การผลิตฟรักโตสซีรัพจากแป้งมันสำปะหลัง

นายสมบุญ ศุภผล

007516

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเคมีเทคนิค

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. ๒๕๒๕

ISBN 974-560-991-9

I 17714A

PRODUCTION OF FRUCTOSE SYRUP FROM TAPIOCA FLOUR

Mr. Somboon Supaphon

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Chemical Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title	Production of Fructose Syrup from Tapioca Flour
By	Mr. Somboon Supaphon
Department	Chemical Technology
Thesis Advisor	Associate Professor Chaiyute Thunpithayakul, Ph.D.
	Assistant Professor Surapong Navankasattusas, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the requirements for the Master's degree.

S. Bunnag ..... Dean of Graduate School

(Associate Professor Supradit Bunnag, Ph.D.)

Thesis Committee

P. Chittaporn ..... Chairman

(Assistant Professor Patchree Chittaporn, Ph.D.)

C. Thunl ..... Member

(Associate Professor Chaiyute Thunpithayakul, Ph.D.)

S. Navankasattusas ..... Member

(Assistant Professor Surapong Navankasattusas, Ph.D.)

T. Panmaung ..... Member

(Lecturer Thitirat Panmaung, M.Sc.)

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตฟรักโตสซีรัพจากแป้งมันสำปะหลัง
ชื่อ	นาย สมบุญ ศุภผล
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์
ภาควิชา	เคมีเทคนิค
ปีการศึกษา	๒๕๒๔

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์สำคัญคือ ทดลองผลิตฟรักโตสซีรัพจากแป้งมันสำปะหลัง เพื่อที่จะได้นำแป้งมันที่ผลิตได้ภายในประเทศมาใช้เป็นประโยชน์มากขึ้น ทั้งนี้ได้พิจารณาใช้กรรมวิธีการผลิตของบริษัท NOVO INDUSTRI เป็นแนวทางในการดำเนินการวิจัยนี้ และมีการพิจารณาเปลี่ยนแปลงรายละเอียดกรรมวิธีการผลิตบางตอนเพื่อความเหมาะสมกับการผลิตในห้องทดลอง

การผลิตฟรักโตสซีรัพ มีขบวนการที่สำคัญ ๒ ขั้นตอนกล่าวคือ ในขั้นแรกเป็นการผลิตกลูโคสซีรัพจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เอนไซม์ อัลฟาอะไมเลส (Termamyl) และอะไมโล-กลูโคซิเดส (AMG) แล้วทำการแปรรูปกลูโคสเป็นฟรักโตสในขั้นตอนต่อไปโดยใช้เอนไซม์ กลูโคส-ไอโซเมอเรส (Sweetzyme type A) ซึ่งเหมาะสมกับขบวนการผลิตแบบไม่ต่อเนื่อง (batch process)

ในการวิจัยนี้ ได้ศึกษาถึงผลของการให้ความร้อนต่อแป้งมันและการทำลายเอนไซม์ Termamyl ก่อนใส่ AMG ต่อปริมาณกลูโคสที่ได้ จากการทดลองพบว่าขั้นตอนดังกล่าวมิได้ทำให้ปริมาณกลูโคสที่ได้เพิ่มขึ้น นอกจากทำให้กลูโคสซีรัพที่ได้มีสีเข้มกว่าเดิมเท่านั้น

เอนไซม์ Termamyl มีลักษณะที่ต้องการแคลเซียม (calcium) จำนวนหนึ่งสำหรับรักษาประสิทธิภาพในการทำงาน จากการทดลองเตรียมกลูโคสซีรัพโดยใช้น้ำกรองที่มีแคลเซียมอยู่น้อยพบว่าปริมาณกลูโคสที่ได้ไม่ต่างไปจากเมื่อใช้น้ำประปา

