บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ทุเรียน

ทุเรียนเป็นพืชอยู่อันดับ Mavales วงศ์ Bombacaceae สกุล Durio ประกอบด้วยทุเรียน 27 ชนิด (species) ซึ่งมีเพียง 6 ชนิดที่รับประทานได้ ส่วนชนิดที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายทางการค้าคือพันธุ์ทุเรียนบ้าน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Durio zibethinus, Linn. ทุเรียนเป็นไม้ผลเขตร้อน มีถิ่นกำเนิดทางเอเชียตอนใต้แถบหมู่เกาะบอร์เนียว อินโดนีเซีย มาเลเซีย ต่อมาได้แพร่กระจายไปที่ต่างๆรวมทั้งประเทศไทย ในปัจจุบันทุเรียนจากประเทศไทยนับว่ามีคุณภาพดีที่สุด เป็นที่รู้จักและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งชาวไทยและต่างประเทศ ทุเรียนจึงได้ชื่อว่าเป็นราชาของผลไม้ (King of fruits) และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย ในประเทศไทยจะปลูกทุเรียนมากทางภาคตะวันออก เช่น ในจังหวัดจันทบุรี ระยอง ตราด ปราจีนบุรี ในภาคกลางได้แก่ นนทบุรี ภาคใต้เช่น ชุมพร สุราษฎร์ธานี เป็นต้น และภาคเหนือในจังหวัดอุตรดิตถ์ (ทรงพล สมศรี, 2531) ทุเรียนที่ปลูกในประเทศไทยนั้นมีพันธุ์ดั้งเดิมอยู่ 5 ชนิด คือ พันธุ์ลวง การะเกต ทองสุก ทองย้อยเดิม กำปั่น แต่เนื่องจากสมัยก่อนนิยมปลูกด้วยเมล็ด ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เกิดเป็นพันธุ์ใหม่ๆมากมาย ปัจจุบันเท่าที่มีผู้รวบรวมไว้มีพันธุ์ทุเรียนมากกว่า 150 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกกันเป็นการค้ามีเพียงไม่กี่พันธุ์เท่านั้น ได้แก่ พันธุ์ก้านยาว หมอนทอง ชะนี กระดุมทอง และกบบางพันธุ์ เป็นต้น มนตรี วงศ์รักษ์พานิช และวันทนา บัวทรัพย์ (2533) ได้รวบรวมลักษณะของพันธุ์ทุเรียนที่ปลูกเป็นการค้า ซึ่งขอยกมากล่าวพอเป็นสังเขปได้ดังนี้

ทุเรียนพันธุ์กระดุมทอง ผลค่อนข้างกลม มีขนาดปานกลาง ขั้วเล็กค่อนข้างยาว หนามเล็กสม่ำเสมอ มีพูไม่เห็นเด่นชัด ส่วนใหญ่จะมีพูเต็มทุกพู เนื้อบางละเอียด สีเหลืองอ่อน รสหวานมัน มีเมล็ดมาก พูหนึ่งมี 3-4 เมล็ด เมล็ดมีลักษณะค่อนข้างกลม เป็นพันธุ์เบาสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ก่อนพันธุ์อื่นๆ

ทุเรียนพันธุ์ชะนี ทรงผลค่อนข้างยาว ขนาดของพูไม่สม่ำเสมอ พูเห็นเด่นชัด ร่องระหว่างพูไม่ลึกมากทั้งด้านขั้วผลและก้นผล แต่ก้นผลจะโตกว่าด้านขั้วผล หนามมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ฐานหนามกว้าง ปลายหนามไม่แหลม ผิวมีสีเขียวอมน้ำตาล ก้านผลสั้นและมีขนาดโตปานกลาง เปลือกค่อนข้างหนา (ถ้าเป็นทุเรียนที่ให้ผลเป็นปีแรก เปลือกจะหนากว่าปกติ) แต่ละพูจะมีเมล็ดประมาณ 1-3 เมล็ด อาจมีเมล็ดเล็กหรือเมล็ดตาย เนื้อละเอียดปานกลาง นิ่ม มีสีเหลืองจัด รสหวานปนมัน

ทุเรียนพันธุ์ก้านยาว ผลมีรูปทรงกลมได้สัดส่วน ด้านก้นผลกลมใหญ่ ด้านขั้วผลมีพูเห็นไม่เด่นชัด มีลักษณะสม่ำเสมอ ผิวของผลมีสีเขียว ก้านผล (ไม่รวมปลิง) มีขนาดยาวและยาวกว่าพันธุ์อื่นๆ เปลือกค่อนข้างหนา โดยทั่วไปแต่ละพูมีเมล็ด 2-3 เมล็ด เนื้อมีลักษณะละเอียด นิ่ม สีเหลืองอ่อน รสหวานมัน กลิ่นไม่ฉุน เมล็ดมีลักษณะกลมไม่มีเมล็ดลีบ

ทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ น้ำหนักประมาณ 2.5-5 กิโลกรัม ทรงผลกลมยาว โดยมากมักจะมีความยาวมากกว่าความกว้างอย่างเห็นได้ชัด พูมักไม่ค่อยเต็มทั้ง 5 พู และจะมีพูหนึ่งที่มีการเจริญมาก ทำให้ผลไม่กลมสม่ำเสมอ ร่องพูมองเห็นชัด หนามมีสีน้ำตาลมี 2 ชนิดในผลเดียวกัน คือมีหนามฐานใหญ่และปลายเรียวแหลมอยู่ทั้งผล และระหว่างหนามใหญ่จะมีหนามเรียวเล็กคล้ายเขี้ยวงูแซมอยู่ประปราย เรียกว่า หนามเขี้ยวงู เนื้อมีสีเหลืองอ่อนเนื้อหนา รสหวานจัด มีกลิ่นน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ เมื่อสุกเต็มที่แล้วยังสามารถเก็บไว้ได้นานกว่าพันธุ์อื่นๆ โดยเนื้อยังแข็งแห้ง เมล็ดเล็กลีบ เรียกว่า เมล็ดตาย เป็นส่วนใหญ่ เป็นทุเรียนที่มีปริมาณเนื้อมากที่สุดเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ เมื่อหักส่วนที่กินไม่ได้ทิ้งไปแล้ว

2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางอาหารของทุเรียน

ทุเรียนเป็นผลไม้ประเภท pulpy fruit มีเนื้อมาก น้ำน้อย และมีความหนืดสูง จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของทุเรียน Martin (1980) ได้พบว่าทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีน้ำน้อยประมาณร้อยละ 60 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตในปริมาณสูงถึงร้อยละ 36.1 เส้นใยร้อยละ 1.9 นอกจากนี้ Stanton (1966) พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่พบในเนื้อทุเรียนนั้นจะมีแป้งอยู่ในปริมาณ 1 ใน 3 ส่วน และมีน้ำตาลอยู่ในปริมาณ 1 ใน 3 ส่วนของปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดเช่นกัน ส่วนใหญ่น้ำตาลที่พบจะเป็นพวกซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส นอกจากแป้งและน้ำตาลแล้วยังพบคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น เช่น เฮมิเซลลูโลส สารประกอบพวกเพคติน และกัม เป็นต้น

ทุเรียนเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูงกว่าผลไม้ชนิดอื่นๆ และให้พลังงานค่อนข้างสูงด้วย ฝ่ายวิเคราะห์คุณค่าอาหารและเครื่องดื่ม กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (2532) ได้ศึกษาและวิเคราะห์คุณค่าอาหารของทุเรียนพันธุ์ชะนี ซึ่งซื้อมาจากตลาดและเลือกลูกที่สุกพอดี ได้ผลวิเคราะห์ตามตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ผลการวิเคราะห์คุณค่าอาหารในเนื้อทุเรียนพันธุ์ชะนี 100 กรัม

องค์ประกอบทางเคมี		ปริมาณต่อ 100 กรัมของเนื้อทุเรียน
น้ำ	กรัม	64.1
โปรตีน (Nx 6.25)	กรัม	2.33
ไขมัน	กรัม	6.29

องค์ประกอบทางเคมี		ปริมาณต่อ 100 กรัมของเนื้อทุเรียน
เถ้าหรือแร่ธาตุ	กรัม	1.24
กาก	กรัม	4.40
คาร์โบไฮเดรต (โดยการคำนวณ)	กรัม	21.33
ค่าพลังงานความร้อน	กิโลแคลอรี	151.2
น้ำตาลรีดิวซิงคำนวณเป็นกลูโคส	กรัม	3.17
ซูโครส	กรัม	12.6
แคลเซียม	มิลลิกรัม	5.35
ฟอสฟอรัส	มิลลิกรัม	42.0
เหล็ก	มิลลิกรัม	0.80
โซเดียม	มิลลิกรัม	0.57
โพแทสเซียม	มิลลิกรัม	474.6
สารหนู	มิลลิกรัม	0.0007
วิตามินเอ	หน่วยสากล	ไม่พบ
วิตามินบี 1	มิลลิกรัม	0.24
วิตามินบี 2	มิลลิกรัม	0.07
ไนอาซิน	มิลลิกรัม	1.17
วิตามินซี	มิลลิกรัม	31.0
เบตาคาโรตีน	หน่วยสากล	710.0

2.1.2 สารประกอบที่ให้กลิ่นเฉพาะของทุเรียน

จากการศึกษาส่วนประกอบทางเคมี (Moser, Duvel และ Greve, 1980) พบว่าเนื้อของผลทุเรียนสุกที่เก็บตัวอย่างมาจากจังหวัดจันทบุรี ระยอง และปราจีนบุรี พบว่าจะมีสารประกอบของกำมะถันอยู่ในรูปของแก๊สไข่เน่า (H_2S), ethyl hydrodisulfide และ dialkyl polysulfides หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง $(C_2H_5)_2S_n$ (n=2 หรือ 3) สารเหล่านี้เป็นสารสำคัญที่ทำให้เนื้อของผลทุเรียนสุกมีกลิ่นเฉพาะ สารเหล่านี้จะไม่พบในเปลือกและเมล็ด ส่วนสารที่มีกลิ่นอื่นๆได้แก่ ethyl acetate, 1,1-diethoxy ethane และ ethyl-2 methyl butanoate ซึ่งให้กลิ่นผลไม้ (fruity odour)

