หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

1. แตงไทย

แตงไทยเป็นพืชในตระกูล Cucurbitaceae จำพวกเมลอนที่มีชื่อเรียกในภาษาอังกฤษว่า snake melon และมีชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ Cucumis melo Linn.var acidulus ซึ่งพืชในตระกูลเมลอนจะมีลักษณะทางพันธุศาสตร์ และการจำแนกพันธุ์ (นิรมิตร กิจรุ่งเรือง และคณะ, 2528) ดังนี้คือ

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และการจำแนกพันธุ์

แตงในสกุล Cucumis melo เชื่อกันว่ามีถิ่นกำเนิดอยู่ทางแอฟริกา เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 80-130 วัน มีจำนวนโครโมโซม 2n=24 ระบบรากเป็นแบบราก ฝอยแผ่กระจายอยู่ใกล้ผิวดิน ลำต้นเป็นเถาเลื้อยมีขนปกคลุมไปทั่ว มีหนวด (unbranched tendril) หรือมือจับ มีก้านใบยาว ใบมีลักษณะเป็นแผ่นค่อนข้างกลมรูปไข่หรือรูปหัวใจ ขอบใบมีลักษณะเป็นฟันเลื่อยหรือหยักเล็กน้อยมีแฉก 5-7 แฉก ดอกมีสีเหลืองอาจเกิดเป็นกลุ่มหรือดอกเดี่ยว มีทั้งดอกสมบูรณ์เพศและดอกไม่สมบูรณ์เพศ มีการออกดอกแบบ monoecious ซึ่งมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่ในต้นเดียวกัน หรือแบบ andromonoecious มีทั้งดอกตัวผู้และดอกสมบูรณ์เพศอยู่ในต้นเดียวกัน ผลมีรูปร่างกลมหรือกลมรี เปลือกหนาหรือขรุขระ เมื่อยังอ่อนมีสีผิวเขียวหรือขาว และเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน เหลืองหรือเขียวเข้มเมื่อแก่ เนื้อผลสุกสีขาว สีเขียวอ่อน หรือสีเหลืองส้ม ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของพันธุ์

การจำแนกพันธุ์แตงในสกุล Cucumis melo จะแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้คือ

1.1.1. แคนตาลูป (cantaloupe) มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ คือ Cucumis melo Linn.var. cantaloupensis ซึ่งปลูกกันมากในทวีปยุโรป การออกดอกเป็นแบบ monoecious ลักษณะผลกลมหรือรีขนาดค่อนข้างใหญ่ เปลือกผลหนาขรุขระสีน้ำตาลฟางข้าว มีลายตาข่าย

ห่าง (sprase net appearance) และมีร่องเป็นทางตามความยาวผลเด่นชัด (distinct vein tracts) เนื้อแตงเป็นสีส้ม ไม่เละ มีกลิ่นหอม

1.1.2. มัสค์เมลอน (muskmelon) มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ คือ Cucumis melo Linn.var. recticulatus มีปลูกกันมากในสหรัฐอเมริกา และอเมริกากลาง การออกดอกเป็นแบบ andromonoecious มีลักษณะผลกลม หรือรีขนาดเล็กกว่าแคนตาลูป เปลือกผลหนาสีฟางข้าว และมีลายตาข่ายถี่มากจนดูเรียบเป็นผืนเดียวกันทั่วทั้งผล ไม่มีร่องตามความยาวของผล เนื้อแตงสีส้มสด รสหวานกลิ่นหอม

1.1.3. ฮันนีดิว (honny dew) มีชื่อเรียกทางพฤกษศาสตร์ คือ Cucumis melo Linn. var. inodorus มีปลูกกันมากทั้งในสหรัฐอเมริกา และทวีปยุโรป การออกดอกเป็นแบบ andromonoecious มีลักษณะผลกลมหรือกลมรี ขนาดเท่าๆกับมัสค์เมลอนหรือใหญ่กว่าเล็กน้อย เปลือกผลหนาแข็งสีเขียวหรือขาว เรียบไม่มีลายตาข่าย และไม่มีร่องตามความยาวผลเนื้อแตงส่วนใหญ่สีเขียวจาง รสหวาน เมื่อสุกมีกลิ่นหอม

1.1.4. แตงไทย (snake melon) มีปลูกกันมากในทวีปเอเชีย เช่น จีน อินเดีย ญี่ปุ่น และไทย การออกดอกเป็นแบบ monoecious ผลส่วนใหญ่มีลักษณะยาวสีขาว เหลือง เขียว เขียวคล้ำ ส้ม หรือลายสลับของสีเหล่านี้ ไม่มีลายตาข่ายและไม่มีร่องตามความยาวผล เนื้อแตงสีเขียวจาง สีขาว สีส้มจาง และสีเขียว เนื้อผลเละ รสออกเปรี้ยวถึงจืด ไม่หวาน มีกลิ่นหอม

แตงไทยแพร่เข้ามาในประเทศไทยนานแค่ไหนไม่มีหลักฐานระบุแน่ชัด แต่ก็นานมาก จนทำให้แตงกลุ่มนี้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่อากาศร้อนชื้น แปลงปลูกซึ่งเต็มไปด้วยเชื้อโรคในดิน และแมลงศัตรูชนิดต่าง ๆ อย่างในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี และยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคคนไทย โดยทั่วไปถึงแม้ว่าคุณภาพของเนื้อ และผลของแคนตาลูปจะดีกว่าของแตงไทยมากเช่น รสหอมหวานกว่า เปลือกผลแข็งแรงทนทานต่อการขนส่งได้ดีกว่าก็ตามแต่ แคนตาลูปก็ยังไม่เป็นที่นิยมในหมู่คนไทย เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีราคาแพง เพราะต้นทุนการผลิตสูง ทำให้ต้องขายผลผลิตในราคาสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับแตงไทย

เนื่องจากแตงไทยไม่ใช่พืชเศรษฐกิจของประเทศเกษตรกรปลูกกันอย่างไม่มีแบบแผนและหลักการที่แน่นอน ดังนั้นจึงไม่มีการจดบันทึกแหล่งปลูก และสถิติการเพาะปลูกไว้อย่างเป็นทางการแต่จะมีการปลูกกันมากทางจังหวัดนครปฐม ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา และนนทบุรีเป็นต้น มีผลผลิตออกสู่ตลาดตลอดทั้งปี และเนื่องจากการที่แตงไทยไม่ใช่พืชเศรษฐกิจนี้เองงานค้นคว้าเกี่ยวกับแตงไทยจึงไม่ค่อยมี ดังนั้นในการสืบค้นสาระสนเทศจึงใช้แตงในสกุลเดียวกันแทน เช่น แคนตาลูป มัสค์เมลอน หรือฮันนีดิวเป็นต้น เนื่องจากเป็นแตงในสกุลเดียวกันจึงน่าที่จะมีองค์ประกอบทางเคมี และการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่ใกล้เคียงกันด้วย

1.2 <u>องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางอาหารของเมลอน</u>

พืชในตระกูลเมลอนจะรับประทานในส่วนที่เป็นเนื้อ (pulp) หรือ mesocarp และส่วนที่รับประทานไม่ได้ คือ เมล็ด เปลือก และเนื้อตรงบริเวณที่ติดกับเมล็ด (seed cavity) ซึ่งปริมาณของส่วนที่กินได้จะแตกต่างกันไปตามแต่พันธุ์ และคุณค่าทางอาหารของเมลอนพันธุ์ต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.1

จากตารางที่ 2.1 แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบส่วนใหญ่ของเมลอนพันธุ์ต่างๆ ยังคงเป็นน้ำเหมือนๆ กัน แต่องค์ประกอบอื่นๆ อาจแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย เช่นแคนตาลูป และฮันนีดิว จะมีคาร์โบไฮเดรตมากกว่าแตงไทย ซึ่งปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่รายงานนี้ จะรวมถึงสารประกอบพวกเพคติน น้ำตาลและเซลลูโลสเป็นต้น สารต่างๆ เหล่านี้ล้วนเป็นองค์ประกอบที่สร้างความแข็งแรงให้กับ โครงสร้างเนื้อเยื่อของผลไม้ ดังนั้นผลของแคนตาลูป และฮันนีดิวจึงมีความแข็งแรงมากกว่าผลของแตงไทย และจากการรวบรวมข้อมูลจากรายงานต่าง ๆ พบว่าเมลอนจะมีเพคตินเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 0.16 - 0.38 และมีปริมาณเส้นใย (fibre) ประมาณร้อยละ 0.30 - 1.00 ซึ่งแสดงดังตารางที่ 2.2 นอกจากนี้ Ovoshchesushil' naya (1971) ยังได้รายงานปริมาณเซลลูโลส ที่เป็นองค์ประกอบของเมลอน ว่ามีอยู่ประมาณร้อยละ 0.21 - 0.30

แคนตาลูปนับเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินเอและซี ส่วนแตงไทยนั้นจะมีวิตามินอยู่น้อยกว่าแคนตาลูป แต่จะมีแร่ธาตุอยู่ค่อนข้างสูงกว่า ซึ่งสาเหตุที่แคนตาลูปมีวิตามินเอมากก็เนื่องมาจากปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในผลแคนตาลูป ส่วนแตงไทยนั้นเมื่อผลสุกมากขึ้นก็จะมีปริมาณวิตามินเอเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากมีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นนั่นเอง

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางอาหารของเมลอนพันธุ์ต่าง ๆ ต่อน้ำหนักเนื้อแตง 100 กรัม
(กุลยา จันทร์อรุณ, 2533)

องค์ประกอบ		แคนตาลูป	ฮันนีดิว	แตงไทย, อ่อน	แตงไทย, แก่
Moisture	(gm)	91.2	89.6	94.4	96.1
Calory	(unit.)	30.0	46.0	19.0	12.0
Fat	(gm)	0.1	0.3	0	0
Carbohydrate	(gm)	7.5	9.5	3.7	2.3
Fiber	(gm)	0.3	0.4	0.5	0.3
Protein	(gm)	0.7	0.3	0.8	0.8
Ca	(mg)	14.0	18.0	20.0	11.0
P	(mg)	16.0	12.0	41.0	13.0
Fe	(mg)	0.4	0.4	1.1	0.3
Vitamin A	(I.U.)	3400.0	20.0	-	1042.0
Vitamin B1	(mg)	0.04	0.02	0.02	0.02
Vitamin B2	(mg)	0.03	0.01	0.03	0.01
Niacin	(mg)	0.60	0.40	-	-
Vitamin C	(mg)	33.0	8.0	31.0	17.0

ตารางที่ 2.2 ปริมาณของสารประกอบเพคติน และเส้นใยที่เป็นองค์ประกอบของเมลอน จากแหล่งข้อมูลต่างๆ

สารประกอบเพคติน (ร้อยละ)	เส้นใย (ร้อยละ)	แหล่งที่มา
-	0.60-1.00	Wills, Lim and Greenfield (1986)
0.16-0.19	-	Valverde, Blanco and Hidalgo (1982)
0.10-0.30	-	Bindra, Mangrekar and Jain (1973)
0.19-0.38	-	Ovoshchsushil' naya (1971)
	0.30-0.50	กุลยา จันทร์อรุณ (2533)
-		

1.3 การเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเกิดการสุกของผลเมลอน

เมลอนเป็นผลไม้ประเภท Climacteric fruits คือจะมีอัตราการหายใจสูงขึ้นพร้อมๆ กับการสุก และหลังจากนั้นอัตราการหายใจจึงค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ สามารถเก็บจากต้นมาบ่มให้สุกได้ เมื่อผลเมลอนเริ่มสุกจะมีการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบต่างๆ เกิดขึ้นดังนี้

1.3.1 การเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต

เมื่อผลไม้เริ่มสุกจะมีการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาล ทำให้ผลไม้มีรสหวานขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (soluble solid) มีมากขึ้น ซึ่งจะใช้เป็นมาตรฐานในการแบ่งคุณภาพของผลเมลอนได้ Lingle และ Dunlap (1987) ได้รายงานว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในผลมัสค์เมลอน จะมีการเพิ่มมากขึ้นเมื่อผลมัสค์เมลอนมีระดับความสุกเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เพิ่มสูงขึ้น จากการทำงานของเอนไซม์ invertase, sucrose phosphate synthase (SPS) และ sucrose synthase (SS) ในผลมัสค์เมลอนเอง

1.1.2 การเปลี่ยนแปลงสี

ผลเมลอนเมื่อเริ่มสุกจะเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีส้มโดยการสลายคลอโรฟิลล์และสังเคราะห์แคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้น ทำให้แตงไทยอ่อนเมื่อเริ่มแก่จะมีปริมาณวิตามินเอเพิ่มมากขึ้น Forbus และ Senter (1989) พบว่า เมื่อระดับความสุกของผลมัสค์เมลอนเพิ่มขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์จะลดลงอย่างชัดเจน นอกจากนี้ Curl (1966) ยังพบว่าผลมัสค์เมลอนจะมีแคโรทีนอยด์ทั้งหมดอยู่ 20.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Varich และ Kemmerer (1950) พบว่า แคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่พบนั้นจะมี เบต้าแคโรทีน (β-carotene) อยู่ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 94

1.1.3 การอ่อนตัวของเนื้อเยื่อ

การอ่อนตัวของเนื้อเยื่อผลไม้นั้น พบว่า ส่วนใหญ่จะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ พอลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช เช่น สารประกอบเพคติน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เป็นต้น Forbus, Dull และ Smittle (1991) รายงาน ว่าเมื่อระดับความสุกของผลมัสค์เมลอนเพิ่มขึ้น ค่าความแน่นเนื้อจะมีค่าลดลง

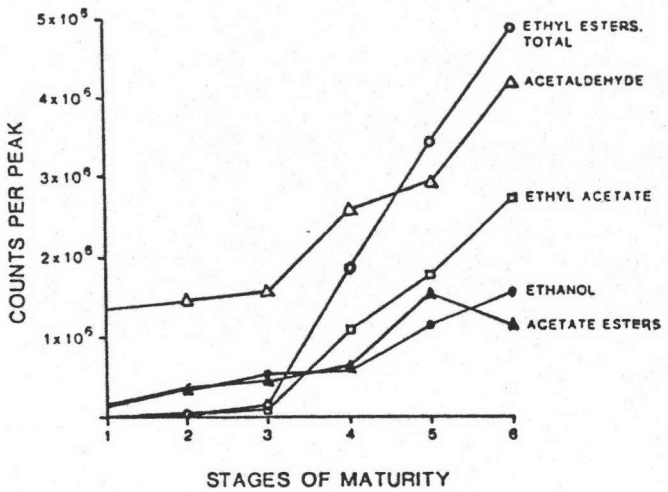
McCollum, Huber และ Cantliffe (1989) พบว่า สัดส่วนของปริมาณเพคตินและเฮมิเซลลูโลสในผนังเซลล์ชั้นใน (mesocarp) ของผลมัสค์เมลอนจะมีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเกิดการสุก โดยที่ระดับความสุกเพิ่มขึ้น ปริมาณของเพคตินที่ละลายน้ำได้จะมากขึ้น โดยเกิดจากการที่เพคตินมีขนาดเล็กลงซึ่งอาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์พอลีกาแลคทูโรเนส (polygalacturonase-PG) แต่เขากลับพบว่าผลมัสค์เมลอนนั้นไม่มี PG-activity ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hobson (1962) และ Lester และ Dunlap (1985) ดังนั้น จึงสันนิษฐานว่าการที่เพคตินมีขนาดเล็กลง และละลายน้ำได้มากขึ้น อาจเกิดจากการสลายพันธะระหว่างเพคตินกับเฮมิเซลลูโลส นอกจากนี้ ยังพบอีกว่า ชนิดของน้ำตาลที่มีปริมาณมากในผลของมัสค์เมลอนได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส และไซโลส ส่วน อาราบิโนส และแมนโนส จะมีเป็นปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น และในระหว่างการสุกนั้น พบว่า ปริมาณกลูโคส และกาแลคโตส จะลดลง ร้อยละ 8 และ 32 ตามลำดับ ส่วนไซโลสนั้นจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 22