ในการแปรรูปกลูโคสเป็นฟรักโตสโดยใช้ Sweetzyme type A กลูโคสซีรัพที่ใช้ต้องนำไปขจัดสีออกก่อนโดยใช้ผงถ่าน (activated carbon) รวมทั้งการขจัดเอาแคลเซียมออกไปโดยการแลกเปลี่ยนประจุ (cation exchange) เพราะสารเหล่านี้สามารถหน่วงเหนี่ยวการทำงานของเอนไซม์ให้ช้าลงได้ จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโตสจะดำเนินได้ดี เมื่อกลูโคสซีรัพได้ผ่านขบวนการขจัดสีเสียก่อน ส่วนกลูโคสซีรัพที่เตรียมจากน้ำกรองนั้นไม่จำเป็นต้องแยกเอาแคลเซียมออก เพราะน้ำกรองที่ใช้มีปริมาณแคลเซียมอยู่น้อย ปริมาณฟรักโตสที่ได้จึงไม่แตกต่างกัน

ปริมาณของโคบอลท์ (cobalt) ที่มีอยู่ในกลูโคสซีรัพมีความสำคัญต่อการทำงานของ Sweetzyme type A ข้อมูลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโตสจะดำเนินได้ดีเมื่อมีโคบอลท์อยู่ด้วย ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับผลของแมกนีเซียมกับแคลเซียม (Mg/Ca ratio) ที่มีต่อปริมาณฟรักโตสที่เกิดขึ้น พบว่า ในกลูโคสซีรัพที่เตรียมจากน้ำกรองซึ่งมีอัตราส่วนของแมกนีเซียมตั้งแต่ ๑๐-๒๐ ให้ปริมาณฟรักโตสที่ไม่แตกต่างกัน และการทดลองใช้ chelating agents เช่น polyphosphate และ EDTA เพื่อขจัดการรบกวนของแคลเซียมที่มีต่อเอนไซม์ พบว่า ไม่สามารถใช้ได้ เพราะสารเหล่านี้จับโคบอลท์ได้ดีกว่าแคลเซียม

ปริมาณของ Sweetzyme type A ที่เหมาะสมในการผลิตฟรักโตสคือ ๓๓.๘ กรัม ต่อกลูโคส ๑,๐๐๐ กรัม ฟรักโตสซีรัพที่ได้จะมีฟรักโตสถึง ๔๒% ผลการทดลองเกี่ยวกับความสำคัญของปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟท (magnesium sulfate) ที่มีต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ พบว่า การลดปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟทจาก ๒ กรัม เป็น ๐.๑ กรัม ต่อซีรัพ ๑ ลิตร เอนไซม์ยังทำงานได้ผลดีคือ ปริมาณฟรักโตสที่ได้ยังสูงถึง ๔๒% เช่นเดิม

Thesis Title	Production of Fructose Syrup from Tapioca Flour
Name	Mr. Somboon Supaphon
Thesis Advisor	Associate Professor Chaiyute Thunpithayakul, Ph.D.
	Assistant Professor Surapong Navankasattusas, Ph.D.
Department	Chemical Technology
Academic Year	1981

ABSTRACT

The main objective of this investigation is to produce fructose syrup from tapioca flour. Locally available tapioca flour was used as raw material to diversify tapioca flour usage in Thailand. The production methods used was similar to those recommended by NOVO INDUSTRI with some modifications.

Starch was converted into fructose syrup through two main stages. The initial stage involved the production of glucose syrup from tapioca flour by alpha-amylase (Termamyl) and amyloglucosidase (AMG). In the second stage fructose syrup was produced from batch-wise isomerization of glucose catalyzed by glucose isomerase (Sweetzyme type A).

The effects of special heat treatment and inactivation of Termamyl prior to AMG addition on the yield of glucose were studied. It was found that such procedures did not affect the yield of glucose. However, they tended to increase the color intensity of the prepared glucose syrup. Glucose syrup could be produced with deionized water because it still contained a small amount of calcium which could fulfill the trace calcium requirement of Termamyl.

Pre-treatment of glucose syrup before isomerization was very important with respect to the yield of fructose. The removal of color-by products was found to be essential and could be achieved by activated carbon treatment. Glucose syrup prepared with deionized water could be used for isomerization without subsequent cation exchange treatment.

