5266

การผลิตน้ำแตงไทย (Cucumis melo Linn. var acidulus) โดยเอนไซม์ตรึงรูป

นางสาว กมลทิพย์ ดำสีนิล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2537

ISBN 974-583-905-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- 4 ก.ค. 253
I22359965

PRODUCTION OF SNAKE MELON (Cucumis melo Linn. var. acidulus) JUICE BY IMMOBILIZED ENZYMES.

Miss Kamontip Dumsinin

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Food Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-583-905-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตน้ำแตงไทย (Cucumis melo Linn. var. acidulus) โดยเอนไซม์ตรึงรูป
โดย	นางสาว กมลทิพย์ ดำสีนิล
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.พาสวดี ฤทัยยานนท์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

กมลทิพย์ ดำสีนิล : การผลิตน้ำแตงไทย (Cucumis melo Linn. var acidulus) โดยเอนไซม์ตรึงรูป (PRODUCTION OF SNAKE MELON (Cucumis melo Linn. var acidulus) JUICE BY IMMOBILIZED ENZYMES.) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง, 187 หน้า. ISBN 974-583-905-1

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาบทบาทของเอนไซม์ในการสกัดน้ำแตงไทย โดยใช้เอนไซม์ทางการค้า 2 ชนิดร่วมกัน คือ เพคติเนส (Pectinex Ultra SP-L®) และเซลลูเลส (Celluclast 1.5L®) ภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง ทั้งในลักษณะของเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิไดซ์เบด ขนาด 2 x 45 cm จากการศึกษาการสกัดน้ำแตงไทยด้วยเพคติเนสอิสระ (5,242 Unit/ml) และเซลลูเลสอิสระ (16,860 Unit/ml) พบว่า ภาวะที่ดีที่สุด คือ บ่มเนื้อแตงไทยตีป่น 100 gm ด้วยเพคติเนส 0.05 ml ร่วมกับเซลลูเลส 0.10 ml ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 60 นาที โดยพิจารณาหาภาวะที่ดีที่สุดจากการลดลงของความหนืดของเนื้อแตงไทยตีป่น และปริมาณผลผลิตของน้ำแตงไทยที่สกัดได้ จากนั้นทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเพคติเนสและเซลลูเลสบนตัวพยุงเม็ดแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 mm โดยวิธีเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์ ใช้สารละลาย APTS เป็นสารกระตุ้นตัวพยุง สารละลายกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวางระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุง เพคติเนสตรึงรูปที่เตรียมได้ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม มีแอคติวิตีสูงสุดในการย่อยสลายเพคตินที่อุณหภูมิ 50°C และ pH 3.6 ในขณะที่เพคติเนสอิสระแสดงที่ 40°C และ pH 4.5 นอกจากนี้ค่าสัดส่วนระหว่างความเร็วปฏิกิริยาสูงสุดต่อค่าคงที่ไมคีลิส (Vmax / Km) หรือ ค่าความเร็วปฏิกิริยาต่อหน่วยสับสเตรทสำหรับเพคติเนสตรึงรูปมีค่าเท่ากับ 18.14 Unit / (gm / ml) ซึ่งคิดเป็น 1.09 เท่าของเพคติเนสอิสระ (Vmax / Km เท่ากับ 16.65 Unit/ (gm / ml)) ส่วนเซลลูเลสตรึงรูปที่เตรียมได้ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมมีแอคติวิตีสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลส ที่อุณหภูมิ 60°C และ pH 5.0 ในขณะที่เซลลูเลสอิสระแสดงที่ 60°C และ pH 4.55 และเซลลูเลสตรึงรูปมีค่า Vmax / Km เท่ากับ 69.39 Unit / (gm / ml) ซึ่งคิดเป็น 1.93 เท่าของเซลลูเลสอิสระ (Vmax / Km เท่ากับ 35.95 Unit/ (gm / ml)) ในการย่อยสลายเนื้อแตงไทยตีป่นด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเพคติเนสตรึงรูป (12.5×10^{-2} Unit / gm) และเซลลูเลสตรึงรูป (32.2×10^{-1} Unit / gm) แบบฟลูอิไดซ์เบดขนาด 2 x 45 cm จำนวน 2 คอลัมน์ต่อเนื่องกัน ที่อุณหภูมิ 50°C ด้วยความเร็วการไหลต่ำสุดเป็นค่า space velocity (SV) 18.75 ต่อนาที ไหลวนเวียนในเครื่องปฏิกรณ์นาน 60 นาที สามารถลดความหนืดของเนื้อแตงไทยตีป่นลงได้ร้อยละ 80 และน้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 5.8 °Brix และ pH 6.92 และจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยใช้เอนไซม์ตรึงรูปและเอนไซม์อิสระ พบว่า น้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยใช้เอนไซม์ตรึงรูปได้รับคะแนนการยอมรับทางด้านสี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับรวม สูงกว่าน้ำแตงไทยที่สกัดโดยใช้เอนไซม์อิสระ