1.1.4 การเกิดกลิ่น

สารประกอบที่ให้กลิ่นเฉพาะตัวของเมลอนมีอยู่หลายชนิดจากการรายงานของ Kemp, Stoltz และ Knavel (1972) กับการรายงานของ Yabumoto และ Jennings (1977)

พบว่า ในผลมัสค์เมลอนจะมีสารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) อยู่มากกว่า 50 ชนิด และต่อมาในปี 1990 Schieberle, Ofner และ Grosch ได้ทำการทดลองใช้ Aroma extract dilution analysis (AEDA) หา volatile fraction ของผลมัสค์เมลอน พบว่า สารประกอบที่ให้กลิ่นเฉพาะตัวของผลมัสค์เมลอนที่เด่น คือ methyl 2-methyl butanoate และ ethyl 2-methyl propanoate ส่วนสารประกอบ volatile esters ตัวอื่นๆนั้นจะสำคัญรองลงมา

Horvat และ Senter (1987) พบว่า เมื่อระดับความสุกของผลแคนตาลูปเพิ่มขึ้นจะทำให้ total ethyl esters, acetaldehyde, ethylacetate, ethanol และ total acetate esters เพิ่มขึ้นด้วยแสดงดังรูปที่ 2.1 โดยในช่วงแรกจนถึงช่วง mid ripe (ระยะที่ 3) จะสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย จากนั้นจะเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วมากจนกระทั่งถึง fully ripe (ระยะที่ 5) ปริมาณของ acetate esters จึงตกลงเล็กน้อย แต่สารตัวอื่นยังคงเพิ่มสูงขึ้น



รูปที่ 2.1 ความสัมพันธ์ของระดับความสุกกับปริมาณสารประกอบที่ระเหยได้ต่างๆ โดยที่

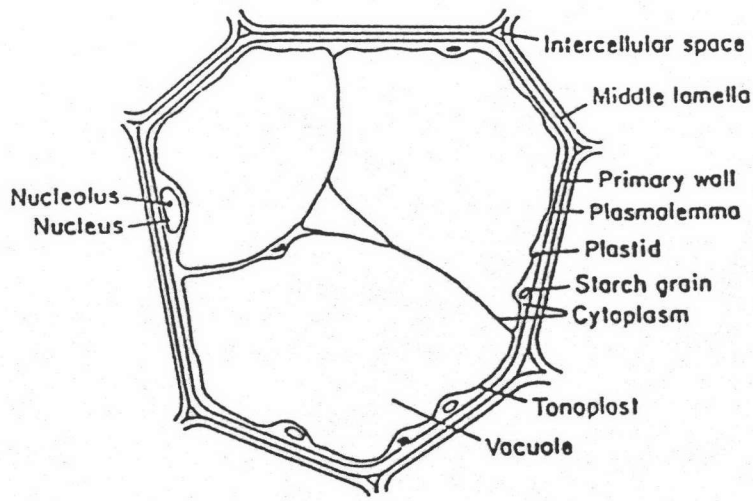
ระยะที่ 1 คือ mature green

ระยะที่ 3 คือ mid ripe

ระยะที่ 5 คือ fully ripe

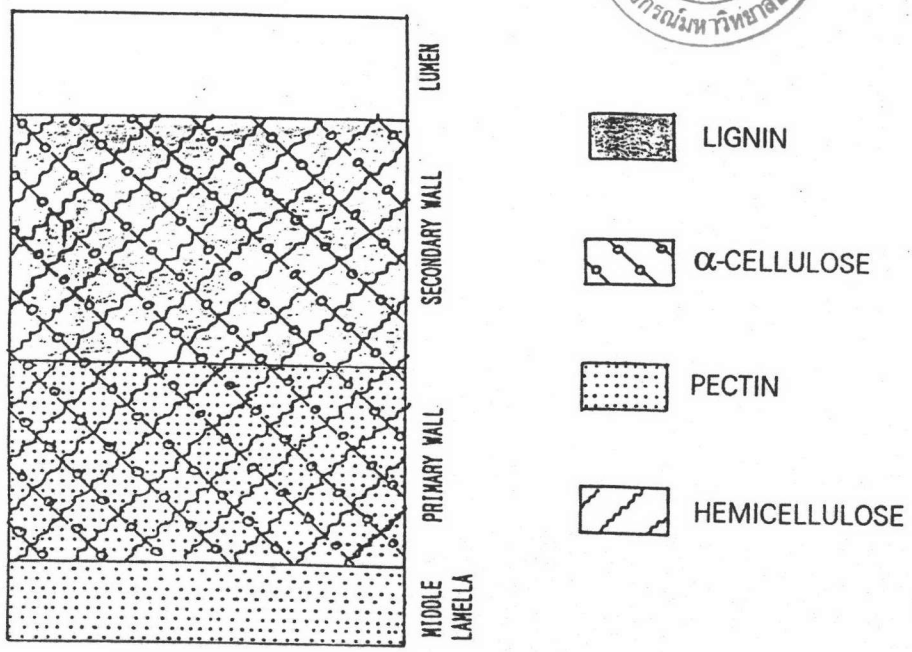
2. <u>สารประกอบพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช</u>

โครงสร้างของเซลล์ผักผลไม้จะเป็นดังรูปที่ 2.2 (Whitaker, 1984) ซึ่งโครงสร้างของผนังเซลล์ของพืชชั้นสูงเหล่านี้ จะมีสารประกอบพอลีแซคคาไรด์ เป็นองค์ประกอบหลักอยู่หลายชนิด เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส สารประกอบเพคตินรวมทั้งลิกนิน เป็นต้น ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กันดังรูปที่ 2.3 (Fogarty and Ward, 1972) สารประกอบพอลีแซคคาไรด์เหล่านี้มีบทบาทและหน้าที่ให้ความแข็งแรงกับเนื้อเยื่อเซลล์พืช



รูปที่ 2.2 โครงสร้างเนื้อเยื่อพาเรนไคมาที่พบโดยทั่วไปในผักผลไม้ที่เจริญเต็มที่แล้ว

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.3 ความเกี่ยวโยงของสารประกอบเพคติกและสารประกอบอื่นๆ ในผนังเซลล์พืช

2.1 <u>สารประกอบเพคติน</u>

สารประกอบเพคตินจะพบอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อพืชชั้นกลาง (middle lamella) ซึ่งในขณะที่ผลไม้ยังดิบสารประกอบเหล่านี้จะอยู่ในรูปของโปรโตเพคตินที่ไม่ละลายน้ำ แต่เมื่อผลไม้เริ่มสุก โปรโตเพคติเนสจะทำการย่อยสลายเปลี่ยนโปรโตเพคติน ไปเป็นสารประกอบเพคตินที่ละลายน้ำได้

สารประกอบเพคตินเป็นกลุ่มของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน ที่ประกอบด้วยน้ำตาลเชิงเดี่ยว 4 ชนิด คือ กรดกาแลคทูโรนิค (galacturonic acid) แรมโนส (rhamnose) กาแลคโตส (galactose) และ อะราบิโนส (arabinose) ซึ่งมีโครงสร้างปฐมภูมิดังรูปที่ 2.4 (Whitaker, 1984)

(1) Rhamnogalacturonans

Main chain in pectins

-[→4)-α-D-Gal*p*A-(1-]$_n$→2)-L-Rha*p*-(1→4)-α-D-Gal*p*A-(1→2)-L-Rha*p*-(1-[→4)-α-D-Gal*p*A-(1-]$_n$-

Short side chains in pectins

β-D-Xyl*p*-(1→3)-
β-D-Gal*p*-(1→2)-D-Xyl*p*-(1-
α-L-Fuc*p*-(1→2)-D-Xyl*p*-(1-
L-Ara*f*-(1→3)-
D-Api*f*-(1→3)-D-Api*f*-(1-

Extended side chains in pectins

→4)-β-D-Gal*p*-(1→4)-β-D-Gal*p*-(1-

→5)-α-L-Ara*f*-(1→5)-α-L-Ara*f*-(1-
3
↑
1
α-L-Ara*f*

(2) Arabinogalactans I

→4)-β-D-Gal*p*-(1→4)-β-D-Gal*p*-(1→4)-β-D-Gal*p*-(1→4)-β-D Gal*p*-(1-
3
↑
1
α-L-Ara*f*
5
↑
1
α-L-Ara*f*

(3) Arabinogalactans II

→3)-β-D-Gal*p*-(1→3)-β-D-Gal*p*-(1→3)-β-D-Gal*p*-(1→3)-β-D-Gal*p*-(1→3)-β-D-Gal*p*-(1-

6	6	6		6
↑	↑	↑		↑
1	R	1		1
R→3)-β-D-Gal*p*		β-D-Gal*p*		β-D-Gal*p*
6		6		6
↑		↑		↑
1		1		1
β-D-Gal*p*		β-D-Gal*p*		β-D-Gal*p*

where R = L-Ara*f*-(1- or β-L-Ara*p*-(1→3)-L-Ara*f*-(1-

(4) Arabinans

→5)-α-L-Ara*f*-(1→5)-α-L-Ara*f*-(1→5)-α-L-Ara*f*-(1→5)-α-L-Ara*f*-(1→5)-α-L-Ara*f*-(1-

3	3		3
↑	↑		↑
1	1		1
α-L-Ara*f*	α-L-Ara*f*		α-L-Ara*f*

รูปที่ 2.4 โครงสร้างปฐมภูมิของสารประกอบเพคติน

(1) แรมโนกาแลคทูโรแนน (2) อะราบิโนกาแลคแทน I

(3) อะราบิโนกาแลคแทน II (4) อะราบิแนน

โดยที่ Gal*p*A = กรดกาแลคทูโรนิค Gal*p* = กาแลคโตส

Rha*p* = แรมโนส Fuc*p* = ฟรุคโตส

Ara*p* = อะราบิโนส Xyl*p* = ไซโลส

2.1.1 <u>แรมโนกาแลคทูโรแนน</u> (rhamnogalacturonans) เป็นพอลีเมอร์ผสมของกรดกาแลคทูโรนิคและน้ำตาลแรมโนส โดยมี D-galacturonic acid units ที่ต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 เป็นพอลีเมอร์สายหลัก และมีน้ำตาลแรมโนสที่ต่อกันด้วยพันธะ α-1,2 มาต่อกับสายหลักที่ตำแหน่ง α-1,4 ของสายหลักนั้น และอาจมีสายข้างเคียง (side chains) ที่เป็นพอลีเมอร์ของน้ำตาล L-arabinose หรือ D-galacturonic acid มาเชื่อมต่อที่ตำแหน่ง α-1,4 ของสายหลักก็ได้ แรมโนกาแลคทูโรแนนจะมีประจุลบที่ pH $\leq$ 5 เนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลที่ตำแหน่งที่ 6 ของ D-galacturonic acid units ในพอลีเมอร์ประมาณร้อยละ 75 เปลี่ยนเป็น หมู่เอสเธอร์ด้วยเมธิลแอลกอฮอล์ ดังรูปที่ 2.4 (1)

2.1.2 <u>อะราบิโนกาแลคแทน</u> (arabinogalactans) เป็นพอลีเมอร์ผสมของอะราบิโนสและกาแลคโตส ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

2.1.2.1 อะราบิโนกาแลคแทน I (arabinogalactansI) ประกอบด้วยน้ำตาล D-galactose ต่อกันแบบ β-1, 4 เป็นสายหลักต่อกับ D-galacturonic acid units ของแรมโนกาแลคทูโรแนนที่ตำแหน่ง α-1, 4 ดังรูปที่ 2.4 (2) และสายข้างเคียงอาจเป็นพอลีเมอร์ของ L-arabinose ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ α-1, 5 มาต่อกับ กาแลคโตสที่เป็นสายหลักด้วยพันธะ α-1, 3 ซึ่ง อะราบิโนกาแลคทูโรแนน I เป็นพอลีเมอร์ที่มีสมบัติเป็นกลาง

2.1.2.2 อะราบิโนกาแลคแทน II (arabinogalactans II) พอลีเมอร์สายหลักจะประกอบด้วย D-galactose units ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ β-1, 3 และมีสายข้างเคียงเป็น D-galactose ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ β-1, 6 และจับกับสายกาแลคโตสหลักด้วยพันธะ β-1, 6 เช่นกัน หรืออาจมี L-arabinose ที่จับกันด้วยพันธะ α-1, 3 หรือ β-1, 3 มาจับกับสายหลักด้วยพันธะ β-1, 6 ก็ได้ ดังรูปที่ 2.4 (3) ซึ่งอะราบิโนกาแลคทูโรแนนเป็นพอลีแซคคาไรด์ที่มีสมบัติเป็นกลาง

2.1.3 <u>อะราบิแนน</u> (arabinans) เป็นพอลีเมอร์ ของอะราบิโนส ที่มีสายหลักเป็น L-arabinose units ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ α-1, 5 และมีสายข้างเคียง เป็นหน่วยเดี่ยวๆ ของ L-arabinose ที่เชื่อมกับสายหลักด้วยพันธะ α-1, 3 ดังรูปที่ 2.4 (4) ซึ่งอะราบิแนนเป็นพอลีเมอร์ที่มีสมบัติเป็นกลาง

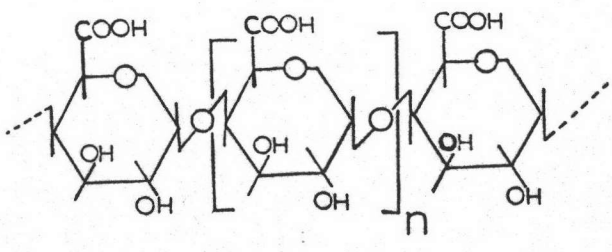
2.1.4 <u>กาแลคแทน</u> (galactans) เป็นพอลีเมอร์ของ D-galactose units ที่จับกันด้วยพันธะ β-1, 4

