



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของฟรักโทส (Fructose)

ฟรักโทส หรือ เลวูโลส (levulose) หรือน้ำตาลผลไม้ (fruit sugar) (Newsome, 1986) เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวพบในผัก ผลไม้ และน้ำผึ้ง (Andres, 1987) ฟรักโทสเป็นน้ำตาลที่มีความหวานสูงสุดในกลุ่มน้ำตาลธรรมชาติ โดยมีความหวานเป็น 1-1.8 เท่าของซูโครส โดยขึ้นอยู่กับสภาพใช้งาน (Andres, 1987; Hoppe, 1986; Newsome, 1986; Richard, 1979)

ฟรักโทสมีคุณสมบัติที่เด่นเมื่อเทียบกับน้ำตาลทรายหรือซูโครส (Andres, 1987; Anonymous, 1985; Voedingsraad, 1984) คือ

1. มีรสดีกว่า
2. ไม่ตกผลึกที่อุณหภูมิต่ำ สามารถเก็บได้นานในรูปน้ำเชื่อมที่อุณหภูมิห้อง
3. มีความดันออสโมติกสูง
4. สารละลายฟรักโทสมีจุดเยือกแข็งต่ำ
5. รักษาสภาพของเนื้อเยื่อของอาหารแช่แข็งได้
6. ตูดความชื้นได้ดี
7. ร่างกายดูดซึมได้ช้ากว่า
8. สามารถคีเลตกับโลหะได้

ฟรักโทสที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นของฟรักโทสในปริมาณต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 1.1 (ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย, 2528) ส่วนฟรักโทสในรูปผงนั้นเพิ่งเริ่มมีวางตลาดในปี ค.ศ. 1987 (Andres, 1987) แต่ใช้ในวงจำกัด (Fry, 1987)

น้ำเชื่อมฟรักโทสมาตรฐานที่ได้จากการเปลี่ยนกลูโคส ประกอบด้วยฟรักโทส 42 % กลูโคส 52 % และน้ำตาลอื่น ๆ อีก 6 % คุณสมบัติของน้ำเชื่อมไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และมีความดันออสโมติกสูง จึงมีความสามารถในการต่อต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดี สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลานานโดยไม่ตกผลึก (Robinson, 1975) น้ำเชื่อมฟรักโทสเป็นที่นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร น้ำผลไม้กระป๋อง ซอสมะเขือเทศ ขนมหวาน ขนมอบ อาหารหมักดอง เครื่องปรุงรส อาหารประเภทนม-เนย และไวน์ เป็นต้น การใช้น้ำเชื่อมฟรักโทสอาจใช้ในลักษณะน้ำเชื่อมจากแป้งโดยตรง หรืออาจจะใช้ในลักษณะของน้ำเชื่อมผสม เช่น ผสมกับซูโครสหรือกลูโคส ซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้งาน เช่น ในอุตสาหกรรมไวน์ จะใช้กลูโคส ในขั้นแรกเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ แล้วเติมฟรักโทสในระยะหลังของการหมักเพื่อเพิ่มรสชาติและความหวาน ได้มีการศึกษาและเป็นที่ยอมรับกันมานานแล้วว่า ฟรักโทสเป็นน้ำตาลที่ทำให้เกิดโรคฟันผุต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับซูโครส (Frostell, Keyes และ Larson, 1967) ดังนั้นจึงเห็นได้ว่า ฟรักโทสสามารถใช้เป็นสารให้ความหวานทดแทนที่ให้คุณประโยชน์ค่อนข้างสูง ตารางที่ 1.2 แสดงการใช้น้ำเชื่อมฟรักโทสเป็นสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมประเภทต่าง ๆ (ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2532)

น้ำเชื่อมฟรักโทสเป็นน้ำเชื่อมที่เตรียมจากแป้งโดยกระบวนการของเอนไซม์ ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน (Marshall และ Kooi, 1957) ชั้นแรก เป็นการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส โดยใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* หรือ *Bacillus subtilis* (Denault และ Underkofler, 1963; Hamada, Yamamoto และ Fukumoto, 1967; Takagi, Toda และ Isemura, 1971) เป็นต้น แต่ความหวานของน้ำตาลกลูโคสที่ได้ต่ำกว่าความหวานของน้ำตาลซูโครส ดังนั้นน้ำตาลกลูโคสจึงถูกเปลี่ยนไปเป็นฟรักโทส ซึ่งมีความหวานสูงกว่าซูโครสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสซึ่งได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดในวงศ์ต่าง ๆ กัน

ตารางที่ 1.1 ส่วนประกอบและการใช้งานของน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูง (High Fructose Syrup, HFS) (ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย, 2528)

ชนิดของน้ำเชื่อมฟรักโทส	ส่วนประกอบ	การใช้งาน
ความเข้มข้น 42 %	42 % ฟรักโทส 52 % เดกซ์โทรส 6 % น้ำตาลอื่น ๆ	ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหวาน น้ำอัดลม น้ำผลไม้ อาหารกระป๋อง ขนมปัง ขนมหวานนมและผลิตภัณฑ์นม ไอศกรีม เป็นต้น
ความเข้มข้น 55 %	55 % ฟรักโทส 42 % เดกซ์โทรส 3 % น้ำตาลอื่น ๆ	
ความเข้มข้น 90 %	90 % ฟรักโทส 9 % เดกซ์โทรส 1 % น้ำตาลอื่น ๆ	ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทจำกัดพลังงาน อาหารสุขภาพและอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน

ตารางที่ 1.2 แสดงใช้น้ำเชื่อมฟรักโทสทดแทน(HFS) น้ำตาลทรายในอุตสาหกรรมประเภทต่าง ๆ (ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย, 2532)

อุตสาหกรรม	ความสามารถในการเข้าแทนที่น้ำตาลทรายของ HFS (%)
เครื่องดื่ม	90-100
ขนมอบ	25
อาหารกระป๋อง	60-70
นมและผลิตภัณฑ์นม	35
ขนมลูกกวาด	5
อาหารอื่น ๆ ที่ให้ความหวานทั่วไป	40

1.2 แป้งมันสำปะหลัง (tapioca, cassava, manioc, sago flour/starch)

