หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

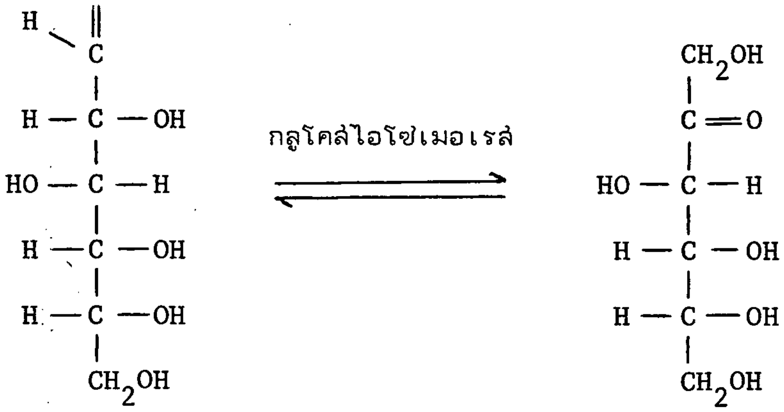
ฟรักโทส (fructose) หรือ ลีวูโลส (levulose) เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม พบมากในผลไม้หลายชนิด (1) ฟรักโทสเป็นน้ำตาลธรรมชาติที่มีความหวานสูงสุดโดยหวานกว่าน้ำตาลซูโครสถึง 20 - 60 % ในขณะที่น้ำตาลกลูโคสมีความหวานเพียง 70 % ของน้ำตาลซูโครส (2) ในฟรักโทสไซรับ (fructose syrup) นั้นความหวานจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำตาลฟรักโทสที่เป็นส่วนประกอบของไซรับ แต่ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มก็คือ ฟรักโทสไซรับที่ประกอบด้วยน้ำตาลฟรักโทส 42 % และน้ำตาลกลูโคส 50 % (1)

1. ประวัติความเป็นมา

เอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase) เป็นเอนไซม์ที่ให้ปฏิกิริยาจำเพาะในการเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส สมัยก่อนการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสนั้นใช้ปฏิกิริยาเคมีในสภาวะที่เป็นด่างและอุณหภูมิสูง เรียกปฏิกิริยานี้ว่า "Lobry de Bruyn - Alberda van Ekenstein Transformation" (3) แต่วิธีนี้ไม่นิยมใช้ในทางการค้า เพราะปฏิกิริยาดังกล่าวไม่จำเพาะ อัตราการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส (conversion) ต่ำ และได้สารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการมากกว่า 30 % ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความหวานลดลงและมีสีและกลิ่นที่ไม่ต้องการ ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกำจัดสิ่งเจือปนเหล่านี้ (4) ต่อมาในปี ค.ศ. 1957 Marshall และ Kooi (5) ค้นพบเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส ดังนั้นจึงมีการนำกลูโคสไอโซเมอเรสมาใช้ในการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส ดังแสดงในรูปที่ 1 เพราะเอนไซม์ให้ปฏิกิริยาที่จำเพาะ ช่วยลดปัญหาต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นโดยขบวนการทางเคมี

2. ประเภทของเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส

กลูโคสไอโซเมอเรสส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นภายในเซลของจุลินทรีย์หลายชนิด อาจแบ่งกว้าง ๆ ได้เป็น 4 ประเภทคือ



ดี - กลูโคส ดี - ฟรักโทส

รูปที่ 1 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส โดยเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส

ประเภทแรก ได้แก่ ไซโลสไอโซเมอเรส (D - xylose ketol - isomerase, E.C. 5.3.1.5) ซึ่งถูกค้นพบโดย Marshall และ Kooi ในปี ค.ศ. 1957 (5) เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก Pseudomonas hydrophila ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลูโลส และเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสได้ แต่ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสต่ำกว่าการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลูโลสถึง 160 เท่า จึงไม่นิยมใช้ไซโลสไอโซเมอเรสจาก Pseudomonas hydrophila ทางการค้า การผลิตเอนไซม์ในจุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำ และสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์นี้คือ ที่พีเอช 8.5 และอุณหภูมิ 42 - 43 องศาเซลเซียส ต่อมาปี 1965 Tsumura, Sato และ Takasaki (1) ได้แยกสเตรพโตมัยซีสจากแหล่งดินในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งสามารถผลิตไซโลสไอโซเมอเรสได้ โดยต่อมา Tsumura และ Sato (6) พบว่า Streptomyces phaeochromogenes SK. สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้โดยมีไซโลสเป็นสารชักนำ ในการทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการไดวาเลนท์แคทอิออน (divalent cation) 2 ชนิดร่วมกัน คือแมกเนเซี่ยมอิออน และโคบอลท์อิออน โดยโคบอลท์อิออนช่วยป้องกันไม่ให้เอนไซม์สูญเสียสภาพธรรมชาติโดยความร้อน สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์นี้คือ พีเอช 9.3 - 9.5 และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แต่เนื่องจากพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์นี้เป็นด่างมากเกินไป ซึ่งทำให้มีสิ่งเจือปนที่ไม่ต้องการในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสได้ จึงไม่นิยมใช้เอนไซม์นี้จาก Streptomyces phaeochromogenes SK. ทางการค้า ต่อมา Takasaki และคณะ (7) พบว่า Streptomyces albus YT-5 สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้โดยมีไซโลสหรือไซแลนเป็นสารชักนำ เอนไซม์จากจุลินทรีย์นี้มีคุณสมบัติคล้ายกันกับเอนไซม์จาก Streptomyces phaeochromogenes SK. และสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์นี้คือที่พีเอช 7.0 และอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ต่อมานักวิจัยชาวญี่ปุ่นได้ค้นพบสเตรพโตมัยซีสอีกหลายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้ เช่น Streptomyces bikiniensis, Streptomyces flavogriseus และ Streptomyces olivochromogenes และเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีสเหล่านี้ มีข้อดีคือสามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิสูง ๆ และทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกลาง ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดสิ่งเจือปนที่ไม่ต้องการในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสได้ (1) บริษัท Clinton Corn Processing Co. (CCP) จึงได้ร่วมมือกับรัฐบาลญี่ปุ่นในการค้นคว้าและพัฒนาจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตฟรักโทสไซรับ โดยบริษัท CCP เป็นบริษัทแรกที่ผลิตฟรักโทสไซรับในปี