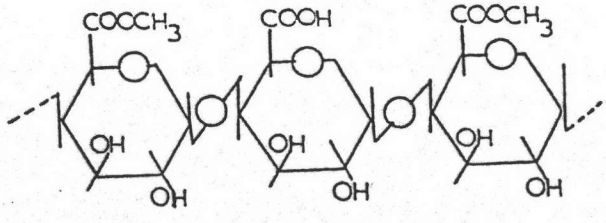
2.1.5 <u>กาแลคทูโลแนน</u> (galacturonan) เป็นสายของ สารประกอบพอลีเมอร์ของ α-1,4 D-galaturonopyranose units ซึ่งเป็น องค์ประกอบของสารประกอบต่างๆ ดังนี้

2.1.5.1 โปรโตเพคติน (protopectin) เป็นสารประกอบเพคตินที่ไม่ละลายน้ำ พบในผลไม้ที่ยังดิบเมื่อผลเริ่มสุก โปรโตเพคตินจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบเพคติน ชนิดอื่นที่ละลายน้ำได้

2.1.5.2 กรดเพคติก (pectic acid) เป็นพอลีเมอร์ของ anhydrogalacturonic acid units ที่มีหมู่ คาร์บอกซิลอิสระ ดังรูปที่ 2.5 (1)

2.1.5.3 เพคติน (pectin) เป็นพอลีเมอร์ของ anhydrogalacturonic acid units ที่มีหมู่คาร์บอกซิล ถูกทำให้เป็นเอสเธอร์ ในปริมาณต่าง ๆ กัน กล่าวคือ ถ้าหมู่คาร์บอกซิล ถูกทำให้เป็นเอสเธอร์ด้วยเมทธานอล มากกว่าร้อยละ 50 ของหมู่คาร์บอกซิลทั้งหมด จะเรียกว่า high methoxyl pectin ถ้าน้อยกว่าร้อยละ 10 จะเรียกว่า กรดเพคตินิค แสดงดังรูปที่ 2.5 (2) และถ้าอยู่ระหว่างร้อยละ 10-50 จะเรียกว่า low methoxyl pectin



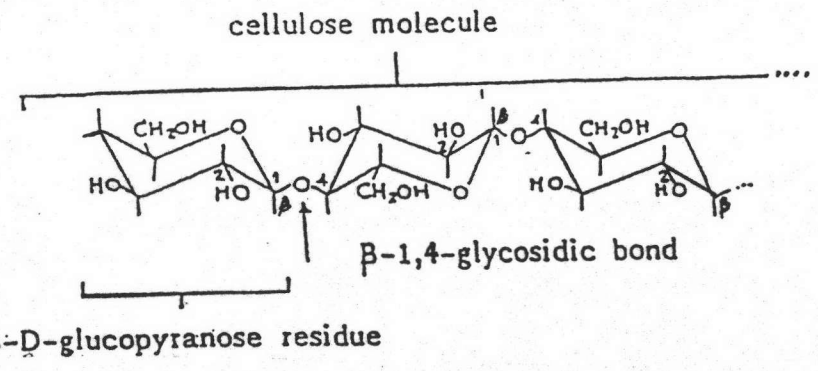


รูปที่ 2.5 (1) โครงสร้างของกรดเพคติก (2) โครงสร้างของกรดเพคตินิก

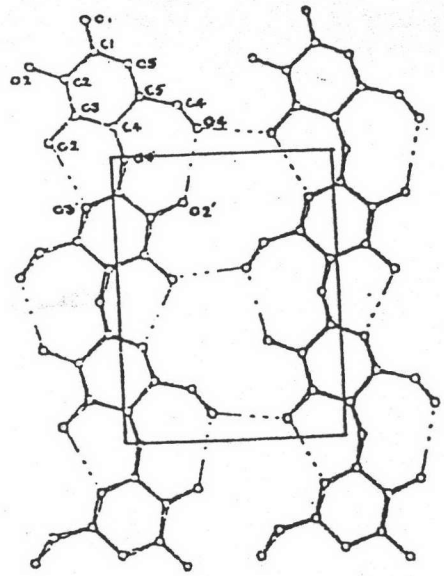
2.2 <u>เซลลูโลส</u>

เซลลูโลสเป็นสายของ β - D - glucopyranoses ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1, 4-glycosidic เซลลูโลสมีหลายชนิด แบ่งตามความยาวของสายโมเลกุล โดยการวัดระดับชั้นการเกิดพอลีเมอไรเซชั่น (degree of polymerization) ดังรูปที่ 2.6 ซึ่งสายของโมเลกุลเซลลูโลสมีขนาดต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ แกมมาเซลลูโลส (γ - cellulose) ซึ่งประกอบด้วย β-D-glucopyranoses น้อยกว่า 15 หน่วย จนถึง อัลฟาเซลลูโลส (α-cellulose) ซึ่งประกอบด้วย β-D-glucopyranoses ประมาณ 10,000-14,000 หน่วย (Cowling and Brown, 1969)

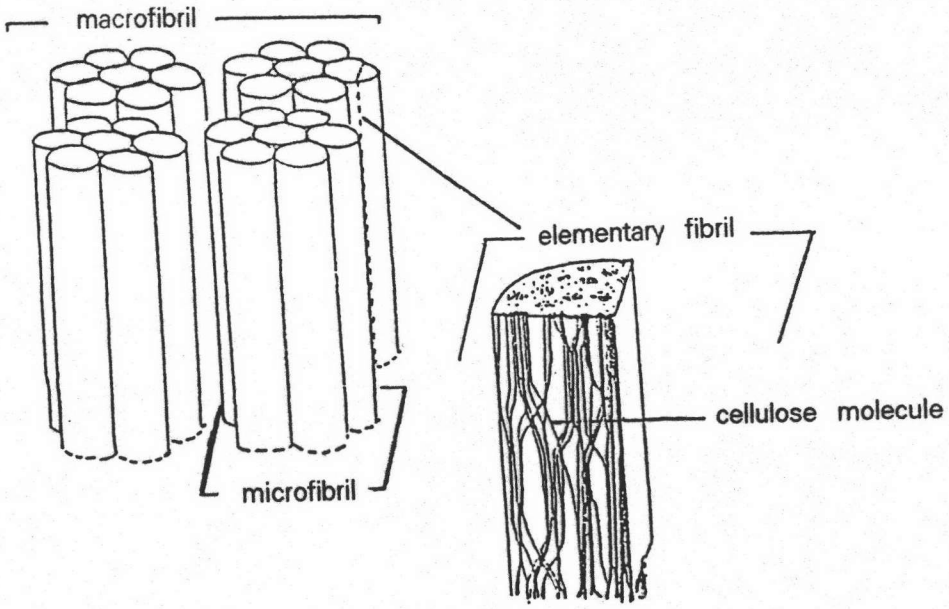
เซลลูโลสจะประกอบอยู่ในผนังเซลล์ของพืชตรงบริเวณชั้นปฐมภูมิ (primary) และชั้นทุติยภูมิ (secondary wall) โดยสายโมเลกุลเซลลูโลสที่อยู่ติดกันจะเชื่อมกันทางด้านข้างของสายด้วยพันธะไฮโดรเจน ดังรูปที่ 2.7 ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลลูโลส เป็นเส้นใยมูลฐาน (elementary fibril) ซึ่งถ้าเส้นใยมูลฐานจำนวนหนึ่ง มารวมกลุ่มกัน จะเรียกว่า จุลไฟบริล (microfibril) และเมื่อจุลไฟบริลมาเชื่อมกันทางด้านข้าง และมีลิกนินเป็นตัวห่อหุ้มให้รวมกันเป็นกลุ่มเรียกว่า มหไฟบริล (macrofibril) โดยมีเฮมิเซลลูโลสและสารอื่นๆ รวมอยู่ภายในช่องว่างระหว่างไฟบริลแต่ละกลุ่ม การรวมกลุ่มกันของสายโมเลกุลเซลลูโลสแสดงดังรูปที่ 2.8 (Cowling and Brown, 1969)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของสายโมเลกุลเซลลูโลส



รูปที่ 2.7 พันธะไฮโดรเจนในเซลลูโลส โดยกลูโคสแต่ละหน่วยจะเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของเซลลูโลส 2 พันธะคือ O3-H.....O5 และ O6-H.....O2 และพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเซลลูโลสโมเลกุลคือ O6-H.....O3



รูปที่ 2.8 ลำดับการรวมกลุ่มและโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช

3. เอนไซม์ที่ใช้ย่อยพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช

3.1 เพคติเนส

ปราณี อ่านเปรื่อง (2535) อธิบายเกี่ยวกับเพคติเนสว่า เป็นเอนไซม์ที่พบในพืชชั้นสูง แบคทีเรีย รา ยีสต์ แมลง โปรโตซัว และหอยทาก ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เอนไซม์นี้ในการสกัดน้ำผลไม้ และเครื่องดื่ม โดยเอนไซม์นี้จะช่วยทำให้การสกัดและการกรองเป็นไปได้ง่ายขึ้น ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้ใส และยังช่วยเพิ่มผลผลิตในการสกัดน้ำผลไม้ เพคติเนสแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ๆ (Rombouts and Pilnik, 1978; Kilara, 1982) ได้แก่

1. เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสลายพันธะเอสเธอร์ของโมเลกุลเพคติน ได้แก่ เพคตินเอสเธอเรส

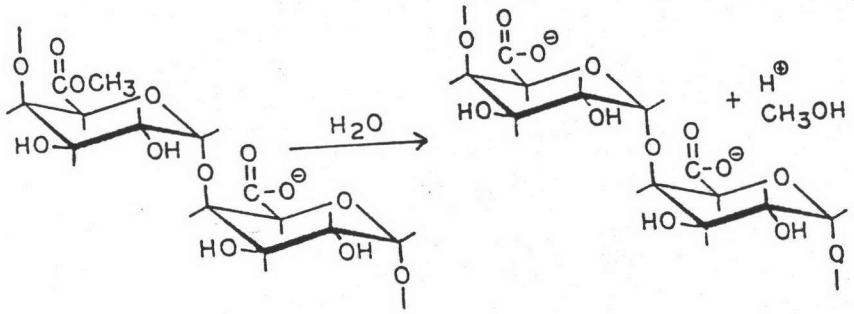
2. เอนไซม์ที่ทำหน้าที่สลายพันธะไกลโคซิดิค ของสายโมเลกุลเพคติน ได้แก่ พอลีกาแลคทูโรเนส และ เพคตินไลเอส

3.1.1 เพคตินเอสเธอเรส (Pectinesterase ; E.C.3.1.1.11)

เพคตินเอสเธอเรสมีชื่อเรียกต่างๆ กัน คือ pectinmethylesterase, pectase, pectinmethoxylase, pectindemethoxylase และ pectolyase (Whitaker, 1984)

เพคตินเอสเธอเรสจะเข้าปะทะตรงบริเวณพันธะเอสเธอร์บนเพคตินในตำแหน่งที่ถัดจากหมู่คาร์บอกซิลอิสระ แยกมีเธนออกไปทำให้ได้กรดเพคติกกับเมทธานอล ดังรูปที่ 2.9 ดังนั้นจึงมีความจำเพาะกับเพคตินที่ถูกเอสเธอริไฟ (esterify) ไปร้อยละ 65-75 แต่ถ้าเพคตินถูกเอสเธอริไฟไปเต็มที่ร้อยเปอร์เซ็นต์เอนไซม์นี้จะไม่สามารถทำงานได้ เนื่องจากไม่มีหมู่คาร์บอกซิลอิสระที่จะกระตุ้นให้เกิดการปะทะที่พันธะเอสเธอร์

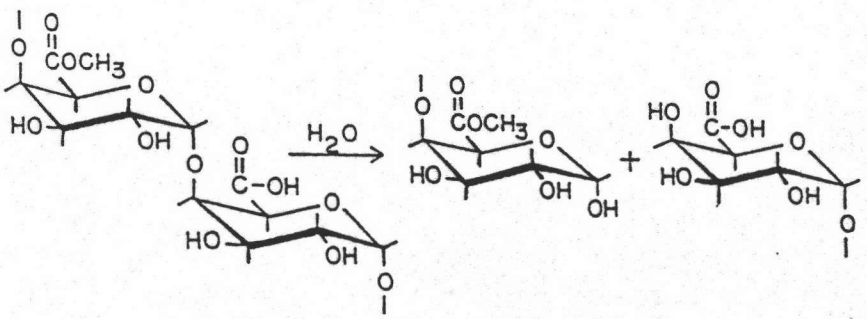
นอกจากนี้ยังพบว่า ถ้าเปลี่ยนจากเมทธิลเอสเธอร์ เป็นเอทธิลเอสเธอร์ เอนไซม์นี้ยังคงทำงานได้ แต่ในอัตราเร็วที่ลดลง (ร้อยละ 3-13 ของอัตราเร็วของการสลายเมทธิลเอสเธอร์) แต่เพคตินเอสเธอเรสนี้ไม่สามารถไฮโดรไลซ์หมู่แอลกอฮอล์ ที่เป็น ไกลคอน กลีเซอรอล และบิวทานอลได้ การทำงานของเพคตินเอสเธอเรสนี้ จะมีผลเพียงเล็กน้อยต่อความหนืด และถ้ามีแคลเซียมอิออนอยู่ด้วยความหนืดจะลดลงเนื่องจากเกิดการเชื่อมขวางของแคลเซียมอิออนกับสายกรดเพคติน (Whitaker, 1984) เพคตินเอสเธอเรสที่ได้จากพืชจะมี pH ที่เหมาะสมอยู่ประมาณ 7 แต่ถ้าเป็นเพคตินเอสเธอเรส ที่ได้จากราจะมี pH ที่เหมาะสมประมาณ 4.5 (Rombouts and Pilnik, 1978)



รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเพคตินเอสเธอเรส

3.1.2 <u>พอลีกาแลคทูโรเนส</u> (Polygalacturonase ; E.C.3.2.1.16)

เอนไซม์นี้มีชื่อตามระบบว่า poly α-1, 4 galacturonide glyconohydrolase ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคซิดิคในสารประเภทเพคติน (รูปที่ 2.10) แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยตามชนิดของสับสเตรทคือ polymethylgalacturonase และ polygalacturonase (ชื่อเดียวกับชื่อกลุ่ม) และแบ่งย่อยลงไปตามลักษณะการย่อยสลายคือ endo-splitting และ exo-splitting ซึ่งการแบ่งกลุ่มย่อยเป็นดังนี้



รูปที่ 2.10 ปฏิกิริยาการย่อยสลายของพอลีกาแลคทูโรเนส

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.2.1 Random mechanism of hydrolysis

(1) Endo-polymethylgalacturonase

เอนไซม์นี้สามารถไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติค และมีลักษณะการย่อยสลายแบบไม่เป็นระเบียบ (endo splitting) ในสายพอลีเมอร์

(2) Endo-polygalacturonase

เอนไซม์นี้สามารถไฮโดรไลซ์สับสเตรท ที่เป็นกรดเพคติค ได้ดีกว่ากรดเพคติน และมีลักษณะการย่อยสลายแบบไม่เป็นระเบียบ ในสายพอลีเมอร์

3.1.2.2 Terminal mechanism of hydrolysis

(1) Endo-polymethylgalacturonase

เอนไซม์นี้สามารถไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติค และมีลักษณะการย่อยสลายแบบเป็นระเบียบ (exo splitting) ในสายพอลีเมอร์

