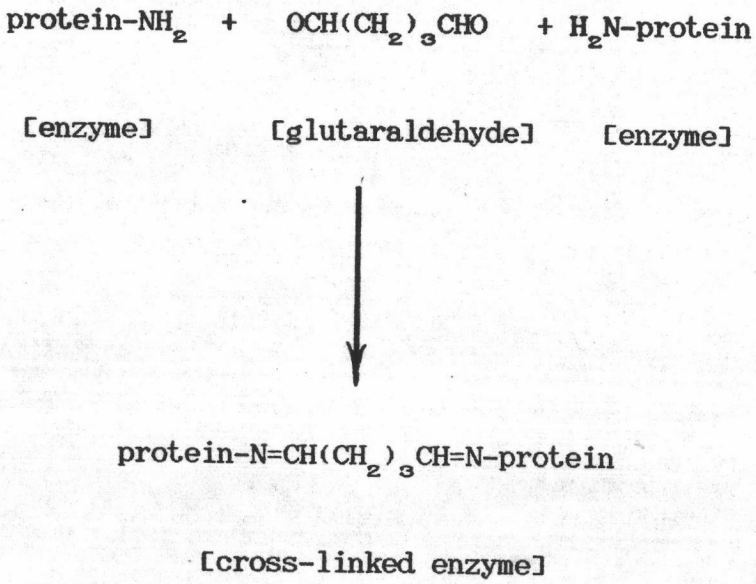
วิธีการตรึง	เอกสารอ้างอิง
1. การตรึงกับตัวยึด	
การตรึงโดยการยึดเกาะแบบอิออนิก (ionic adsorption)	
- การตรึงด้วยซิลิกาแขวนลอย-กลูตารัลดีไฮด์	38
- การตรึงบนกับตัวแลกเปลี่ยนประจุลบ (anion exchange resin)	29
- การตรึงด้วยดีซีเอ็ม (DCM, Octamethylene-diaminecarboxymethylcellulose)	39
การตรึงด้วยพันธะโควาเลนท์	
- การตรึงด้วยโพลีไวนิล แอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol, PVA)	40
- การตรึงบนเซรามิกรูพรุน (porous ceramic)	29
2. การตรึงด้วยวิธีเชื่อมโยง (cross-linking)	
- การตรึงด้วยกลูตารัลดีไฮด์	41
3. การตรึงโดยการโอบล้อม (entrapping)	
- การตรึงด้วยโพลีอะครีลามีด	35
- การตรึงด้วยโพลียูโรนีด (polyuronide)	42
- การตรึงในถุงโพลีเอสเธอร์ (polyester sac)	43
- การตรึงด้วยแคปปาคาราจีแนน (K-carrageenan)	44
- การตรึงด้วยเซลลูโลสอะซีเตต	44
- การตรึงด้วยคอลลาเจน (collagen)	29
- การตรึงด้วยเจลาติน (gelatin) ซึ่งเชื่อมโยงกับกลูตารัลดีไฮด์	45
- การตรึงด้วยโมโนเมอร์ของแก้วไฮโดรฟิลิค (hydrophilic glass forming monomer)	46

ตารางที่ 5 (ต่อ)

วิธีการตริง	เอกสารอ้างอิง
- การตริงด้วยโมโนเมอร์ของแก้วไฮโดรฟิลิค (hydrophilic glass forming monomer)	46
4. วิธีอื่น ๆ	
- การตกตะกอนด้วยไคโตแซน	47
- การตริงโดยการหยดเซลลงในกรดอินทรีย์ (organic acid)	48
- การตริงในระหว่างชั้นของโพลีเอธิลีนอีมีน (cross-linked polyethyleneimine layer)	49
- การตริงโดยการยึดเกาะกับกระดาษกรอง และเคลือบผิวกระดาษกรองด้วยโพลีไวนิลบิวทีรัล ซึ่งผ่านการทำให้แข็งด้วยแสงเหนือม่วง (UV-hardened polyvinyl butyral)	50



รูปที่ 3 การตรึงเซลโดยใช้สารตกตะกอน



รูปที่ 4 กลไกการตรึงเอนไซม์ด้วยกลูตารัลดีไฮด์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปัจจุบันมีบริษัทที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสที่ตรึงแล้วในเชิงการค้าหลายบริษัท แต่ละบริษัทใช้วิธีการตรึงแตกต่างกันออกไป ทั้งในรูปของการตรึงเอนไซม์ที่แยกแล้ว (islolated glucose isomerase immobilization) และในรูปการตรึงทั้งเซล (whole cell immobilization) รายชื่อบริษัทต่าง ๆ และกรรมวิธีได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