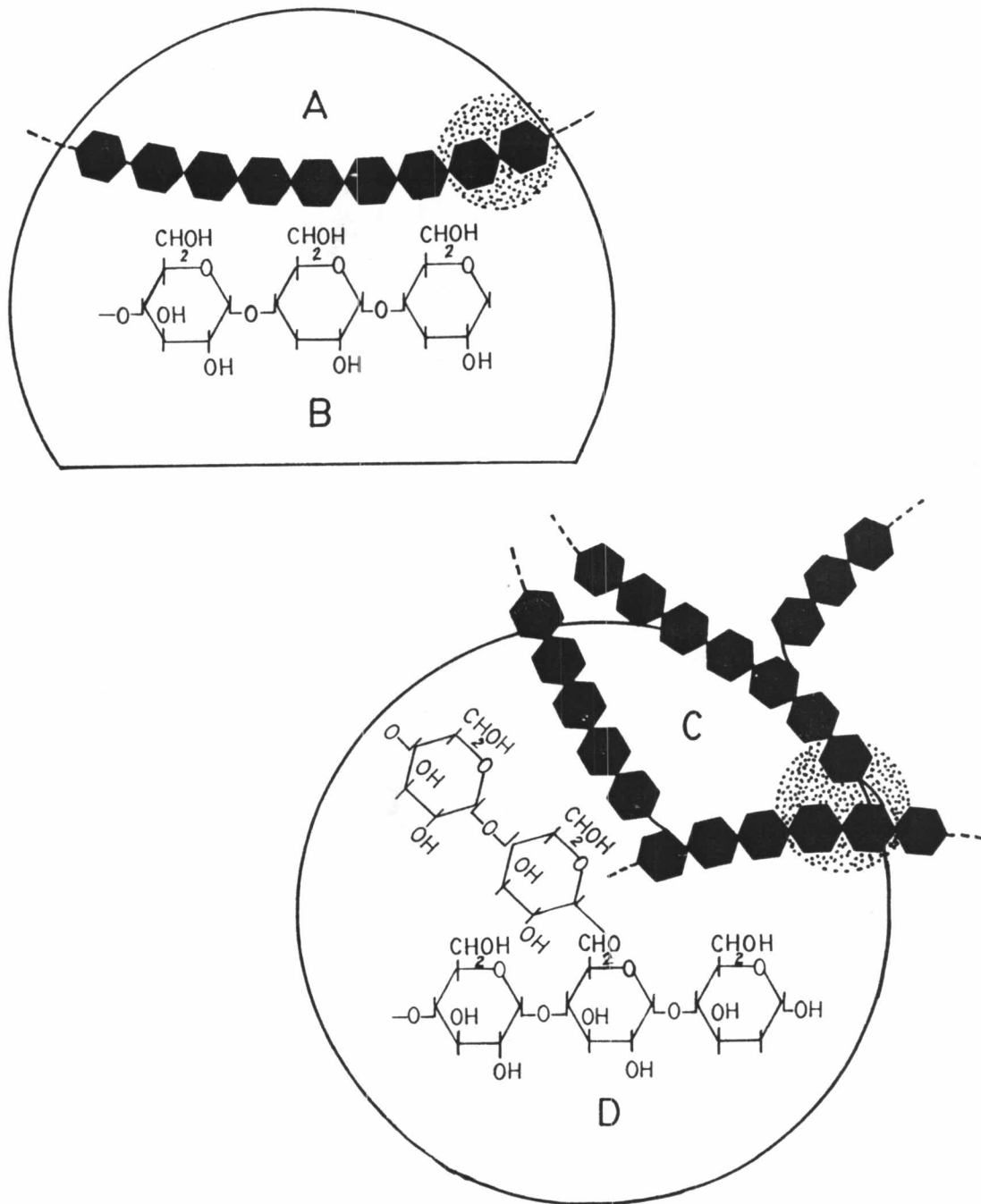
1.2.1 ลักษณะสำคัญทางเคมีและกายภาพ

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นโพลีเมอร์ (polymer) ของ D-glucose แป้งประกอบด้วยอะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกติน (amylopectin) อะไมโลสเป็นโพลีเมอร์แบบสายตรงที่หน่วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -D-(1 \rightarrow 4) glucosidic มี anhydroglucose units (AGU) ประมาณ 200-2,000 หน่วย ส่วนอะไมโลเพกตินเป็นโพลีเมอร์ที่แตกเป็นสาขามากมาย ซึ่งหน่วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -D-(1 \rightarrow 4) glucosidic เป็นส่วนใหญ่ และส่วนที่แตกสาขาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -D-(1 \rightarrow 6) glucosidic แต่ละสาขาประกอบด้วยหน่วยกลูโคส (AGU) ประมาณ 15-25 หน่วย (Spalding, 1979; Wurzburg, 1972) ดังแสดงในรูปที่ 1.1 สำหรับแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วย อะไมโลสคิดเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละ 17 (Odigboh, 1983; Swinkles, 1983) มีน้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินประมาณ 210,000 และ 3×10^5 ตามลำดับ (Peat, 1954)

โดยทั่วไปเม็ดแป้งจะมีขนาดตั้งแต่ 2-100 ไมครอน อาจมีรูปกลม รูปไข่ และอื่น ๆ และแสดงลักษณะ birefringence หรือกากบาท (Greenwood, 1979) ซึ่งจะเห็นเป็น polarization crosses เมื่อตรวจเม็ดแป้งด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสง polarized เม็ดแป้งมันสำปะหลังมีรูปกลมปลายด้านหนึ่งเป็นรอยตัด จึงมีลักษณะคล้ายรูปถ้วย (Swinkles, 1983; Wurzburg, 1972) มีขนาดตั้งแต่ 5-35 ไมครอน (0.005-0.035 มม.) เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 15 ไมครอน (Brautlecht, 1953)

1.2.2 การเกิดเจลาตินไนเซชัน (gelatinization) ของแป้ง

เม็ดแป้งไม่ละลายในน้ำเย็น โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เป็นจำนวนมากและยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Leach, 1965) เมื่ออยู่ในน้ำเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำและพองตัวได้เล็กน้อย (Wurzburg, 1972) เนื่องจากพันธะระหว่างโมเลกุลของเม็ดแป้งในบริเวณที่เป็นผลึก (crystalline regions) มีความแข็งแรงที่จะต้านทานต่อการละลายได้ (Osman, 1967) เมื่อให้ความร้อนกับน้ำแป้ง ตอนแรกจะ



รูปที่ 1.1 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน (Meyer, 1976)

- A : ภาพแสดงการเรียงตัวโมเลกุลของอะไมโลส
- B : ภาพขยายโครงสร้างทางเคมีของอะไมโลส
- C : ภาพแสดงการเรียงตัวโมเลกุลของอะไมโลเพคติน
- D : ภาพขยายโครงสร้างทางเคมีของอะไมโลเพคติน

ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ของเม็ดแป้ง จนกระทั่งถึงอุณหภูมิประมาณ 60-70 °ซ ซึ่งเรียกว่า ช่วงอุณหภูมิเจลาติไนเซชัน (Greenwood, 1979) ความร้อนทำให้พันธะไฮโดรเจนที่ยึดโครงสร้างในเม็ดแป้งเข้าด้วยกันแตกออก ทำให้ดูดซึมน้ำได้มากขึ้น เป็นผลให้เม็ดแป้งพองตัวทำให้มีขนาดใหญ่กว่าเดิมหลายเท่า (Brautlecht, 1953; Moorhouse และ Kark, 1952) เม็ดแป้งจะสูญเสียลักษณะ birefringence เม็ดแป้งแต่ละเม็ดเริ่มพองตัวหรือเจลาติไนซ์ที่อุณหภูมิต่างกัน โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วงต่างกันประมาณ 10 °ซ ตารางที่ 1.3 แสดงช่วงอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของแป้งชนิดต่าง ๆ (Leach, 1965) การพองตัวของเม็ดแป้งทำให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น จะมีความใสและความหนืดเพิ่มขึ้น ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการพองตัวของเม็ดแป้งคือแรงยึดระหว่างพันธะไฮโดรเจนภายในเม็ดแป้ง (Hann, 1969)