ภาควิชา .....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา .....เทคโนโลยีการอาหาร..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา .....2537..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C326619: MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEY WORD: Cucumis melo Linn. var acidulus/ SNAKE MELON JUICE PRODUCTION/ IMMOBILIZATION/ PECTINASE/ CELLULASE
KAMONTIP DUMSININ : PRODUCTION OF SNAKE MELON (Cucumis melo Linn. var acidulus) JUICE BY IMMOBILIZED ENZYMES. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.PRANEE ANPRUNG, Ph.D.
187 pp. ISBN 974-583-905-1

This research work has been carried out with the purpose of finding the role of two commercially available enzymes (Pectinex Ultra SP-L® and Celluclast 1.5L®)for production of snake melon juice under simultaneous condition and investigating optimum conditions which result in desired extracting activity of melon juice by both free enzymes and immobilized enzymes in fluidized bioreactor 2 x 45 cm. It was found that the best condition for melon juice extraction by free pectinase (5,242 Unit/ml) and free cellulase (16,860 Unit/ml), judged by viscosity reduction of melon puree' and juice yield, was : 100 gm of melon puree' incubated with 0.05 ml of pectinases and 0.10 ml of cellulases for 60 min at 40 C. The optimum condition for the immobilized pectinase and cellulase preparation by covalent bonding method were studied : 2 mm glass bead as carrier, APTS as carrier activator, glutaraldehyde as cross-linker. Under the optimum condition, the prepared immobilized pectinase gave optimum pectin hydrolysis at temperature of 50 C and pH 3.6 while the optimum temperature and pH when using free pectinase was 40 C and pH 4.5. In addition, Vmax/Km of the immobilized pectinase was found to be 18.14 Unit/(gm/ml) which was 1.09 times higher than that of the free pectinase (Vmax/Km = 16.65 Unit/(gm/ml)). For cellulose hydrolysis, the prepared cellulase gave optimum temperature of 60 C and pH of 5.0 while the free enzyme gave temperature of 60 C and pH of 4.55.The immobilized cellulase also showed Vmax/Km of 69.39 Unit/(gm/ml) which was 1.93 times higher than that of free form (Vmax/Km = 35.95 Unit/(gm/ml)). The hydrolysis of melon puree' using the two connected fluidized bioreactor 2 x 45 cm of the immobilized pectinases (12.5×10^{-2} Unit/gm) and the immobilized cellulases (32.2×10^{-1} Unit/gm) was studied. The hydrolysis of puree'at minimum flow velocity (SV = 18.75 min^{-1}) for 60 min at 50 C resulted in viscosity reduction of 80%. The melon juice produced by using the two prepared fluidized reactors was found to composed of total soluble solid with 5.8 Brix, pH 6.92. The organoleptic tests performed on the produced melon juice by using immobilized and free enzymes showed that the melon juice produced by immobilized enzyme attained higher preference rating concerning juice color, odor, taste and total acceptance than that of free enzyme.