1.6 ประโยชน์ของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ตรึงแล้ว

กลูโคสไอโซเมอเรสที่ผ่านการตรึงแล้วนำมาใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทส (High Fructose Sysup, HFS) โดยมีขั้นตอนดังนี้ คือ นำแป้งมาย่อย (hydrolyse) โดยใช้เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส (α-amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase)ตามลำดับจะได้สารละลายกลูโคสที่มีปริมาณ 90% ของมวลแห้งทั้งหมดจากนั้นนำไปผ่านกระบวนการเกิดไอโซเมอร์(isomerization) โดยกลูโคสไอโซเมอเรส ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือน้ำเชื่อมที่มีฟรักโทสความเข้มข้นสูง การใช้กลูโคสไอโซเมอเรสที่ตรึงแล้วเป็นรูปแบบที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสได้โดยง่าย เพราะเอนไซม์อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ เป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิต ขั้นตอนการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากแป้งได้แสดงไว้ในรูปที่ 5

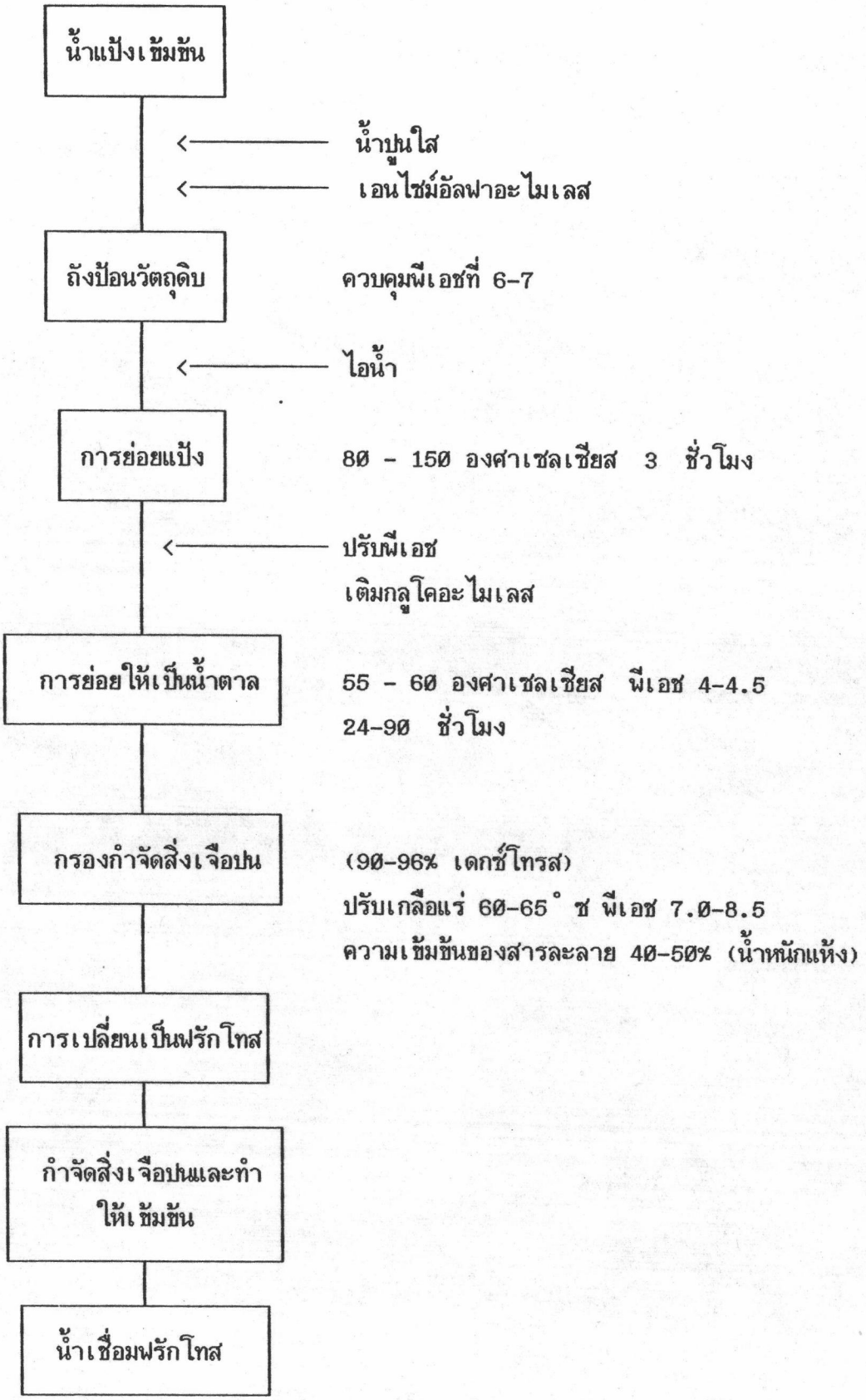
การผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสต้องผ่านขั้นตอนของเอนไซม์ 3 ชนิด ดังที่ได้กล่าวมาแล้วรวม 3 ขั้นตอน แต่ในปัจจุบันได้มีการทดลองตรึงเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ คือ อัลฟาอะไมเลส (α-amylase) กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) และกลูโคสไอโซเมอเรสอยู่บนตัวกลางเดียวกัน ในระดับห้องทดลอง (31) ซึ่งจะทำให้ลดขั้นตอนการใช้เอนไซม์ในการผลิตเหลือเพียง 1 ขั้นตอน แต่อย่างไรก็ตามเท่าที่ผ่านมาก็ยังไม่มีการพัฒนากระบวนการนี้มาใช้