1.3 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยแป้ง

อะไมโลไลติกเอนไซม์ (Amylolytic enzyme) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ย่อยสลายแป้งที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร และเป็นเอนไซม์กลุ่มแรกที่น่าสนใจทางการค้าโดยใช้จุลินทรีย์ (Wiseman, 1983) ชนิดของเอนไซม์ย่อยแป้งแบ่งตามตำแหน่งของพันธะที่ถูกไฮโดรไลซ์ออกเป็น 2 ประเภท คือ endoamylase และ exoamylase

endoamylase จะย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่ง α -1, 4 ทำให้ได้น้ำตาลรีดิทซ์และเดกซ์ทริน ซึ่งมีสายโซ่กลูโคสขนาดต่าง ๆ กัน เอนไซม์ประเภทนี้คือ อัลฟาอะไมเลส หรือ amylo 1, 4 dextrinase

exoamylase จะย่อยแป้งจากปลาย non-reducing โดยการย่อยที่ตำแหน่ง α -1, 4 และ α -1, 6 ได้ D-glucose เพียงอย่างเดียว เอนไซม์ประเภทนี้คือ เบต้าอะไมเลส หรือ amylo 1, 4 maltosidase และกลูโคอะไมเลส หรือ amylo 1, 4 - 1, 6 glucosidase (Underkofler, 1954)

ตารางที่ 1.3 ลักษณะการเจลาติไนเซชันของแป้งชนิดต่าง ๆ (Leach, 1965)

Starch		Gelatinization	At 95 °C	
		temp. rang		
Sources	Type	(°C)	Swelling power ^a	Solubility(%)
Potato	Tuber	56-66	1,000	82
Tapioca	Root	58.5-70	71	48
Corn	Cereal	62-72	24	25
Sorghum	Cereal	68.5-75	22	22
Wheat	Cereal	52-63	21	41
Rice	Cereal	61-77.5	19	18
Waxy maize	Cereal	63-72	64	23
Waxy sorghum	Cereal	67.5-74	49	19

^a Swelling power มีค่าเท่ากับน้ำหนักของเม็ดแป้งที่พองตัวที่ตกตะกอนออกมาต่อกรัมของแป้งแห้ง (Swinkles, 1983)

อัลฟาอะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่พบในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ สามารถย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α -1, 4 ในแบบลุ่ม ซึ่งถ้าการย่อยไม่สมบูรณ์จะได้เดกซ์ทริน มอลโทส และกลูโคสผสมกันแต่ถ้าสมบูรณ์จะได้มอลโทส และกลูโคส (Corman และ Langlykke, 1948)

กลูโคอะไมเลส หรืออะไมโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) หรือแลมด้าอะไมเลส (λ -amylase) ชื่อทางเคมีคือ 1, 4-glucanglucohydrolase E.C.3.2.1.3 เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยโพลีแซคคาไรด์ หรือโอลิโกแซคคาไรด์ โดยย่อยตรงพันธะที่ต่อกันที่ α -1, 4 และ α -1, 6 glucosidic ในการย่อยนี้จะย่อยจากปลาย non-reducing เข้ามาเรื่อย ๆ ให้ผลผลิตเป็นกลูโคสทีละหน่วย แต่มีโพลีแซคคาไรด์หรือโอลิโกแซคคาไรด์บางชนิดที่กลูโคอะไมเลสย่อยไม่ได้เลย เช่น methyl α -D gluco-pyranoside, methyl β -D gluco-pyranoside, nigerose, isomaltose, dextran, cellobiose, lactose เป็นต้น และย่อยสารบางชนิดได้บ้างแต่ช้ามาก เช่น sucrose, raffinose, isomaltotetraose, panose เป็นต้น แต่กลูโคมิเลสสามารถย่อยมอลโทส น้ำแบ่ง มอลโทส ไตรโอส อะไมโลส ได้รวดเร็วมาก (Barker และ Fleetwood, 1957)

1.4 ผลของอะไมโลไลติกเอนไซม์ต่อแป้ง

โมเลกุลแป้งประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์สองชนิดคือ อะไมโลส และอะไมโลเพคติน ซึ่งทั้งสองชนิดเป็นโพลีเมอร์ของ α -D-gluco-pyranose อะไมโลสประกอบด้วยหน่วยของกลูโคสต่อกันเป็นสายโซ่ยาวด้วยพันธะ α -1, 4-glucosidic ไม่มีการแตกแขนง มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ ทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน ให้สีน้ำเงิน ส่วนอะไมโลเพคตินประกอบด้วยหน่วยของกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ α -1, 4-glucosidic ซึ่งมีการแตกแขนงทุก 25 หน่วยของกลูโคส ตรงตำแหน่งที่แตกแขนงต่อกันด้วยพันธะ α -1, 6-glucosidic ละลายน้ำให้ colloidal solution และทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน ให้สีน้ำตาล (Reed, 1975)

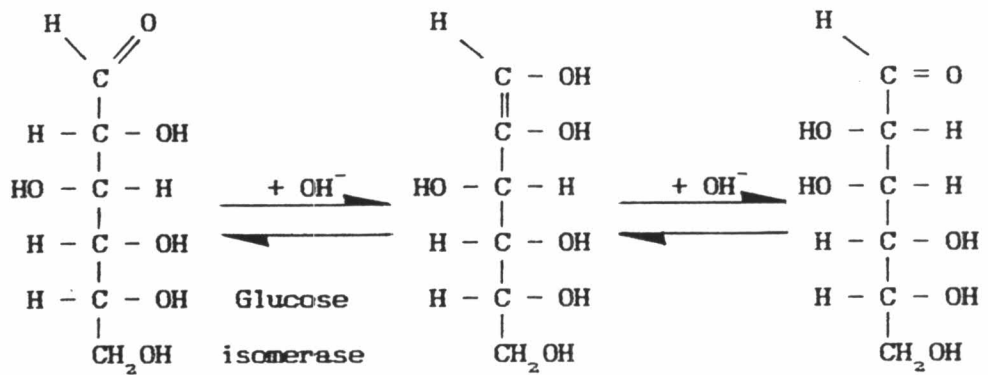
ในเม็ดแป้งจะมีการโพลีเมอไรซ์ของกลูโคสหรืออะไมโลสหรืออะไมโลเพคติน ด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้แป้งไม่ละลายน้ำ ดังนั้นเม็ดแป้งจึงต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ อนุกรมมิห้องได้ (Matsuoka, Koba และ Ueda, 1982) เมื่อนำเม็ดแป้งละลายน้ำและเพิ่มความร้อน โมเลกุลของน้ำจะสามารถเข้าไปในโมเลกุลของแป้งได้ เพราะที่อุณหภูมิสูงความร้อนสามารถแยกพันธะไฮโดรเจนออกได้ ทำให้ OH-group ที่อยู่ภายในโมเลกุลมีโอกาสจับกับน้ำแล้วพองตัวขึ้น น้ำหนักจะเพิ่มขึ้นหลายเท่าตัว และทำให้เกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ทั้งทางเคมี ทางกายภาพ และปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์เกิดได้ง่ายขึ้น (Reed, 1975)

กระบวนการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลนั้นเกิดขึ้นสองขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรก liquefaction เป็นขั้นตอนลดความหนืดของแป้งที่ผ่านการเจลาติไนซ์แล้ว โดยการย่อยกลูโคสโกลูโคสแบบสุ่ม (random hydrolysis) ทำให้ได้สายแซคคาไรด์สั้น ๆ มีขนาดโมเลกุลเล็กลงและความหนืดลดลง ขั้นตอนที่สอง saccharification เป็นการย่อยแป้ง ทำให้ได้พวกโมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส มอลโตส และมอลโตไตรโอส (Reed, 1975)

การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลส ทำให้โมเลกุลของแป้งเปลี่ยนแปลงดังนี้คือ มี reducing power สูงขึ้น คุณสมบัติในการเกิดสีกับไอโอดีน เปลี่ยนจากสีน้ำเงิน เป็นน้ำตาลแดง มีความหนืดลดลง และ optical rotation ลดลง (Bernfeld, 1952)

1.5 ประวัติความเป็นมาของกลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase)

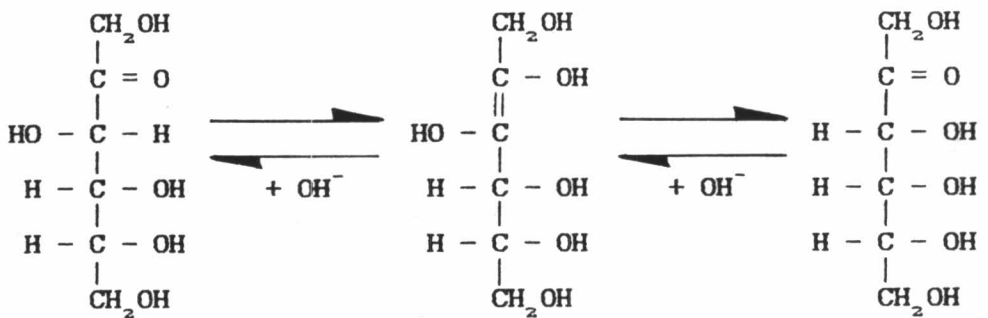
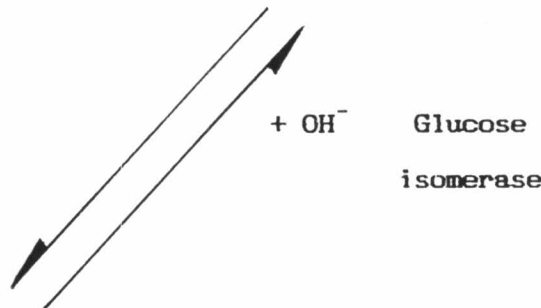
กลูโคสไอโซเมอเรส เป็นเอนไซม์ที่จำเพาะในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส แต่เดิมการเตรียมฟรักโทสจากกลูโคสนั้นทำได้โดยกระบวนการเคมีในสภาวะที่เป็นด่างและอุณหภูมิสูง เรียกปฏิกิริยาการเกิดไอโซเมอร์ในสภาวะต่างนี้ว่า "Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein Transformation" (Speck, 1958) แต่วิธีนี้ไม่สามารถใช้ผลิตฟรักโทสในเชิงการค้าได้เพราะประสิทธิภาพในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสต่ำ และได้สารประกอบอื่น ๆ ที่เกิดจากการสลายตัวของกลูโคสและฟรักโทสมากกว่า 30 % ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความหวานลดลง มีสีและกลิ่นที่ไม่ต้องการ ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกำจัดสิ่งเจือปน



D-Glucose

[ene-1,2-diol]

D-Mannose



D-Fructose

[ene-2,3-diol]

D-Psicose

(D-Allulose)

รูปที่ 1.2 การเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสด้วยกลูโคสไอโซเมอเรสในปฏิกิริยาที่เป็นต่าง (Speck, 1958)

เหล่านี้ (Macallister และคณะ, 1972) ต่อมาในปี ค.ศ.1957 Marshall และ Kooi ค้นพบกลูโคสไอโซเมอเรสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส แต่ผลที่ได้ยังไม่สามารถนำไปผลิตในเชิงการค้าได้

ในปี ค.ศ.1965 Tsumura และ Takasaki ได้ค้นพบจุลินทรีย์บางชนิดที่มีเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับผลิตฟรักโทสในเชิงการค้าได้ ต่อมาในปี ค.ศ.1967 ได้มีโรงงานผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากข้าวโพด (high fructose corn syrup) ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสโดยเอนไซม์แห่งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา ภายใต้ความร่วมมือของบริษัท Clinton Corn Processing Company และรัฐบาลญี่ปุ่น (Richard, William และ Bern, 1979)

1.6 ประเภทของกลูโคสไอโซเมอเรส

กลูโคสไอโซเมอเรส เป็นชื่อรวมที่ใช้เรียกเอนไซม์ที่จำเพาะในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส เอนไซม์ที่ถูกเรียกรวมในกลุ่มกลูโคสไอโซเมอเรสมี 4 ชนิด คือ

1.6.1 ไซโลสไอโซเมอเรส (xylose isomerase หรือ D-xylose ketol-isomerase, EC 5.31.5) รายงานโดย Marshall และ Kooi ในปี ค.ศ.1957 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 (Tsumura และ Sato, 1965) พบว่า Streptomyces phaeochromogenes SK. สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้โดยมีไซโลสเป็นสารชักนำ การทำงานของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการไอออนบวกสองประจุ (divalent cation) 2 ชนิด ร่วมกันคือแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) และโคบอลต์ไอออน (Co^{2+}) สภาวะที่เหมาะสม