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.ศ. 1967 โดยใช้เอนไซม์จากสเตรพโตมัยซีส (2)

เอนไซม์ประเภทที่สองคือ กลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส (D - glucose - 6 - phosphate ketol - isomerase, E.C. 5.3.1.9) ซึ่งถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1963 โดย Natake และ Coshimura (8) เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก <u>Escherichia</u> <u>intermedia</u> ซึ่งไม่ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำในการสร้างเอนไซม์ การทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ต้องการอาร์ซีเนท (arsenate) ในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทส โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่พีเอช 7.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากเอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนกลูโคส-6-ฟอสเฟตไปเป็นฟรักโทส-6-ฟอสเฟตได้ด้วย จึงเรียกเอนไซม์นี้ว่า กลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส

เอนไซม์ประเภทที่สามคือ กลูโคสไอโซเมอเรส (D - glucose ketol - isomerase, E.C. 5.3.1.18) ซึ่งถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1962 โดย Takasaki และ Tanabe (9) เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก <u>Bacillus</u> <u>megaterium</u> A 1 โดยเอนไซม์นี้ให้ปฏิกิริยาจำเพาะในการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสเท่านั้น การทำงานของเอนไซม์นี้ต้องการ NAD^+ โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่พีเอช 7.8 และอุณหภูมิ 35°C

เอนไซม์ประเภทที่สี่ คาดว่าเป็นกลุ่มย่อย (subclass) ของกลูโคสไอโซเมอเรส (D - glucose ketol - isomerase, E.C. 5.3.1.18) ซึ่งถูกค้นพบในปี 1964 โดย Takasaki และ Tanabe (10) เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก <u>Paracolobacterium</u> <u>aerogenoides</u> ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนกลูโคสและแมนโนส (mannose) ไปเป็นฟรักโทสได้ การทำงานของเอนไซม์นี้ต้องการ NAD^+ และมักเนเซียมอิออนในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสและแมนโนสไปเป็นฟรักโทสโดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่พีเอช 7.5 และอุณหภูมิ 40 องศา-เซลเซียส

เอนไซม์ในกลุ่มกลูโคสไอโซเมอเรสทั้งสี่ประเภทที่กล่าวมาข้างต้นนั้น พบว่าเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในทางการค้าคือ ไซโลสไอโซเมอเรส โดยเฉพาะจากสเตรพโตมัยซีส เนื่องจากมีคุณสมบัติที่สามารถให้ปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็นฟรักโทสได้ที่พีเอชค่อนข้างเป็นกลางและที่อุณหภูมิสูง และมีความคงทนต่อความร้อน (heat stability) สูง ทำให้สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น (contamination) ได้ และในการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ไม่ต้องการ

ปัจจัยร่วม (cofactor) เช่น NAD^+ หรือ อาร์ซีเนท จากคุณสมบัติเหล่านี้เหมาะที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตฟรักโทสไซรับมาก (2)

3. จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

มีการค้นพบกลูโคสไอโซเมอเรสในจุลินทรีย์หลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 (2) เอนไซม์นี้ส่วนใหญ่พบว่าเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นและถูกเก็บอยู่ภายในเซลของจุลินทรีย์ (intracellular enzyme) แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดสร้างเอนไซม์แล้วขับออกมานอกเซล (extracellular enzyme) เช่น Streptomyces glaucescens (11) จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสที่ศึกษากันมาก ได้แก่ Actinoplanes sp., Arthrobacter sp., Bacillus sp. และ Streptomyces sp.

4. สภาวะและปัจจัยในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

การผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสนั้นทำได้โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมักต่าง ๆ กัน โดยทั่ว ๆ ไปปริมาณสารอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้ออยู่ในช่วงเหล่านี้ (% น้ำหนักของสารอาหาร/น้ำหนักของอาหารเลี้ยงเชื้อ) คือ สารแหล่งคาร์บอน 0.05 - 10 % สารแหล่งไนโตรเจน 0.001 - 3 % เกลือฟอสฟอรัส 0.01 - 0.5 % เกลือมักเนเซียม 0.001 - 0.2 % เกลือซัลเฟอร์ 0.01 - 0.25 % เกลือโปตัสเซียม 0.01 - 0.25 % และสารอาหารที่จำเป็นอื่น ๆ (12)

สารแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากเอนไซม์นี้ถูกสร้างขึ้นและเก็บอยู่ภายในเซลของจุลินทรีย์ (13) ดังนั้นในการผลิตเอนไซม์นี้ควรคำนึงถึงการเจริญของเชื้อควบคู่ไปด้วย ในสมัยก่อนนักวิจัยพบว่าองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสส่วนใหญ่มีสารแหล่งคาร์บอนเป็นไซโลส เช่น ในปี 1966 Yoshimura และคณะ (14) ศึกษาการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสจาก Bacillus coagulans HN-68 พบว่าเมื่อใช้ไซโลสเป็นสารแหล่งคาร์บอนเทียบกับสารแหล่งคาร์บอนอื่น ๆ อีก 20 ชนิด เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูง ต่อมา Takasaki (7) พบว่า Streptomyces albus YT-5 สามารถเจริญเติบโตและผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ดี เมื่อใช้ไซแลนหรือวัสดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบเป็นสารแหล่งคาร์บอน ปัจจุบันนี้พบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้โดยไม่ต้องการไซโลสเป็น