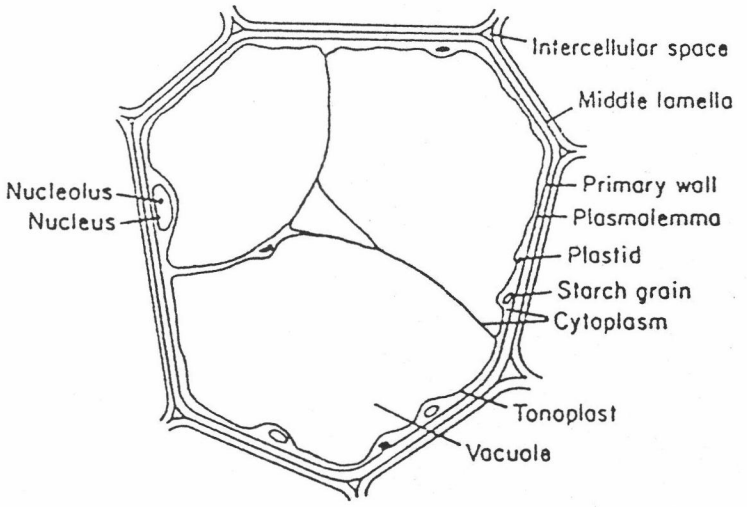
H_2S จะมีในทุเรียนสุก แต่ในเนื้อทุเรียนดิบจะพบในปริมาณน้อยหรือไม่พบเลย การเกิด H_2S ในผลทุเรียนสุกนั้น ไม่ได้เกิดจากการสร้างของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่สร้าง H_2S จากการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาจากเนื้อทุเรียนสุก ที่ไม่มีการบอบช้ำ บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่มีสร้าง H_2S เช่น salmonella shigella agar

สารประกอบพวกซัลเฟอร์ที่เป็นองค์ประกอบของกลิ่นทุเรียน ที่เป็นสารประกอบหลักที่ตรวจวัดโดยใช้เครื่อง ^1H NMR คือ ethyl polysulfide $C_2H_5S_n$ (n>1) และจากการตรวจวัดโดยใช้เครื่อง GC-MS จะพบ R-Sn (alkyl polysulfides), R-Sn-R' (dialkyl polysulfides โดยที่ R, R' = H, CH_3, C_2H_5, C_3H_7, C_4H_9) และ alkyl hydropolysulfides $R-S_n-H$ (n>1) แต่กลุ่ม alkyl ที่พบมากจะเป็นพวก ethyl และ diethyl และจากการใช้เครื่อง GLC (วัดค่า R_f) และ MS จะพบสารประกอบพวก diethyl disulfide, ethyl propyl trisulfide และ diethyl tetrasulfide และพบสาร ethyl hydrodisulfide ในปริมาณมาก และเมื่อความสุกเพิ่มขึ้นปริมาณของสารนี้จะลดลง ดังนั้น ในผลสุกเต็มที่จะพบสาร ethyl hydrodisulfide ในปริมาณต่ำหรือไม่พบเลย เนื่องจากสาร hydrodisulfides จะเป็นเหมือนตัวกลาง

(intermediate) ที่จะเปลี่ยนเป็นสาร diethyl polysulfides ซึ่งสารนี้จะทำให้เกิด H_2S ในผลสุก

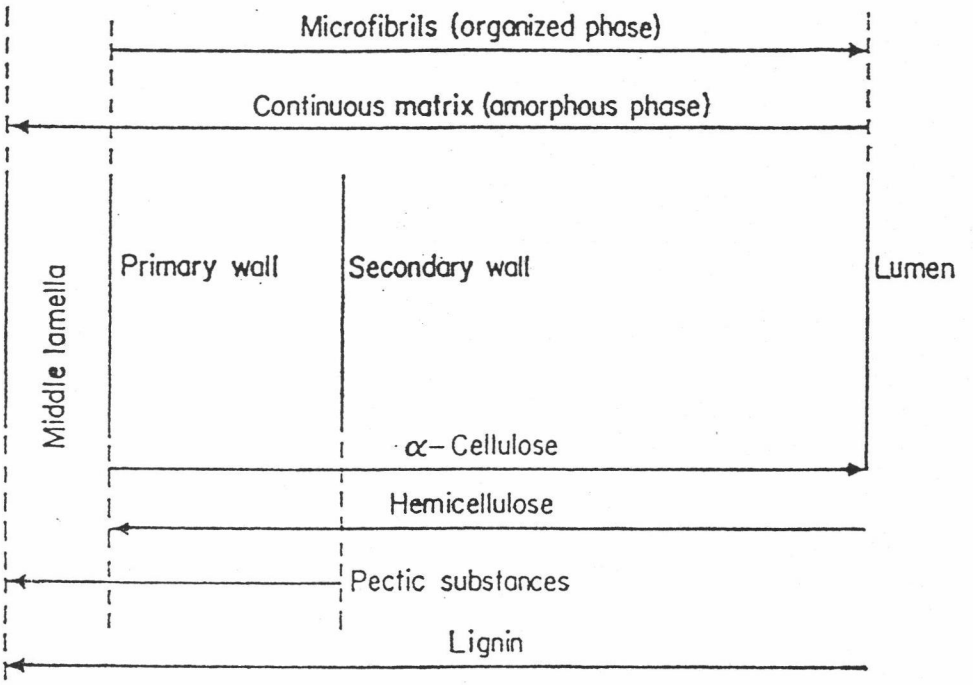
2.2 โครงสร้างของเนื้อเยื่อผลไม้และองค์ประกอบทางเคมีของโพลิแซคคาไรด์ในเซลล์พืช

เนื้อเยื่อที่พบมากที่สุดในเนื้อเยื่อพืชที่รับประทานได้ คือ เนื้อเยื่อ parenchyma ผนังเซลล์อยู่ชิดกัน ไม่มีช่องว่างระหว่างเซลล์ ปริมาตรหรือช่องว่างภายในเซลล์ถูกครอบครองโดย vacuole ที่ใหญ่ เมื่อ parenchyma มีอายุเพิ่มขึ้น เซลล์มักจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากันและมีหลายเหลี่ยม ขนาดและรูปร่างของ parenchyma เป็นลักษณะเฉพาะของพืชแต่ละชนิด ผนังเซลล์ของแต่ละเซลล์มักจะสัมผัสกันไม่สมบูรณ์ อากาศจะครอบครองช่องว่างระหว่างเซลล์มากน้อยแค่ไหนขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น parenchyma ของผลแอปเปิ้ล มีช่องว่างประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ (สายชล เกตุษา, 2528) โครงสร้างของเนื้อเยื่อ parenchyma ที่พบโดยทั่วไปในผักและผลไม้จะแสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเนื้อเยื่อ parenchyma ที่พบโดยทั่วไปในผักผลไม้ที่เจริญเต็มที่แล้ว

โพลิแซคคาไรด์ที่พบในเนื้อเยื่อพืชจะมีหลายชนิด (Whitaker, 1984) เช่น แป้ง (อะมัยโลส และอะมัยโลเพคติน), เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, สารประกอบเพคติน และโพลิแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ คาร์โบไฮเดรตที่สะสมในเนื้อเยื่อพืชจะสะสมในรูปของแป้ง ส่วนโพลิแซคคาไรด์ชนิดอื่นที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อคือ ลิกนิน โพลิแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ ที่พบในผนังเซลล์ของพืชชั้นสูง (Hulme, 1970) จะแสดงในรูปที่ 2.2

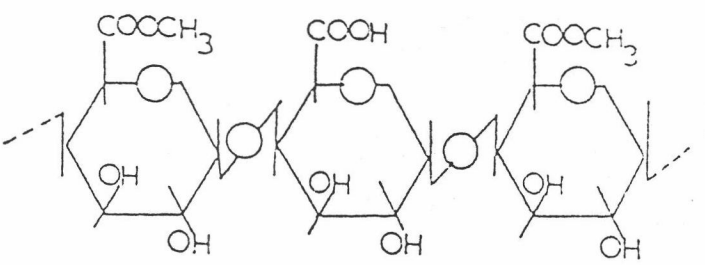


รูปที่ 2.2 โพลิแซคคาไรด์ที่พบในผนังเซลล์พืชชั้นสูง

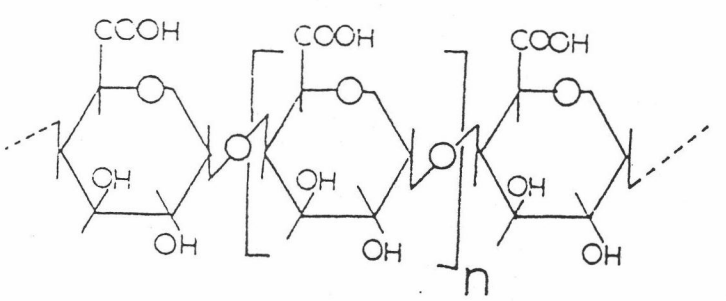
2.2.1 สารประกอบเพคติน

สารประกอบเพคตินเป็นโพลิแซคคาไรด์ (Fennema, 1985) ประกอบด้วย anhydrogalacturonic acid unit พบมากในบริเวณชั้นระหว่างเซลล์ (middle lamella) และผนังเซลล์ชั้นแรกของพืชชั้นสูง (primary cell wall) ในผลไม้ดิบสารประกอบเพคตินจะอยู่ในรูปโปรโตเพคตินซึ่งไม่ละลายน้ำ เมื่อผลไม้สุกจะมีโปรโตเพคติเนสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนโปรโตเพคตินไปเป็นสารประกอบเพคตินที่ละลายน้ำได้ สาร

ประกอบเพคตินที่พบมากในส่วนของ middle lamella คือ เพคติน (pectin) ซึ่งเป็นเทอมทั่วไปสำหรับเรียกสารประกอบเพคติน สารเพคตินเป็นสารประกอบพวก heteropolysaccharide ซึ่งประกอบด้วยสายของ 1,4 - α - galacturonan เป็นสารประกอบหลัก สารดังกล่าวจะมีหมู่คาร์บอกซิลที่ถูกทำให้เป็นเอสเธอร์ในปริมาณต่างๆกัน กล่าวคือ ถ้าหมู่คาร์บอกซิลถูกทำให้เป็นเอสเธอร์ด้วยเมธานอล มากกว่าร้อยละ 50 ของหมู่คาร์บอกซิลทั้งหมดจะเรียกว่า high methoxyl pectin ดังรูปที่ 2.3 ถ้าน้อยกว่าร้อยละ 10 ของหมู่คาร์บอกซิลทั้งหมดจะเรียกว่า กรดเพคตินิค (pectinic acid) และถ้าอยู่ระหว่างร้อยละ 10-50 จะเรียกว่า low methoxyl pectin ส่วนถ้าโพลิเมอร์ของ anhydrogalacturonic acid units มีหมู่คาร์บอกซิลอิสระจะเรียกว่า กรดเพคติก (pectic acid) ดังรูปที่ 2.4