ในการทำงานของเอนไซม์ ที่พีเอช 9.3-9.5 และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ต่อมา นักวิจัยชาวญี่ปุ่น ได้ค้นพบสเตรปโตมัยซิสอีกหลายสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ เช่น S. albus YT-5 (Takasaki, Kosuki และ Kanbayashi, 1969), S. bikiniensis, S. flavogriseus และ S. olivochromogenes ฯลฯ (Bucke, 1977) เอนไซม์ที่พบ ภายหลังนี้มีชื่อดีคือ ทนอุณหภูมิสูงและทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกลาง ซึ่งป้องกันการเกิด สารเจือปนที่ไม่ต้องการในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสได้

1.6.2 กลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส (D-glucose 6-phosphate ketol-isomerase, EC 5.3.1.9) ค้นพบในปี ค.ศ.1963 โดย Natake และ Yoshimura เป็นเอนไซม์ที่ได้จาก Escherichia intermedia เอนไซม์นี้ไม่มีกิจกรรมของไซโลสไอโซเมอเรสร่วมด้วย จึงไม่ต้องการไซโลสเป็นสารชักนำในการสร้างเอนไซม์ การทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ต้องการอาร์ซีเนท (arsenate) ในปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทส สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ที่พีเอช 7.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากเอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนกลูโคส 6-ฟอสเฟต เป็นฟรักโทส 6-ฟอสเฟตได้ด้วย จึงเรียกเอนไซม์นี้ว่า กลูโคสฟอสเฟตไอโซเมอเรส

1.6.3 กลูโคสไอโซเมอเรส (D-glucose ketol-isomerase, EC 5.3.1.18) Takasaki และ Tanabe (Takasaki และ Tanabe, 1962) แยกเอนไซม์นี้ได้ จาก Bacillus megaterium A1 เอนไซม์นี้จำเพาะในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสเท่านั้น โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ที่พีเอช 7.8 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส การทำงานของเอนไซม์นี้ต้องการ NAD^+ ด้วย

1.6.4 เอนไซม์ประเภทที่ 4 สันนิษฐานว่า เป็นกลุ่มย่อยของกลูโคสไอโซเมอเรส (D-glucose ketol-isomerase, E.C.5.3.1.18) Takasaki และ Tanabe (Takasaki และ Tanabe, 1964) แยกได้จาก Paracolobacterium aerogenoides เอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสได้ โดยต้องการ NAD^+ และแมกนีเซียมไอออนในปฏิกิริยา สภาวะการทำงานที่เหมาะสม ที่พีเอช 7.5 และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในเชิงการค้าในกลุ่มกลูโคสไอโซเมอเรสทั้ง 4 ประเภทนี้ คือ ไซโลสไอโซเมอเรส โดยเฉพาะที่ได้จากสเตรปโตมัยซิส เนื่องจากเปลี่ยนกลูโคสเป็นฟรักโทสได้ที่มีเอนไซม์ค่อนข้างเป็นกลางและที่อุณหภูมิสูง อีกทั้งมีความคงทนต่อความร้อนสูง ทำให้สามารถป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตได้

1.7 จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

มีการค้นพบว่า จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบนี้ทั้งในกลุ่มแบคทีเรีย แอคติโนมัยซิส รา และยีสต์ (Zemek และคณะ, 1984)

จุลินทรีย์ที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสและสามารถนิสฺจวน์เอกลักษณ์ (identify) ได้ในระดับสกุล (genus) และชนิด (species) เอนไซม์นี้ส่วนใหญ่พบในรูปของเอนไซม์ที่เก็บอยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ (intracellular enzyme) แต่จุลินทรีย์บางชนิดสร้างและขับกลูโคสไอโซเมอเรสออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) เช่น *Streptomyces glaucescens* (Lloyd, 1983) เอนไซม์ที่ผลิตในเชิงการค้าส่วนมาก ได้แก่ *Streptomyces* sp., *Bacillus* sp., *Actinoplanes* sp. และ *Arthrobacter* sp. (Richard และคณะ, 1979)

1.8 สมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรส

ในบรรดาเอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรสทั้ง 4 ประเภทนี้ ไซโลสไอโซเมอเรสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางที่สุด แม้ว่ากลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จะมีสมบัติคล้ายคลึงกัน แต่ก็ยังมีสมบัติบางประการที่แตกต่างกันออกไปตามแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ (Richard และคณะ, 1979)

กลูโคสไอโซเมอเรส จัดเป็นเอนไซม์ที่เสถียรต่อการใช้งานที่อุณหภูมิสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ มีช่วงกว้างตั้งแต่ 45-90 องศาเซลเซียส และส่วนใหญ่จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส นอก

จากนั้นยังพบว่า มีกลูโคสไอโซเมอเรสที่ทนอุณหภูมิเป็นพิเศษที่สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส (Brautlecht, 1953) ไปจนถึง 130 องศาเซลเซียส (Lloyd, 1983)

โดยปกติกลูโคสไอโซเมอเรสจะทำงานได้ดีในช่วง พีเอช 7.0-9.0 แต่กลูโคสไอโซเมอเรสจากจุลินทรีย์บางชนิดสามารถทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่สูงกว่า 9.0 แต่โดยทั่วไปแล้วกลูโคสไอโซเมอเรสที่ทำงานได้ดีที่พีเอชใกล้เคียงกับพีเอช 7.0 เหมาะสมที่จะนำมาใช้ประโยชน์มากกว่า เพราะถ้าปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่พีเอชสูง กลูโคสและฟรักโทสในสารละลายจะเปลี่ยนเป็นไซโคส (psicose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ร่างกายย่อยสลายไม่ได้ (Ulezlo และคณะ, 1977) อย่างไรก็ตาม พีเอชที่เหมาะสมต่อสับสเตรทแต่ละชนิดไม่จำเป็นต้องเหมือนกัน นอกจากนี้ยังได้มีรายงานว่า องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเปลี่ยนแปลงพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ได้ ตัวอย่างเช่น กลูโคสไอโซเมอเรสจาก *Streptomyces phaeochromogenes* ซึ่งมีพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานอยู่ในช่วง 9.0-9.5 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เสริมโคบอลต์ไอออน แต่ถ้าเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคบอลต์ไอออนเข้มข้น 0.001 โมลาร์ จะมีช่วงพีเอชที่เหมาะสมกว้างขึ้นจนถึงพีเอช 7.5 (Richard และคณะ, 1979)

ในการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส โดยทั่วไปต้องการไดวาเลนต์แคตไอออน (divalent cation) (Richard และคณะ, 1979) เช่น แมงกานีสไอออน (Mn^{2+}) แมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) โคบอลต์ไอออน (Co^{2+}) โครเมียมไอออน (Cr^{2+}) และเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) (Fujita และคณะ, 1977) กลูโคสไอโซเมอเรสที่ได้จากบางสายพันธุ์ต้องการไอออนเพียงชนิดเดียว บางสายพันธุ์ก็ต้องการหลายชนิดร่วมกัน ไอออนเหล่านี้มีหน้าที่กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ป้องกันเอนไซม์ไม่ให้สูญเสียสภาพธรรมชาติโดยความร้อน และต่อต้านการทำงานของสารยับยั้ง หน้าที่ความต้องการและปริมาณที่ต้องการของไอออนแต่ละชนิดของกลูโคสไอโซเมอเรสแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ (Richard และคณะ, 1979)