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส

สกุล (Genus)	สายพันธุ์ (Species)
Actinoplanes	missouriensis
Aerobacter	aerogenes, levanicum
Aspergillus	oryzae
Bacillus	coagulans, stearothermophilus
Brevibacterium	pentoso-aminoacidicum, imperiale, incertum
Escherichia	coli
Flavobacterium	devorans
Lactobacillus	brevis, mannitopoeus, pentoaceticus, gayonii, plantarum
Leuconostoc	mesenteroids
Micrococcus	agilis
Microellobospora	flavea
Micromonospora	rosea, rosea, monnitrogenes
Nocardia	asteroides, dassonuillei, corallie
Pseudomonas	hydrophila
Streptomyces	achromogenes, albus, bikiniensis, bobilai, californicus, echinatus, flavouirens, fradiae, glaucescens, griseolus, olivaceus, olivochromegenes, phaeochromogenes, roseochromogenes, rubiginosus, venezulae, venuceus, virginial, wedmorensis
Streptosporangium	albus, vulgare

สารแหล่งคาร์บอน เช่น Arthrobacter sp. สารแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส ได้แก่ กลูโคส, ไซโลส, แลคโตส, แมนโนส, แลคเตส, แมนนิทอล, ซอร์บิทอล, แป้ง, โมแลส, ไซแลน, วัสดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ เช่น รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, เปลือกข้าวโพด, ซังข้าวโพด และเปลือกเมล็ดฝ้าย และสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของวัสดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ (13) ดังแสดงในตารางที่ 2

สารแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดยมากเป็นสารอินทรีย์ เนื่องจากมีปัจจัยสำหรับการเจริญ (growth factor) อยู่ด้วย สารแหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้ได้แก่ คอร์นสตีพลิเกอร์ (corn steep liquors), เปปโตน, โพลีเปปโตน, ทริปโตน, ยีสต์เอกซแทรก, มีทเอกซแทรก, มอลท์ เอกซแทรก และแป้งถั่วเหลือง ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 แต่จุลินทรีย์บางชนิด เช่น Aerobacter sp., Bacillus sp., Escherichia sp. และ Paracolobactrum sp. สามารถใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียม-ซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมฟอสเฟต ในการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้

สารแหล่งเกลือแร่โดยเฉพาะเกลืออนินทรีย์ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตกลูโคส-ไอโซเมอเรส Takasaki (7) รายงานว่า โคบอลท์อิออนและแมกเนเซียมอิออนเป็นตัวกระตุ้นการสร้างกลูโคสไอโซเมอเรสที่สำคัญใน Streptomyces albus YT-5 แต่ใน Bacillus coagulans HN-68 แมงกานีสอิออนจะกระตุ้นการสร้างกลูโคสไอโซเมอเรสได้ดี ในขณะที่โคบอลท์อิออนไม่มีผลต่อการสร้างเอนไซม์นี้เลย (14) สารแหล่งเกลือแร่ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์นี้ ได้แก่ แมกเนเซียมซัลเฟต, โคบอลท์คลอไรด์, แมงกานีสซัลเฟต, เฟอรัสซัลเฟต และโซเดียมคลอไรด์ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ที่จะเจริญและสร้างเอนไซม์ คืออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเป็นกลาง คือระหว่าง 6 - 7.5 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 แต่จุลินทรีย์บางชนิด เช่น Corynebacterium candidus เจริญและสร้างเอนไซม์ได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเป็นกรด คือ 4.5 (23) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิดอยู่ในช่วง 28 - 32 องศาเซลเซียส แต่สำหรับ Bacillus sp. สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง คือ 50 - 55 องศาเซลเซียส (21) ส่วนสภาวะอื่น ๆ เช่น อัตราการให้อากาศ และอัตราการกวนสารอาหารนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ การผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสจะสูงสุดอยู่ในช่วงระยะเวลา 24 - 72 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สภาวะและปัจจัยในการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในถังหมัก

ชนิดของจุลินทรีย์	บริษัท	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	เกลือแร่	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการให้อากาศ ปริมาตร/ปริมาตร-อาหาร/นาที)	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)	เอกสารอ้างอิง
Actinoplanes missouriensis	Anheuser-Busch, Incoporated	โมแลส	คอร์นสตีพลิเกอร์	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $FeSO_4$ + K_2HPO_4	7.1	28	0.8	200-300	72	15
Actinoplanes missouriensis	Anheuser-Busch, Incoporated	โมแลส	แป้งถั่วเหลือง	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + K_2HPO_4	7.1	28	0.8	200-300	68-72	16
Aerobacter levanicum	Anheuser-Busch, Incoporated	อาร์ควูด ซัลไฟท์ ลิเกอร์	-	$CoSO_4 \cdot 7H_2O$ + KCl	7.5	25	-	225	24	17
Arthrobacter nov. sp. NRRL B 3728	R.J. Reynolds Tobacco Company	เดกซ์โตรส	มีทโปรตีน + ยีสต์เอกซ์แทรก + $(NH_4)_2HPO_4$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + KH_2PO_4	6.9	30	-	300	55	18
Arthrobacter nov. sp. NRRL. B 3724	R.J. Reynolds Tobacco Company	ไซโลส	ทริปโตน + ยีสต์เอกซ์แทรก	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + KH_2PO_4	6.9	30	-	300	64	19