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2537 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปราณี อ่านเปรื่อง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาช่วยเหลือข้าพเจ้ามาโดยตลอด โดยให้คำปรึกษาชี้แนะแนวทางการศึกษาแก้ไขปัญหา ทั้งทางด้านวิชาการ และปฏิบัติการ คอยเอาใจใส่ดูแลทำให้ข้าพเจ้ามีความมุ่งมั่นพยายามในการศึกษาวิจัยให้มีคุณภาพดี ช่วยส่งเสริมให้ข้าพเจ้ามีส่วนร่วมในการเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการต่างๆ อีกทั้งยังช่วยติดต่อขอความอนุเคราะห์จากบริษัทต่างๆ และติดต่อขอใช้อุปกรณ์จากภาควิชาเคมีเทคนิคและภาควิชาจุลชีววิทยา และให้ยืมเอกสารประกอบเพื่อเสริมความรู้ ตลอดจนให้คำชี้แนะในการพัฒนาความคิดในการเรียบเรียงผลการทดลอง จนเป็นผลทำให้งานวิจัยสำหรับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ในการอนุญาติให้ข้าพเจ้าขอใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ในงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ตุลยธัญ ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัลยา เลาหสงคราม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ และอาจารย์ ดร.พาสวดี ฤทัยยานนท์ ที่กรุณาสละเวลามาเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้พื้นฐานต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการเรียนรู้และพัฒนาความคิดต่างๆ ที่ได้จากการเรียนมาปรับปรุงประยุกต์ใช้กับงานวิจัย และชีวิตประจำวัน ขอขอบพระคุณ บริษัทอีสต์เอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® และ Celluclast 1.5L® ตลอดงานวิจัย ขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาวิทยาศาตร์ และเทคโนโลยี (STDB) ที่กรุณาให้เงินทุนอุดหนุนการวิจัยและเงินทุนอุดหนุนการศึกษาประจำปีการศึกษา 2533-2534 ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือต่างๆ ขอขอบคุณ นิสิตปริญญาโทภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือทำให้การทำปฏิบัติการเป็นไปอย่างราบรื่น ตลอดงานวิจัย ขอขอบคุณ คุณเอกพันธ์ เอกธรรมสุทธ์ ที่คอยห่วงใยเป็นกำลังใจให้ผู้เขียนตลอดมา สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และพี่ๆ ที่คอยเอาใจใส่ห่วงใยดูแลสุขภาพของผู้เขียน คอยเป็นกำลังใจที่สำคัญอย่างยิ่ง คอยให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด อีกทั้งยังสนับสนุนและส่งเสริมให้ผู้เขียนศึกษาเล่าเรียนจนบรรลุเป้าหมายประสบความสำเร็จในการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ณ

บทที่

1 บทนำ 1

2 วารสารปริทัศน์ 5

- แตงไทย 5
- สารประกอบพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช 12
- เอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช 19
- การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมแปรรูปน้ำผลไม้ 26
- การตรึงรูปเอนไซม์ 41
- การตรึงรูปเพคติเนสและเซลลูเลสบนตัวพยุงต่างๆ 45
- เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป 50
- ฟลูอิไดเซชั่น 52

3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย 56

- อุปกรณ์ 56
- วัตถุดิบ วัสดุและสารเคมี 57
- วิธีดำเนินงานวิจัย 69

4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 77

- การสกัดน้ำแตงไทยโดยใช้เอนไซม์อิสระ 2 ชนิด ร่วมกันคือ เพคติเนสและเซลลูเลส ภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง 77
    - ศึกษาหาความเข้มข้นของเพคติเนส เซลลูเลส และอุณหภูมิที่เหมาะสม 77

หน้า

- ศึกษาหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาย่อยสลายเนื้อแตงไทยดีปั่นที่เหมาะสม 82
- ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์แต่ละชนิดคือ เพคติเนสและเซลลูเลสบนเม็ดแก้ว 84
  - ศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ที่ใช้กระตุ้นเม็ดแก้วที่เหมะสม 84
  - ศึกษาหาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์ 90
- ศึกษาโครงสร้างของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปบนเม็ดแก้วด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน (SEM) 94
- ศึกษาสมบัติบางประการทางจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ตรึงรูปเทียบกับเอนไซม์อิสระ .. 97
  - อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 97
  - pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ 102
  - ศึกษาค่าคงที่ Michaelis-Menten (Km) ของเอนไซม์ 109
  - แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ 113
- ศึกษาประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูป 116
- ศึกษาเสถียรภาพของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปในระหว่างการเก็บ 119
- ศึกษาการสกัดน้ำแตงไทยโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพของเอนไซม์ผสมระหว่างเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์เบด 124
  - ศึกษาหาอัตราส่วนผสมของเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำแตงไทย 124
  - ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำแตงไทยโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพของเอนไซม์ผสมระหว่าเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูป 129
- เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและทางประสาทสัมผัสระหว่างน้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยอาศัยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป 137
  - เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของน้ำแตงไทยที่สกัดได้ 137
  - เปรียบเทียบสมบัติทางประสาทสัมผัสของน้ำแตงไทยที่สกัดได้ 139