ค่า K_m ของกลูโคสไอโซเมอเรสสำหรับกลูโคสและไซโคส แปรผันตามชนิดของจุลินทรีย์เช่นกัน แต่โดยทั่วไปแล้วพบว่า ค่า K_m สำหรับกลูโคสอยู่ในช่วง 0.086-0.500

โมลาร์ และสำหรับไซโลสประมาณ 0.032-0.093 โมลาร์ (นฤมล ศุภจรรยา, 2526) นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า K_m ยังสามารถแปรผันได้โดยขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของไดวาเลนท์แคทอออนที่ใช้ (Richard และคณะ, 1979)

1.9 การตรึงกลูโคสไอโซเมอเรส

เนื่องจากกลูโคสไอโซเมอเรสเป็นเอนไซม์ที่มีศักยภาพสูงในเชิงการค้า จึงมีผู้คิดค้นวิธีการตรึงกลูโคสไอโซเมอเรสด้วยเทคนิคต่าง ๆ กันหลายแบบ การตรึงเอนไซม์นี้เป็นวิธีที่จะนำเอนไซม์มาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะทำให้สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้งานได้หลายครั้ง จึงเป็นเทคนิคที่สามารถลดค่าใช้จ่ายในการผลิตเอนไซม์และการใช้งาน

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

1.9.1 การตรึงเอนไซม์ การตรึงเอนไซม์นั้นทำได้โดยนำเอนไซม์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว (purified enzyme) มาตรึงบนตัวยึด (supporter) ที่เหมาะสม (Richard และคณะ, 1979) วิธีตรึงเอนไซม์นี้มีข้อดีคือ มีการถ่ายเทมวลดี เนื่องจากสัปสเตรทสามารถสัมผัสกับเอนไซม์ได้โดยไม่ต้องแพร่ผ่านเยื่อเซลล์ (cell membrane) หรือผนังเซลล์ (cell wall) ก่อน และการตรึงเอนไซม์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วเป็นการขจัดปัญหาการเกิดปฏิกิริยาอันเนื่องมาจากเอนไซม์ตัวอื่น ๆ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ เสียค่าใช้จ่ายในการเตรียมเอนไซม์บริสุทธิ์สูง

1.9.2 การตรึงเซลล์ที่มีกลูโคสไอโซเมอเรส การตรึงเซลล์ที่มีเอนไซม์อยู่ภายในโดยทั่วไปแล้วการตรึงเซลล์มีข้อได้เปรียบการตรึงเอนไซม์คือ ทำได้ง่ายกว่าโดยลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ มีการสูญเสียแอกติวิติน้อยกว่า เอนไซม์บางชนิดต้องการปัจจัยร่วม (cofactor) ในการทำงาน ดังนั้นการตรึงเซลล์จะทำให้เอนไซม์ใช้ปัจจัยร่วมที่มีอยู่ภายในเซลล์ได้ โดยไม่ต้องตรึงปัจจัยร่วมหรือเติมปัจจัยร่วมลงไปในปฏิกิริยาอีก และนอกจากนี้เอนไซม์บางชนิดเมื่ออยู่ในสภาพใกล้เคียงสภาวะธรรมชาติ จะมีแอกติวิตีสูงกว่า

สภาพที่แยกออกมาให้บริสุทธิ์ ดังนั้นในลักษณะการตรึงเซลล์จะให้ผลดีกว่าการตรึงเอนไซม์ (Durand และ Navarro, 1978)

การตรึงเซลล์มีข้อเสียเปรียบการตรึงเอนไซม์คือ การถ่ายเทมวลทำได้ยาก เนื่องจากมีผนังเซลล์ (cell wall) หรือเยื่อเซลล์ (cell membrane) กั้นอยู่ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า และนอกจากนี้ในระหว่างการใช้งานเซลล์อาจปล่อยสารภายในเซลล์หรือเกิดการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) (Richard และคณะ, 1979) ทำให้ได้สารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์

ในปัจจุบันมีบริษัทที่ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสที่ตรึงแล้วในเชิงการค้าหลายบริษัท แต่บริษัทที่ใช้วิธีการตรึงแตกต่างกันออกไป ทั้งในรูปของการตรึงเอนไซม์ที่แยกแล้ว (isolated glucose isomerase immobilization) และในรูปการตรึงทั้งเซลล์ (whole cell immobilization) รายชื่อบริษัทต่าง ๆ และกรรมวิธีได้แสดงไว้ในตารางที่ 1.4

1.10 ประโยชน์ของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ตรึงแล้ว

กลูโคสไอโซเมอเรสที่ผ่านการตรึงแล้วนำมาใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทส (High Fructose Syrup, HFS) โดยมีขั้นตอนดังนี้คือ นำแป้งมาย่อย (hydrolyse) โดยใช้เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส (α -amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ตามลำดับ จะได้สารละลายกลูโคสที่มีปริมาณ 90 % ของมวลแห้งทั้งหมด จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการเกิดไอโซเมอร์ (isomerization) โดยกลูโคสไอโซเมอเรส ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ น้ำเชื่อมที่มีฟรักโทสความเข้มข้นสูง การใช้กลูโคสไอโซเมอเรสที่ตรึงแล้วเป็นรูปแบบที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสได้ง่าย เพราะเอนไซม์อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ เป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิต

การผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสต้องผ่านขั้นตอนของเอนไซม์ 3 ชนิด ดังที่ได้กล่าวมาแล้วรวม 3 ขั้นตอน แต่ในปัจจุบันได้มีการทดลองตรึงเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ คือ อัลฟาอะไมเลส (α -amylase) กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) และกลูโคสไอโซเมอเรส อยู่บนตัวกลางเดียวกัน ในระดับห้องทดลอง (Katwa และ Rao, 1983) ซึ่งจะทำให้ลดขั้นตอนการ

ตารางที่ 1.4 กลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตในเชิงการค้า (Richard และคณะ, 1979)