ชนิดของจุลินทรีย์	บริษัท	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	เกลือแร่	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตร/ปริมาตร-อาหาร/นาที)	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)	เอกสารอ้างอิง
<u>Arthrobacter</u> nov. sp. NRRL. B 3724	R.J. Reynolds Tobacco Company	วัสดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ	ทริปโตน + ยีสต์เอกซ์แทรก + $(NH_4)_2HPO_4$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + KH_2PO_4	6.9	30	-	300	64	19
<u>Bacillus coagulans</u>	Novo Industri A/S Denmark	ไซโลส	คอร์นสตีพลิเกอร์ + ยีสต์เอกซ์แทรก + $(NH_4)_2SO_4$	K_2HPO_4 + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $MnSO_4 \cdot H_2O$	7.0	50	1	220	40	20
<u>Bacillus Stearothermophilus</u>	CPC International Inc.	ไซโลส + แป้ง	คอร์นสตีพลิเกอร์ + เปปโตน + ยีสต์เอกซ์แทรก + มีทเอกซ์แทรก	NaCl + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	7.0	55	-	130	72	21

ชนิดของจุลินทรีย์	บริษัท	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	เกลือแร่	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตร/ปริมาตร-อาหาร/นาที)	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)	เอกสารอ้างอิง
Brevibacterium incertum NRRL B-5383	A.E. Staley Manufacturing Company	ไซโลส	ทริปติเคส + ฟีโอเปปโตน + ยีสต์เอกซ์แทรก	NaCl + $MnSO_4 \cdot H_2O$ + $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	-	30	1	300	48	22
Corynebacterium candidus	Nippon Oil Company Ltd, Japan	ไซโลส	เปปโตน	KH_2PO_4 + $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	4.5	30	-	-	48	23
Curtobacterium sp.	Imperial Chemical Industries, Ltd, England	ไซโลส	เปปโตน + มีทเอกซ์แทรก + ยีสต์เอกซ์แทรก	NaCl + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	7.2	30	-	-	24	24
Flavobacterium arborescens	R.J. Reynolds Tobacco Compnay	แลคโตส	คอร์นสตีพลิเกอร์ + ยีสต์เอกซ์แทรก	K_2HPO_4 + KH_2PO_4	6	30	-	-	72	25

ชนิดของจุลินทรีย์	บริษัท	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	เกลือแร่	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตร/ปริมาตร-อาหาร/นาที)	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)	เอกสารอ้างอิง
Nocardia asteroides ATCC 21943	Standard Brands Incorporated	เด็กซ์โตรส + ไซโลส + ซอร์บิทอล	คอร์นสตีพลิเคอร์	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	-	30	-	-	-	26
Streptomyces albus YT. No. 5	Mitsubishi Chemical Industries Ltd,	ซังข้าวโพด	คอร์นสตีพลิเคอร์	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	7	30	-	-	30	27
Streptomyces glaucescens NRRL B-2900	Givaudan Corporation	กลูโคส + ไซโลส + ซอร์บิทอล	ยีสต์เอกซ์แทรก	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ +, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	7	30	-	200	46	28
Streptomyces olivochromogenes ATCC No. 21715	CPC International Inc.	คอร์นไซรัป	คอร์นสตีพลิเคอร์	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	7	28	-	-	48	29
Streptomyces olivaceus NRRL 3583	Miles Laboratories	ไซโลส + แป้งข้าวโพด	เปปโตน + มีทเอกซ์แทรก + ยีสต์เอกซ์แทรก	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + NaCl	7	32	3	400	24	30

ชนิดของจุลินทรีย์	บริษัท	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	เกลือแร่	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการให้อากาศ (ปริมาตร/ปริมาตร-อาหาร/นาที)	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)	เอกสารอ้างอิง
Streptomyces wedmorensis ATCC 21230	Agency of Industrial Science and Technology, Japan	รำข้าวสาลี	คอร์นสตีพลิเกอร์	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + NaCl	7	30	0.75	200	20-25	31

5. <u>จุดมุ่งหมายในการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในอุตสาหกรรม</u>

ปัจจุบันนี้มีการนำกลูโคสไอโซเมอเรสมาใช้ในอุตสาหกรรมค่อนข้างสูง โดยปี ค.ศ. 1971, 1975 และ 1980 มีการใช้เอนไซม์นี้คิดเป็นมูลค่า 1 ล้าน, 4 ล้าน และ 8 ล้านเหรียญสหรัฐ ตามลำดับ (32) ซึ่งเห็นได้ว่าแนวโน้มการใช้เอนไซม์นี้สูงขึ้นเรื่อย ๆ จากตารางที่ 3 พบว่ามีจุลินทรีย์ไม่กี่สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดแยกและปรับปรุงพันธุ์เพื่อนำมาใช้ผลิตเอนไซม์นี้ในทางอุตสาหกรรม (2)

การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในอุตสาหกรรมนั้น มีจุดมุ่งหมายที่สำคัญ 3 ประการด้วยกันคือ ประการแรก ต้องการให้จุลินทรีย์เพิ่มปริมาณการสร้างเอนไซม์ ประการที่สอง เนื่องจากการสร้างเอนไซม์นี้ส่วนใหญ่จะถูกชักนำโดยน้ำตาลไซโลสซึ่งมีราคาแพงและหายาก จึงพยายามหาสารอาหารอื่น ๆ ที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายมาทดแทนไซโลส และประการสุดท้าย เนื่องจากจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ต้องการเกลือแร่ คือ โคบอลท์อิออน ในการช่วยเพิ่มเอนไซม์แอคติวิตี แต่ถ้ามีปริมาณของโคบอลท์อิออนสูงเกินไปอาจมีผลไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นควรกำจัดความต้องการในการเติมโคบอลท์อิออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ (1)