1.7 บทบาทน้ำเชื่อมฟรักโทส

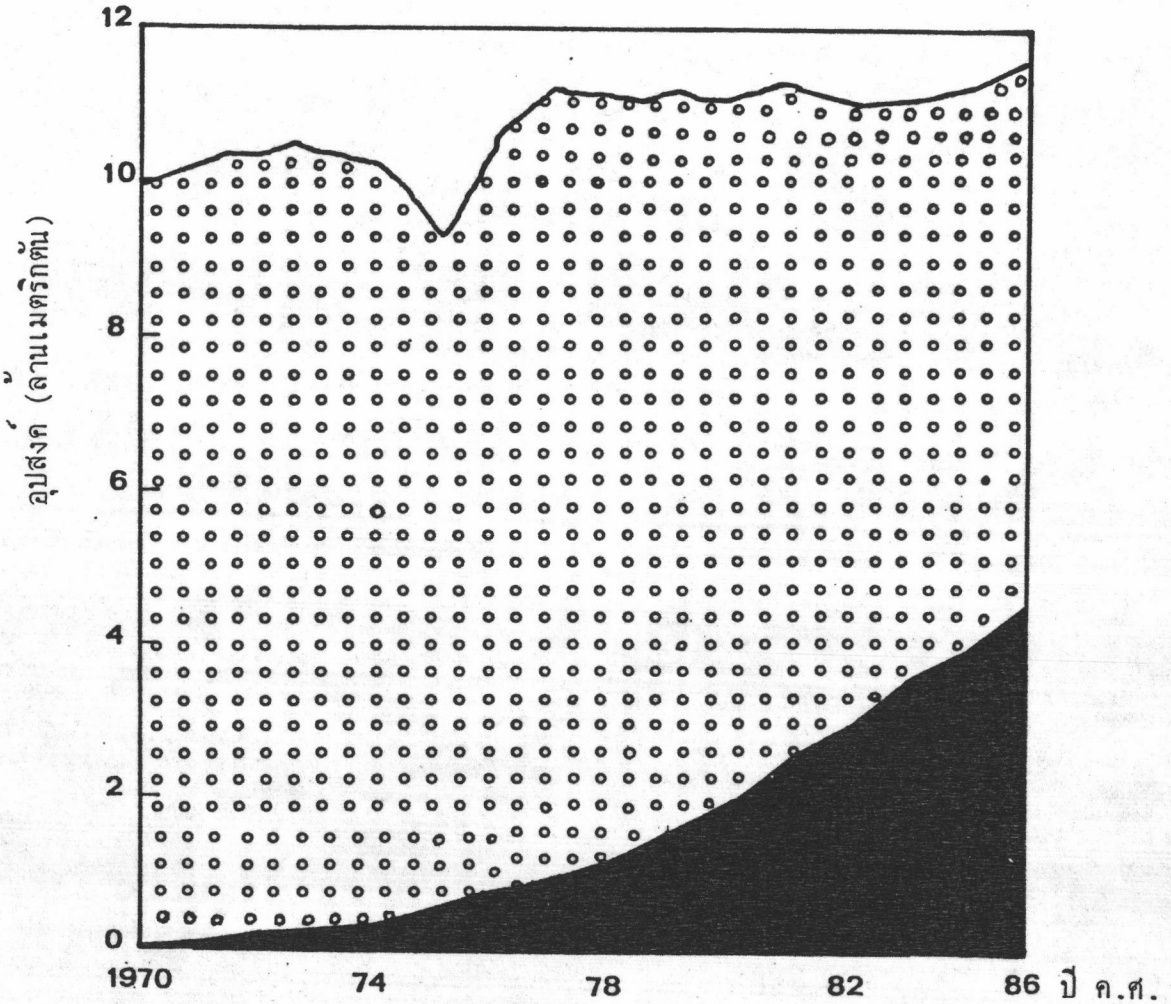
จากประโยชน์ของน้ำตาลฟรักโทสดังที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้นทำให้มีการนำน้ำเชื่อมฟรักโทสมาใช้ทดแทนน้ำตาลทรายมากขึ้นตามลำดับ นับแต่ปี ค.ศ. 1970 เป็นต้นมา โดยตลาดผู้บริโภคที่ใหญ่ที่สุด คือ สหรัฐอเมริกา ดังสถิติการใช้น้ำเชื่อมฟรักโทสในสหรัฐอเมริกาที่แสดงไว้ในรูปที่ 6 โดยเฉพาะตลาดเครื่องดื่มซึ่งใช้น้ำเชื่อมฟรักโทสทดแทนการใช้น้ำตาลทรายอย่างรวดเร็วมาก จนปัจจุบันมีส่วนแบ่งการตลาดในภาคเครื่องดื่มแล้วเกือบ 100% ดังแสดงในรูปที่ 7