บริษัทผู้ผลิต	แหล่งเอนไซม์	วิธีการตรึง	รูปทรง
คลินตันคอร์นโปรเซสซิงคอมพานี (Clinton Corn Processing Company)	<u>Streptomyces</u> <u>ribigenosus</u>	ยึดติดบนเซลลูโลสที่มีประจุลบ	เส้นใย (fibrous) และเม็ด (granular)
จิสต์ โบรคาเดส (Gist Brocades)	<u>Actinoplanes</u> <u>missouriensis</u>	โอบล้อมเซลล์ด้วยเจลาตินที่เชื่อมโยงด้วยกลูตารัลดีไฮด์	เม็ด
โนโวอินดัสตรี (Novo Industri)	<u>Bacillus</u> <u>coagulans</u> <u>Streptomyces</u> <u>murinus</u>	ทำให้เซลล์แตกแล้วเชื่อมโยงด้วยกลูตารัลดีไฮด์	เม็ด
ไอซีไอ อเมริกาส (ICI Americas, Inc.)	<u>Arthrobacter</u> sp.	ตกตะกอนเซลล์	เม็ด อสัณฐาน (amorphous)
ไมลส์ แล็บส์ (Miles Labs, Inc.)	<u>Streptomyces</u> <u>olivaceus</u>	เชื่อมโยงเซลล์ด้วยกลูตารัลดีไฮด์	
ซีพีซีอินเตอร์เนชันแนล (CPC Int. Inc.)	<u>Streptomyces</u> <u>olivochromogenes</u>	ยึดติดบนอลูมินาหรือตัวกลางเซรามิกอื่นๆ	เม็ด
นากาเซ (Nagase)	<u>Streptomyces</u> <u>phraeochromogenes</u>		เม็ด
ไมลส์-กาลิ เคมี (Miles-Kali Chemie)	<u>Streptomyces</u> sp.	-	อสัณฐาน
ซันมัตสึ (Sanmutsu)	<u>Streptomyces</u> sp.	ยึดติดบนตัวแลกเปลี่ยนประจุ	เม็ด

ใช้เอนไซม์ในการผลิตเหลือเพียง 1 ขั้นตอน แต่อย่างไรก็ตามเท่าที่ผ่านมาก็ยังไม่มีการพัฒนากระบวนการนี้มาใช้ในเชิงอุตสาหกรรม

1.11 เครื่องปฏิกรณ์ (Reactor) เพื่อการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสโดยใช้กลูโคสไอโซเมอเรส

กลูโคสไอโซเมอเรส เมื่อผ่านการตรึงให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมแล้ว ขั้นตอนต่อไปคือ การนำไปใช้ร่วมกับเครื่องปฏิกรณ์เพื่อการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทส ดังนั้นเครื่องปฏิกรณ์จะต้องมีการศึกษาและออกแบบให้สามารถใช้ร่วมกับกลูโคสไอโซเมอเรส หรือที่ผ่านการตรึงได้อย่างมีประสิทธิภาพ นั่นคือการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ที่ดีและเหมาะสมกับเม็ดเซลล์หรือเอนไซม์ ตรึงจะช่วยทำให้ได้ผลผลิตของฟรักโทสสูง สามารถควบคุมสภาวะในการผลิตได้ง่ายและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อย

เครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทส (Tilburg, 1985) ทั้งในระดับงานวิจัยและระดับขยายส่วน แบ่งได้เป็น 4 แบบ คือ

1.11.1 ถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่องหรือแบบกะ (batch reactor) เป็นการผสมเอนไซม์ตรึงเข้ากับสับสเตรทคือ สารละลายกลูโคสในถังปฏิกรณ์ กระทำโดยการหมุนวนของใบพัด เพื่อควบคุมให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นในสภาวะที่เหมาะสม จนเมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดจึงแยกน้ำเชื่อมฟรักโทสออกจากเอนไซม์ตรึง ถังปฏิกรณ์แบบนี้ใช้ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสสูงและได้ผลผลิตที่มีความเข้มข้นสูงด้วย แต่ถังปฏิกรณ์นี้ไม่เหมาะสมกับปฏิกิริยาซึ่งถูกยับยั้ง ทั้งสับสเตรทและผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการทำงานที่ไม่ต่อเนื่องทำให้ปริมาณน้ำเชื่อมฟรักโทสที่ได้ต่อหน่วยเวลาต่ำ

1.11.2 ถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (continuous stirred tank reactor, CSTR) การทำงานเริ่มต้นเช่นเดียวกับถังปฏิกรณ์แบบกะ อัตราการเปลี่ยนแปลงของสารละลายกลูโคส (degree of conversion) เร็วเท่า ๆ กันตลอด สารละลายกลูโคสจะถูกปั๊มเข้าสู่ถังปฏิกรณ์อย่างต่อเนื่อง และเมื่อกลูโคสถูกเปลี่ยนเป็นฟรักโทสแล้วก็จะถูกปั๊มออกจากถัง การทำงานแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์พบว่า ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไม่ยับยั้งการทำ

งานของเอนไซม์ เพราะผลิตภัณฑ์ถูกแยกออกตลอดเวลา ดังนั้นอัตราการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาจะเข้าสู่สมดุลทางเทอร์โมไดนามิก (Thermodynamic equilibrium) ได้รวดเร็ว ทำให้ได้ผลผลิตต่อหน่วยเวลาสูงกว่าแบบกะ

1.11.3 หอบปฏิกรณ์แบบแพคเบด (packed bed reactor) หรือแบบปลั๊กโฟลว์ (plug flow reactor) ในทางปฏิบัติมักใช้หอบปฏิกรณ์ชนิดนี้ในลักษณะควบคู่กันไปที่ละหลายหอบ (multi-stage reactors) หอบปฏิกรณ์จะมีลักษณะเป็นทรงกระบอกสูง บรรจุกลูโคสไอโซเมอเรสที่ถูกตรึงบนเม็ดวัสดุแข็ง การเปลี่ยนแปลงของสารละลายกลูโคสจะเกิดขึ้นระหว่างการไหลผ่านขึ้นหรือลงภายในหอบปฏิกรณ์ โดยมีการปรับพีเอชในแต่ละช่วงของหอบปฏิกรณ์ให้คงที่ ทำให้มีผลผลิตต่อหน่วยเวลาสูงขึ้น หอบปฏิกรณ์แบบนี้จะดีกว่าถังปฏิกรณ์แบบถังกวน แต่จะมีข้อเสียคือ ในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาจะต้องใช้แรงดันดันให้ของไหลผ่านสูง หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือมีแรงดันตกสูง (high pressure drop)

1.11.4 หอบปฏิกรณ์แบบฟลูอิดไรซ์เบด (fluidized bed reactor) หอบปฏิกรณ์แบบฟลูอิดไรซ์เบด เป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่มีการทำงานต่างไปจากเครื่องปฏิกรณ์ชนิดอื่น กล่าวคือ การใช้เทคนิคการทำให้เม็ดของแข็งสัมผัสกับของไหลได้ตลอดทั้งเม็ด และเม็ดของแข็งเหล่านี้จะมีสมบัติคล้ายของไหล ข้อดีของการใช้หอบปฏิกรณ์ชนิดนี้คือ การผสมของสารเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ ในขณะที่อุณหภูมิตลอดหอบปฏิกรณ์คงที่ มีประสิทธิภาพการถ่ายเทมวลและความร้อนสูง พื้นที่สัมผัสระหว่างเม็ดของแข็งกับของไหลมีมาก เกิดแรงเสียดทานต่อการไหลของของไหลน้อยกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบอื่น ๆ สามารถควบคุมสภาวะการทำงานภายในหอบปฏิกรณ์ทำได้ง่ายและสะดวกต่อการทำงานแบบต่อเนื่อง (สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ, 2528)