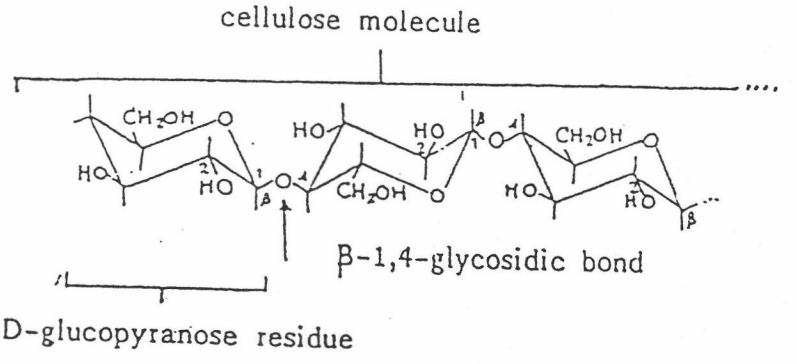
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเพคติน



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของกรดเพคติก

2.2.2 เซลลูโลส

เซลลูโลส (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535 และ Cowling and Brown, 1969) เป็นโพลิแซคคาไรด์สายตรงของ β - D - glucopyranoses เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 ไกลโคซิดิก สายของโมเลกุลเซลลูโลสมีขนาดต่างๆกันตั้งแต่แกมมา-เซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วย β - D - glucopyranoses น้อยกว่า 15 หน่วย จนถึงอัลฟา-เซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วย β - D - glucopyranoses ประมาณ 10,000-14,000 หน่วย และความยาวโมเลกุลเซลลูโลสวัดโดยระดับขั้นการเกิดโพลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization) ดังรูปที่ 2.5

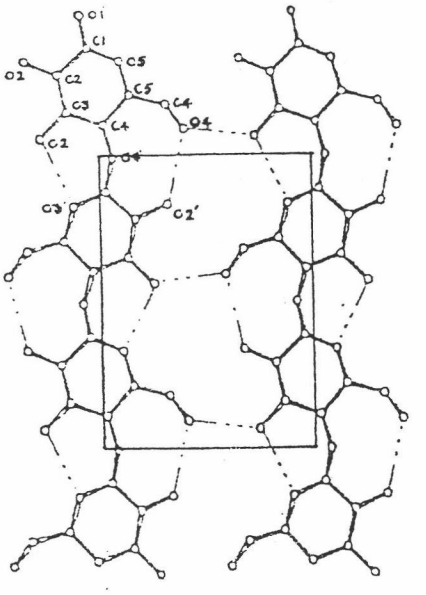


รูปที่ 2.5 โครงสร้างสายโมเลกุลเซลลูโลส

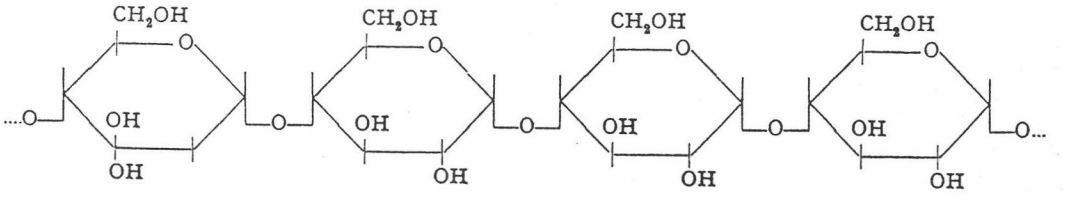
เซลลูโลสจะพบในเซลล์ของพืชชั้นสูง ซึ่งจะพบบริเวณผนังเซลล์ชั้นแรกและผนังเซลล์ชั้นที่สอง (primary and secondary cell wall) เป็นองค์ประกอบที่ให้ความแข็งแรงแก่เนื้อเยื่อพืช สายโมเลกุลเซลลูโลสที่อยู่ติดกันจะเชื่อมกันทางข้างของสายด้วยพันธะไฮโดรเจน ดังรูปที่ 2.6 กลุ่มของสายของโมเลกุลที่เชื่อมกันทางด้านข้างของสายด้วยพันธะไฮโดรเจนนี้รวมเรียกว่า elementary fibril การเชื่อมดังกล่าวถ้าสายโมเลกุลเซลลูโลสมีการเรียงตัวอย่างมีระเบียบขนานกันไป ทำให้เกิด crystalline และถ้าการเรียงตัวดังกล่าวมีความเป็น

ระเบียบน้อยลงจะทำให้เกิดบริเวณที่เรียกว่า amorphous หรือ paracrystalline regions

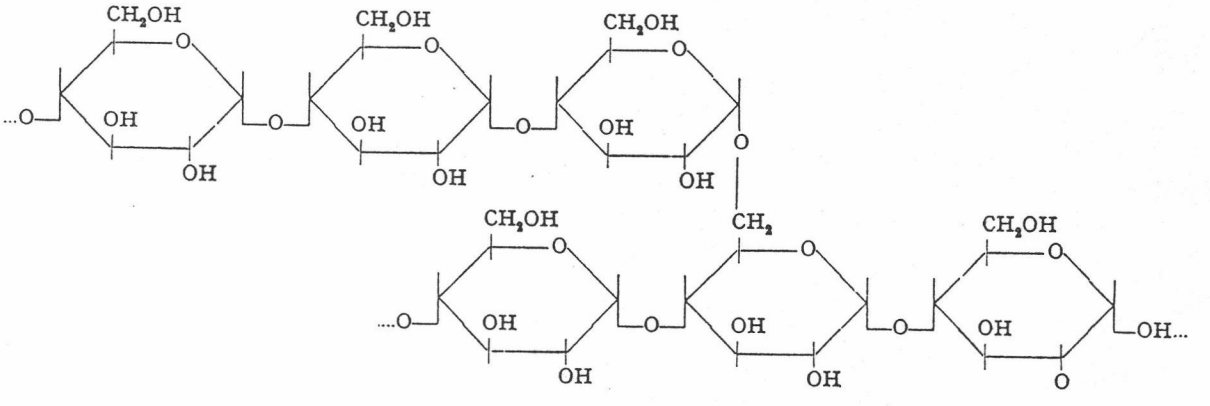
elementary fibril จำนวนหนึ่งเมื่อรวมกลุ่มกันจะเรียกว่า microfibril และเมื่อ microfibril มาเชื่อมกันทางด้านข้างและมีลิกนินเป็นตัวห่อหุ้มรวมกันเป็นกลุ่มเรียกว่า macrofibril โดยมีเฮมิเซลลูโลสและสารอื่นๆรวมอยู่ภายในช่องว่างระหว่าง microfibril แต่ละกลุ่ม การรวมกลุ่มของสายโมเลกุลเซลลูโลส และการสะสมของสารต่างๆในช่องว่างดังกล่าวทำให้เซลลูโลสในธรรมชาติมีระบบการป้องกันการย่อยสลายโดยเอนไซม์ ลำดับการรวมกลุ่มของเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช แสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.6 การเชื่อมต่อของสายโมเลกุลเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยกลูโคสแต่ละหน่วยจะจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลเซลลูโลส 2 พันธะ คือ O3-H^{-}... O.5' และ O6...H-O2' และพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโมเลกุลเซลลูโลส คือ O6-H...O3



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของโมเลกุลอะมัยโลส



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของโมเลกุลอะมัยโลเพคติน

2.3 เอนไซม์ย่อยสลายโพลิแซคคาไรด์

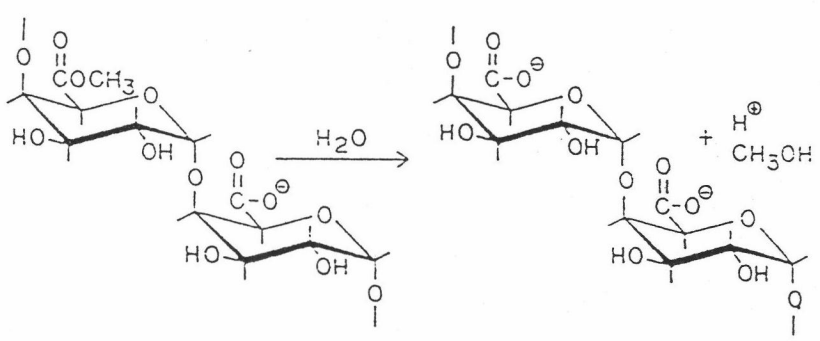
องค์ประกอบในเนื้อเยื่อผลไม้จะมีโพลิแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ เช่น แป้ง เซลลูโลส เพคติน ซึ่งจะคอยขัดขวางการสกัดน้ำผลไม้ ดังนั้นจึงต้องอาศัยเอนไซม์ในการช่วยย่อยสลายองค์ประกอบต่างๆที่สำคัญก่อน กลุ่มเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในการสกัดจะมีด้วยกัน 3 กลุ่ม คือ เพคติเนส, เซลลูเลส และอะมัยเลส ซึ่งกลุ่มต่างๆจะจำแนกเป็นกลุ่มย่อยๆดังนี้

2.3.1 เพคติเนส

เพคติเนส (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2533 และ Whitaker, 1984) เป็นเอนไซม์ที่

ย่อยเพคตินทำให้เซลล์แยกออกจากกัน เนื้อเยื่อของพืชจึงนิ่มขึ้น เรียกว่าเกิด maceration เพคติเนสนี้จะพบในพืชชั้นสูง แบคทีเรีย รา ยีสต์ แมลง nematode โปรโตซัว และหอยทาก ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เอนไซม์นี้ในการสกัดน้ำผลไม้และเครื่องดื่ม โดยเอนไซม์นี้จะช่วยทำให้การสกัดและการกรองเป็นไปได้ง่ายขึ้น ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้ใสและช่วยเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นสารละลายของ low methoxyl pectin หรือกรดเพคติก เพคติเนสจะมี 3 ชนิด ได้แก่

2.3.1.1 Pectin methylesterase (pectin pectylhydrolase, EC. 3.1.1.11) บางครั้งจะเรียกว่า pectinesterase (PE), pectase, pectin methoxylase, pectin demethoxylase และ pectolipase เอนไซม์จะทำหน้าที่แยกหมู่เมธิลจากเพคติน (methylated pectic substance) แต่ไม่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิก แต่จะตัดพันธะเอสเธอร์บนเพคติน ในตำแหน่งที่ถัดจากหน่วยที่มีหมู่คาร์บอกซิลอิสระ ตามรูปที่ 2.10

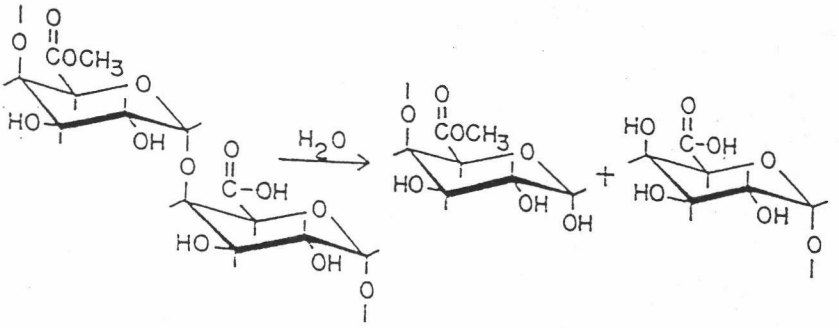


รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยาย่อยสลายของเพคตินเอสเธอเรส