(2) Endo-polygalacturonase

เอนไซม์นี้สามารถไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นกรดเพคติคได้ดีกว่ากรดเพคติน และมีลักษณะการย่อยสลายแบบเป็นระเบียบ ในสายพอลีเมอร์

เอนไซม์ที่มีลักษณะการย่อยสลายแบบไม่เป็นระเบียบ จะทำปฏิกิริยาแบบอิสระ ทำให้ได้สารประกอบที่มีปลายรีดิวซ์ (reducing end) ออกมามากมาย และจะลดความหนืดของสับสเตรทลงอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเป็นการย่อยสลายแบบเป็นระเบียบ เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยาตรงบริเวณด้าน reducing end หรือ non-reducing end ของสายเพคตินซึ่งจะมีผลทำให้เกิดสารให้ความหวานเพิ่มมากขึ้น (saccharifying) มากกว่าการลดความหนืด (Whitaker, 1984)

3.1.3 เพคเตทไลเอส (Pectate lyases ; E.C.4.2.99.3)

เพคเตทไลเอสมีชื่อตามระบบว่า poly α-1, 4 galacturonide lyase เป็นเอนไซม์ในกลุ่มไลเอสที่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิค โดยวิธี trans elimination ของไฮโดรเจนจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของส่วน aglycon ของสับสเตรทแล้วได้ผลผลิตเป็นพันธะคู่ ดังรูปที่ 2.11 การแบ่งกลุ่มของเพคเตทไลเอส จะแบ่งตามชนิดของสับสเตรทและลักษณะการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสับสเตรท ดังนี้คือ

3.1.3.1 Random mechanism of trans-eliminative

(1) Endo-pectin methyl-trans-eliminase (Endo-PMTE)

Endo-PMTE จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็น เพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติค และมีการย่อยสลายแบบไม่เป็นระเบียบ (endo-splitting)

(2) Endo-polygalacturonate-trans-eliminase (Endo-PGTE)

Endo-PGTE จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นกรดเพคติค ได้ดีกว่าเพคติน และมีการย่อยสลายแบบไม่เป็นระเบียบ

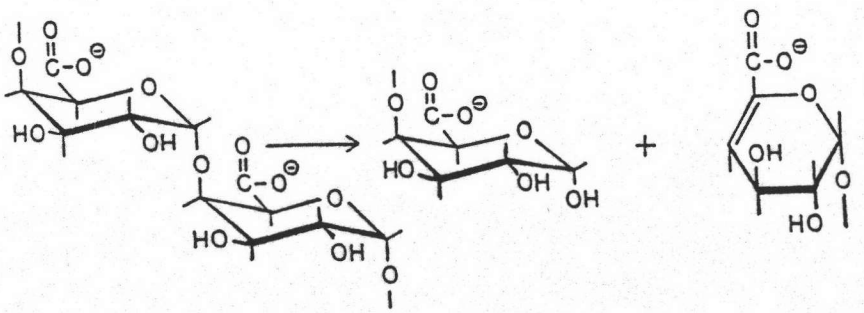
3.1.3.2 Terminal mechanism of trans-eliminative

(1) Exo-pectin methyl-trans-eliminase (Exo-PMTE)

Exo-PMTE จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็น เพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติค และมีการย่อยสลายแบบเป็นระเบียบ (exo-splitting)

(2) Exo-polygalacturonate-trans-eliminase (Exo-PGTE)

Exo-PGTE จะไฮโดรไลซ์สับสเตรทที่เป็นกรดเพคติค ได้ดีกว่าเพคติน และมีการย่อยสลายแบบเป็นระเบียบ



รูปที่ 2.11 ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเพคเตทไลเอส

3.2 <u>เซลลูเลส</u>

เซลลูเลสที่พบโดยทั่วไปจะเป็นเอนไซม์ผสมที่ประกอบด้วย เอนไซม์หลายชนิดอย่างน้อย 3 ชนิด (multicomponent enzyme system) ขึ้นไป ซึ่งจะทำหน้าที่ร่วมกัน สามารถแยกเป็นส่วนประกอบย่อยๆ (Cowling and Brown, 1969) ได้ดังนี้

3.2.1 <u>เอนไซม์ C_1</u>

หมายถึง เซลลูเลสที่ทำหน้าที่กระตุ้นหรือแยกสายของเซลลูโลสให้มีสภาพที่เหมาะสำหรับเป็นสับสเตรทของเซลลูเลสอื่นๆ ในลำดับต่อไป (Reese, Sin and Levinson, 1950) ดังนั้นเอนไซม์ C_1 จึงนับเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่ใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสตั้งต้นที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากๆ

3.2.2 <u>เอนไซม์ C_X</u> หรือ β-1, 4-glucanases

หมายถึงเซลลูเลสที่ทำหน้าที่ย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่สามารถละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากๆ ได้ เอนไซม์ C_X สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะการเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรท ดังนี้

3.2.2.1 Endo-β-1, 4-glucanases

มีชื่อตามระบบคือ β-(1-4)-glucan 4-glucanohydrolase (E.C.3.2.1.4) ทำหน้าที่ย่อยสลายภายในสายเซลลูโลสแบบสุ่ม ได้ผลผลิตเป็น oligomer และกลูโคสบางส่วน

3.2.2.2 Exo-β-1, 4-glucanases

ทำหน้าที่ย่อยสลายสายเซลลูโลส จากปลายสายโมเลกุล ทั้งปลาย reducing end และ non-reducing end ได้ผลผลิตเป็น เซลโลบิโอส และกลูโคส และมี inversion of configuration ซึ่งผลผลิตที่ได้จะถูกเปลี่ยนจาก β-configuration เป็น α- configuration

3.2.3 <u>เซลโลบิเอส</u> (cellobiase) หรือ β-glucosidase

ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลบิโอส (cellobioses) และเซลโลโอลิโกแซคคาไรด์ (cellooligosaccharides) สายสั้นๆ ให้เป็นกลูโคส โดยสามารถย่อยสลายเซลโลบิโอส และเซลโลทริโอส (cellotrioses) ได้อย่างรวดเร็ว และอัตราการย่อยสลายจะลดลงเมื่อ degree of polymerization เพิ่มขึ้น

Reese และคณะ (1950) และ Cowling และ Brown (1969) ได้ให้สมมุติฐานที่เกี่ยวกับการทำงานของเซลลูเลสไว้คล้ายคลึงกัน นั่นคือ เอนไซม์ "X" ที่อยู่ร่วมกับเซลลูเลสจะย่อยสลายสับสเตรทตรงบริเวณเยื่อบางส่วนกลาง (middle lamela) มีผลทำให้เซลล์พืชถูกแยกออกจากกัน เป็นเซลล์เดี่ยวๆ ผนังเซลล์บางเซลล์แตก และหัก ซึ่งลักษณะเซลล์พืช ที่ถูกทำให้แตกหักนี้ เซลลูเลสจะทำปฏิกิริยาย่อยสลายได้เป็นลำดับต่อไป ดังรูปที่ 2.12 และ 2.13

native cellulose

↓ C_1

hydrated polyanhydroglucose chains

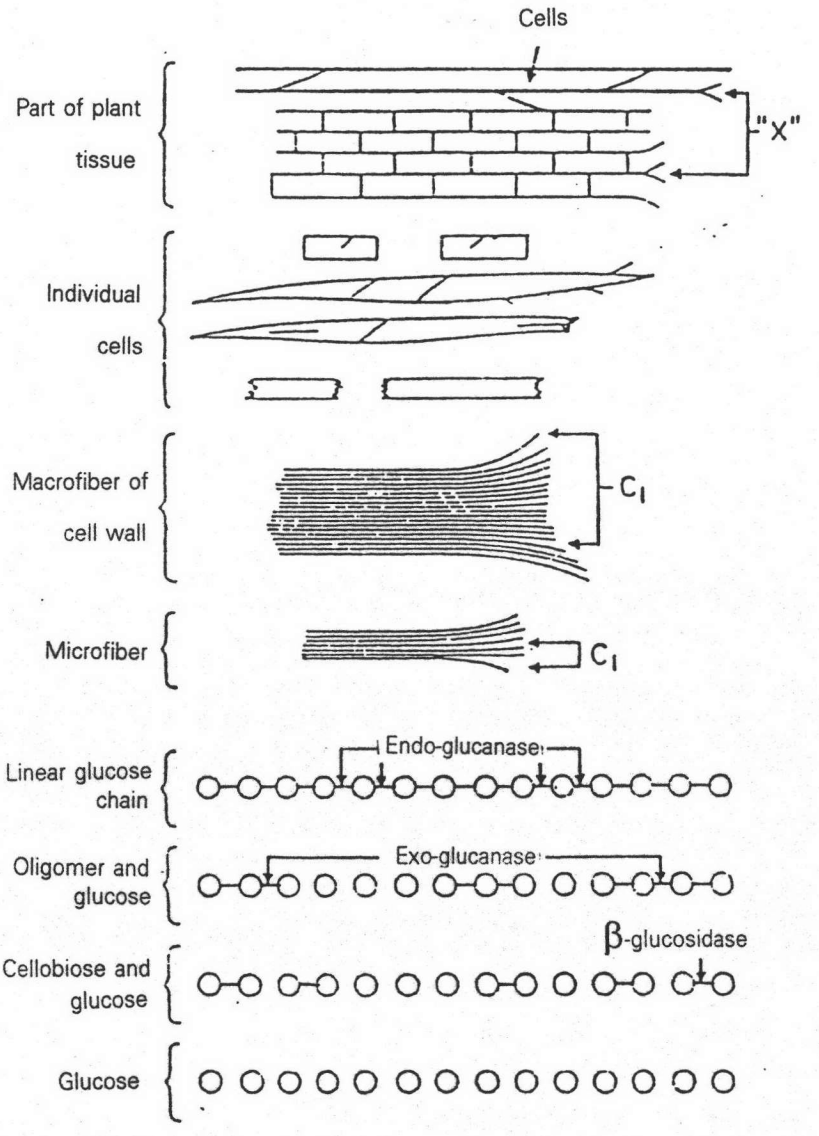
↓ C_X

cellobiose

↓ α-glucosidase

glucose

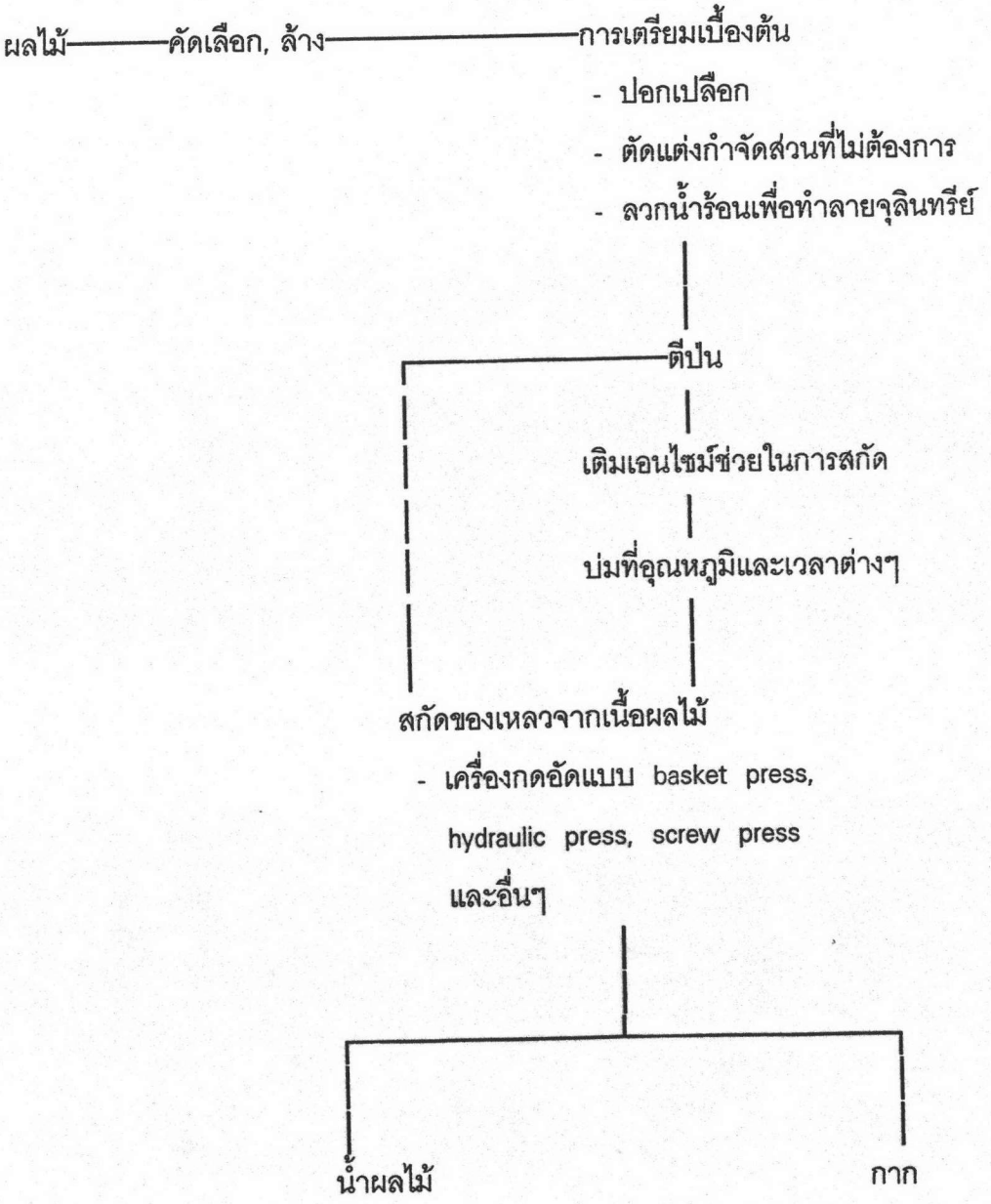
รูปที่ 2.12 การทำงานของเซลลูเลสตามสมมุติฐานของ Reese และคณะ (1950)