1.12 บทบาทน้ำเชื่อมฟรักโทส

จากประโยชน์ของน้ำเชื่อมฟรักโทสดังที่ได้กล่าวมาแล้วในตอนต้น ทำให้มีการนำน้ำเชื่อมฟรักโทสมาใช้ทดแทนน้ำตาลทรายมากขึ้นตามลำดับ นับแต่ปี ค.ศ. 1970 เป็นต้นมา โดยตลาดผู้บริโภคที่ใหญ่ที่สุดคือ สหรัฐอเมริกา โดยเฉพาะตลาดเครื่องดื่มซึ่งใช้น้ำเชื่อมฟรักโทสทดแทนการใช้น้ำตาลทรายอย่างรวดเร็วมาก จนปัจจุบันมีส่วนแบ่งการตลาดในภาคเครื่องดื่ม

แล้วเกือบ 100% (Hodgkin, 1987) เพราะนอกจากน้ำเชื่อมฟรักโทสมีรสดีกว่าและประโยชน์มากกว่าแล้วยังมีราคาถูกกว่าน้ำตาลทรายอีกด้วย สำหรับตลาดโลกในอนาคตแม้ตลาดฟรักโทสในสหรัฐอเมริกาจะเริ่มอิ่มตัวแล้ว แต่ตลาดทางด้านเอเชียและกลุ่มตลาดร่วมยุโรปยังสามารถขยายตัวได้อีก เนื่องจากมีความตื่นตัวในเรื่องน้ำตาลทดแทนซึ่งกว่าทางด้านสหรัฐอเมริกา ประมาณการว่าตลาดน้ำเชื่อมฟรักโทสยังขยายได้อีกราวปีละ 5 % ทดแทนน้ำตาลทรายซึ่งกำลังบริโภคมากกว่า 30 ล้านเมตริกตันต่อปี จากข้อมูลปี ค.ศ.1985 โดยเฉพาะการทดแทนในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม (ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2530)

นอกจากนี้ น้ำเชื่อมฟรักโทสที่ผลิตได้ยังสามารถทำให้บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นเพื่อผลิตฟรักโทสบริสุทธิ์โดยวิธีทางโครมาโตกราฟี (chromatographic method) (Ananicher, 1985; Baker และ Irlam, 1984; Barker และ Abusabah, 1985; Kuptsevich, 1985; Pansolli และ Barbaro, 1984) ในรูปฟรักโทสผง (crystalline fructose) ซึ่งตลาดในส่วนนี้จะเติบโตขึ้นเรื่อย ๆ (Fry, 1987)

ในประเทศไทยนั้น มีการบริโภคน้ำตาลทรายมากกว่า 850,000 ตันต่อปี (ฝ่ายนโยบายและเศรษฐกิจน้ำตาลสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2535) ส่วนความต้องการน้ำตาลทรายในภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ ภายในประเทศ คิดเป็น 40-45 % ของกำลังผลิตภายในประเทศ (ฝ่ายนโยบายและเศรษฐกิจน้ำตาลสำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2534) ซึ่งในปัจจุบัน เริ่มมีการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสและการทดแทนน้ำตาลทรายภายในประเทศด้วยน้ำเชื่อมฟรักโทส (ฝ่ายข่าวเศรษฐกิจ เดลินิวส์, 2534) แต่กำลังการผลิตต่ำและใช้ในวงจำกัด ทั้งนี้เนื่องจากจะมีผลกระทบต่อชาวไร่อ้อยและโรงงานน้ำตาล ถึงแม้ว่าน้ำเชื่อมฟรักโทสจะมีราคาถูกกว่า แต่อย่างไรก็ตามอุปสงค์ (demand) เป็นตัวกำหนดอุปทาน (supply) เมื่อความนิยมในการบริโภคน้ำตาลของผู้บริโภคเปลี่ยนไป การทดแทนน้ำตาลทรายย่อมต้องเกิดขึ้น ดังนั้น ลู่ทางการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสในระดับอุตสาหกรรมในประเทศไทยยังมีศักยภาพสูง แม้ตลาดในประเทศยังไม่เปิดแต่ก็อาจทำการผลิตเพื่อส่งเป็นสินค้าออกเพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศไทย

1.13 เหตุจูงใจในการทำวิจัย

อุตสาหกรรมการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสและฟรักโทสผง เป็นอุตสาหกรรมที่ควรสนับสนุนเพราะยังมีส่วนแบ่งการตลาดทั้งในและต่างประเทศ อีกทั้งประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความเหมาะสมในการลงทุนเพราะมีแหล่งวัตถุดิบคือ แป้งมันสำปะหลัง ประกอบกับค่าแรงถูก เมื่อเปรียบเทียบกับอีกหลาย ๆ ประเทศ ที่มีการผลิตอยู่แล้วในย่านเอเชีย อาทิ ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน เป็นต้น

สมบุญ ศุภผล (สมบุญ ศุภผล, 2525) ทำการศึกษาวิธีการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากแป้งมันสำปะหลังในระดับขวดเขย่า (shaken flask) ทั้งนี้ได้พิจารณาใช้กรรมวิธีการผลิตของบริษัท NOVO Industri เป็นแนวทางในการผลิตในห้องทดลอง จากข้อมูลเบื้องต้นเหล่านี้พบว่า มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาพัฒนาเพื่อเป็นแนวทางนำไปใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมในอนาคต จึงควรมีการศึกษาเพื่อพัฒนาการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสความเข้มข้นสูงในระบบต่อเนื่องระดับขยายส่วนต่อไป

งานวิจัยนี้ มีจุดประสงค์ที่จะศึกษากระบวนการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสจากแป้งมันสำปะหลังในหอบปฏิกรณ์แบบแพคเบตและฟลูอิดไธซ์เบต ทั้งนี้ได้พิจารณาใช้กลูโคสไอโซเมอเรสของบริษัท NOVO Industri ชื่อทางการค้าคือ Sweetzyme Type T. (NOVO Industri A/S, 1987) เป็นแนวทางในการผลิตในห้องทดลอง เพื่อเป็นแม่แบบในการนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.14 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแป้งมันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทส
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกลูโคสไอโซเมอเรส (Sweetzyme T.) ต่อการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสในหอบปฏิกรณ์แบบแพคเบต

3. ออกแบบและสร้างหอบปฏิกรณ์ฟลูอิด์เบด ในระดับขั้นทดลองขนาด 1.5 ลิตร
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกลูโคสไอโซเมอเรส (Sweetzyme T) ต่อการผลิตน้ำเชื่อมฟรักโทสในหอบปฏิกรณ์ฟลูอิด์เบด