Cobalt is an activator and stabilizer of Sweetzyme type A and must be added to glucose syrup before isomerization. For glucose syrup prepared with deionized water, different Mg/Ca ratios from 10 to 32 did not affect the yield of fructose. The use of chelating agents such as polyphosphate and EDTA for removal of calcium was not beneficial because of their stronger affinity with cobalt.

The appropriate dosage of Sweetzyme type A in the first isomerization was found to be 33.8 gm/1,000 gm of glucose. Fructose syrup could be produced at 42% fructose content. The reduced dosage of magnesium sulfate from 2 gm to 0.1 gm/l syrup had no effect on the yield of fructose.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express his profound gratitude to Associate Professor Dr. Chaiyute Thunpithayakul and Assistant Professor Dr. Surapong Navankasattusas for their continuous guidance, valuable suggestions and advice offered during the course of this research.

Appreciation is due to Miss Piyanart Sanguanmanee who provided invaluable assistance. Thanks are also extended to Miss Thanomjit Suwansri for her aid in this research, and to Miss Duangmarn Buasangka and Miss Malee Jaiboon who have helped in typing this thesis.

He also gratefully acknowledges Chemical Technology Department, Chulalongkorn University for providing facilities, support and assistance.

CONTENT

Page

ABSTRACT IN THAI..... iv

ABSTRACT..... vi

ACKNOWLEDGEMENTS..... viii

LIST OF TABLES..... x

LIST OF FIGURES..... xiii

CHAPTER:

I INTRODUCTION..... 1

II ANALYTICAL METHODS FOR GLUCOSE AND FRUCTOSE DETERMINATIONS..... 5

III FRUCTOSE SYRUP..... 12

IV EXPERIMENTAL METHODS AND MATERIALS..... 86

V EXPERIMENTAL RESULTS..... 135

VI DISCUSSION..... 161

VII CONCLUSION AND RECOMMENDATION..... 169

REFERENCES..... 171

APPENDIX..... 176

VITA..... 185

LIST OF TABLES

Table		Page
1-1	Acreage and production of cassava roots in Thailand (4)	2
1-2	Production of cassava roots and tapioca products (4)	3
3-1	The compositions of cassava roots (7)	19
3-2	Characteristic requirements for tapioca flour grading (20)	20
3-3	Enzyme-catalyzed isomerizations classified as hydrogen shifts (24)	50
3-4	Influence of cobalt addition to the syrup on the stability of Sweetzyme (37)	68
3-5	Influence of the addition of Mg^{++} on the stability of immobilized glucose isomerase (32)	70
3-6	Immobilized glucose isomerase: optimal values for practical application in a plug flow process compared to proposed values for batch operation with soluble glucose isomerase (27)	75
3-7	Advantages of fructose syrup in food products (33)	78-85
4-1	G/F ratio in 25 ml of sample solution with constant content of glucose	104
4-2	G/F ratio in 25 ml of sample solution with constant total content of sugars	106
4-3	G/F ratio in 25 ml of sample solution with various quantities of G, F and M	108
5-1	Relationship between f value and G/F ratio at constant content of glucose	135

Table		Page
5-2	Relationship between f value and G/F ratio at constant total content of sugars	136
5-3	Relationship between f value and G/F ratio at constant content of glucose and at constant total content of sugars	137
5-4	Fructose determination at different G/F ratio	138
5-5	Composition of tapioca flour	139
5-6	Effect of special heat treatment and inactivation of Termamyl on the yield of glucose	140
5-7	ICUMSA color index of glucose syrup produced according to 4.3.4.2	141
5-8	Effect of deionized and tap water on the yield of glucose	142
5-9	ICUMSA color index of glucose syrup produced according to 4.3.4.3	143
5-10	Effect of pre-treatment on the yield of fructose	144
5-11	ICUMSA color index of syrup pre-treated according to 4.3.5.2 and isomerized according to 4.3.6.1	145
5-12	Effect of cation exchange on the yield of fructose	146
5-13	Effect of cobalt chloride on the yield of fructose	147
5-14	ICUMSA color index of syrup pre-treated according to 4.3.6.2 and isomerized according to 4.3.6,1	148
5-15	Effect of Mg/Ca ratio on the yield of fructose	149
5-16	Effect of polyphosphate and EDTA addition on the yield of fructose	150-151