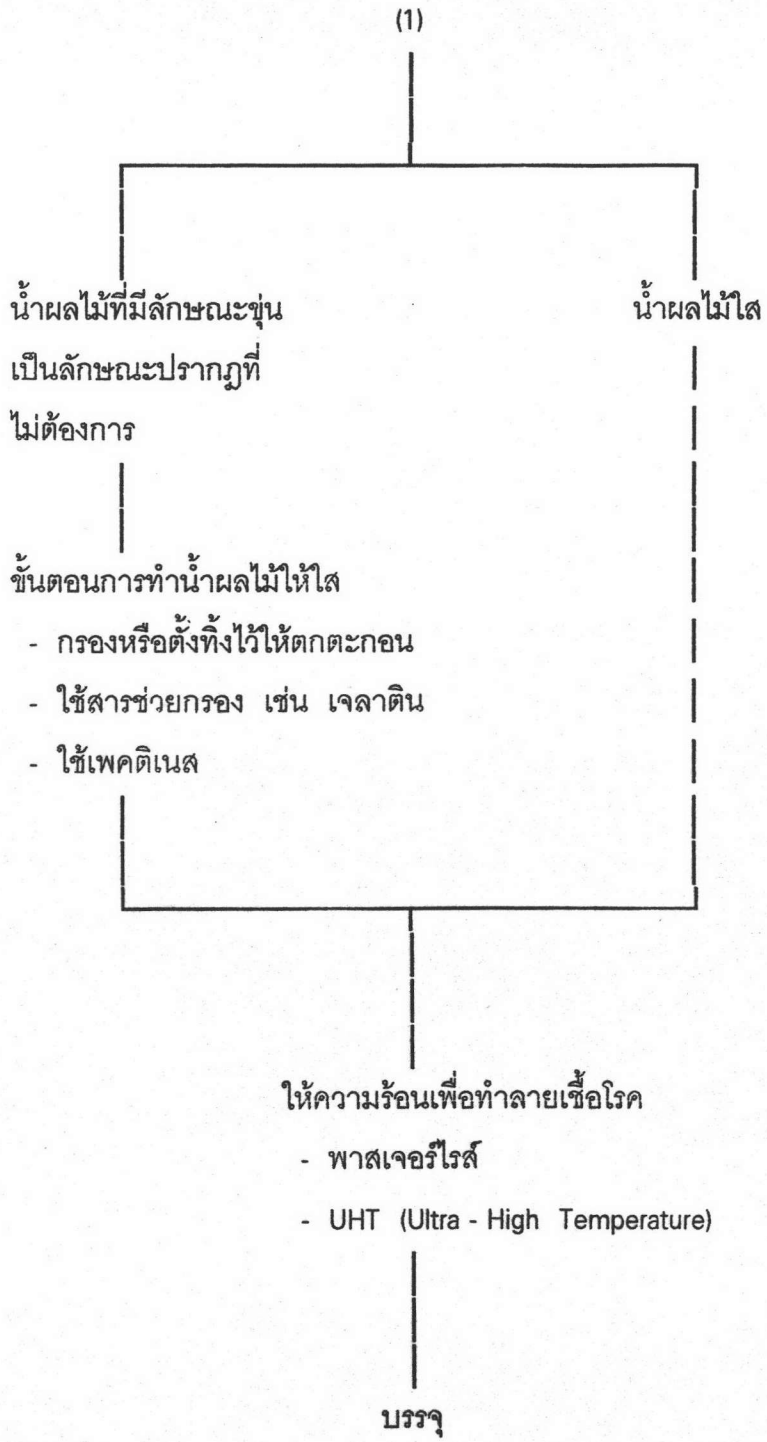


รูปที่ 2.13 การทำงานของเซลลูเลสตามสมมุติฐานของ Cowling และ Brown (1969)

4. <u>การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมแปรรูปน้ำผลไม้</u>

ในภาวะปัจจุบันราคาต้นทุนในการผลิตน้ำผลไม้เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นในการสกัดน้ำผลไม้แต่ละครั้งจึงมุ่งเน้นที่จะเพิ่มผลผลิตของน้ำผลไม้ให้มากขึ้น ประกอบกับน้ำผลไม้ที่ได้ต้องมีคุณภาพดี เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค จึงได้มีการพัฒนาเครื่องมือ และเทคนิคใหม่ๆ ในการผลิตน้ำผลไม้ให้ดีขึ้นเรื่อยๆ การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมแปรรูปน้ำผลไม้ นับเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่ได้รับการยอมรับกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งขั้นตอนการผลิตน้ำผลไม้กล่าวโดยสรุปได้ดังนี้





รูปที่ 2.14 ขั้นตอนทั่วไปของการผลิตน้ำผลไม้

4.1 เอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ทางการค้า

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาการผลิตเอนไซม์ เพื่อใช้ในทางการค้ากันอย่างกว้างขวาง ซึ่งส่วนใหญ่จะผลิตได้จากจุลินทรีย์พวก Aspergillus flavus - oryzae, Aspergillus niger และ Bacillus subtilis เพราะว่าจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมาก หลายชนิดทั้งยังไม่ก่อให้เกิดโรคและเป็นอันตรายต่อคน (Beckharn, Lebbee and Underkofler, 1965) เอนไซม์ส่วนใหญ่ ที่ใช้ในอุสาหกรรมน้ำผลไม้ทางการค้า มักจะอยู่ในกลุ่มของเพคติเนส ซึ่งเพคติเนสที่ใช้กันส่วนใหญ่ จะประกอบด้วยเพคติเนสทั้ง 3 ชนิด คือ Pectinesterase (PE) Polygalacturonase (PG) และ Pectate lyases ที่ผลิตจากเชื้อ Aspergillus niger เพคติเนสที่ใช้ในทางการค้า มักประกอบด้วยเอนไซม์ชนิดอื่นด้วย เช่น เซลลูเลส ไซลาเนส โปรติเอส และกลูโคซิเดส เป็นต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ การผลิตเพคติเนสทางการค้าจะมี PE, PG และ Pectate lyases ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดย PE จะทำหน้าที่ตัดพันธะเอสเธอร์ และ PG จะทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ให้เพคตินมีโมเลกุลสั้นลง หรืออาจสลายพันธะไกลโคซิดิคโดยตรงด้วยวิธี elimination ก็ได้ (Rombouts and Pilnik, 1978) ตัวอย่างรายชื่อผู้ผลิตเอนไซม์ทางการค้าที่สำคัญและการใช้งานของเอนไซม์แต่ละชนิดได้แสดงไว้ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างเอนไซม์ทางการค้าที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้

บริษัทผู้ผลิต	ชื่อทางการค้า	การใช้งาน
Miles Laboratories, Elkhart, India	Spark-L® และ Clarex-L®	ทำให้น้ำผลไม้ใส
Swiss Ferment Co., Ltd. Basel, Switzerland	Pectinase Products	สกัดน้ำผลไม้ ทำให้น้ำผลไม้ใส

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

บริษัทผู้ผลิต	ชื่อทางการค้า	การใช้งาน
Novo Ferment (Switzerland) Ltd.	Pectinex AP-18®	ทำให้แอปเปิลและน้ำลูกแพร์ใสลดการเกิด haze เนื่องจาก araban ในการทำให้น้ำผลไม้เข้มข้น
	Pectinex Ultra SP-L®	ใช้ในการสกัดน้ำผลไม้ และทำให้เนื้อเยื่อผักผลไม้นิ่มขึ้น
	Ultrazym AP-18®	ใช้ในการสกัดน้ำผลไม้และทำให้น้ำผลไม้ใส
	Pectinex AR®	ลดการเกิด haze เนื่องจาก araban ในการทำน้ำผลไม้เข้มข้น
	Celluclast 1.5L®	ลดความหนืดของน้ำผลไม้และเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้
Rohm G mb H Darmstadt, Germany	Rohapect D5L®	ลดความหนืดของน้ำผลไม้ สกัดน้ำผลไม้ และทำให้น้ำผลไม้ใสกำจัดเพคตินในน้ำผลไม้

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

บริษัทผู้ผลิต	ชื่อทางการค้า	การใช้งาน
Rohm G mb H Darmstadt, Germany	Rohapect TF®	ทำให้เนื้อผลไม้นิ่มขึ้น และลดความหนืดของน้ำผลไม้
	Rohament P®	สกัดน้ำผลไม้และทำให้น้ำผลไม้ใส และกำจัดเพคตินในน้ำผลไม้ ทำให้เนื่อเยื่อผักและผลไม้นิ่มขึ้น

4.2 การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้

เอนไซม์ชนิดแรกที่นำมาใช้กับอุตสาหกรรมน้ำผลไม้คือ เพคติเนส โดยใช้สำหรับการทำน้ำแอปเปิลให้ใส ซึ่งใช้ครั้งแรกเมื่อปี 1930 ในประเทศสหรัฐอเมริกา และในประเทศเยอรมัน ต่อมาได้มีการพัฒนาการผลิตน้ำผลไม้ขึ้น ทั้งทางด้านเทคโนโลยีการผลิต และการนำผลไม้ชนิดต่างๆ มาแปรรูปเป็นน้ำผลไม้มากขึ้น เนื่องจากผลไม้ต่างๆ มีองค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน ทำให้มีความยากง่ายในการสกัดต่างกัน ดังนั้นบทบาทของเพคติเนสจึงกลายเป็นสิ่งที่ต้องการมากขึ้น เช่นเดียวกับเอนไซม์อื่นๆ เช่น เซลลูเลส ก็กลายเป็นส่วนหนึ่งของเทคโนโลยีการผลิตน้ำผลไม้ปัจจุบัน (Janda, 1983) ซึ่งบทบาทของเอนไซม์แต่ละชนิดในอุตสาหกรรมการแปรรูปน้ำผลไม้เป็นดังต่อไปนี้

4.2.1 เพคติเนส

เพคติเนสเป็นเอนไซม์ที่รู้จักกันดีที่สุดในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ เนื่องจากในผลไม้มีองค์ประกอบที่สำคัญที่ต้องคำนึงถึงในกระบวนการผลิตคือ สารประกอบเพคติน ซึ่งพบได้ทั่วไปทั้งในผักและผลไม้ โดยพบในปริมาณร้อยละ 0.5-4.0 โดยน้ำหนัก เมื่อเนื้อเยื่อของผัก

หรือผลไม้ถูกทำลาย จะทำให้สารประกอบเพคตินบางส่วนละลายออกมาสู่ส่วนที่เป็นของเหลว ทำให้น้ำผักหรือผลไม้นั้นมีความหนืดเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังทำหน้าที่รักษาเสถียรภาพของระบบคอลลอยด์ในน้ำผลไม้ โดยป้องกันการตกตะกอนหรือการแยกชั้นของสารแขวนลอยต่างๆ เช่น โปรตีน เป็นต้น ทำให้น้ำผลไม้มีลักษณะขุ่น ซึ่งลักษณะปรากฏดังกล่าวเป็นลักษณะที่ต้องการในน้ำผลไม้บางประเภท เช่น น้ำส้ม แต่ในขณะเดียวกันน้ำผลไม้บางชนิดก็ต้องการลักษณะปรากฏที่ใส เช่น น้ำแอปเปิล น้ำแอปปริคอต หรือน้ำองุ่น เป็นต้น ซึ่งการผลิตผลิตภัณฑ์กลุ่มหลังนี้ จำเป็นต้องแยกสารประกอบเพคตินออกไปให้หมด ทั้งนี้บทบาทของเพคติเนสจึงต่างไปจากกรณีน้ำผลไม้ขุ่น นอกจากนี้สำหรับสารประกอบเพคตินบางส่วนที่เหลืออยู่ในเนื้อเยื่อผลไม้ จะอยู่ในลักษณะที่จับกับเส้นใยของเซลลูโลส โดยเฉพาะสายข้างของเฮมิเซลลูโลสทำให้จับกับน้ำได้ดี เป็นผลให้ไม่สามารถสกัดน้ำผลไม้โดยวิธีทางกลออกมาได้ทั้งหมด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้เพคติเนสเข้าช่วยเพื่อเปลี่ยนสารประกอบเพคตินบางส่วนหรือทั้งหมด ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (Janda, 1983)

4.2.2 <u>เซลลูเลส</u>

ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ ไม่ว่าจะเป็นการใช้เซลลูเลสโดยตรง หรือเป็นส่วนหนึ่งในเพคติเนสที่เตรียมได้ เซลลูเลสมีประโยชน์อย่างมากในการช่วยเร่งปฏิกิริยาการสกัดสีจากผลไม้ หรือเร่งการทำให้เนื้อเยื่อของพืชเป็นของเหลว (Janda, 1983)

จากองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช และบทบาทของเอนไซม์ที่ย่อยสลายพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช นำไปสู่การพัฒนาการใช้เอนไซม์ที่เหมาะสมตามธรรมชาติของเอนไซม์นั้นๆ ซึ่งจุดประสงค์การใช้งานของเอนไซม์เหล่านี้ขึ้นกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ และบทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายผนังเซลล์พืชได้รวบรวมแสดงไว้ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 บทบาทของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์พืช

(Voragen et al, 1986)

จุดประสงค์ของการใช้เอนไซม์	การเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์	เอนไซม์ที่มีบทบาท
ทำให้ผลไม้มีความแน่นเนื้อ (firming) ลดลง	เกิดปฏิกิริยา Saponification ของเพคตินที่ผนังเซลล์	PE ($+Ca^{++}$)
การทำให้เนื้อผลไม้อ่อนตัว (softening)	สลายเพคตินที่ผนังเซลล์บางส่วน	PG, PL, PAL
การทำให้เนื้อผลไม้นิ่ม หรือเปื่อยยุ่ย (maceration)	สลายเพคตินที่ middle lamella บางส่วน ทำให้เนื่อเยื่อที่อยู่รวมกันแยกออกเป็นเซลล์ที่กระจัดกระจาย	PG, PL
การทำลายเนื้อเยื่อเซลล์ (disintegration) ทำให้มีการปลดปล่อยน้ำผลไม้และทำให้มีระบบคอลลอยด์ที่เสถียร	ทำให้เพคติน รวมถึงอะราบิแนน กาแลคแทน ที่ผนังเซลล์ละลายสู่ส่วนที่เป็นของเหลว	PG+PE และ/หรือ PL +hemicellulases (arabinases, galactanases)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

จุดประสงค์ของการใช้เอนไซม์	การเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์	เอนไซม์ที่มีบทบาท
การทำให้เป็นของเหลว (liquefaction)	ทำให้เกิดการละลายของพอลีแซคคาไรด์ทั้งหมดของผนังเซลล์พืช	C+PE+PG และ/หรือ PL
การเกิดน้ำตาลเชิงเดี่ยว (saccharification)	สลายโมเลกุลของพอลีแซคคาไรด์ให้เป็นโมโนแซคคาไรด์	Hemicellulase, Glucosidase Oligomerase, Exo-carbohydrase

ตัวอย่างการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ในการสกัดน้ำผลไม้เพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ ได้มีรายงานไว้ ดังจะยกมากล่าวไว้พอสังเขปดังนี้

Sreekantiah, Jaleel และ Rao (1968) ได้ทำการทดลองสกัดน้ำฝรั่งจากฝรั่งสุกโดยใช้เพคติเนส พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่จะให้ปริมาณผลผลิตมากที่สุดจะต้องใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ร้อยละ 0.5 ต่อน้ำหนักเนื้อฝรั่ง และบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ในสภาวะดังกล่าวนี้ จะสามารถสกัดน้ำฝรั่งได้ร้อยละ 85 ซึ่งการสกัดโดยใช้เอนไซม์นี้จะยังคงรักษากลิ่นรสเดิมของฝรั่งสดไว้ได้

Sreekantiah, Jaleel และ Rao (1971) ได้ทดลองใช้เพคติเนสเข้มข้น (PEC) ที่ผลิตจาก Aspergillus niger ในการช่วยสกัดน้ำผลไม้ประเภทเนื้อนิ่ม พบว่า เมื่อใช้ PEC ช่วยในการสกัดน้ำจาก กล้วย องุ่น แอปเปิล มะม่วง มะละกอ และขนุน จะได้น้ำผลไม้ออกมาร้อยละ 60-87, 85-91, 80, 92, 85 และ 78 โดยน้ำหนักเทียบกับผลไม้สดตามลำดับ ซึ่งในผลไม้