เพคตินที่มีหมู่เอสเธอร์ร้อยละ 65-75 จะเป็นจำนวนที่พอเหมาะสำหรับปฏิกิริยาการสลายพันธะเอสเธอร์โดยเอนไซม์นี้ และสารเพคตินที่มีหมู่เอสเธอร์ 100% (totally methylated polygalacturonic acid) จะไม่เหมาะกับเอนไซม์นี้ เนื่องจากไม่มีหมู่คาร์บอกซิลอิสระที่จะกระตุ้นให้เกิดการปะทะที่พันธะเอสเธอร์ได้ ผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลาย

โดยเอนไซม์นี้คือ กรดเพคติก กรดเพคตินิค เมธานอล และโปรตอน (H^+) ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์นี้อยู่ในช่วง pH 4-7.5 เอนไซม์นี้จะไม่จำเพาะต่อพันธะเมธิลเอสเธอร์เท่านั้น แต่พบว่าพันธะเอธิลเอสเธอร์ก็จะถูกย่อยสลายได้ด้วยความเร็วร้อยละ 3-13 ของเมธิลเอสเธอร์ แต่จะไม่สามารถไฮโดรไลซ์เอสเธอร์จากแอลกอฮอล์พวกไกลคอล กลีเซอรอล และบิวทานอล

2.3.1.2 Polygalacturonases [poly (1, 4 - α - D - galacturonide) glycanohydrolase, EC 3.2.1.15] จะทำหน้าที่สลายพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิก ในสารประกอบเพคติน ดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยาการย่อยสลายของโพลิกาแลคทูโรเนส

polygalacturonases (PG) แบ่งออกได้เป็น 2 subgroup ตามชนิดสับสเตรท คือ polymethyl- galacturonase (สับสเตรทคือเพคติน) และ polygalacturonase (สับสเตรทคือกรดเพคติก) และแบ่งย่อยลงไปตามลักษณะการย่อยสลายคือ Endo-splitting และ Exo-splitting ดังนั้นการแบ่งกลุ่มย่อยเป็นดังนี้

2.3.1.2.1 Random mechanism of hydrolysis

(1) Endo-polymethylgalacturonases

จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติก และมีการย่อยแบบไม่

เป็นระเบียบ (endo-splitting)

(2) Endo-polygalacturonases

จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นกรดเพคติกได้ดีกว่าเพคติน และมีลักษณะการย่อยแบบไม่เป็นระเบียบ (endo-splitting)

2.3.1.2.2 Terminal mechanism of hydrolysis

(1) Exo-polymethylgalacturonases

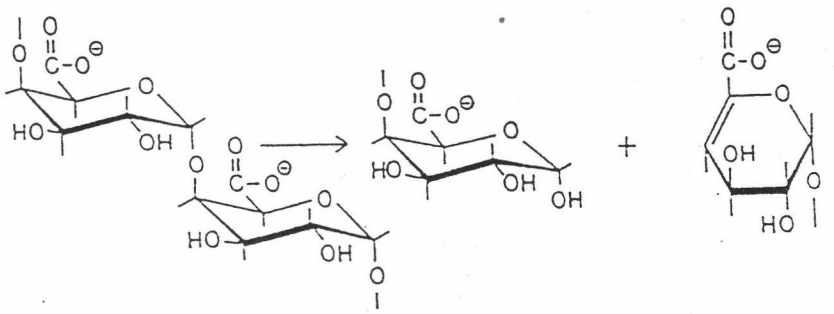
จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติก และมีลักษณะการย่อยสลายจากปลายสาย (exo-splitting)

(2) Exo-polygalacturonases

จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นกรดเพคติกได้ดีกว่าเพคติน และมีลักษณะการย่อยสลายจากปลายสาย (exo-splitting)

เอนไซม์กลุ่มนี้จะทำงานในช่วงของ pH 5-6.5 เอนไซม์ในกลุ่ม Endo-splitting ทั้ง 2 ชนิด จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่มีขนาดใหญ่ด้วยอัตราเร็วสูงสุด โดย Endo-splitting จะย่อยสลาย polygalacturonic acid อย่างไม่เป็นระเบียบ ในช่วงต้นของปฏิกิริยาจะมีโมเลกุลใหญ่ของ tetramers และในช่วงเวลาสุดท้ายจึงมีโมเลกุลเล็กของ mononer, dimers และ trimers เกิดขึ้น ส่วนเอนไซม์ในกลุ่ม Exo-splitting จะย่อยสลาย polygalacturonic acid จากปลายได้ mono, di-galacturonic acid จากสายในช่วงต้นของปฏิกิริยา ดังนั้น Endo-splitting จะลดความหนืดของสารตั้งต้นได้มากกว่า Exo-splitting กล่าวคือ Endo-splitting สามารถลดความหนืดได้ร้อยละ 50 เมื่อไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิกร้อยละ 3-5 ขณะที่ Exo-splitting จะไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิกร้อยละ 10-15 จึงจะลดความหนืดได้ร้อยละ 50

2.3.1.3 Pectate lyases [poly (1,4- α - D -galacturonide) lyase, EC. 4.2.99.3] จะย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิกโดยการ trans-elimination ของโปรตอน (H^+) จาก C_4-C_5 ของส่วน aglycone ของสับสเตรทเกิดเป็นพันธะคู่ ได้ผลผลิตเป็นสารประกอบเพคตินสายสั้นๆที่มีปลายรีดิวซ์ และพันธะคู่ที่ปลายสายตามปฏิกิริยาดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเพคเตท ไลเอส

การแบ่งกลุ่มของเพคเตท ไลเอส จะใช้หลักเกณฑ์เดียวกันกับในโพลิกาแลคทูโรเนส คือแบ่งตามชนิดของสับสเตรทและลักษณะการตัดสายโพลิเมอร์ ดังนี้

2.3.1.3.1 Random mechanism of trans-eliminative degradation

(1) Endo-pectin methyl - trans - eliminase (endo-PMTE) จะไฮโดรไลซ์สารเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติก การย่อยสลายเป็นแบบ endo-splitting

(2) Endo-polygalacturonate - trans - eliminase (endo-PGTE) จะไฮโดรไลซ์กรดเพคติกได้ดีกว่าเพคติน การย่อยสลายเป็นแบบ endo-splitting

2.3.1.3.2 Terminal mechanism of trans-eliminative degradation

(1) Exo-pectin methyl - trans - eliminase (exo-PMTE) จะไฮโดรไลซ์เพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติก การย่อยสลายเป็นแบบ exo-splitting

(2) Exo-polygalacturonate - trans - eliminase (exo-PGTE) จะไฮโดรไลซ์กรดเพคติกได้ดีกว่าเพคติน การย่อยสลายเป็นแบบ exo-splitting

เอนไซม์นี้จะทำงานอยู่ในช่วง pH 8.5-9.5 การทำงานของเอนไซม์นี้จะมี Ca^{2+} เป็นตัวกระตุ้น แต่สาร EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid) จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ เนื่องจาก EDTA จะจับกับ Ca^{2+}

2.3.2 <u>เซลลูเลส</u> (Cowling และ Brown, 1969)

เซลลูเลส เป็นสารเอนไซม์ที่มีปฏิกิริยาต่อเซลลูโลสและอนุพันธ์ของเซลลูโลส โดยทั่วไปเป็นเอนไซม์ผสม ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำหน้าที่ร่วมกัน คือ

2.3.2.1 เอนไซม์ C_1 หรือเรียก hydrogen bondase ทำหน้าที่กระตุ้นหรือแยกสลายเซลลูโลสให้มีสภาพที่เหมาะสม ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง เพื่อเป็นสับสเตรทของเซลลูเลสลำดับต่อไป เช่น เอนไซม์ Cx, glucanase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญอย่างยิ่งในกรณีที่เซลลูโลสอยู่ในลักษณะที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากๆ

2.3.2.2 เอนไซม์ Cx หรือ β -1,4 glucanases เป็นเซลลูเลสที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูโลสหรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายสับสเตรท

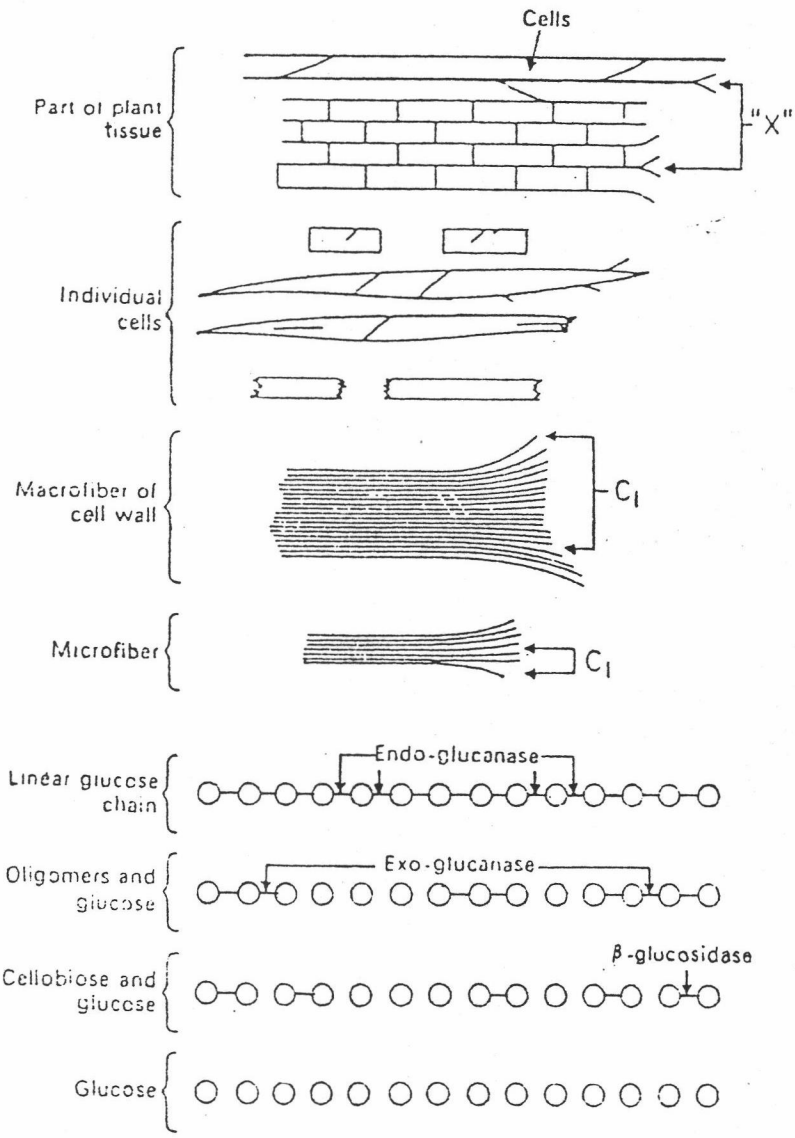
ที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