5.1 <u>การทำให้จุลินทรีย์เพิ่มปริมาณการสร้างเอนไซม์</u>

อาจทำได้หลายวิธี โดยวิธีแรกก็คือ การปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อผลิตเอนไซม์ ซึ่งได้แก่การปรับปรุงสารแหล่งคาร์บอนและสารแหล่งไนโตรเจน Anheuser - Busch's (35) รายงานว่าถ้าใช้คอร์นสตีพลิเกอร์เป็นสารแหล่งไนโตรเจนในการผลิตกลูโคส-ไอโซเมอเรสโดย <u>Actinoplanes</u> <u>missouriensis</u> ทำให้เอนไซม์ที่ได้มีแอคติวิตีสูงมากเมื่อเทียบกับการใช้สารแหล่งไนโตรเจนอื่น ๆ เช่น เปปโตน, ยีสต์เอกซแทรก และมอลท์ เอกซแทรก เป็นต้น

Shieh (15) รายงานว่า วัสดุทางการเกษตรบางชนิดสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ โดยให้ <u>Actinoplanes</u> <u>missouriensis</u> NRRL B - 3342 เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารแหล่งคาร์บอน คือ 2 - 8 % โมแลส และสารแหล่งไนโตรเจนคือ 0.6 - 4 % คอร์นสตีพลิเกอร์ โดยให้อัตราการให้อากาศเป็น 0.8 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที (VVM) อัตราการกวน 200 - 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่าโมแลสทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้ดีในขณะที่คอร์นสตีพลิเกอร์ทำให้เชื้อ

ตารางที่ 3 จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสที่ใช้ในอุตสาหกรรม

บริษัท	แหล่งของเอนไซม์	การทำงานของเอนไซม์ (หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง)	เอกสารอ้างอิง
Clinton Corn Processing Company	Streptomyces ribigenosus	-	2
CPC Int. Inc.	Streptomyces olivochromogenes	-	2
Gist Brocades	Actinoplanes missouriensis	1,295	23
Miles - Kali Chemie	Streptomyces albus	278	33
Miles Labs, Inc.	Streptomyces olivaceus	-	2
Godo Shusei Co. Ltd.	Streptomyces phaeochromogenes	131	34
Novo Industri	Bacillus coagulans	500	33

ผลิตเอนไซม์ได้ดี แต่การใช้คอร์นสตีพลิเกอร์ในการเลี้ยงเชื้อนั้นจะต้องมีการกำจัดกาก (sludge) ออกเสียก่อน ซึ่งก่อให้เกิดวิธีการที่ยุ่งยาก ต่อมาจึงเปลี่ยนมาใช้สารแหล่งคาร์บอน คือ 1 - 6 % โมแลส และสารแหล่งไนโตรเจนคือ 0.4 - 7 % แป้งถั่วเหลือง (16) โดยแป้งถั่วเหลืองทำหน้าที่เป็นสารแหล่งคาร์บอนด้วย พบว่าสารอาหารทั้งสองชนิดทำให้เชื้อมีการเจริญดี และผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณสูง

Dworschack และคณะ (36) รายงานว่า การใช้สารแหล่งคาร์บอนสองชนิดคือ กลูโคสและซอร์บิทอลร่วมกัน ทำให้ Streptomyces sp. ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ในปริมาณสูง โดยกลูโคสและซอร์บิทอลทำหน้าที่รักษาระดับความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่ เนื่องจากระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อ กลูโคสทำให้ระดับความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง แต่ซอร์บิทอลจะไปเพิ่มระดับความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณกลูโคสที่นิยมใช้คือ 0.6 - 0.8 % และปริมาณซอร์บิทอลที่นิยมใช้คือ 0.8 - 1.2 %

Bengtson และ Lamm (37) รายงานว่า อีกวิธีหนึ่งที่จะทำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ได้ในปริมาณสูงขึ้นคือ การทำให้จุลินทรีย์กลายพันธุ์ (mutation) โดยใช้สารพิษ (toxic agents) ได้แก่ ไนโตรเจนมัสตาร์ด (nitrogen mustard), เบตา-โพรพิโอโนแลคโตน (B - propionolactone), เอทธิลคาร์บาเมท (ethyl carbamate), เอธิลลีนอิมีน (ethylenimine), ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide), เอ็น-เมทธิล-เอ็น-ไนโตร-เอ็น-ไนโตรโซกัวนิดีน (n-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine), อะคริเฟลวินไฮโดรคลอไรด์ (acriflavinehydrochloride), ไนโตรโซเมทธิลยูเรีย (nitrosomethylurea) และแสงเหนือม่วง (ultraviolet) โดยใช้สารเหล่านี้ในปริมาณและสภาวะที่ทำให้ 99 % ของจุลินทรีย์ถูกทำลาย ส่วนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดควรจะผลิตเอนไซม์ได้สูงกว่าเดิม 30 - 50 % เมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้ถูกกลายพันธุ์ นอกจากนี้พบว่าระยะการเจริญของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมที่จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์ควรอยู่ในระยะที่เป็นสปอร์

Bengston และ Lamm (38) รายงานอีกว่า การทำให้ Streptomyces ATCC 21175 กลายพันธุ์โดยใช้เอธิลลีนอิมีน ทำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นจากเดิม 62 %

Miles Laboratories (39) พบว่า มิวแตนท์ของ Streptomyces olivaceus NRRL 3583 ที่เกิดจากการใช้แสงเหนือม่วง สามารถผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นจากเดิม 16 %