พวกกล้วย แอปเปิล มะม่วง และขนุน เมื่อไม่ใช้เอนไซม์จะไม่สามารถสกัดน้ำออกมาได้ แต่ในองุ่นเอนไซม์จะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตที่ได้ และช่วยทำให้น้ำผลไม้ผ่านการกรองและการทำให้ใสได้ง่ายขึ้น

Jaleel, Sreekantiah และ Rao (1973) ทำการสกัดน้ำแอปเปิล 5 พันธุ์ โดยวิธีใช้แรงกดแบบธรรมดา (hydraulic press) และการใช้เพคติเนสเข้มข้น (PEC) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.6 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักเนื้อแอปเปิลบด บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง พบว่า การใช้เอนไซม์จะช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำแอปเปิลได้ถึงร้อยละ 17-35 ตามแต่ชนิดของพันธุ์

Sreekantiah, Nanjundaswamy และ Sreenath (1987) ได้ทำการทดลองใช้เซลลูเลสและเพคติเนส มาใช้ในการลดความหนืดของเนื้อมะม่วงบด พบว่า Ultrazyme 100® สามารถลดความหนืดของเนื้อมะม่วงบดได้ถึงร้อยละ 82 โดยใช้เอนไซม์เข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งที่ภาวะนี้เป็นภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ และบ่มที่ระดับ pH ของเนื้อมะม่วงเพื่อรักษาคุณภาพของเนื้อเยื่อผลไม้ การบ่มในภาวะนี้จะทำให้ได้ผลผลิตน้ำมะม่วง 21 กิโลกรัม จากเนื้อมะม่วงบด 30 กิโลกรัม ซึ่งโดยปกติถ้าไม่ใช้เอนไซม์ช่วยในการสกัดจะไม่สามารถสกัดน้ำมะม่วงออกมาได้เลย และเมื่อใช้เพคติเนสที่ผลิตได้จากเชื้อ Aspergillus carbonarius และเซลลูเลสจากเชื้อ Aspergillus oryzae พบว่า จะให้ความหนืดลดลงน้อยกว่าการใช้เอนไซม์ทางการค้า

Joshi, Chauhan และ Lal (1990) ได้ทำการทดลองใช้เพคติเนส (Pectinol®) ในการสกัดน้ำผลไม้จาก ลูกพลับ ลูกพีช และแอปปริคอต พบว่า เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมร้อยละ 0.5 จะสามารถสกัดน้ำผลไม้ได้ประมาณร้อยละ 79.0, 56.0 และ 87.1 ตามลำดับ ซึ่งการใช้เอนไซม์นอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณ และช่วยลดความหนืดของน้ำผลไม้ที่ได้แล้ว ยังพบว่าน้ำผลไม้ที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอนไซม์ จะมีกลิ่นและรสชาติไม่แตกต่างจากน้ำผลไม้ที่สกัดได้โดยไม่ผ่านการใช้เอนไซม์ อีกทั้งยังพบว่า น้ำผลไม้ที่ได้จะได้รับการยอมรับเพิ่มขึ้น เนื่องจากเอนไซม์จะช่วยให้น้ำผลไม้ใสและมีสีที่ดีขึ้น

Sreenath และ Santhanum (1992) ศึกษาการเพิ่มผลผลิตของน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ได้แก่ แคนตาลูป แตงโม ขนุน มะละกอ และมะขาม โดยใช้เพคติเนส (Pectinex Ultra SP-L®) หรือเซลลูเลส (Celluclast®) ซึ่งผลิตโดย Novo Industri A/S พบว่า เอนไซม์แต่ละชนิด สามารถเพิ่มผลผลิตของน้ำมะละกอ แคนตาลูป และแตงโม ได้เพียงเล็กน้อย คือ ประมาณร้อยละ 6-10 ในขณะที่จะเพิ่มผลผลิตของน้ำมะขามได้ร้อยละ 10-15 ส่วนขนุนนั้นไม่สามารถสกัดน้ำออกมาได้เลย แม้ว่าความหนืดของเนื้อขนุนจะลดลงก็ตาม ดังนั้นความสามารถของเพคติเนสและเซลลูเลสในการย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้ จึงขึ้นอยู่กับพันธุ์และธรรมชาติของเนื้อผลไม้ องค์ประกอบ และระดับความสุกของผลไม้นั้นๆ

นอกจากนี้ในการสกัดน้ำผลไม้ยังจำเป็นต้องมีการทำลายพอลีแซคคาไรด์ที่ผนังเซลล์พืช ซึ่งมีงานวิจัยมากมายที่สนับสนุนถึงผลการส่งเสริมกันของการใช้เซลลูเลส ร่วมกับเพคติเนส อาทิเช่น

Voragen, Heutink และ Pilnik (1980) ศึกษาการทำงานของเพคติเนสบริสุทธ์ ได้แก่ endo - polygalacturonase (PG), endo - pectinlyase (PL) และ pectinesterase (PE) และเซลลูเลสบริสุทธ์ชนิด C-1 ที่มีต่อการย่อยสลายผนังเซลล์ของแอปเปิล ซึ่งในการทดลองนี้เตรียมตัวอย่างเนื้อแอปเปิลเป็น 2 ลักษณะคือ WIS (water - insoluble solid) ซึ่งเตรียมจากเนื้อเยื่อผนังเซลล์ในส่วน cortical ซึ่งผนังเซลล์ส่วนนี้ประกอบด้วยเพคตินที่มีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลที่ถูกแทนที่ด้วยแอลกอฮอล์ต่ำ (low-esterified pectin) ตัวอย่างที่สองประกอบด้วยส่วนของของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ เรียกว่า AIS (alcohol-insoluble solid) เตรียมจากเนื้อเยื่อผนังเซลล์ในส่วน cortical ที่ผ่านการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งเนื้อเยื่อนี้ประกอบด้วยเพคตินที่มีจำนวนหมู่คาร์บอกซิลที่ถูกแทนที่ด้วยแอลกอฮอล์สูง (highly esterified pectin) นำผลผลิตจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่เป็นกลาง (neutral sugar) โดยวิธี gas-chromatography และวิเคราะห์หากรดกาแลคทูโรนิกโดยวิธี colorimetry จากการทดลองพบว่า PE ตามลำพังไม่สามารถปลดปล่อยน้ำตาลออกมาจากเพคตินได้ แต่เมื่อใช้ร่วมกับ PG พบว่า สารประกอบ ที่เป็นกาแลคทูโรแนนใน AIS ทั้งหมดจะถูกละลายออกมา สำหรับเซลลูเลส C-1 จะจำเพาะต่อเซลลูโลส และปลดปล่อยเซลโลบิโอสออกมา นอกจากนี้ พบว่าเมื่อใช้ PG ร่วมกับเซลลูเลส C-1 ย่อยสลาย WIS พบว่า มีการปลดปล่อยพอลีแซคคาไรด์ที่

I22359966

ผนังเซลล์ในส่วนของ WIS ออกมาร้อยละ 63 และเมื่อใช้เซลลูเลส C-1 ร่วมกับ PE จะปลดปล่อยพอลีแซคคาไรด์ในส่วน AIS ออกมาร้อยละ 77.5 และการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด คือ เซลลูเลส C-1, PG และ PE จะปลดปล่อยพอลีแซคคาไรด์ในส่วน AIS ออกมาถึงร้อยละ 90 ซึ่งจากการทดลองนี้จะชี้ให้เห็นว่าเซลลูเลส C-1 มีบทบาทสำคัญในการเสริมการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยสลายเพคตินในผนังเซลล์แอปเปิล

Kilara (1982) พบว่า เนื้อเยื่อผักและผลไม้ จะสามารถนำมาสกัดให้เป็นของเหลว (liquefaction) โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพคติเนสร่วมกันในการย่อยสลายเซลลูโลส และเพคตินในเซลล์ของผักและผลไม้ตามลำดับ จากการประยุกต์ใช้เอนไซม์นี้มาใช้กับเนื้อแอปเปิล แอปปริคอต หรือแครอท พบว่า เนื้อเยื่อผลไม้จะนิ่มและผนังเซลล์จะสลายมาก จากการใช้เซลลูเลสและเพคติเนสในการทดลองลดความหนืดในน้ำแอปเปิล พบว่าการใช้เพคติเนสร้อยละ 0.01 และเซลลูเลสร้อยละ 0.1 ร่วมกันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะสามารถลดความหนืดในเนื้อแอปเปิล ได้มากกว่าร้อยละ 80 และจะดีกว่าการใช้เอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว

Sreenath, Frey และ Radora (1984) ศึกษาการย่อยสลายแครอท โดยใช้เซลลูเลสจาก Trichoderma reesei ร่วมกับเพคติเนส (Rohament P®) พบว่า เมื่ออุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาเป็น 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ผลของการใช้เอนไซม์แต่ละชนิดตามลำพังสามารถย่อยสลายเนื้อเยื่อแครอทได้ประมาณร้อยละ 60 ในขณะที่เมื่อใช้เอนไซม์ทั้งสองร่วมกันทำให้การย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 80 นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้เอนไซม์ทั้งสองร่วมกันในลักษณะการทำงานพร้อมกัน อย่างต่อเนื่อง (simultaneous) จะมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ในลักษณะเรียงกันตามลำดับก่อนหลัง (sequence)

Noach (1986) ศึกษาถึงผลของสารประกอบเพคติน ต่อการทำงานของเพคติเนส เซลลูเลส และเฮมิเซลลูเลส โดยทำการทดลองกับเนื้อเยื่อส้มโอ พบว่า การใช้เพคติเนสและเซลลูเลสร่วมกัน จะทำให้น้ำตาลไซโลสและกลูโคสที่เนื้อเยื่อของส้มโอลดลงมากกว่า กรณีใช้เอนไซม์แต่ละชนิดตามลำพัง ผลของการทำงานที่เสริมกันนี้แสดงให้เห็นถึงผนังเซลล์ ที่มีลักษณะของการบดบังเซลลูโลสโดยสารประกอบเพคติน การทำลายการบดบังของสารประกอบเพคตินโดยใช้เพคติเนส จะทำให้การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้น นอก

จากนี้ยังพบว่าการทำลายการบดบังโดยการสกัดสารเพคตินออก โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์จะทำให้มีเซลลูเลสย่อยสลายเซลลูโลสได้มากขึ้น จึงสรุปได้ว่า สารประกอบเพคตินขัดขวางการทำปฏิกิริยาของเซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลส ในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสตามลำดับ

Massiot, Thibault และ Rouau (1989) ศึกษาการย่อยสลายเส้นใยแครอทพันธุ์ Daucas carota โดยใช้เพคติเนส (SP 249®) และเซลลูเลส (Celluclast®) ที่ผลิตโดยบริษัท Novo Industri A/S พบว่า การใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันจะทำให้การสลายของเส้นใยแบบเสริมกัน และทำให้พอลีแซคคาไรด์ละลายออกจากผนังเซลล์ร้อยละ 95 ซึ่งจากการวิเคราะห์และการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการละลายของน้ำตาล พบว่า พอลีเมอร์ของเพคตินจะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เซลลูโลสจะถูกย่อยสลายไปเป็นเซลโลบิโอสและกลูโคส ในอัตราที่ช้ากว่า

อรุณี เพียรทวีรัชต์ และปราณี อ่านเปรื่อง (2536) ได้ทำการประยุกต์ใช้เพคติเนส (Pectinex Ultra SP-L®) เซลลูเลส (Celluclast 1.5L®) และอะมัยเลส (Ban 240®) ทางการค้า เพื่อช่วยในการสกัดน้ำกล้วยโดยใช้กล้วยที่มีความสุกระดับ 7-8 พบว่า ภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดน้ำกล้วยหอมคือ เซลลูเลสเข้มข้นร้อยละ 0.06 ร่วมกับเพคติเนสเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักเนื้อกล้วยหอมบด และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่งโมง ซึ่งภายใต้ภาวะดังกล่าว สามารถผลิตน้ำกล้วยได้ผลผลิตประมาณร้อยละ 73 โดยน้ำหนัก (น้ำหนักกล้วยหอมทั้งหมด) สำหรับอะมัยเลสพบว่าจะไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำกล้วยหอม

วิภาดา ศุภจรรยา และปราณี อ่านเปรื่อง (2537) ได้ทดลองทำการสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้น โดยใช้เอนไซม์ทางการค้า 3 ชนิด คือ เพคติเนส (Pectinex Ultra SP-L®) เซลลูเลส (Celluclast 1.5L®) และอะมัยเลส (Rohalase M3®) พบว่า เมื่อใช้เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลส ความเข้มข้นร้อยละ 1.5, 1.0 และ 0.5 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักเนื้อทุเรียนบดบ่มภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จะให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดร้อยละ 40.45 และเมื่อทำการสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้น ภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบตามลำดับขั้น โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดร้อยละ 0.5 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักเนื้อทุเรียนบด บ่มเพคติเนสที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2

ชั่วโมง แล้วจึงเติมเซลลูเลสบ่มต่อที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมอะมัยเลสบ่มต่อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะให้ปริมาณผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนร้อยละ 44.49 แต่จะพบว่าหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่สกัดภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบตามลำดับจะมีกลิ่นไม่ดีเท่ากับกรณีของปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง ลักษณะหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่สกัดได้จะมีลักษณะใส และยังคงมีกลิ่นรสธรรมชาติของทุเรียน มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 37°Brix และมี pH เท่ากับ 6.8

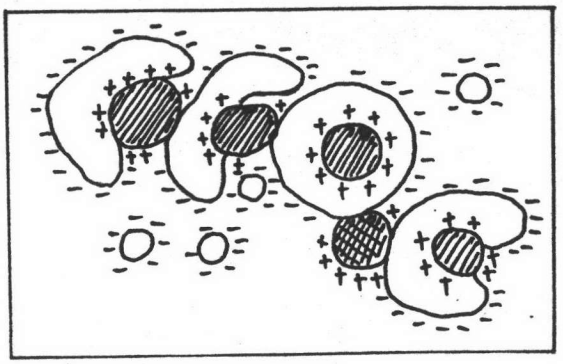
การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ ยังสามารถช่วยทำให้น้ำผลไม้ที่ได้มีความใสมากขึ้น ดังมีงานวิจัยกล่าวไว้พอสังเขปดังนี้