หน้า

5 สรุปผลการทดลอง..... 141
- สรุปผลการทดลอง..... 141
- ข้อเสนอแนะ..... 144
รายการอ้างอิง..... 148
ภาคผนวก..... 156
- ภาคผนวก ก..... 157
- ภาคผนวก ข..... 172
- ภาคผนวก ค..... 183
ประวัติผู้เขียน..... 187

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเนื้อแตงไทยตีปัน	3
2.1	คุณค่าทางอาหารของเมลอนพันธุ์ต่างๆ ต่อน้ำหนักเนื้อแตงไทย 100 กรัม	8
2.2	ปริมาณของสารประกอบเพคตินและเส้นใยที่เป็นองค์ประกอบของเมลอนจากแหล่งข้อมูลต่างๆ	9
2.3	ตัวอย่างของเอนไซม์ทางการค้าที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้	28
2.4	บทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช	32
3.1	อุปกรณ์	56
4.1	ค่าเฉลี่ยร้อยละการลดความหนืดของเนื้อแตงไทยตีปัน เมื่อใช้ความเข้มข้นของเพคติเนสและเซลลูเลสที่ระดับต่าง ๆ และบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน	78
4.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าร้อยละการลดความหนืดของเนื้อแตงไทยตีปันที่ความเข้มข้นของเพคติเนส เซลลูเลส และอุณหภูมิต่าง ๆ	79
4.3	ค่าเฉลี่ยร้อยละการลดความหนืดของเนื้อแตงไทยตีปัน และร้อยละการเพิ่มผลผลิตที่เวลาในการทำปฏิกิริยาต่าง ๆ กัน	82
4.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าร้อยละการลดความหนืดของเนื้อแตงไทยตีปันที่เวลาต่าง ๆ	83
4.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าร้อยละการเพิ่มผลผลิตที่เวลาต่าง ๆ	83
4.6	ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของเพคติเนสตรึงรูปบนเม็ดแก้วที่ความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ต่าง ๆ	85
4.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของเพคติเนสตรึงรูปบนเม็ดแก้วที่มีความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ต่าง ๆ	86
4.8	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's new multiple range test ของแอคติวิตีเพคติเนสตรึงรูปบนเม็ดแก้วที่มีความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ต่าง ๆ	87
4.9	ค่าเฉลี่ยแอคติวิตีของเซลลูเลสตรึงรูปบนเม็ดแก้วที่ความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ต่าง ๆ	88

ตารางที่ หน้า

4.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าแอคติวิตีของเซลลูเลสตรึงรูปบนเม็ดแก้วที่ความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ต่าง ๆ 89
4.11 แอคติวิตีที่อุณหภูมิต่าง ๆ ของเพคติเนสอิสระและตรึงรูปที่ pH 4.0 97
4.12 แอคติวิตีที่อุณหภูมิต่าง ๆ ของเซลลูเลสอิสระและตรึงรูปที่ pH 4.8 100
4.13 แอคติวิตีที่ pH ต่าง ๆ ของเพคติเนสอิสระ และตรึงรูป ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 103
4.14 แอคติวิตีที่ pH ต่าง ๆ ของเซลลูเลสอิสระและตรึงรูป ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 106
4.15 ค่า Km ของเพคติเนสอิสระและเพคติเนสตรึงรูป 110
4.16 ค่า Km ของเซลลูเลสอิสระและเซลลูเลสตรึงรูป 112
4.17 ตารางเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีจำเพาะและแอคติวิตีสัมพัทธ์ของเพคติเนสอิสระและเพคติเนสตรึงรูป 113
4.18 ตารางเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีจำเพาะและแอคติวิตีสัมพัทธ์ของเซลลูเลสอิสระและเซลลูเลสตรึงรูป 114
4.19 แอคติวิตีของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูป เมื่อใช้ทำปฏิกิริยาซ้ำหลายๆ ครั้ง 116
4.20 ค่าเฉลี่ยของแอคติวิตีของเพคติเนสตรึงรูปที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (8-10 องศาเซลเซียส) 119
4.21 ค่าเฉลี่ยของแอคติวิตีของเซลลูเลสตรึงรูปที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (8-10 องศาเซลเซียส) 120
4.22 ค่าความดันตกของเบดเมื่อแปรอัตราการไหลขาออกของแตงไทยตีป่น ในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 2x45 เซนติเมตร จำนวน 2 คอลัมน์ เมื่อใช้เม็ดแก้ว 20 กรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 125
4.23 ค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของความหนืดของเนื้อแตงไทยตีป่น ที่ผ่านเครื่องปฏิกรณ์เพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปที่อัตราส่วนต่างๆ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 127
4.24 ค่าความดันตกของเบดเมื่อแปรอัตราการไหลขาออกของแตงไทยตีป่นใน เครื่องปฏิกรณ์ขนาด 2x45 เซนติเมตร จำนวน 2 คอลัมน์ เมื่อใช้เม็ดแก้ว จำนวน 20 กรัม ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส 130