2.3.2.2.1 Endo - β - 1,4 glucanases ได้ผลผลิตเป็น Oligomers และกลูโคส

2.3.2.2.2 Exo - β - 1,4 glucanases ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอส และกลูโคส โดยจะตัดจากปลาย non-reducing และมี inversion of configuration ซึ่งผลผลิตที่ได้จะถูกเปลี่ยน β - configuration เป็น α -

2.3.2.3 β - Glucosidases หรือ cellobiase คล้าย exo - β - 1,4 glucanase คือมีสับสเตรทเป็นเซลโลไบโอสจนถึงเซลโลเฮกโซส แต่จะจำเพาะต่อเซลโลไบโอสมากกว่าเซลโลเฮกโซส และอัตราการย่อยสลายจะลดลงเมื่อ degree of polymerization เพิ่มขึ้น ผลผลิตที่ได้คือกลูโคส

Cowling และ Brown (1969) ได้เสนอสมมุติฐานเกี่ยวกับความจำเพาะต่อสับสเตรทของเซลลูเลส โดยอธิบายว่า เอนไซม์ "x" ที่มักพบร่วมกับเซลลูเลสจะย่อยสลายสับสเตรทที่บริเวณ middle lamella มีผลทำให้เซลล์ของพืชถูกแยกออกจากกันได้เซลล์เดี่ยวๆ ผนังเซลล์บางเซลล์จะแตกและหัก ซึ่งจะทำให้เซลลูเลสทำปฏิกิริยาย่อยสลายได้ในลำดับต่อไป ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 การทำงานของเซลลูเลส ตามสมมุติฐานของ Cowling

2.3.3 <u>อะมัยเลส</u> (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายสับสเตรทจำพวกแป้งไกลโคเจน แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด ซึ่งผลผลิตของการย่อยสลายตัวอะมัยเลสทั้งสามชนิดที่จะกล่าวต่อไปนี้ แสดงดังรูปที่ 2.14

2.3.3.1 อัลฟาอะมัยเลส (α - amylase)

มีชื่อสามัญว่า diastase และมีชื่อตามระบบว่า α -1,4-glucan 4-glucano hydrolase (EC 3.2.1.1) พบทั่วไปทั้งในอาณาจักรพืชและสัตว์ ตลอดทั้งในคน จะพบในส่วนของน้ำลาย ตับอ่อน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายแป้ง เป็นโอลิโก- และไดแซคคาไรด์ ซึ่งจะถูกย่อยต่อในลำไส้เล็กก่อนที่จะซึมผ่านผนังลำไส้สู่ร่างกายเป็นเอนไซม์ที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 50,000 มี Ca^{++} 1 ตัว ต่อเอนไซม์ 1 โมเลกุล จะถูกกระตุ้นด้วยฮาโลเจนอิออน เช่น Cl, Br, F มีค่า pK ของหมู่ที่แตกอิออนได้ในบริเวณเร่งอยู่ที่ 6.5-8.0 ซึ่งหมู่ที่ว่านี้อาจเป็นหมู่อิมิดาโซลหรือหมู่อะมิโน แต่เมื่อพิจารณาจากค่า ΔH_{ion} เป็น 4 kcal/mole ดังนั้นน่าจะเป็นหมู่อิมิดาโซล ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์ในการย่อยสลายก็คือ เจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของแป้งที่ α -1,4 ในลักษณะตัดภายในสายโพลิเมอร์อย่างอิสระ (endosplitting amylase) ได้ผลผลิตเป็นกลูแคน (glucan) และลิมิตเดกซ์ตริน (limit dextrin) ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และยังคงมีโครงแบบ (configuration) เดิมคือแบบอัลฟา

2.3.3.2 เบตาอะมัยเลส (β - amylase)

มีชื่อเรียกตามระบบว่า α -1,4-glucan maltohydrolase, (EC 3.2.1.2) ซึ่งพบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวบาร์เลย์ในลักษณะกำลังงอกเป็นข้าวมอลท์ ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ถั่วเหลือง และมันเทศ และมักพบร่วมกับอัลฟาอะมัยเลส มีมวลโมเลกุล 152,000 (กรณีจากมันเทศ) ซึ่งโดยทั่วไปจะมีค่าสูงกว่าอัลฟาอะมัยเลส มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานที่ 5.6 จากการพิจารณาจาก pH activity profile มีลักษณะแบบรูประฆังคว่ำ ที่มีหมู่ที่แตกอิออนได้ที่บริเวณเร่งอยู่ 2 หมู่ คือ ที่ pK_1 = 2.5-3.5 และ pK_2 = 8.0-8.5 นอกจากนี้มีสารพวกซัลไฟดริล (sulfhydryl reagents) เป็นตัวยับยั้ง หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือมีหมู่ซัลไฟดริลอยู่ในบริเวณเร่ง ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเบตาอะมัยเลสจะเจาะจงต่อพันธะไกลโคซิดิกของแป้งที่ α - 1,4 ในลักษณะการตัดสายโพลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์

เข้าสู่ภายในสายไปทีละ 1 หน่วย ของมอลโตส หรือทีละ 2 หน่วยของกลูโคส และจะหยุดปฏิกิริยาที่พันธะไกลโคซิดิกที่ α -1,6 ดังนั้นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาย่อยสลายแป้งหรือไกลโคเจนจะเป็นกลูแคน ลิมิตเดกซ์ตริน และส่วนใหญ่เป็นมอลโตสที่มีโครงสร้างที่ต่างไปจากเดิม คือได้โครงแบบเบตา (β - configuration)

2.3.3.3 แกมมาอะมัยเลส (ɣ - amylase)

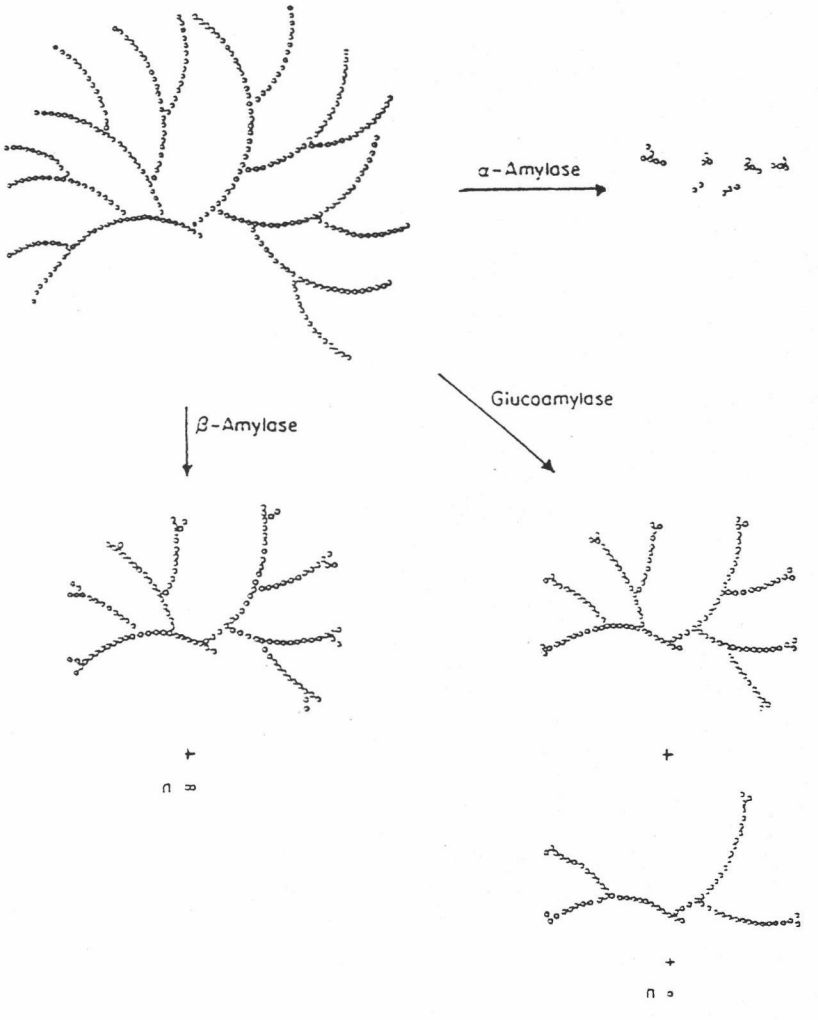
มีชื่อเรียกตามระบบว่า α -1,4-glucan glucohydrolase, (EC 3.2.1.3) เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานที่ pH 4.0-4.4 และมีหมู่ไวปฏิกิริยา 2 หมู่คือ ที่ pK_1 = 2.9 และ pK_2 = 5.90 รวมทั้งมี ΔH_1° = 0, ΔH_2° = -0.8 kcal/moles จากค่า pK และ ΔH° ที่ปรากฏนี้ คาดว่าน่าจะมีหมู่ไวปฏิกิริยาทั้ง 2 หมู่ เป็นหมู่คาร์บอกซิลในลักษณะที่หมู่ที่ 1 เป็น COO^- (เกลือ) และหมู่ที่ 2 เป็น COOH (กรด)

ลักษณะที่สำคัญของปฏิกิริยาการย่อยสลายแป้งก็คือ สามารถย่อยสลายได้หลายพันธะ ไม่ว่าจะเป็นพันธะไกลโคซิดิกที่เป็น α -1,4, α -1,6 และ α -1,3 แต่ช้ากว่า α -1,4 การตัดสายโพลิเมอร์จะเหมือนกับเบตาอะมัยเลส แต่ตัดปลายสายเข้าไปทีละ 1 หน่วย ของกลูโคส ดังนั้นผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคสที่มีโครงแบบต่างไปจากเดิม คือได้โครงแบบเบตา หรือ β -D-glucose และส่วนของกลูแคน และลิมิตเดกซ์ตริน

2.4 เอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ในทางการค้า

เอนไซม์ส่วนใหญ่ที่ใช้กับอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ในทางการค้า มักจะอยู่ในกลุ่มของเพคติเนส ซึ่งเพคติเนสที่ใช้กันส่วนใหญ่จะประกอบด้วยเพคติเนสทั้ง 3 ชนิด คือ Pectin methylesterase, Polygalacturonase, Pectate lyases ที่ผลิตจากเชื้อ

Aspergillus niger เพคติเนสที่ใช้ในทางการค้ามักประกอบด้วยเอนไซม์ชนิดอื่นด้วย เช่น cellulases, xylanases, arabanases, galactanases, glycosidases, proteases, esterases และ oxidoreductases เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ การผลิตเพคติเนสทางการค้าจะมี pectinesterase (PE), polygalacturonases (PG) และ pectate lyases ในปริมาณที่แตกต่างกัน (Rombouts และ Pilnik, 1978)