013369

i 17476239

5.2 <u>การทดแทนน้ำตาลไซโลสโดยสารอาหารอื่น ๆ</u>

การสร้างกลูโคสไอโซเมอเรสโดยจุลินทรีย์หลายชนิด ต้องการไซโลสซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีราคาแพงและหายากเป็นสารชักนำ แต่นักวิจัยของ The Agency of Industrial Science and Technology ของประเทศญี่ปุ่น (40) พบว่า การเติมไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณสูงเกินไป ก็มีผลกระทบต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์ โดยจากการเปรียบเทียบการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย <u>Streptomyces</u> <u>wedmorensis</u> ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณไซโลสต่างกัน พบว่าการผลิตเอนไซม์โดยจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโลสอยู่ปริมาณหนึ่งในตอนเริ่มต้นของการเลี้ยงเชื้อแล้วเติมไซโลสเพิ่มอีก 0.5 % เมื่อเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จะต่ำกว่าการผลิตเอนไซม์โดยจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโลสปริมาณหนึ่งในตอนเริ่มต้นของการเลี้ยงเชื้อและหลังจากเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 16 ชั่วโมงเติมไซโลสทุก ๆ ชั่วโมง ครั้งละ 0.025 % เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ต่อมามีผู้พบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีวัสดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ Takasaki (41) รายงานว่า <u>Streptomyces</u> sp. สามารถเจริญและสร้างกลูโคสไอโซเมอเรสได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีวัสดุซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบ เช่น รำข้าวสาลี, เปลือกข้าวโพด และซังข้าวโพด เป็นต้น ต่อมา Nand และคณะ (42) พบว่า <u>Streptomyces</u> <u>fradiae</u> สามารถเจริญและสร้างกลูโคส-ไอโซเมอเรสได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของวัสดุซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบ

อีกวิธีหนึ่งที่สามารถหลีกเลี่ยงการใช้ไซโลสเป็นสารชักนำในการสร้างกลูโคสไอโซ-เมอเรสทำได้โดยใช้มิวแตนท์ CPC International Inc. (43) พบว่า มิวแตนท์ของ <u>Streptomyces</u> sp. สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้โดยไม่ต้องการไซโลสหรือวัสดุทางการเกษตรที่มีไซโลสเป็นองค์ประกอบเป็นสารชักนำในการสร้างเอนไซม์ จากรายงานของ Novo Industri A/S (16) พบว่าเมื่อใช้เอ็น-เม็ทริล-เอ็น-ไนโตร-เอ็น-ไนโตรโซกัวนิดีนทำให้ <u>Bacillus</u> <u>coagulans</u> NRRL 5650 เกิดการกลายพันธุ์ ก็จะได้มิวแตนท์ที่ไม่ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำในการสร้างเอนไซม์

อีกวิธีหนึ่งก็คือ พยายามแยกจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำในการสร้าง

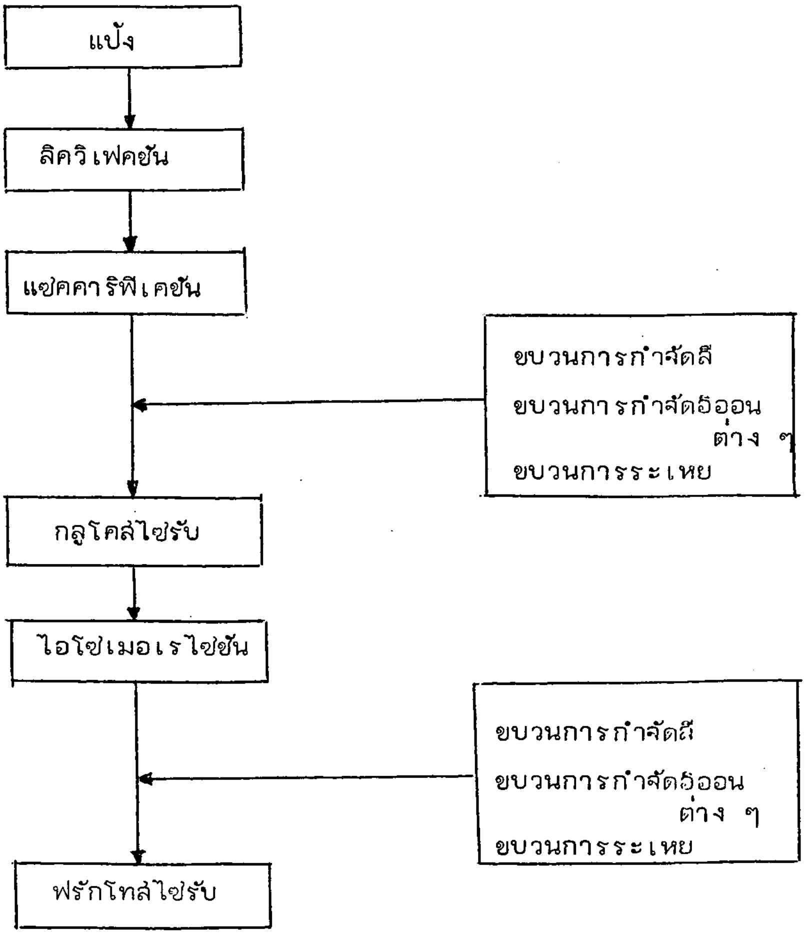
กลูโคสไอโซเมอเรสจากธรรมชาติ Shieh และคณะ (44) รายงานว่า Actinoplanes sp. สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้โดยไม่ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำ

5.3 การหลีกเลี่ยงการเติมโคบอลท์อิออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ปัญหาข้อนี้เป็นปัญหาที่นักวิจัยให้ความสนใจน้อยที่สุด แต่โคบอลท์อิออนก็มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย ถ้ามีโคบอลท์อิออนเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อมากเกินไป จะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ (13) แต่จุลินทรีย์หลายชนิดต้องการโคบอลท์อิออนในการสร้างกลูโคสไอโซเมอเรส เพราะว่าในผลึกของเอนไซม์นี้จะมีโคบอลท์อิออนอยู่ด้วย จากการศึกษาโครงสร้างผลึกของเอนไซม์นี้จาก Streptomyces albus (7) พบว่า ใน 1 โมเลกุลของเอนไซม์นี้จะมีโคบอลท์อิออนอยู่ 4.1 อะตอม นอกจากนี้โคบอลท์อิออนช่วยป้องกันเอนไซม์จากการถูกทำให้เสียสภาพด้วยความร้อน, กรด และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodacyl sulfate) หรืออาจช่วยเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์ด้วย การแก้ปัญหาข้อนี้อาจทำได้โดยแยกจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้โดยไม่ต้องการโคบอลท์อิออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น Actinoplanes missouriensis (15) R.J. Reynolds Tobacco Co. (45) พบว่า มิวแตนท์ของ Arthrobacter sp. ไม่ต้องการโคบอลท์อิออนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

6. การนำกลูโคสไอโซเมอเรสมาใช้ประโยชน์

การผลิตกลูโคสไซรับ (glucose syrup) จากแป้งในธรรมชาตินั้น อาจเตรียมได้โดยวิธีย่อยสลายด้วยแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสร่วมกัน โดยผ่านกระบวนการย่อยแป้งให้เป็นมอลโทสหรือโอลิโกแซคคาไรด์ (liquefaction) และผ่านกระบวนการย่อยมอลโทสและโอลิโกแซคคาไรด์ให้เป็นกลูโคส (saccharification) โดยพบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดผลิตเอนไซม์เหล่านี้ได้ เช่น Aspergillus niger, Aspergillus oryzae และ Bacillus subtilis เป็นต้น (1, 2) กลูโคสไซรับที่เตรียมได้ควรมีเดกซ์โตรส (dextrose) มากกว่า 90 % ของน้ำหนักแห้ง (dry basis) จากนั้นเปลี่ยนกลูโคสไซรับที่ได้ให้เป็นฟรักโทสไซรับ (fructose syrup) โดยกลูโคสไอโซเมอเรสซึ่งทำปฏิกิริยาจำเพาะกับกลูโคสเท่านั้น แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับมอลโทสหรือโอลิโกแซคคาไรด์ที่อยู่ในกลูโคสไซรับ ดังนั้นปริมาณฟรักโทสที่ได้จึงขึ้นอยู่กับปริมาณกลูโคสที่มีอยู่ในกลูโคสไซรับ (1) จากรูปที่ 2 การผลิตฟรักโทสไซรับเริ่มต้นด้วยการย่อยสลายแป้งด้วยแอลฟาอะไมเลส จากนั้นย่อยสลายต่อด้วยกลูโคอะไมเลส กลูโคสไซรับที่ได้



รูปที่ 2 ขบวนการผลิตฟรักโทสไซรับ

ควรมีปริมาณเดกซ์โตรส 90 - 96 % ของน้ำหนักแห้ง นำผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้ผ่านขบวนการกำจัดสีด้วยผงถ่าน, กำจัดอิออนต่าง ๆ ด้วยอิออนเอกซ์เชนท์ และทำให้เข้มข้นโดยให้มีปริมาณของแข็ง (dry solids) ประมาณ 40 - 50 % จากนั้นผ่านขบวนการไอโซเมอไรเซชั่น (isomerization) โดยกลูโคสไอโซเมอเรส ฟรักโทสไซรับที่ได้ประกอบด้วยกลูโคส, ฟรักโทส และน้ำตาลโมเลกุลสูง นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาผ่านขบวนการกำจัดสีด้วยผงถ่าน, กำจัดอิออนต่าง ๆ ด้วยอิออนเอกซ์เชนท์ และทำให้เข้มข้นโดยให้มีปริมาณของแข็งประมาณ 71 % ฟรักโทสไซรับมาตรฐานประกอบด้วยฟรักโทส 42 % กลูโคส 50 % และน้ำตาลโมเลกุลสูงอีก 8 % ฟรักโทสไซรับเริ่มนิยมใช้ในอุตสาหกรรมเมื่อปี ค.ศ. 1967 โดยบริษัท Clinton Corn Processing โดยใช้ชื่อฟรักโทสไซรับที่มีปริมาณฟรักโทสอยู่ 42 % นี้ในทางการค้าว่า Isomerose 30 ในปัจจุบันบริษัทต่าง ๆ ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้ผลิตฟรักโทสไซรับจากแป้งข้าวโพด โดยใช้ชื่อทางการค้าต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 4 (2)

ฟรักโทสไซรับมาตรฐานที่ได้นี้จะให้ความหวานใกล้เคียงกับซูโครส ซึ่งนิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม นอกจากนั้นฟรักโทสไซรับนี้ยังไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และมีความดันออสโมติกสูง จึงมีความสามารถในการต่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (46)