ตารางที่ 6 กลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตในเชิงการค้า (3)

บริษัทผู้ผลิต	แหล่งเอนไซม์	วิธีการตรึง	รูปทรง
คลินตันคอร์นโพรเซส ชิงคอมปานี (Clinton Corn Processing Company)	Streptomyces ribigenosus	ยึดติดบนเซลลูโลสที่มีประจุลบ	เส้นใย (fibrous) และเม็ด (granular)
จิสต์ โบรเคดส์ (Gist Brocades)	Actinoplanes missouriensis	โอบล้อมเซลด้วยเจลาตินที่เชื่อมโยงด้วยกลูตารัลดีไฮด์	เม็ด
โนโวอินดัสตรี (Novo Industri)	Bacillus Coagulans	ทำให้เซลแตกแล้วเชื่อมโยงด้วยกลูตารัลดีไฮด์	เม็ด
ไอซีไอ อเมริกาส์ (ICI Americas, Inc.)	Arthrobacter	ตกตะกอนเซล	เม็ด อสัณฐาน (amorphous)
ไมลส์ แล็บส์ (Miles Labs, Inc.)	Streptomyces olivaceus	เชื่อมโยงเซลด้วยกลูตารัลดีไฮด์	
ซีพีซีอินเตอร์เนชันแนล (CPC Int.Inc.)	Streptomyces olivochromogenes	ยึดติดบนอลูมินาหรือตัวกลางเซรามิกอื่นๆ	เม็ด
นากาเซ (Nagase)	Streptomyces phraeochromogenes		เม็ด
ไมลส์-กาลิ เคมี (Miles-Kali Chemie)	Streptomyces	-	อสัณฐาน
ซันมัตสุ (Sanmutsu)	Streptomyces	ยึดติดบนตัวแลกเปลี่ยนประจุลบ	เม็ด