รูปที่ 2.14 ผลผลิตการย่อยสลายแป้งด้วยอะมัยเลสทั้ง 3 ชนิด

โดย PE จะทำหน้าที่ตัดพันธะเอสเธอร์ และ PG จะทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ให้เพคตินมีโมเลกุลสั้นลง หรืออาจสลายพันธะ glycosidic โดยตรงด้วยวิธี elimination ก็ได้

(Rombouts, และ Pilnik, 1979) เอนไซม์ทางการค้าบางชนิดก็ประกอบด้วยเอนไซม์หลักเพียงชนิดเดียวเช่น Rohament P ประกอบด้วย PG อย่างเดียว เป็นต้น Githaite และ Karuri (1991) ได้กล่าวว่า การเตรียมเอนไซม์ที่มีปริมาณ PE สูงร่วมกับ PG, PL และ PML จะทำให้ความหนืดของน้ำผลไม้ลดลงอย่างรวดเร็วและทำให้น้ำผลไม้ใส ส่วนเอนไซม์ที่มีปริมาณ PG, PL และ PML แต่มี PE ในปริมาณน้อยหรือไม่มีเลย จะทำให้น้ำผลไม้มีลักษณะข้นหนืดและมีความขุ่นที่เสถียร ซึ่งจะเป็นเอนไซม์ประเภทที่ทำให้เนื้อผลไม้นิ่ม (macerating enzyme) ตัวอย่างรายชื่อผู้ผลิตเอนไซม์ทางการค้าที่สำคัญและการใช้งานของเอนไซม์แต่ละชนิดได้แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างเอนไซม์ทางการค้าที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้

บริษัทผู้ผลิต	ชื่อทางการค้า	การใช้งาน
Miles Laboratories, Elkhart, Indiana	Spark-L และClarex-L	ทำให้น้ำผลไม้ใส
Novo Ferment (Switzerland) Ltd.	Pectinex AP-18	ทำให้แอปเปิ้ลและน้ำลูกแพร์ใส ลดการเกิด haze เนื่องจาก araban ในการทำให้น้ำผลไม้เข้มข้น
	Pectinex Ultra SP-L	ใช้ในการการสกัดน้ำผลไม้และทำให้เนื้อเยื่อผักและผลไม้นิ่มขึ้น

บริษัทผู้ผลิต	ชื่อทางการค้า	การใช้งาน
	Ultrazym AP-18	ใช้ในการสกัดน้ำผลไม้ และทำให้น้ำผลไม้ใส
	Pectinex AR	ลดการเกิด haze เนื่องจาก araban ในการทำน้ำผลไม้เข้มข้น
	Celluclast 1.5 L	ลดความหนืดของน้ำผลไม้และเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้
	Amylase AG 200/300 L	ทำให้น้ำผลไม้ใสและป้องกันการเกิด haze หลังจากการทำน้ำผลไม้เข้มข้น
Rohm G mb H Darmstadt, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมันนี	Rohapect D5 L	ลดความหนืดของน้ำผลไม้, สกัดน้ำผลไม้และทำให้น้ำผลไม้ใส กำจัดเพคตินในน้ำผลไม้
	Rohapect TF	ทำให้เนื้อผลไม้นิ่มขึ้น และลดความหนืดของน้ำผลไม้

บริษัทผู้ผลิต	ชื่อทางการค้า	การใช้งาน
	Rohament P	สกัดน้ำผลไม้และทำให้น้ำผลไม้ใส และกำจัด pectin ในน้ำผลไม้ ทำให้เนื้อเยื่อผักและผลไม้นิ่มขึ้น
	Rohalase M3	ใช้ในการย่อยสลายแป้งในน้ำผลไม้ เพื่อใช้ในการผลิตน้ำผลไม้เข้มข้น และการทำให้น้ำผลไม้ใส
Swiss Ferment Co., Ltd. Basel, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์	Pectinex products	สกัดน้ำผลไม้, ทำให้น้ำผลไม้ใส

2.5 การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้

Rombouts และ Pilnik (1978) ได้สรุปถึงการใช้เอนไซม์ในเทคโนโลยีการผลิตน้ำผลไม้ ซึ่งได้มีการนำเอนไซม์หลายชนิดมาใช้ในวัตถุประสงค์ต่างๆกัน กลุ่มเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้คือเอนไซม์ย่อยสลายเพคติน (pectolytic enzymes) ซึ่งได้นำมาใช้ในวัตถุประสงค์หลายอย่าง เช่น การทำให้น้ำแอปเปิ้ลใสโดยเอนไซม์จะไปลดปริมาณเพคตินและสารอนุพันธ์เพคติน ซึ่งเป็นตัวก่อให้เกิดความขุ่นภายหลังจากการทำให้น้ำแอปเปิ้ลเข้มข้น

การใช้เอนไซม์กับผลไม้ชนิดเนื้อนิ่ม (soft fruit) เช่น องุ่น ส้ม และแอปเปิ้ล เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ให้มากขึ้น การใช้เอนไซม์กับผลมะกอก ปาล์ม และเนื้อมะพร้าว เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำมัน การทำให้เนื้อผลไม้นิ่ม (maceration) เพื่อนำมาผลิตเนคทาร์และอาหารเด็กอ่อน การทำให้ผลไม้เป็นของเหลว (liquefaction) เพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์มีปริมาณของแข็งละลายน้ำ (soluble solid) สูงขึ้น นอกจากการใช้เพคติเนสในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้แล้ว ก็มีการนำเอนไซม์ชนิดอื่นมาใช้ในการผลิตด้วย เช่น อะมัยเลสจะนำมาใช้ในการกำจัดและป้องกันการเกิดความขุ่นเนื่องจากแป้ง (starch haze) ในน้ำแอปเปิ้ลเข้มข้น กลูโคสออกซิเดส ใช้ในอุตสาหกรรมไวน์ เบียร์ น้ำผลไม้ เพื่อกำจัดออกซิเจนที่มากเกินพอ โปรติเอส จะป้องกันการเกิดความขุ่นขณะแช่เย็น (chill haze) ในเบียร์และ must นารินจิเนส จะเติมลงไปเพื่อลดความขมในผลิตภัณฑ์จากเกรฟฟรุตและน้ำส้ม ลิโมเนสจะใช้ลดปริมาณลิโมนอยด์ที่ทำให้เกิดความขมในผลิตภัณฑ์เกรฟฟรุตและส้มเช่นเดียวกัน จะเห็นว่าเอนไซม์จะมีประโยชน์อย่างมากต่ออุตสาหกรรมการผลิตน้ำผลไม้ ซึ่งเราต้องทำการคัดเลือกชนิดของเอนไซม์ให้ถูกต้องตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ

ผลไม้ประเภท pulpy fruit ซึ่งมีเนื้อมาก น้ำน้อย และมีความหนืดสูง เช่น กล้วย มะม่วง ขนุน เมื่อนำมาสกัดน้ำผลไม้ด้วยวิธีเชิงกลหรือใช้แรงกดอัด จะไม่สามารถสกัดน้ำผลไม้ออกมาได้หรือสกัดได้ในปริมาณต่ำและต้องใช้ค่าใช้จ่ายและแรงงานสูง เนื่องมาจากองค์ประกอบทางเคมีพวกสารโพลิแซคคาไรด์ต่างๆที่พบในโครงสร้างของเนื้อเยื่อผลไม้ จะเป็นอุปสรรคสำคัญในการสกัดน้ำผลไม้ กล่าวคือ ในส่วนของเนื้อผลไม้โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำผลไม้ (juice) ซึ่งเป็นส่วนของน้ำผลไม้ที่เป็นอิสระจากโครงสร้างของเซลล์ในระหว่างการบีบหรือคั้น ส่วนที่สองคือส่วนของชั้นกลาง (intermediary layer) ซึ่งเป็นชั้นที่มีลักษณะคล้ายเจล มีความหนืด ซึ่งเป็นผลมาจากโปรโตเพคตินที่มีเป็นจำนวนมากจะอุ้มน้ำไว้ภายในโครงสร้างตาข่าย (protopectinic network) ทำให้การบีบคั้นน้ำออกมาได้ยากและได้ผลผลิตในปริมาณน้อย ส่วนสุดท้ายคือส่วนของแข็ง (solid) ไม่ละลายน้ำ จะเป็นส่วนที่เป็นโครงสร้างแข็งของผลไม้ สารประกอบเหล่านี้ได้แก่ เซลลูโลส เส้นใย และลิกนิน เป็นต้น รวมทั้งสาร

ประกอบของกลิ่นรสต่างๆ ซึ่งอยู่ในส่วนของโครงสร้างแข็ง

การใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำผลไม้ โดยเฉพาะผลไม้ประเภท pulpy fruit พบว่าเอนไซม์จะช่วยทำให้ปริมาณน้ำผลไม้ที่ได้เพิ่มมากขึ้น ช่วยลดความหนืดของน้ำผลไม้ อีกทั้งยังทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีสี กลิ่น และรสชาติ รวมทั้งสารอาหารต่างๆเหมือนกับน้ำผลไม้สดที่ไม่ได้ผ่านการใช้เอนไซม์ เอนไซม์จะมีผลทำให้ปริมาณน้ำผลไม้เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากเอนไซม์จะไปช่วยย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ที่เป็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อผลไม้ที่คอยขัดขวางการสกัดน้ำผลไม้ให้มีโมเลกุลเล็กลง โดยเอนไซม์จะลดปริมาณของโปรโตเพคตินที่ไม่ละลาย ซึ่งจะไปมีส่วนในการทำลายโครงสร้างเจล และปลดปล่อยน้ำผลไม้ที่อยู่ภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ได้ เมื่อเอนไซม์ย่อยสลายอย่างสมบูรณ์แล้วจะทำให้ความหนืดลดลง และจะเพิ่มสมบัติการซึมผ่านของของแข็ง เมื่อเอนไซม์ย่อยสลายส่วนของของแข็งแล้วจะปลดปล่อยองค์ประกอบที่สำคัญ เช่นสารให้กลิ่นรส เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะสูง จึงไม่ทำลายส่วนของกลิ่นรสของผลไม้ซึ่งอยู่ในส่วนที่สกัดได้ ดังนั้นของเหลวที่ได้ออกมาจึงมีกลิ่นและรสธรรมชาติของผลไม้นั้น (Novo, Enzyme Information)

ตัวอย่างการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ในการสกัดน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ อาทิเช่น กล้วย มะม่วง ขนุน มะละกอ ได้มีรายงานไว้พอจะยกมากล่าวไว้พอสังเขปเพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบและชี้นำสำหรับงานวิจัยนี้ดังต่อไปนี้