Table		Page
5-17	Color of solutions with eriochrome black T indicator prepared according to 4.3.3.1.2 and 4.3.6.4	152-153
5-18	Effect of pure glucose and prepared glucose syrup on the yield of fructose	154
5-19	Sweetzyme type A dosage in the first isomerization	156
5-20	Effect of magnesium reduction on the yield of fructose	157
5-21	ICUMSA color index of fructose syrup prepared according to 4.3.6.8 and isomerized according to 4.3.6.1	158
5-22	ICUMSA color index of fructose syrup before and after activated carbon treatment	159
5-23	Cobalt content of fructose syrup before and after cation exchange	160

LIST OF FIGURES

Figure		Page
2	Aldose and ketose structure (6,7)	6
3-1	Production of fructose syrup (15)	13
3-2	Structures of the amylose and amylopectin components A: Diagram of a portion of an amylose molecule; B: Enlarged view of the shaded area showing chemical formula; C: Diagram of a portion of an amylopectin molecule; D: Enlarged view of the shaded area showing chemical formula (7)	15
3-3	Effect of enzyme concentration on reaction rate, assuming the substrate concentration is in saturating amounts (6)	24
3-4	Effect of substrate concentration on reaction rate, assuming that enzyme concentration is constant (6)	25
3-5	Diagrammatic demonstration of effect of substrate concentration on saturation of active sites of enzyme molecules (6)	27
3-6	Effect of time on starch conversion (18)	28
3-7	Effect of temperature on reaction rate of an enzyme-catalyzed reaction (6)	31
3-8	Effect of pH on an enzyme-catalyzed reaction (6)	31

Figure		Page
3-9	A proposed mechanism for alpha - amylase (21)	35
3-10	Effect of pH and temperature on amylase activity (17)	37
3-11	Influence of temperature on the activity of Bacillus licheniformis amylase and B.subtilis amylase (17)	38
3-12	The effect of added calcium on amylase stability (70°C)(17)	40
3-13	Maltose from beta -amylase - catalyzed hydrolysis of amylose (24)	42
3-14	Schematic representation of beta - amylase mechanism involving a flexible active site (21)	42
3-15	A proposed mechanism of beta - amylase - catalyzed hydrolysis of amylose (21)	43
3-16	Effect of enzyme concentration on reaction rate, Substrate concentration: 33%, Temperature: 60°C, pH: 4.5 Enzyme levels: A = 1.5; B = 2.0; C = 3.0; D = 3.5 l Amyloglugosidase NOVO 75 per ton of starch (19)	46
3-17	Dependence of final DE on substrate concentration(19)	47
3-18	A proposed mechanism of glucose isomerase (24)	51
3-19	Check list of properties and functional uses of corn syrups (glucose syrups) in specific food products (16)	58
3-20	Isomerization of glucose in dilute alkali (6,28)	60
3-21	Process lay-out for the production of fructose syrup from glucose syrup (35)	61
3-22	Influence of the individual process parameters on activity/stability and hence productivity of Sweetzyme (36,37)	63

Figure		Page
3-23	Temperature/activity profile of Sweetzyme (37)	65
3-24	Temperature/stability profile of Sweetzyme (37)	66
3-25	Initial activity of Sweetzyme versus pH (35)	67
3-26	Stability of Sweetzyme versus pH (35)	67
3-27	Influence of magnesium and calcium on the activity of immobilized glucose isomerase A: Control column - B: Calcium - treated column (32)	71
3-28	Influence of oxygen on the stability of Sweetzyme. Batch operation, 20 hour isomerizations (37)	72
3-29	Influence of syrup purity on the stability of Sweetzyme (37)	73
3-30	Stability of Sweetzyme - batch re-use (37)	76
4-1	Production of glucose syrup (22)	118
4-2	Pre - treatment of glucose syrup (36)	121
4-3	Isomerization of glucose syrup to fructose syrup (22)	124
4-4	Determination of the activity of Sweetzyme type A (31)	129
4-5	The relation between correction factor, Ø (X) and conversion, X (31)	131
4-6	Post - treatment of fructose syrup (36)	134