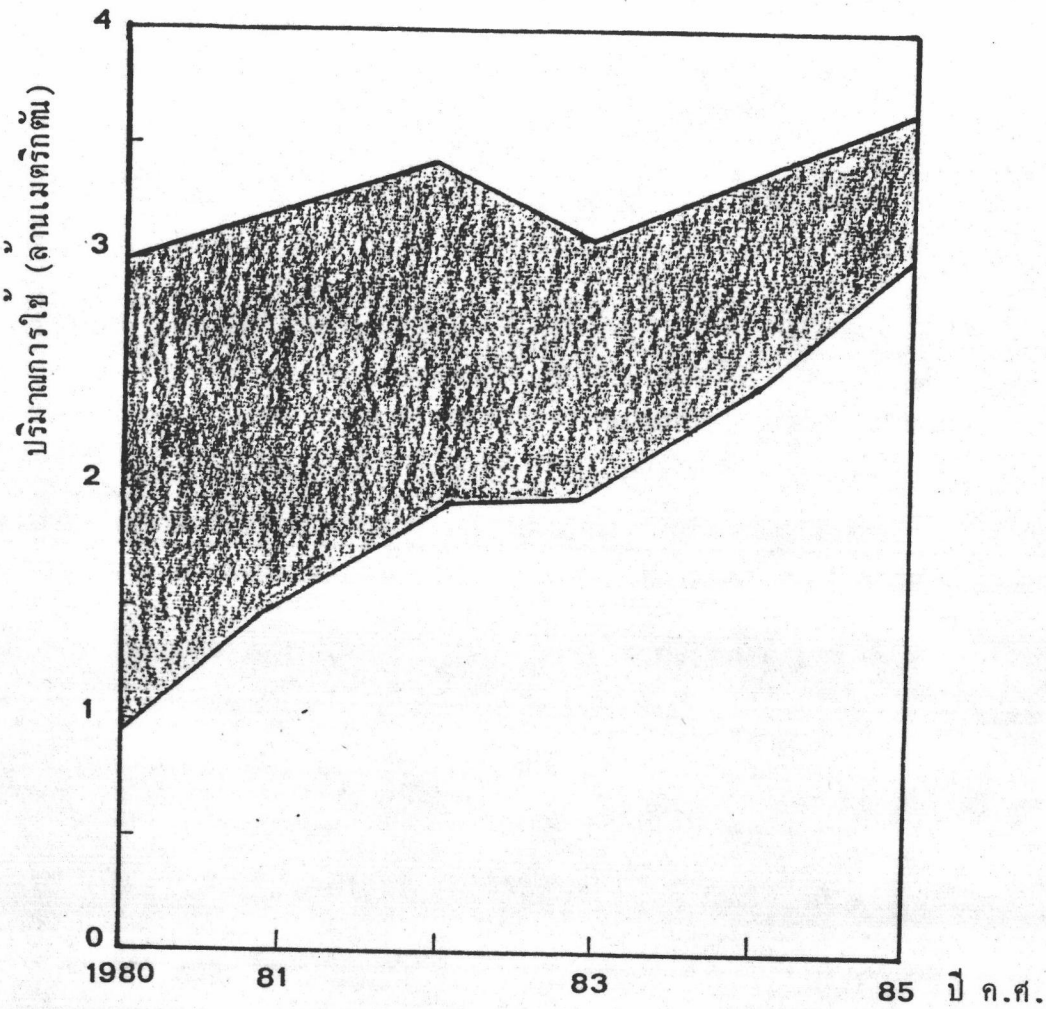
รูปที่ 5 การผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากแป้ง (3)



รูปที่ 6 อุปสงค์ของน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูงและน้ำตาลทรายในสหรัฐอเมริกา

น้ำตาลทราย

น้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูง



รูปที่ 7 ปริมาณการใช้น้ำตาลทรายและน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูงในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มในสหรัฐอเมริกา

น้ำตาลทราย

น้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูง

(51) เพราะนอกจากน้ำตาลฟรักโทสมีรสดีกว่าและมีประโยชน์กว่าแล้วยังมีราคาถูกกว่าน้ำตาลทรายอีกด้วย ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 8 (51)

สำหรับตลาดโลกในอนาคต (51) แม้ตลาดน้ำเชื่อมฟรักโทสในสหรัฐจะเริ่มอิ่มตัวแล้ว แต่ตลาดทางด้านเอเชียและยุโรปตะวันออกยังสามารถขยายตัวได้อีก เนื่องจากมีความตื่นตัวในเรื่องน้ำตาลทดแทนช้ากว่าทางด้านสหรัฐอเมริกา ประมาณการว่าตลาดน้ำเชื่อมฟรักโทสยังขยายได้อีกราวปีละ 5% ทดแทนน้ำตาลทรายซึ่งมีกำลังบริโภคมากกว่า 30 ล้านเมตริกตันต่อปี จากข้อมูลปี ค.ศ. 1985 โดยเฉพาะการทดแทนในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม

นอกจากนี้น้ำเชื่อมฟรักโทสที่ผลิตได้ยังสามารถนำไปแยกกลูโคสออกเพื่อผลิตฟรักโทสบริสุทธิ์โดยวิธีทางโครมาโตกราฟฟี (chromatographic method) (54-58) ในรูปฟรักโทสผง (crystalline fructose) ซึ่งตลาดในส่วนนี้จะเติบโตขึ้นเรื่อย ๆ (8)