Yamasaki, Yasui และ Arima (1964) ได้ทำการศึกษากลไกการทำน้ำแอปเปิลให้ใส โดยการใช้เอนไซม์ พบว่า ความขุ่นในน้ำแอปเปิลเกิดจากสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเหตุผลที่เป็นเช่นนี้ สังเกตได้จากผลการทดลอง 2 ประการ คือ เมื่อเติมเพคติเนสที่ย่อยสลายเพคตินในน้ำผลไม้ขุ่น จะทำให้น้ำผลไม้ใสขึ้นหลังจากมีการตกตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนนั้น และพบว่า ส่วนของตะกอนที่เหลือจะไม่ถูกย่อยสลายด้วยโปรติเอสที่มีความจำเพาะช่วงกว้าง ประการที่สอง จากการนำตะกอนที่ได้มาวิเคราะห์ พบว่ามีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 3 ชนิด รวมทั้งกรดกาแลคทูโรนิค และเมื่อพิจารณาการทำปฏิกิริยากับคอลลอยด์ชนิดต่างๆ และผลของอิเลคโตรโฟเรซีส พบว่า พื้นผิวของสารประกอบมีประจุลบ แสดงว่าโปรตีนถูกล้อมรอบด้วยประจุลบของเพคติน ดังนั้นเมื่อเพคตินบางส่วนที่ล้อมรอบโปรตีนถูกย่อยสลายโดยเพคติเนส จะทำให้ประจุของโปรตีนแสดงออกมา โดยที่ pH 3.5 โปรตีนจะแสดงประจุบวก ดังนั้นจึงจับกับประจุลบของเพคตินข้างเคียง ที่ไม่ถูกย่อยสลายโดยเพคติเนส และเป็นผลทำให้เกิดการตกตะกอน ดังรูปที่ 2.15 (1) แต่กรณีเช่นนี้จะไม่เกิดในระบบที่มี pH 4.75 แม้จะลดความหนืดลง จนถึงจุดที่สามารถตกตะกอนได้เช่นเดียวกับที่ pH 3.5 แล้วก็ตาม แต่ก็จะไม่มีการตกตะกอนเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากที่ pH 4.75 โปรตีนแสดงประจุลบ จึงไม่สามารถจับกับประจุลบของเพคตินแล้วรวมตัวตกตะกอนได้ ดังรูปที่ 2.15(2) อย่างไรก็ตามเมื่อมีการปรับ pH ให้ได้ 3.5 โดยใช้บัฟเฟอร์ จะมีการตกตะกอนลงมาอย่างรวดเร็ว หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การตกตะกอน จะเกิดขึ้นได้ต้องมีการสะเทินของประจุไฟฟ้าสถิตย์ของอนุภาคแขวนลอยต่าง ๆ ภายในระบบ นอกจากนี้ยัง พบว่า การเติมโปรตีน เช่น เจลาติน

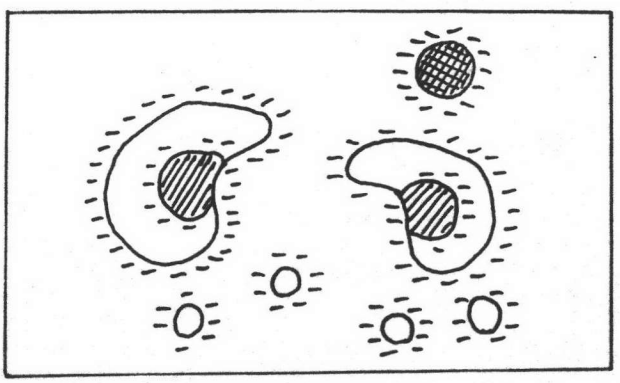
เพียงเล็กน้อย จะช่วยเร่งการตกตะกอนโดยเพคติเนสได้เร็วขึ้น เนื่องจากโปรตีนจะช่วยในการเกาะตัวซึ่งกันและกัน แต่อย่างไรก็ตาม การมีคอลลอยด์ที่มีจุดประจุลบบางชนิด เช่น โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) หรือ คาร์บอกซี่เมทธิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) จะมีผลยับยั้งการทำปฏิกิริยาการทำให้ใสได้ เนื่องจากจะเกิดปรากฏการณ์ blocking effect โดยประจุบวกของโปรตีนจะถูกบดบังหรือจับกับประจุลบของคอลลอยด์เหล่านี้ ทำให้ไม่สามารถจับกับเพคตินได้ การตกตะกอนจึงไม่เกิดขึ้น ดังรูปที่ 2.15 (3)

Yamasaki และคณะ (1967) พบว่า การทำงานร่วมกันของเพคตินเอสเธอเรส และเอนโดพอลีกาแลคทูโรเนส เป็นสิ่งจำเป็นในการทำน้ำแอปเปิลให้ใสอย่างสมบูรณ์ และการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์ตัวใดตัวหนึ่งตามลำพังมีผลต่อการทำน้ำแอปเปิลให้ใสได้น้อยมาก ในระหว่างการทำให้ใสด้วยเอนไซม์ ความหนืดจะลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะเดียวกันสารแขวนลอยในน้ำแอปเปิลจะตกตะกอนลงมาอย่างช้าๆ

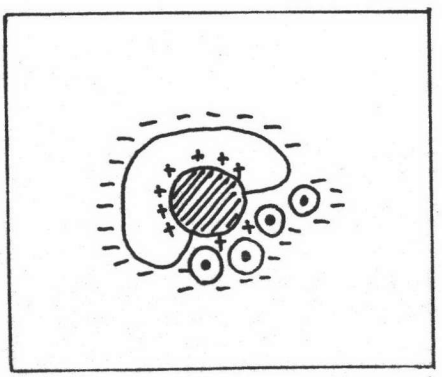
Ishii (1972) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสลายตัวของเพคติน และความใสของน้ำแอปเปิล ซึ่งผ่านการทำให้ใสด้วยเอนไซม์ pectin trans-eliminase (PTE) เข้มข้นร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่า น้ำแอปเปิลถูกทำให้ใสอย่างสมบูรณ์ภานในเวลา 60 นาที และการลดลงของปริมาณเพคติน จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับการเพิ่มของเวลา และเพคตินถูกสลายเกือบหมดภายในเวลา 4 ชั่วโมง



(1)



(2)



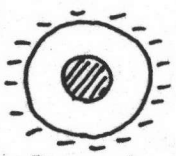
(3)

รูปที่ 2.15 ผลของประจุไฟฟ้าสถิตย์ของสารประกอบเชิงซ้อนโปรตีนและเพคติน และอนุภาคสารแขวนลอยอื่นๆ ต่อการตกตะกอน หลังจากย่อยสลายเพคตินด้วยเพคติเนส

(1) ลักษณะประจุของสารประกอบเชิงซ้อนโปรตีนและเพคตินที่ pH ต่ำกว่า 4.0

(2) ลักษณะประจุของสารประกอบเชิงซ้อนโปรตีนและเพคตินที่ pH สูงกว่า 5.0

(3) ลักษณะของการบดบัง สารประกอบเชิงซ้อนโปรตีนและเพคติน จากคอลลอยด์ที่มีประจุลบบางชนิด

เมื่อ  : สารประกอบเชิงซ้อนโปรตีนและเพคติน

: เอนไซม์หรือโปรตีน

: เพคติน

: คอลลอยด์ที่มีประจุลบอื่นๆ ที่เพคติเนสไม่สามารถย่อยสลายได้

5. การตรึงรูปเอนไซม์

5.1 นิยามของเอนไซม์ตรึงรูป

ปราณี อ่านเปรื่อง (2535) ได้อธิบายรายละเอียดของการตรึงรูปเอนไซม์ไว้ ดังนี้

เอนไซม์ตรึงรูป หมายถึง เอนไซม์ที่ถูกกำหนดหรือทำให้มาอยู่ภายในขอบเขตที่จัดไว้ และยังคงมีความไวต่อปฏิกิริยาสูงกว่าหรือน้อยกว่า หรือเท่ากับเอนไซม์เดิม รวมทั้งสามารถนำมาใช้ซ้ำหรือต่อเนื่องได้ นอกจากนี้เอนไซม์ที่ได้อาจถูกเปลี่ยนเป็นเอนไซม์ที่ละลายน้ำไม่ได้

วิวัฒนาการเรื่องการศึกษาเอนไซม์ตรึงรูปเกิดขึ้นเป็นลำดับจนปัจจุบันนี้ก็ด้วยเหตุผลที่สืบเนื่องมาจากการใช้เอนไซม์อิสระมีขีดจำกัดบางประการดังนี้ คือ

(1) เอนไซม์อิสระไม่เสถียร

(2) เอนไซม์อิสระใน *in vitro* ใช้แบบ multi-enzyme system ไม่ได้

(3) เอนไซม์อิสระจะผสมปนลงไปในสารละลายสับสเตรท และผลผลิต ทำให้แยกออกไม่ได้ และเนื่องจากการที่เอนไซม์เป็นโปรตีน เมื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร อาจจะก่อให้เกิดตะกอนเมื่อถึงระดับเมื่อถึงระดับอุณหภูมิ และ pH ของเอนไซม์ชนิดนั้น การแยกเอนไซม์ออกจำเป็นต้องใช้กรรมวิธีเพิ่มมากขึ้น

(4) เอนไซม์อิสระมีภาวะการทำปฏิกิริยาที่จำเพาะ ฉะนั้นบางครั้งอาจไม่เหมาะสมในกระบวนการแปรรูปอาหารบางชนิด หรืออุตสาหกรรมที่ต้องใช้เอนไซม์นั้นๆ

(5) เอนไซม์ส่วนใหญ่ละลายได้ในน้ำและสารละลายได้ ฉะนั้นจะนำมาใช้ในลักษณะตัวเร่งปฏิกิริยาของแข็งไม่ได้ มีผลทำให้ไม่สามารถใช้กับเครื่องปฏิกรณ์ประเภทต่างๆ เช่น ฟลูอิไดซ์เบด หรือเบดบรรจุ ในระบบต่อเนื่องได้ จึงใช้ได้เพียงครั้งเดียว

(6) เอนไซม์อิสระในเซลล์จุลินทรีย์ เมื่อนำมาใช้งานต้องผ่านกระบวนการสกัด และทำให้บริสุทธิ์ก่อน

(7) เอนไซม์อิสระก่อพิษต่อผู้ใช้ ในลักษณะของการสูดหายใจ การสัมผัสในปริมาณมาก

ด้วยขีดจำกัดทั้ง 7 ประการดังกล่าว จึงมีการพัฒนาการแก้ปัญหา ด้วยการนำเทคโนโลยีเอนไซม์ตรึงรูปมาใช้ ด้วยวิธีการต่างๆ และแก้ปัญหาไปตามลักษณะของเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้ ถ้าหากสามารถแก้ปัญหาได้ทั้งหมดก็นับว่าประสบผลสำเร็จอย่างยิ่ง ซึ่งในบางครั้งการเตรียมและการใช้เอนไซม์ตรึงรูปก็อาจจะมีผลกระทบบางประการดังนี้

5.1.1 ข้อได้เปรียบของการใช้เอนไซม์ตรึงรูป

(1) มีโอกาสเพิ่มแอคติวิตีและเสถียรภาพของเอนไซม์ได้ ถ้าวิธีเหมาะสม

(2) ใช้กับระบบ multi-enzyme ในลักษณะ *in vitro* ได้

(3) ใช้ซ้ำ ใช้ต่อเนื่อง ใช้เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ได้

(4) ใช้ภาวะการทำปฏิกิริยาที่ต่างไปจากเอนไซม์เดิมได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดตัวพยุงและวิธีการการตรึงรูป

(5) ใช้ให้เหมาะสมกับเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ได้ ทั้งนี้ขึ้นกับรูปร่างตัวพยุงและลักษณะของสับสเตรท

(6) เอนไซม์ที่นำมาตรึงรูป ไม่ต้องทำให้บริสุทธิ์ก็สามารถทำงานได้ดี ทั้งนี้ขึ้นกับวิธีการตรึงรูป

5.1.2 ข้อเสียเปรียบบางประการ

(1) แอคติวิตีอาจถูกกระทบกระเทือน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของเอนไซม์

(2) ตัวพยุงที่ไม่เหมาะสมอาจจะมีผลกระทบต่อผลผลิต

5.2 กรรมวิธีการตรึงรูปเอนไซม์

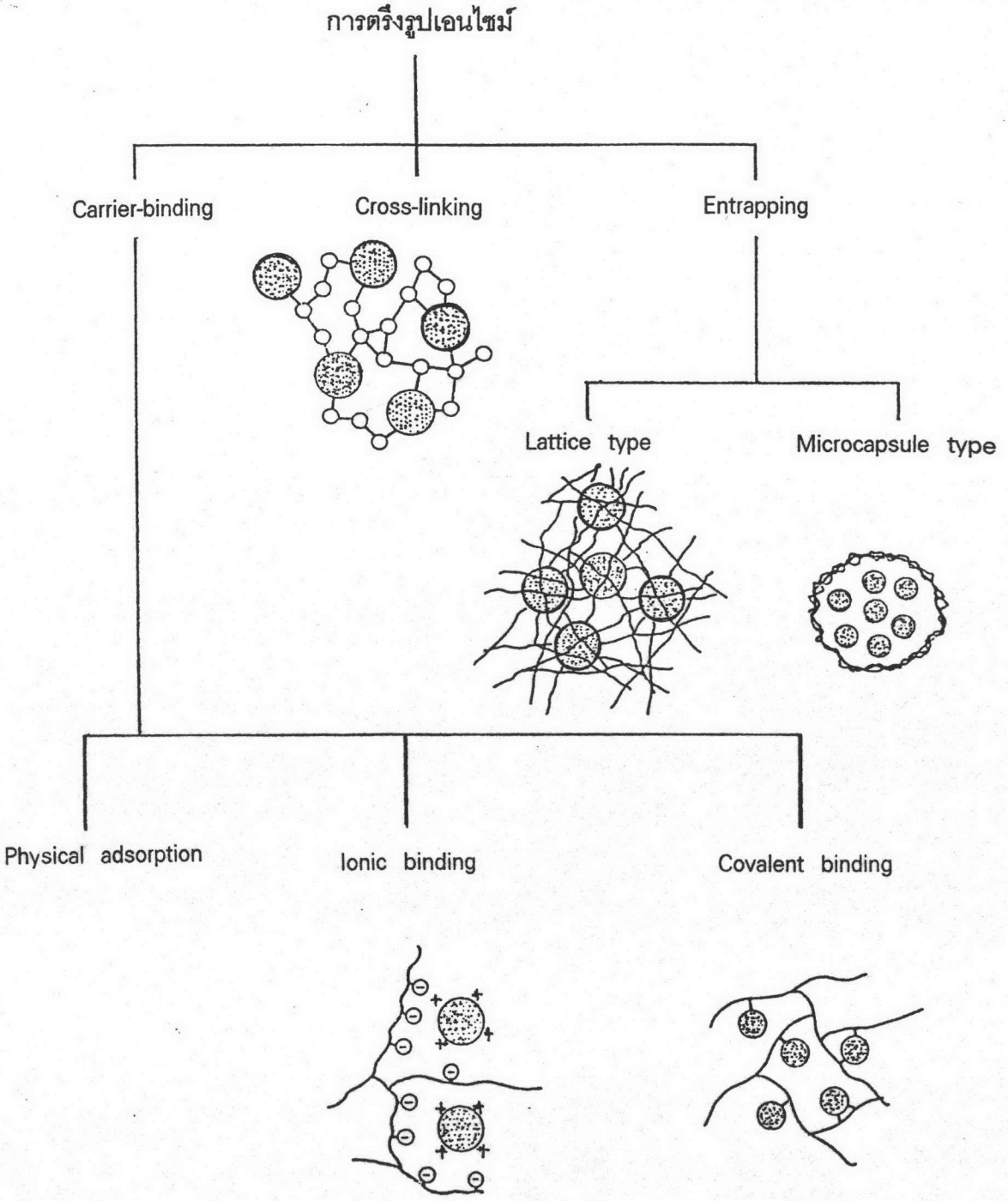
กรรมวิธีการตรึงรูปเอนไซม์แบ่งออกเป็น 3 วิธีใหญ่ๆ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535) ตามแผนภูมิรูปที่ 2.16 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