ตารางที่ หน้า

4.25 ค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของความหนืดของเนื้อแตงไทยตีปั่นที่ผ่านเครื่องปฏิกรณ์เพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปที่อัตราส่วน 7.5/2.5 ที่อุณหภูมิต่างๆ..... 134
4.26 เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของน้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยวิธีต่างๆ..... 138
4.27 เปรียบเทียบสมบัติทางประสาทสัมผัสของน้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยวิธีต่างๆ..... 139
5.1 สรุปภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเพคติเนส และเซลลูเลสบนเม็ดแก้ว..... 142
5.2 สรุปสมบัติทางด้านจลนพลศาสตร์ของเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปเปรียบเทียบกับเพคติเนสและเซลลูเลสอิสระ..... 143
ก-5.1 วิธีเตรียมโซเดียมอะซิเตต-กรดอะซิตริกบัฟเฟอร์ pH 3.7-5.6..... 168
ก-5.2 วิธีเตรียมซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 3.0-6.2..... 169
ก-6 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำแตงไทย..... 170
ค-1 การวิเคราะห์ข้อมูลการวางแผนแบบ Completely Randomized Design(CRD)..... 184
ค-2 การวิเคราะห์ข้อมูลการวางแผนแบบ Randomized Completely Block Design (CRD)..... 184
ค-3 การวิเคราะห์ข้อมูลการวางแผนแบบ Factorial Completely Randomized Design..... 185
ค-4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test..... 186

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ความสัมพันธ์ของระดับความสุกกับปริมาณสารประกอบที่ระเหยได้ต่างๆ	11
2.2	โครงสร้างเนื้อเยื่อพาเรนไคมาที่พบโดยทั่วไปในผักผลไม้ที่เจริญเต็มที่แล้ว	12
2.3	ความเกี่ยวโยงของสารประกอบเพคติกและสารประกอบอื่นๆ ในผนังเซลล์พืช	13
2.4	โครงสร้างปฐมภูมิของสารประกอบเพคติน	14
2.5	โครงสร้างของกรดเพคติกและกรดเพคตินิก	16
2.6	โครงสร้างของสายโมเลกุลเซลลูโลส	17
2.7	พันธะไฮโดรเจนในเซลลูโลส โดยกลูโคสแต่ละหน่วยจะเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของเซลลูโลส 2 พันธะคือ O3-H.....O5 และ O6-H.....O2 และพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเซลลูโลสโมเลกุลคือ O6-H.....O3	18
2.8	ลำดับการรวมกลุ่มและโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช	18
2.9	ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเพคตินเอสเธอเรส	20
2.10	ปฏิกิริยาการย่อยสลายของพอลีกาแลคทูโรเนส	20
2.11	ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเพคเตทไลเอส	22
2.12	การทำงานของเซลลูเลสตามสมมุติฐานของ Reese และคณะ (1950)	24
2.13	การทำงานของเซลลูเลสตามสมมุติฐานของ Cowling และ Brown (1969)	25
2.14	ขั้นตอนทั่วไปของการผลิตน้ำผลไม้	27
2.15	ผลของประจุไฟฟ้าสถิตย์ของสารประกอบเชิงซ้อนโปรตีนและเพคติน และอนุภาคสารแขวนลอยอื่นๆ ต่อการตกตะกอน หลังจากย่อยสลายเพคตินด้วยเพคติเนส	40
2.16	กระบวนการทำเอนไซม์ตรึงรูป	43
2.17	เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป	51
2.18	ปฏิกิริยาเคมีของการเชื่อมพันธะโควาเลนต์ระหว่างเอนไซม์กับเม็ดแก้ว	55
3.1	ลักษณะของผลแตงไทยสุก	58
3.2	ขั้นตอนในการสกัดน้ำแตงไทย และขั้นตอนการศึกษาผลของปัจจัย	59
3.3	เม็ดแก้วสะอาดที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไนตริก	62