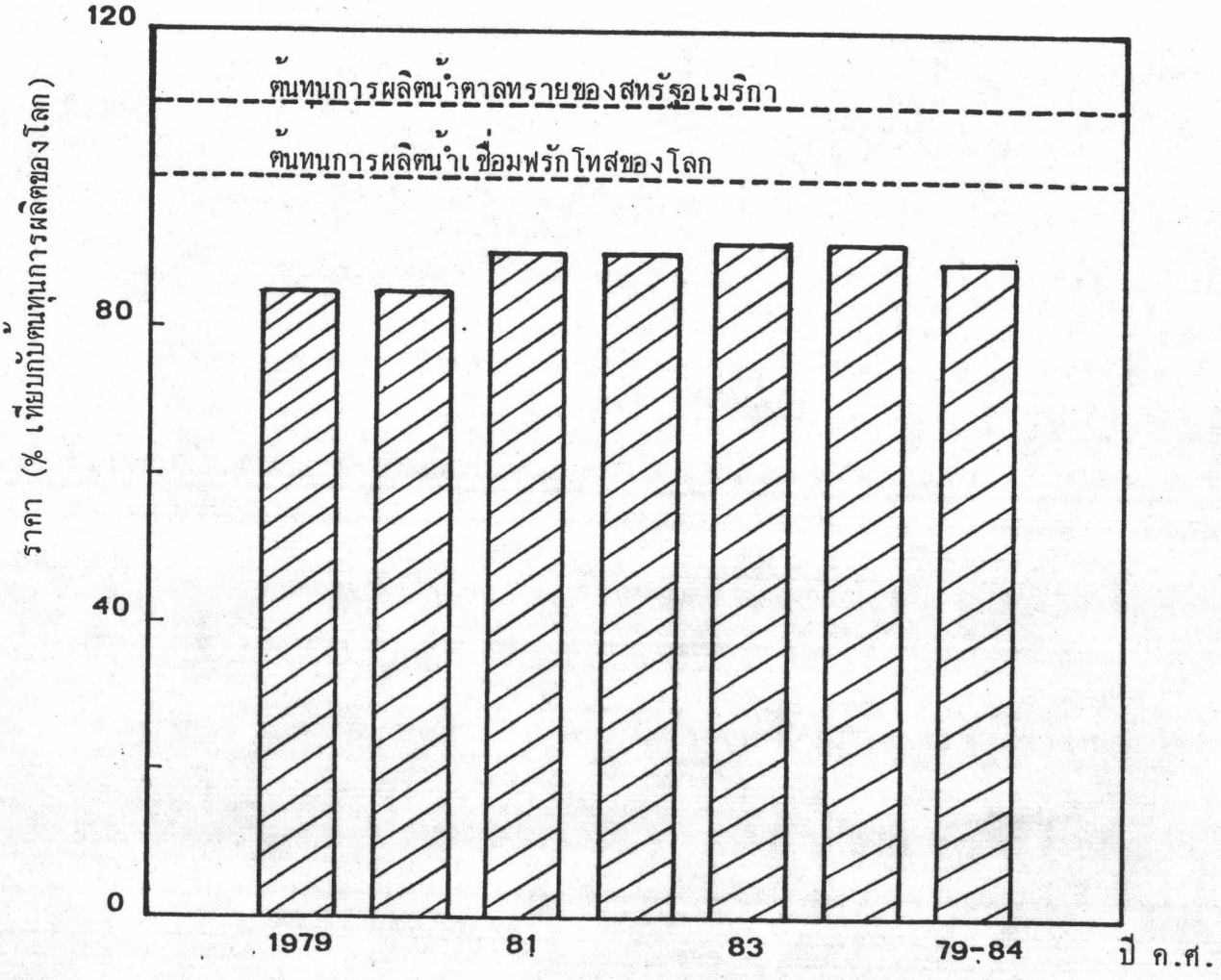
สำหรับในประเทศไทยนั้น มีการบริโภคน้ำตาลทรายมากกว่า 660,000 ตันต่อปี ดังรายละเอียดแสดงในตารางที่ 7 ส่วนความต้องการน้ำตาลทรายในภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ ภายในประเทศได้แสดงไว้ในตารางที่ 8 ซึ่งความต้องการน้ำตาลภายในประเทศคิดเป็น 30-35% ของกำลังผลิตภายในประเทศ (53)

ในปัจจุบันยังไม่มีการทดแทนน้ำตาลทรายภายในประเทศด้วยน้ำเชื่อมฟรักโทสทั้งนี้เนื่องจากจะมีผลกระทบโดยตรงต่อชาวไร่อ้อยและโรงงานน้ำตาล ถึงแม้น้ำเชื่อมฟรักโทสจะมีราคาถูกกว่า แต่อย่างไรก็ตามอุปสงค์ (demand) เป็นตัวกำหนดอุปทาน (supply) เมื่อความนิยมในการบริโภคน้ำตาลของผู้บริโภคเปลี่ยนไป การทดแทนน้ำตาลทรายย่อมต้องเกิดขึ้น ดังนั้นลู่ทางการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสในระดับอุตสาหกรรมในประเทศไทยยังมีศักยภาพสูง แม้ตลาดในประเทศยังไม่เปิดแต่ก็อาจทำการผลิตเพื่อส่งเป็นสินค้าออก เพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศไทย

1.8 เหตุจูงใจในการทำวิจัย

อุตสาหกรรมการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสและฟรักโทสผงนับเป็นอุตสาหกรรมที่น่าจับตามองเพราะยังมีส่วนแบ่งทางการตลาดอยู่ทั้งในและต่างประเทศ ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความเหมาะสมในการลงทุน เพราะมีแหล่งวัตถุดิบ คือแป้งมันสำปะหลัง และค่าแรงงานถูก เมื่อเทียบกับอีกหลาย ๆ ประเทศที่มีการผลิตอยู่แล้วในย่านเอเชีย อาทิ ญี่ปุ่น เกาหลีใต้ ไต้หวัน เป็นต้น

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2526 เป็นต้นมา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ทำการ



รูปที่ 8 ต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูงในสหรัฐอเมริกา

ตารางที่ 7 การบริโภคน้ำตาลภายในประเทศ ปี พ.ศ. 2526-2528 (53)

หน่วย : กระสอบ (100 กิโลกรัม)

ปี พ.ศ.	บริโภคทางตรง	ใช้ในอุตสาหกรรม	รวม
2526	5,138,918.47 (23.0)	1,169,559.00 (11.1)	6,308,477.47 (20.6)
2527	5,209,828.14 (1.4)	1,337,798.00 (14.4)	6,547,626.14 (3.8)
2528	5,355,367.24 (2.8)	1,324,858.85 (-1.0)	6,680,226.09 (2.0)

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บคือการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับปีก่อน (%)

ตารางที่ 8 ปริมาณการซื้อน้ำตาลของอุตสาหกรรมภายในประเทศ (53)

หน่วย : กระสอบ (100 กิโลกรัม)

ประเภทอุตสาหกรรม	2526	2527	2528
1) เครื่องดื่ม	588,733.00 (5.3)	588,309.00 (6.2)	610,250.50 (3.7)
2) ขนมปัง (รวมสุราและเบียร์)	32,503.00 (2.4)	59,488.00 (83.0)	39,891.00 (-32.9)
3) อาหาร (รวมอาหารกระป๋องและน้ำปลา)	54,495.00 (42.1)	101,624.00 (86.5)	79,950.00 (-21.3)
4) ผลิตภัณฑ์นม	392,313.00 (15.0)	403,880.00 (2.9)	399,714.50 (-1.0)
5) ลูกกวาด	69,960.00 (12.5)	81,964.00 (17.2)	72,299.00 (-11.8)
6) ยาอื่น ๆ	66,555.00 (24.1)	102,533.00 (54.1)	122,753.85 (19.7)
รวม	1,169,559.00	1,337,798.00	1,324,858.85

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บคือการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับปีก่อน

วิจัยเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส โดยทำการแยกและคัดเลือกจากตัวอย่างดินในประเทศไทยจนได้สเตรพโตมัยซิส 19Ø-1 ที่สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ปริมาณสูง (26)

ในปี พ.ศ. 2528 ขจีนาฏ จรรยาอุดม (59) ได้ศึกษาวิธีการสกัดแยก และสมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ดังกล่าว ต่อมาในปี พ.ศ. 2529 ศิริลักษณ์ ธีระดากร ได้ศึกษากลูโคสไอโซเมอเรสในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อให้ได้เอนไซม์ปริมาณสูง โดยใช้วัตถุดิบที่เป็นของเหลือใช้จากภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมภายในประเทศ ซึ่งได้ผลเป็นที่น่าพอใจ

จากข้อมูลเบื้องต้นเหล่านี้พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซิสสายพันธุ์ 19Ø-1 มาพัฒนาเพื่อเป็นลู่ทางนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมในอนาคต จึงควรมีการศึกษาการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูงจากกลูโคสไอโซเมอเรสนี้ในระดับห้องทดลอง โดยศึกษาการนำเอนไซม์มาใช้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยวิธีการตรึงที่เหมาะสม และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตด้วยเอนไซม์ตรึงรูปนี้ แบบจำลองของขั้นตอนในการผลิตแสดงไว้ในรูปที่ 9

เนื่องจากกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซิสสายพันธุ์ 19Ø-1 นี้ต้องการโคบอลท์อิออน (Co^{2+}) ซึ่งเป็นสารพิษต่อร่างกายในการทำงานของเอนไซม์ Fujita (28) รายงานว่าสามารถใช้เฟอรัสอิออน (Fe^{2+}) ทดแทนโคบอลท์อิออนได้ จึงควรมีการศึกษาการใช้เฟอรัสอิออนเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูง เพราะไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