7. <u>เหตุจูงใจในการทำวิจัย</u>

ขบวนการผลิตฟรักโทสไซรับซึ่งเริ่มต้นจากการย่อยสลายแป้งนั้น ในต่างประเทศนิยมใช้วัตถุดิบเป็นแป้งข้าวโพด ไซรับที่ได้เรียกว่า ฟรักโทสคอร์นไซรับ (fructose corn syrup) ซึ่งใช้เป็นสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มหลายประเภท ในประเทศไทยนั้น อุตสาหกรรมการผลิตแป้งข้าวโพดเป็นอุตสาหกรรมที่เริ่มต้นมาได้เพียง 3 - 4 ปีเท่านั้น โดยผลิตแป้งข้าวโพดได้ประมาณปีละ 3 หมื่นตัน หรือร้อยละ 1 ของผลผลิตข้าวโพดในประเทศ (47) ประเทศไทยสามารถผลิตข้าวโพดได้ประมาณปีละ 3 ล้านตัน โดยร้อยละ 90 ของข้าวโพดที่ผลิตได้ถูกส่งออกไปขายต่างประเทศ ถึงแม้จะมีการผลิตแป้งข้าวโพดได้ในประเทศแล้ว แต่ก็ยังมีการนำเข้าจากต่างประเทศเป็นบางส่วน และราคาของแป้งข้าวโพดที่ผลิตได้ในประเทศราคาใกล้เคียงกับราคาของแป้งข้าวโพดที่นำเข้าจากต่างประเทศ แต่มีอุตสาหกรรมแป้งอีกประเภทหนึ่งที่สามารถใช้ทดแทนแป้งข้าวโพดได้ก็คือ อุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ประเทศไทยสามารถผลิตแป้งมันสำปะหลังได้ประมาณปีละ 4 แสนตัน โดยร้อยละ 70 ของที่ผลิตได้ส่งออกไป

ตารางที่ 4 บริษัทที่ผลิตฟรักโทสไซรับมาตรฐานในประเทศสหรัฐอเมริกา

บริษัท	ชื่อทางการค้า
American Maize Products Company	TruSweet™
Amstar Corporation	Amerose
Archer Daniels Midland Corn Sweeteners	Corn Sweet™
Cargill, Inc.	ISOCLEAR
Clinton Corn Processing Company	ISOMEROSE®
CPC International, Inc.	INVERTOSE™
The Hubinger Company	HI - SWEET®
A.E. Staley Manufacturing Co.	ISOSWEET®

จำหน่ายต่างประเทศ ถึงแม้ประเทศไทยจะส่งแป้งมันสำปะหลังออกไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศได้ในปริมาณสูง แต่โอกาสที่จะขยายตลาดในต่างประเทศให้กว้างขวางขึ้นเป็นเรื่องที่ลำบากไม่น้อย เพราะแต่ละประเทศก็มักจะให้ความคุ้มครองแก่อุตสาหกรรมในประเทศของตน จะมีการนำเข้าก็ต่อเมื่อการผลิตในประเทศไม่เพียงพอเท่านั้น และปัญหาที่น่าเป็นห่วงอีกข้อก็คือ ได้มีการขยายกำลังการผลิตอย่างขนานใหญ่ของโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งคาดว่าการผลิตแป้งมัน-สำปะหลังรวมของประเทศจะเพิ่มขึ้นอีกประมาณร้อยละ 20 ซึ่งอาจจะทำให้มีปัญหาในอนาคตอันใกล้นี้ แนวทางที่จะแก้ปัญหาเหล่านี้ก็คือ การส่งออกในรูปของผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลังอื่น ๆ แทน ซึ่งนอกจากจะหลีกเลี่ยงปัญหาการกำหนดโควต้าของประเทศผู้นำเข้าแล้ว ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าการส่งออกของประเทศไทยได้อีกทางหนึ่ง (47) ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลังที่น่าสนใจประเภทหนึ่งก็คือ อุตสาหกรรมการผลิตกลูโคสไซรัป ปัจจุบันประเทศไทยสามารถผลิตกลูโคส-ไซรับได้แล้ว โดยร้อยละ 80 ของที่ผลิตได้นำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตลูกกวาด และอีกประมาณร้อยละ 20 นำไปใช้ในโรงงานผลิตน้ำหวาน (48) แต่ถ้าเปลี่ยนกลูโคสไซรับให้เป็นฟรักโทสไซรับโดยกลูโคสไอโซเมอเรสนั้น อาจจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลังอีกวิธีหนึ่ง เพราะฟรักโทสไซรับนี้สามารถใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท และมีข้อดีกว่ากลูโคสไซรับหลายประการ นอกจากนี้ในตลาดต่างประเทศก็นิยมใช้ฟรักโทสไซรับในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม ซึ่งนับว่าเป็นลู่ทางหนึ่งที่น่าสนใจ

ในภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้มีการศึกษากลูโคสไอโซเมอเรสอย่างจริงจัง โดย นฤมล คู่ภจรรยา (49) ได้คัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้จากแหล่งดินในประเทศไทย คือ สเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 และได้ศึกษาถึงอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ในขวดแก้วทรงกรวย พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณสูงถึง 171 - 299 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักเซลแห้ง ซึ่งปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตได้นี้ไม่ต่ำกว่าสายพันธุ์ของต่างประเทศบางสายพันธุ์มากนัก ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 นอกจากนี้ ขจีนาฏ จรรยาอุดม (50) ก็ได้ศึกษาถึงการสกัดแยกและทำให้เอนไซม์นี้กึ่งบริสุทธิ์ และได้ศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของเอนไซม์ที่เตรียมได้ จากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้ศึกษามาเหล่านี้พบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำกลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 มาใช้งานในระดับอุตสาหกรรมในประเทศต่อไป

8. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) ศึกษาสภาวะเหมาะสมสำหรับการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ซึ่งแยกได้จากแหล่งดินในประเทศไทย

2) นำวัสดุจากการเกษตรซึ่งมีราคาถูกและหาง่ายมาใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3) รวบรวมข้อมูลประกอบการผลิตระดับขยายส่วน