รูปที่ หน้า

3.4 การประกอบเครื่องมือ reflux เม็ดแก้วด้วยสารละลาย APTS ในโทลูอีน..... 64
3.5 แผนภูมิขั้นตอนการกระตุ้นเม็ดแก้วด้วยสารละลาย APTS (silanization of glass bead)..... 64
3.6 การประกอบเครื่องมือการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปบนเม็ดแก้ว..... 65
3.7 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปบนเม็ดแก้วแบบเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์..... 66
3.8 แผนภาพเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิไดซ์เบดพร้อมชุดอุปกรณ์..... 68
3.9 การจัดชุดอุปกรณ์ของเครื่องปฏิกรณ์ของเอนไซม์ผสมระหว่าง เพคติเนสตรึงรูป และเซลลูเลสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์เบด..... 74
4.1 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีของเพคติเนสตรึงรูปกับความเข้มข้น ของสารละลายเพคติเนส..... 91
4.2 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีของเซลลูเลสตรึงรูปกับความเข้มข้น ของสารละลายเซลลูเลส..... 92
4.3 โครงสร้างของเม็ดแก้วสะอาดจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน..... 94
4.4 โครงสร้างของเพคติเนสกระจายบนเม็ดแก้วจากจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แบบสแกน..... 95
4.5 โครงสร้างของเซลลูเลสกระจายบนเม็ดแก้วจากจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แบบสแกน..... 96
4.6 ร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิต่างๆ ของเพคติเนสอิสระ และเพคติเนสตรึงรูป ที่ pH 4.0..... 98
4.7 ร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิต่างๆ ของเซลลูเลสอิสระ และเซลลูเลสตรึงรูป ที่ pH 4.8..... 101
4.8 ร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์ที่ pH ต่าง ๆ ของเพคติเนสอิสระ และเพคติเนสตรึงรูป..... 104
4.9 ร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์ที่ pH ต่าง ๆ ของเซลลูเลสอิสระ และเซลลูเลสตรึงรูป..... 107
4.10 เปรียบเทียบกราฟแบบ Lineweaver Burk Plot ของเพคติเนสอิสระ และเพคติเนสตรึงรูป..... 109
4.11 เปรียบเทียบกราฟแบบ Lineweaver Burk Plot ของเซลลเลสอิสระ และเซลลูเลสตรึงรูป..... 111

รูปที่ หน้า

4.12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของเพคติเนสตรึงรูป และเซลลูเลสตรึงรูป 117
4.13 แอคติวิตีสัมพัทธ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ ของเพคติเนสตรึงรูปที่เก็บ ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น 121
4.14 แอคติวิตีสัมพัทธ์ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ ของเซลลูเลสตรึงรูปที่เก็บ ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น 122
4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันตกและอัตราการไหลเมื่อใช้เม็ดแก้วจำนวน 20 กรัม ในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 2x45 เซนติเมตร จำนวน 2 คอลัมน์ๆ ละ 10 กรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 126
4.16 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของความหนืดของแตงไทยตีป่น ที่ผ่านเครื่องปฏิกรณ์เพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปที่อัตราส่วน 2.5/7.5, 5.0/5.0 และ 7.5/2.5 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 128
4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันตกและอัตราการไหลเมื่อใช้เม็ดแก้วจำนวน 20 กรัม ในเครื่องปฏิกรณ์ขนาด 2x45 เซนติเมตร จำนวน 2 คอลัมน์ๆ ละ 10 กรัม ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส 131
4.18 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยร้อยละการลดลงของความหนืดของแตงไทยตีป่น ที่ผ่านเครื่องปฏิกรณ์เพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปที่อัตราส่วน 7.5/2.5 ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส 135
4.19 น้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยใช้แรงกดแบบธรรมดา การใช้เอนไซม์อิสระ และการใช้เอนไซม์ตรึงรูป 137
ก-1.1 เครื่องมือวัดความหนืด Ostwald viscometer 158
ก-1.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิพร้อมกับ Ostwald viscometer 158
ก-2.1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายปฏิกิริยาระหว่าง DNS และน้ำตาลกลูโคส ที่ความยาวคลื่นต่างๆ 160
ก-2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสง ของสารละลายปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร 161
ก-3.1 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของ Pectinex Ultra SP-L® 163