Sreekantiah, Jaleel และ Ramachandra (1968) ได้ทำการทดลองสกัดน้ำฝรั่งจากฝรั่งสุกโดยใช้เพคติเนส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่จะให้ปริมาณผลผลิตมากที่สุดจะต้องใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.5 ต่อน้ำหนักเนื้อฝรั่ง และให้เอนไซม์ทำงานที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ในสภาวะนี้จะสามารถสกัดได้น้ำฝรั่งร้อยละ 85 ซึ่งการสกัดโดยใช้เอนไซม์นี้จะยังคงรักษากลิ่นรสเดิมของน้ำฝรั่งไว้ได้

Sreekantiah และคณะ (1971) ได้ทำการทดลองใช้เพคติเนสเข้มข้น (PEC) ที่สกัดจาก Aspergillus niger ในการช่วยสกัดน้ำผลไม้ประเภทเนื้อนิ่ม พบว่าเมื่อใช้ PEC ช่วยในการสกัดน้ำจากกล้วย องุ่น แอปเปิ้ล มะม่วง มะละกอ และขนุน จะได้น้ำออกมาร้อยละ 60-87, 85-91, 80, 92, 85 และ 78 โดยน้ำหนักเทียบกับน้ำหนักของเนื้อผลไม้สดตามลำดับ ซึ่งในผลไม้พวกกล้วย แอปเปิ้ล มะม่วง และขนุน เมื่อไม่ใช้เอนไซม์จะไม่สามารถได้น้ำผลไม้ออกมา แต่ในองุ่นเอนไซม์ช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่ได้ และช่วยทำให้น้ำผลไม้ผ่านการกรองและการทำให้ใสได้ง่ายขึ้น

การนำเอนไซม์มาใช้ในการสกัดน้ำกล้วย ซึ่งเป็นผลไม้ประเภท pulpy fruit โดยจากการศึกษาของ Sreekantiah และคณะ (1971) พบว่า การใช้เพคติเนสเข้มข้น (PEC) สกัดจากจุลินทรีย์ชนิด Aspergillus niger ปริมาณร้อยละ 0.5-0.6 เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส แล้วนำมาสกัดโดยใช้แรงกดผ่านผ้ากรองละเอียด พบว่าจะได้ปริมาณน้ำผลไม้ประมาณร้อยละ 60 ของน้ำหนักกล้วยทั้งผล

การทดลองสกัดน้ำกล้วยโดยใช้เพคติเนสเข้มข้น (PEC) โดย Jaleel และคณะ (1978) พบว่า เมื่อนำกล้วยสุกมาทำการล้างปอกเปลือก และนำเนื้อมาบดปั่นใน Waring Blender แล้วนำมายับยั้งเอนไซม์และลดปริมาณจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีจนถึงอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำมาสกัดโดยใช้ PEC พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จะได้ปริมาณน้ำกล้วยถึงร้อยละ 90 โดยน้ำหนัก และยังพบว่าการให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ก่อนการสกัดด้วยเอนไซม์จะช่วยให้น้ำกล้วยกรองได้ง่ายขึ้นและจะได้น้ำกล้วยที่ใสและมีสีที่ดีขึ้น

Rombouts และ Pilnik (1978) รายงานว่า บริษัท Rohm GmbH, Darmstadt ได้ทำการพัฒนาการผลิตน้ำผลไม้ (fruit nectar) และผักตีปน (vegetable puree)

สำหรับอาหารทารกโดยการใช้เอนไซม์ Rohament P ในการทำให้เนื้อเยื่อผักและผลไม้พวก แอปเปิ้ล แอปปริคอต มันฝรั่ง แครอท มะเขือเทศ นิ่ม น้ำผลไม้ที่ได้จะมีความข้นที่เสถียรใน Rohament P จะประกอบด้วยเอนไซม์หลักคือ endopolygalacturonase เซลลูเลส โปรติเอส และมีเพคตินไลเอส กับ เพคตินเอสเทอร์เรส ในปริมาณต่ำ ดังนั้นเอนไซม์นี้จะเป็นสาเหตุให้เนื้อเยื่อผักและผลไม้กระจายตัว โดยสืบเนื่องจากเกิดการย่อยสลายเพคตินที่เนื้อเยื่อชั้นกลาง แต่เพคตินที่ผนังเซลล์ซึ่งมีระดับการ esterify สูง ดังนั้นจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อผักและผลไม้นิ่ม

Voragen, Heutink และ Pilnik (1980) ศึกษาการทำงานของเพคติเนสบริสุทธิ์ ได้แก่ endo-polygalacturonase (PG), endo-pectin lyase (PL) และ pectinesterase (PE) และเซลลูเลสบริสุทธิ์ชนิด C-1 ที่มีต่อการย่อยสลายผนังเซลล์ของแอปเปิ้ล ซึ่งในการทดลองนี้เตรียมตัวอย่างเนื้อแอปเปิ้ลเป็น 2 ลักษณะคือ ตัวอย่างแรกประกอบด้วยส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในน้ำเรียกว่า WIS (water-insoluble solid) ซึ่งเตรียมจากเนื้อเยื่อผนังเซลล์ในส่วน cortical ซึ่งผนังเซลล์ส่วนนี้ประกอบด้วยเพคตินที่มีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลที่ถูกแทนที่ด้วยแอลกอฮอล์ต่ำ (low-esterified pectin) ตัวอย่างที่สองประกอบด้วยส่วนของของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ เรียกว่า AIS (alcohol-insoluble solid) เตรียมจากเนื้อเยื่อผนังเซลล์ส่วน cortical ที่ผ่านการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งเนื้อเยื่อนี้ประกอบด้วยเพคตินที่มีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลที่ถูกแทนที่ด้วยแอลกอฮอล์สูง (highly esterified pectin) นำผลผลิตจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugar) โดยวิธี gas-chromatography และวิเคราะห์หากรดกาแลคทูโรนิกโดยวิธีการ colorimetry จากการทดลองพบว่า เพคตินเอสเธอเรส (PE) ตามลำพังไม่สามารถปลดปล่อยน้ำตาลออกมาจากเพคตินได้ แต่เมื่อใช้ร่วมกับโพลิกาแลคทูโรเนส (PG) พบว่า สารประกอบที่เป็นกาแลคทูโรเนน ใน AIS ทั้งหมดจะถูกละลายออกมา สำหรับเซลลูเลส C-1 จะจำเพาะต่อเซลลูโลส และปลดปล่อยเซลโลไบโอสออกมา นอกจากนี้พบว่าเมื่อใช้กาแลคทูโรเนสร่วมกับเซลลูเลส C-1 ย่อยสลาย WIS พบว่ามีการปลดปล่อยโพลิแซคคาไรด์ที่ผนังเซลล์

ในส่วนของ WIS ออกมาร้อยละ 63 และเมื่อใช้เซลลูเลส C-1 ร่วมกับเพคตินไลเอส จะปลดปล่อยโพลิแซคคาไรด์ที่ผนังเซลล์ในส่วน AIS ออกมาร้อยละ 77.5 และการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ เซลลูเลส C-1 โพลิกาแลคทูโรเนส และเพคตินเอสเธอเรส จะปลดปล่อยโพลิแซคคาไรด์ที่ผนังเซลล์ในส่วนของ AIS ออกมาถึงร้อยละ 90 ซึ่งจากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า เซลลูเลส C-1 มีบทบาทสำคัญในการเสริมการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายเพคตินในผนังเซลล์แอปเปิ้ล

Viquez, Lastreto และ Cooke (1981) ได้ทำการสกัดน้ำกล้วยโดยใช้กล้วยที่มีความสุก 3 ระดับ คือ กล้วยที่มีความสุกระดับที่ 1 จะมีสีเหลืองทั้งผลไม่มีจุดด่างดำ กล้วยระดับความสุกที่ 2 จะมีสีเหลืองทั่วไปและมีจุดสีน้ำตาลเล็กน้อย และกล้วยระดับความสุกที่ 3 จะมีสีเหลืองและมีจุดสีน้ำตาลดำปนอยู่มาก จากนั้นนำกล้วยทั้ง 3 ระดับ มาทำการสกัดโดยใช้เอนไซม์เพคติเนสทางการค้า 6 ชนิด ซึ่งเป็นเอนไซม์ผสมของเอนไซม์ย่อยสลายเพคตินและเซลลูโลสคือ Pectinol และ Pectinol D (บริษัท Rohm,61-Darmstadt, W.Germany), Ultrazym 100, Ultrazym 100 Special (บริษัท Ciba Geigy, Switzerland) และ Claryfine Super (บริษัท Sturge Chemicals, Birmingham) ซึ่งจะพบว่า กล้วยมีลักษณะของเปลือกมีสีเหลืองสม่ำเสมอทั่วทั้งผลและมีรอยด่างสีน้ำตาลเป็นแถบกว้าง จะให้ผลผลิตของน้ำกล้วยมากที่สุด และเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการใช้สกัดน้ำกล้วย คือ Ultrazyme 100 special และ Clarifine Super โดยมีภาวะที่เหมาะสมคือที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.01-0.025 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส pH 4.4-4.6 จะสกัดได้ผลผลิตน้ำกล้วยในปริมาณสูงที่สุด คือประมาณร้อยละ 66-68 และปริมาณน้ำกล้วยที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความสุกของกล้วยเพิ่มขึ้น

Kilara (1982) พบว่าเนื้อเยื่อผักและผลไม้จะสามารถนำมาสกัดให้เป็นของเหลว (liquefaction) โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพคติเนส ร่วมกันในการย่อยสลายเซลลูโลสและเพคตินในเซลล์ของผักและผลไม้ตามลำดับ จากการประยุกต์ใช้เอนไซม์นี้มาใช้กับเนื้อ

แอปเปิ้ล แอปปริคอต หรือแครอท พบว่าเนื้อเยื่อผลไม้จะนิ่มและผนังเซลล์จะสลายมาก จากการใช้เซลลูเลสและเพคติเนสในการทดลองลดความหนืดในน้ำแอปเปิ้ล พบว่า การใช้เพคติเนสร้อยละ 0.01 และเซลลูเลสร้อยละ 0.1 ร่วมกันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะสามารถช่วยลดความหนืดในเนื้อแอปเปิ้ลได้มากกว่า การใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพคติเนสเพียงชนิดเดียว ซึ่งการใช้เอนไซม์ร่วมกันจะสามารถลดความหนืดได้มากกว่าร้อยละ 80