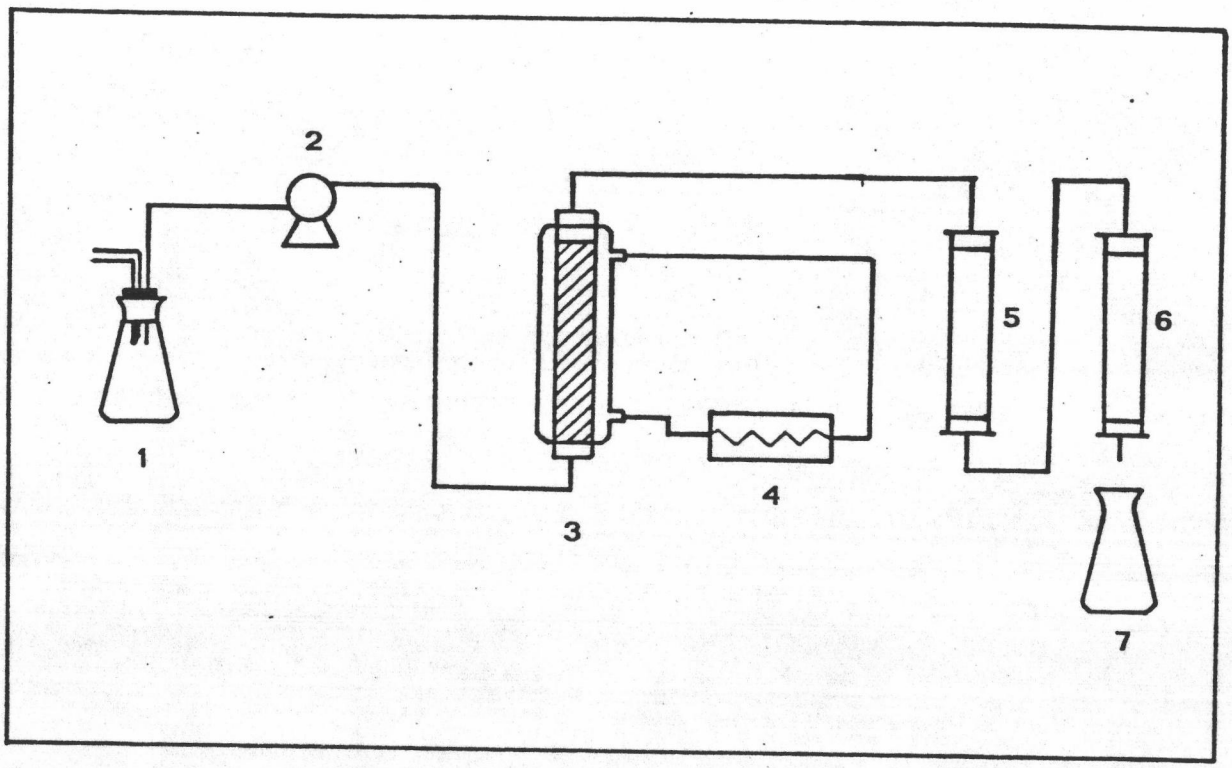
จากข้อมูลต่าง ๆ ในระดับห้องทดลองเหล่านี้สามารถจะนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับการผลิตในระดับขยายส่วน (scale up) ต่อไป

1.9 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.9.1 หาวิธีที่เหมาะสมในการตรึงเซลสเตรพโตมัยซิส 19Ø-1 ที่มีกลูโคสไอโซเมอเรส

1.9.2 ศึกษาลักษณะสมบัติของเซลที่ตรึงแล้วในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส ทั้งแบบแบทช์ (batch) และแบบต่อเนื่องในปฏิกรณ์แบบแพคเบด(packed bed)

1.9.3 ศึกษาสารที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (activator) ของกลูโคสไอโซเมอเรสแทนการใช้โคบอลท์คลอไรด์



รูปที่ 9 การเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสในปฏิกรณ์

1. สารละลายกลูโคส
2. ปั๊มเพอริสแตลติค
3. ปฏิกรณ์แบบแพคเบดบรรจุด้วยกลูโคสไอโซเมอเรสในเซลล์ตรึงรูป
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
5. ปฏิกรณ์แลกเปลี่ยนประจุลบ
6. ปฏิกรณ์แลกเปลี่ยนประจุบวก
7. สารละลายกลูโคส-ฟรักโทส