รูปที่ หน้า

ก-3.2 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของ Pectinex Ultra SP-L® 163
ก-4.1 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของ Celluclast 1.5 L® 165
ก-4.2 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของ Celluclast 1.5 L® 165
ก-4.3 ผลของ pH ต่อเสถียรภาพของ Celluclast 1.5 L® 166
ก-4.2 ผลของอุณหภูมิต่อเสถียรภาพของ Celluclast 1.5 L® 166
ข-6.1 Brookfield viscometer 181
ข-9.1 Lovibond tintometer 183

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญรูปภาพ..... ณ

บทที่

1 บทนำ..... 1

2 วารสารปริทัศน์..... 5

- แตงไทย..... 5
- สารประกอบพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช..... 12
- เอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช..... 19
- การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมแปรรูปน้ำผลไม้..... 26
- การตรึงรูปเอนไซม์..... 41
- การตรึงรูปเพคติเนสและเซลลูเลสบนตัวพยุงต่างๆ..... 45
- เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป..... 50
- ฟลูอิไดเซชั่น..... 52

3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย..... 56

- อุปกรณ์..... 56
- วัตถุดิบ วัสดุและสารเคมี..... 57
- วิธีดำเนินงานวิจัย..... 69

4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 77

- การสกัดน้ำแตงไทยโดยใช้เอนไซม์อิสระ 2 ชนิด ร่วมกันคือ เพคติเนสและเซลลูเลส ภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง..... 77
  - ศึกษาหาความเข้มข้นของเพคติเนส เซลลูเลส และอุณหภูมิที่เหมาะสม..... 77

หน้า

- ศึกษาหาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาย่อยสลายเนื้อแตงไทยดีปั่นที่เหมาะสม..... 82
- ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์แต่ละชนิดคือ เพคติเนสและเซลลูเลสบนเม็ดแก้ว..... 84
  - ศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลาย APTS และกลูตารัลดีไฮด์ที่ใช้กระตุ้นเม็ดแก้วที่เหมะสม..... 84
  - ศึกษาหาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์..... 90
- ศึกษาโครงสร้างของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปบนเม็ดแก้วด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน (SEM)..... 94
- ศึกษาสมบัติบางประการทางจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ตรึงรูปเทียบกับเอนไซม์อิสระ.. 97
  - อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์..... 97
  - pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์..... 102
  - ศึกษาค่าคงที่ Michaelis-Menten (Km) ของเอนไซม์..... 109
  - แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์..... 113
- ศึกษาประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยาซ้ำของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูป..... 116
- ศึกษาเสถียรภาพของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปในระหว่างการเก็บ..... 119
- ศึกษาการสกัดน้ำแตงไทยโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพของเอนไซม์ผสมระหว่างเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปแบบฟลูอิไดซ์เบด..... 124
  - ศึกษาหาอัตราส่วนผสมของเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำแตงไทย..... 124
  - ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำแตงไทยโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพของเอนไซม์ผสมระหว่าเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูป..... 129
- เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและทางประสาทสัมผัสระหว่างน้ำแตงไทยที่สกัดได้โดยอาศัยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป..... 137
  - เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของน้ำแตงไทยที่สกัดได้..... 137
  - เปรียบเทียบสมบัติทางประสาทสัมผัสของน้ำแตงไทยที่สกัดได้..... 139

หน้า

5 สรุปผลการทดลอง..... 141
- สรุปผลการทดลอง..... 141
- ข้อเสนอแนะ..... 144
รายการอ้างอิง..... 148
ภาคผนวก..... 156
- ภาคผนวก ก..... 157
- ภาคผนวก ข..... 172
- ภาคผนวก ค..... 183
ประวัติผู้เขียน..... 187