Sreenath, Frey และ Radola (1984) ศึกษาการย่อยสลายแครอทโดยใช้เซลลูเลสจาก Trichoderma reesei และใช้เพคติเนส (Rohament P) ซึ่งผลิตโดยบริษัท Rohm Gmbh พบว่า เมื่ออุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเป็น 50 องศาเซลเซียส และใช้เวลา 30 นาที ผลของการใช้เอนไซม์แต่ละชนิดตามลำพัง สามารถย่อยสลายเนื้อเยื่อของแครอทได้ประมาณร้อยละ 60 ในขณะที่เมื่อใช้เอนไซม์ทั้งสองร่วมกันทำให้การย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 80 นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้เอนไซม์ทั้งสองร่วมกันในลักษณะให้ทำงานพร้อมกันอย่างต่อเนื่อง (simultaneous) จะมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ร่วมกันในลักษณะเรียงกันตามลำดับก่อนหลัง (sequence)

Noach (1986) ศึกษาถึงผลของสารประกอบเพคตินต่อการทำงานของเซลลูเลสและเฮมิเซลลูโลส ตามลำดับ โดยทดลองกับเนื้อเยื่อส้มโอ พบว่า การใช้เพคติเนสและเซลลูเลสร่วมกัน จะทำให้น้ำตาลไซโลสและกลูโคสที่เนื้อเยื่อของส้มโอลดลงมากกว่ากรณีใช้เอนไซม์แต่ละชนิดตามลำพัง ผลของการทำงานเสริมกันนี้แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างของผนังเซลล์ ที่มีลักษณะของการบดบังเซลลูโลสโดยสารประกอบเพคติน การทำลายการบดบังของสารประกอบเพคตินโดยใช้เพคติเนส จะทำให้การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการทำลายการบดบังโดยการสกัดสารประกอบเพคตินออก โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ จะทำให้มีเซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสได้มากขึ้น จึงสรุปได้ว่า สารประกอบเพคตินขัดขวางการทำปฏิกิริยาของเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส ในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสตามลำดับ

Gous, Van Wyk และ McGill (1987) ได้ทำการศึกษาการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการผลิตน้ำกล้วย โดยใช้เอนไซม์ในกลุ่มเพคติเนส อะมัยเลส และเซลลูเลส (ของบริษัท NOVO (Denmark) ได้แก่ Pectinex Ultra SP-L, Ban 240 L, Ceroflo 200 L, Neutrase 0.5 L, Celluclast 1.5 L, Hemicellulase โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 200 ppm. ยกเว้น Celluclast 1.5 L จะใช้ความเข้มข้น 50 ppm. ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้กล้วยที่ยังไม่สุกเต็มที่ที่มีระดับความสุกเป็น 4 (มาตรฐานเทียบสีของบริษัท United Brands) คือมีสีของเปลือกกล้วยเป็นสีเหลืองน้อยกว่าสีเขียว โดยทดลองใช้เอนไซม์ชนิดเดียวหรือการใช้เอนไซม์ทำงานร่วมกัน แล้ววัดความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่ได้ พบว่าการใช้เอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L ร่วมกับ Ceroflo 200 L จะมีผลต่อการลดความหนืดของ puree ได้มากที่สุด คือร้อยละ 72.4

Sreekantiah, Nanjundaswamy และ Sreenath (1987) ได้ทำการทดลองใช้เซลลูเลสและเพคติเนส มาใช้ในการลดความหนืดของเนื้อมะม่วงบดพบว่า Ultrazym 100 สามารถลดความหนืดของเนื้อมะม่วงบดได้ถึงร้อยละ 82 โดยใช้เอนไซม์เข้มข้นร้อยละ 0.05 น้ำหนักต่อปริมาตร คือใช้เอนไซม์ 0.05 กรัม ต่อเนื้อมะม่วงบด 100 มิลลิลิตร ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งที่สภาวะนี้จะเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองนี้ และบ่มที่ระดับ pH ของเนื้อมะม่วงเพื่อรักษาคุณภาพของเนื้อเยื่อผลไม้ จากการใช้เอนไซม์เพคติเนสที่ผลิตจากเชื้อรา Asp. carbonarius และเซลลูเลสจากเชื้อ Asp. oryzae พบว่าจะให้ความหนืดลดลงน้อยกว่าการใช้เอนไซม์ทางการค้า นั่นคือเมื่อใช้ Ultrazym 100 จะมีประสิทธิภาพในการลดความหนืดของเนื้อมะม่วงได้รวดเร็วที่สุด และจะได้น้ำมะม่วง 21 กิโลกรัมจากเนื้อมะม่วง 30 กิโลกรัม ซึ่งโดยปกติถ้าไม่ใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัดจะไม่สามารถสกัดน้ำมะม่วงออกจากเนื้อมะม่วงได้เลย

Massiot, Thibault และ Rouau (1989) ศึกษาการย่อยสลายเส้นใยแครอทพันธุ์ Daucus carota โดยใช้เพคติเนส (SP 249) และเซลลูเลส (Celluclast) ซึ่งผลิต

โดยบริษัท Novo Industri A/S พบว่า การใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันจะทำให้การสลายของเส้นใยแบบเสริมกัน และทำให้โพลิแซคคาไรด์ละลายออกจากผนังเซลล์ร้อยละ 95 ซึ่งจากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการละลายของน้ำตาลและการวิเคราะห์โดยวิธี gel-permeation chromatography ของผลิตภัณฑ์ที่ละลายได้ พบว่า โพลิเมอร์ของเพคตินจะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เซลลูโลสจะถูกย่อยสลายไปเป็นเซลโลไบโอสและกลูโคส ในอัตราที่ช้ากว่า

Joshi, Chauhan และ Lal (1990) ได้ทำการทดลองใช้เพคติเนส (Pectinol) ในการสกัดน้ำผลไม้จากลูกพลับ ลูกพีช และแอปปริคอต พบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมร้อยละ 0.5 จะสามารถสกัดน้ำผลไม้ได้ประมาณร้อยละ 79.0, 56.0 และ 87.1 ตามลำดับ ซึ่งการใช้เอนไซม์นอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่ได้และช่วยลดความหนืดของเนื้อผลไม้แล้ว ยังพบว่าน้ำผลไม้ที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอนไซม์จะมีกลิ่นและรสชาติไม่แตกต่างจากน้ำผลไม้ที่ไม่ได้ผ่านการใช้เอนไซม์สกัด อีกทั้งยังพบว่าน้ำผลไม้ที่ผ่านการสกัดโดยใช้เอนไซม์จะได้รับการยอมรับเพิ่มขึ้น เนื่องจากเอนไซม์จะช่วยให้ความใสและสีของน้ำผลไม้ดีขึ้น

Sreenathe และ Santhanum (1992) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตของน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ได้แก่ แคนตาลูป แตงโม ขนุน มะละกอ และมะขาม โดยใช้เพคติเนส (Pectinex Ultra SP-L) หรือเซลลูเลส (Celluclast) ซึ่งผลิตโดยบริษัท Novo Industri A/S พบว่าเอนไซม์แต่ละชนิดสามารถเพิ่มผลผลิตของน้ำมะละกอ แคนตาลูป และแตงโม ได้เพียงเล็กน้อย คือประมาณร้อยละ 6-10 ในขณะที่จะเพิ่มผลผลิตของน้ำมะขามได้ร้อยละ 10-15 สำหรับขนุนพบว่าไม่สามารถสกัดน้ำออกมาได้เลย แม้ว่าความหนืดของเนื้อผลไม้จะลดลง ดังนั้นความสามารถของเพคติเนสหรือเซลลูเลสในการย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้ จึงขึ้นอยู่กับพันธุ์ของผลไม้ธรรมชาติของเนื้อผลไม้ องค์ประกอบ และระดับความสุกของเนื้อผลไม้นั้นๆ

อรุณี เพียรทวีรัชต์ และปราณี อ่านเปรื่อง (2536) ได้ทำการประยุกต์ใช้เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลส ทางการค้า (Pectinex Ultra SP-L, Celluclast 1.5 L

และ Ban 240 L ตามลำดับ จาก Novo Industri A/S) เพื่อช่วยในการสกัดน้ำกล้วยโดยใช้กล้วยที่มีความสุกระดับ 7-8 พบว่าการนำเซลลูเลสร้อยละ 0.06 ใช้ร่วมกับเพคติเนสร้อยละ 0.05 ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเนื้อกล้วยหอม โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การลดความหนืดของเนื้อกล้วยหอม ซึ่งภาวะที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ภายใต้ภาวะดังกล่าวสามารถสกัดน้ำกล้วยได้ผลผลิตประมาณร้อยละ 73 โดยน้ำหนัก (น้ำหนักกล้วยหอมทั้งหมด) สำหรับอะมัยเลสพบว่า ไม่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตของน้ำกล้วยหอม

จากฐานข้อมูลด้านต่างๆที่ได้ศึกษาโดยละเอียดตามที่กล่าวไว้ทั้งหมดนี้ ได้นำไปสู่งานวิจัยของการสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นโดยใช้เอนไซม์ ด้วยเป้าหมายสำคัญ 2 ประการ คือ การสร้างฐานข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวกับบทบาทของเอนไซม์ ต่อการผลิตสารแต่งกลิ่นรสทุเรียนประการหนึ่ง และการเชื่อมโยงการค้นพบทางวิชาการนี้กับอุตสาหกรรมผลิตและใช้สารแต่งกลิ่นรสทุเรียนประการหนึ่ง ดังรายละเอียดของงานวิจัยซึ่งจะได้นำเสนอเป็นลำดับต่อไป

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้น และระยะเวลาในการสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นโดยการใช้เอนไซม์ร่วมกันสามชนิด ภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องและแบบตามลำดับ จากงานวิจัยต่างๆที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นจะพบว่าการใช้เอนไซม์ร่วมกันภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องในการสกัดน้ำผลไม้ จะมีผลทำให้ปริมาณผลผลิตของน้ำผลไม้เพิ่มสูงมากขึ้น และทำให้ผลไม้มีความหนืดลดลง และน้ำผลไม้ที่ผ่านการสกัดโดยใช้เอนไซม์นี้จะยังคงมีกลิ่นรสเหมือนกับน้ำผลไม้ที่ไม่ได้ผ่านการสกัดโดยใช้เอนไซม์ ดังนั้นจากการทดลองนี้จึงน่าที่จะสามารถสกัดน้ำทุเรียนออกมาได้ ซึ่งการสกัดโดยวิธีทางกลจะไม่สามารถสกัดน้ำทุเรียนออกมาได้เลย และน้ำทุเรียนที่สกัดได้นี้ก็ยังคงมีกลิ่นรสของทุเรียนธรรมชาติอยู่ และในงานวิจัยนี้ยังได้ทำการศึกษาการสกัดภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบตามลำดับ ซึ่งมีจุดมุ่งหมายเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตให้สูงมากขึ้น เนื่องจากการสกัดภายใต้ภาวะปฏิกิริยาตามลำดับนี้ เอนไซม์แต่ละชนิดจะสามารถทำงานได้อย่างเต็มที่โดยไม่มีการบดบังของสับสเตรทชนิดอื่น และเอนไซม์แต่ละชนิดสามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์แต่ละตัว