5.2.1 การเชื่อมกับตัวพยุง (Carrier-binding method)

หมายถึงการเชื่อมเอนไซม์กับตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำ ปัจจัยสำคัญของวิธีนี้คือการเลือกชนิดของตัวพยุงและการวิธีการเชื่อมเอนไซม์กับตัวพยุง ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 3 วิธีตามลักษณะการเชื่อมกับเอนไซม์ดังนี้

5.2.1.1 การดูดซับทางกายภาพ

วิธีนี้เป็นการดูดซับของเอนไซม์โปรตีนบนผิวของตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำ วิธีนี้มีผลกระทบเล็กน้อย หรือไม่มีเลยต่อการเปลี่ยนความคงรูปของเอนไซม์โปรตีน และมีผลกระทบต่อการทำลายบริเวณเร่งน้อย ไม่ซับซ้อน แต่จะมีข้อเสียคือ เอนไซม์กับตัวพยุงเกาะกันไม่แน่นเพราะมีแรงที่เกาะกันอ่อน



รูปที่ 2.16 กระบวนการทำเอนไซม์ตรึงรูป

เมื่อ enzyme molecule

polymer matrix

5.2.1.2 การเชื่อมแบบอิออนิค

หมายถึงการเชื่อมระหว่างโปรตีนเอนไซม์กับตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำ โดยพันธะอิออนิค วิธีนี้มีผลกระทบต่อแอคติวิตีของเอนไซม์น้อย ทั้งด้านการเปลี่ยนโครงรูป และการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณเร่ง มีข้อเสียที่แรงเกาะอ่อน ทำให้เอนไซม์หลุดง่ายในระหว่างปฏิกิริยาที่มีความเข้มของอิออนิคสูง หรือเปลี่ยน pH

5.2.1.3 การเชื่อมแบบโควาเลนต์

หมายถึงการเชื่อมเอนไซม์กับตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำ ด้วยพันธะโควาเลนต์ วิธีนี้ได้ถูกนำมาใช้มากที่สุด แต่การเกิดพันธะโควาเลนต์ค่อนข้างจะซับซ้อนและปฏิกิริยาไม่ค่อยนุ่มนวล ดังนั้นในบางครั้งการเกิดพันธะโควาเลนต์ จะไปกระทบกระเทือนต่อการเปลี่ยนโครงรูปและศูนย์กลางบริเวณเร่งของเอนไซม์ ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์ลดความไวต่อปฏิกิริยา และยังอาจจะเปลี่ยนความจำเพาะต่อสับสเตรท แต่แรงเกาะกันระหว่างเอนไซม์ กับตัวพยุงค่อนข้างจะแข็งแรง เอนไซม์จะหลุดจากการเกาะเกี่ยวกับตัวพยุงได้ยาก แม้ว่าจะอยู่ในภาวะของสารละลายเกลือที่มีความแรงอิออนสูงก็ตาม

5.2.2 <u>วิธีเชื่อมขวาง</u> (Cross-linking method)

หมายถึงการเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ โดยใช้ตัวกลางเชื่อมระหว่าง 2 โมเลกุล (bifunctional reagent) หรือตัวกลางเชื่อมระหว่างหลายโมเลกุล (multifunctional reagent)

5.2.3 <u>วิธีห่อหุ้ม</u> (Entrapping method)

หมายถึงการบรรจุเอนไซม์ลงในช่องว่างของตาข่ายพอลีเมอร์ หรือห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ด้วยเมมเบรนที่ยอมให้มีสารซึมผ่านได้บางส่วน ดังนั้นจึงแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ บรรจุในตาข่าย (lattic type) และห่อหุ้มในแคปซูลเล็ก (microcapsule type) วิธีนี้แตกต่างจากวิธีเชื่อมแบบพันธะโควาเลนต์และวิธีเชื่อมขวาง คือ เอนไซม์ไม่เชื่อมกับเจลของตาข่ายหรือเมมเบรนที่ห่อหุ้ม ด้วยเหตุนี้วิธีนี้จึงได้รับนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย แม้ว่าปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้เกิดสารพอลีเมอร์สำหรับห่อหุ้มนั้นต้องการภาวะที่รุนแรงมาก อาจจะมีผลกระทบต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ จึงต้องเลือกหาภาวะที่มีผลกระทบน้อยที่สุด

6. <u>การตรึงรูปเพคติเนสและเซลลูเลสบนตัวพยุงต่างๆ</u>

ได้มีงานวิจัยที่กล่าวถึงการตรึงรูปเพคติเนสและเซลลูเลสบนตัวพยุงชนิดต่างๆ และยังได้กล่าวถึงสมบัติของอนไซม์ตรึงรูปที่เตรียมได้ รวมทั้งการนำไปใช้ประโยชน์ต่างๆ พอจะรวบรวมมากล่าวไว้พอสังเขปดังนี้

Benkova, Omelkova และ Kubanex (1982) ทดลองตรึงรูป endo-D-galacturonase ที่ผลิตได้จาก Aspergillus sp. บน polyethyleneterephthelate ด้วยวิธีดูดซับ พบว่า เอนไซม์ตรึงรูปที่เตรียมได้จะมีแอคติวิตีจำเพาะเทียบเป็นร้อยละ 42.4 ของเอนไซม์อิสระ เมื่อตรึงรูปเอนไซม์ 5.25 มิลลิกรัมต่อกรัมตังพยุง และเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้นี้ จะมีเสถียรภาพการเก็บนานกว่า 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยที่แอคติวิตีจะลดลงในช่วง 1-2 วันแรก ร้อยละ 12-15 หลังจากนั้นแอคติวิตีของเอนไซม์ตรึงรูปจะค่อนข้างคงที่ ค่า Km ของเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้จะมีค่าต่ำกว่าเอนไซม์อิสระ นั่นคือเอนไซม์ตรึงรูปจะมีความจำเพาะต่อสับสเตรทมากกว่าเอนไซม์อิสระนั่นเอง

Heinrichova, Lehoczki และ Zliechovcova (1986) ทำการทดลองตรึงรูปเอนไซม์ endo-D-galacturonase ที่สกัดได้จากแครอท บน Biogel CM100 โดยวิธีกระตุ้นตัวพยุงด้วย carbodiimides พบว่า เอนไซม์ตรึงรูปจะมีแอคติวิตีเทียบเป็นร้อยละ 43 ของเอนไซม์อิสระ และมี pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาที่ pH 5.3 และ 50 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เอนไซม์ตรึงรูปจะมีเสถียรภาพต่อความร้อนดีกว่าเอนไซม์อิสระ และมี Km เพิ่มขึ้นจาก 1.155×10^{-5} โมลต่อลิตร เป็น 8.7427×10^{-5} โมลต่อลิตร เนื่องมาจากการเกิดการบดบัง (steric effect) ของหมู่ที่ไวต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์นั่นเอง

Pifferi และ Spagna (1987) ได้ทดลองตรึงรูปเอนโดพอลีกาแลคทูโรเนส บนตัวพยุงหลายชนิด ได้แก่ cellulose, PVP, nylon-6, Biogel, silica propanediol, silica และ γ-alumina โดยกระตุ้นตัวพยุงด้วยเกลือไททาเนียมคลอไรด์ ($TiCl_3$) พบว่า pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูปจะอยู่ในช่วง 3.0-4.0 แล้วแต่ชนิดของตัวพยุง ซึ่งต่ำกว่าเอนไซม์อิสระ และเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้จะมีเสถียรภาพทั้งต่ออุณหภูมิและ pH ได้ดีกว่าเอนไซม์อิสระ

Lozano และคณะ (1987) พัฒนาวิธีการตรึงรูปเพคติเนสบน ไนลอนพอลีเอทธิลีน-ไอมีนโคพอลีเมอร์ (nylon polyethyleneimine copolymer) เพื่อทำน้ำแอปปริคอตให้ใส ซึ่งเตรียมโดยใช้เม็ดไนลอน 6 เป็นตัวพยุง แล้วใช้ triethyloxonium tetrafluoroborate (TOTFB) เป็นตัวกระตุ้นให้เม็ดไนลอน 6 ไวต่อปฏิกิริยา แล้วจึงเคลือบด้วย พอลีเอทธิลีนไอมีน (PEI) ที่เป็นพอลีเมอร์ที่เสถียรมาก และมีบริเวณจับกับหมู่ที่ไวต่อปฏิกิริยาของโปรตีนมากกว่าตัวพยุงที่มีรูพรุนอื่นๆ จากนั้นใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวาง ระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุงอนุพันธ์ไนลอน-PEI พบว่า เพคติเนสตรึงรูปที่เตรียมได้มีประสิทธภาพในการทำงานค่อนข้างต่ำ เนื่องจากมีข้อจำกัดในการเข้าย่อยสลายสับสเตรท ซึ่งจะย่อยสลายเฉพาะพื้นผิวภายนอกของสับสเตรทที่เอนไซม์สามารถเข้าถึงได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเอนไซม์ตรึงรูปนี้มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานใกล้เคียงกับ pH ของน้ำแอปปริคอตและมีความเสถียรต่อการเสียสภาพธรรมชาติที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดวิกฤตได้ และเอนไซม์ตรึงรูปนี้มีค่าครึ่งชีวิตในการใช้งาน 8 วัน และพบว่าค่าแอคติวิตีที่เหลืออยู่หลังจาก 8 วันนั้น เมื่อนำมาใช้ในระบบการทำงานแบบต่อเนื่อง พบว่ามีแอคติวิตีเพียงพอที่จะทำน้ำแอปปริคอตให้ใสได้ ดังนั้นประสิทธิภาพของระบบจึงค่อนข้างสูง นอกจากนี้ ค่าแอคติวิตีที่เหลืออยู่ของเพคติเนสตรึงรูปบนไนลอนนี้มีแนวโน้มที่จะเสถียรเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งเป็นข้อที่ได้เปรียบของเอนไซม์ตรึงรูปที่เตรียมได้ นั่นคือ อายุการใช้งานของเพคติเนสตรึงรูปจะยาวนานกว่าอายุที่ได้จากการเทียบค่าครึ่งชีวิตที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น

Romero, Manjon และ Iborra (1988) ศึกษาการตรึงรูปเพคตินเอสเธอเรส (PE) ร่วมกับพอลีกาแลคทูโรเนส (PG) บนแก้วที่ควบคุมขนาดของรู ซึ่งกระตุ้นตัวพยุงให้มีหมู่ที่ไวปฏิกิริยากับโมเลกุลของเอนไซม์โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของกรดพีรีออดิค (periodic acid) และอนุพันธ์ ได้เป็น acylamine-glass จากนั้นจึงกระตุ้นด้วยกรดไนตรัสก่อนนำเอนไซม์มาตรึงรูป พบว่าเมื่อตรึงรูป PE ร่วมกับ PG พบว่าค่าแอคติวิตีของ PE จะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งเป็นเพราะ PE ตรึงรูปที่ได้ จะไม่ถูกยับยั้งโดยกรดพอลีกาแลทูโรนิก เหมือนในกรณีของ PE อิสระ นับได้ว่าเป็นข้อได้เปรียบของ PE ตรึงรูป นอกจากนี้ พบว่า อนุพันธ์เอนไซม์ตรึงรูปของ aminoaryl-glass - PE ที่ได้ยังคงไวต่อปฏิกิริยา อาจเนื่องมาจากการตรึงรูปดังกล่าวไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ปลายไทโรซิล (tyrosyl residues) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์เหมือนกับกรณีที่เกิดกับการตรึงรูปเอนไซม์บนอนุพันธ์อื่น กล่าวคือ เพคติเนสตรึงรูปโดยวิธีดังกล่าวมีแอคติวิตีในการกำจัดหมู่เมทธิลเอสธอร์ออกจากโมเลกุลเพคติน ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 290,000 ได้ร้อยละ 45 ในขณะที่มีแอคติวิตีกับโมเลกุลเพคตินสังเคราะห์ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 34,000 ได้

ร้อยละ 94 นอกจากนี้ พบว่า การตรึงรูปเอนไซม์ทั้งสองร่วมกันจะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าการตรึงรูปแยกกันแล้วนำมาใช้ร่วมกัน แต่มีข้อจำกัดทางการแพร่ภายใน (internal diffusion limitation) ซึ่งจะทำให้มีความเข้มข้นของกรดเพคติกบริเวณรอบ PG สูงขึ้น ซึ่งทำให้ช่วยลดเวลาในการสัมผัสของ PG และสับสเตรท เป็นผลให้แอคติวิตีของ PG เมื่อตรึงรูปร่วมกับ PE สูงกว่ากรณีที่ตรึง PG โดยลำพัง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์ทั้งสองร่วมกันในลักษณะของเอนไซม์อิสระ พบว่า การใช้ในรูปเอนไซม์อิสระมีความสามารถในการลดความหนืดดีที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากการตรึงรูปเพคติเนส จะทำให้เอนไซม์มีกลไกการตัดสายพอลีเมอร์ในลักษณะตัดปลายสาย (exo-form) ซึ่งทำให้จำเป็นต้องมีการไฮโดรไลซ์ พันธะไกลโคซิดิคในเพคตินมากกว่าในกรณีของเอนไซม์อิสระ เพื่อที่จะมีการลดลงของความหนืดอยู่ที่ระดับเดียวกัน

Tureckek และคณะ (1990) ได้ทำการศึกษาการตรึงรูปเอนไซม์เชิงซ้อนของ เพคติเนส (Pectinex 3XL®) อะมัยเลส (Amylase AG 150L®) และนารินจิเนส (จากเชื้อรา Penicillium) บนตัวพยุงเม็ดแก้วที่ควบคุมขนาดของรูพรุน พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปเชิงซ้อนที่ได้จะมี pH ที่เหมาะสมสำหรับการทำปฏิกิริยาที่กว้างกว่าเอนไซม์อิสระ และเมื่อนำกลับมาใช้ใหม่ในช่วง pH 2-7 จะไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ เอนไซม์ตรึงรูปที่เตรียมได้สามารถนำมาใช้กำจัดความขุ่นของน้ำแอปเปิล และลดความขมของน้ำส้มได้

Bissett และ Sternberg (1978) ทดลองตรึงรูปเอนไซม์ β - glucosidase ที่ได้จากเชื้อ Aspergillus phoenicis QM 329 บนตัวพยุงไคโตแซน โดยใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวางระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุง พบว่า ปริมาณเอนไซม์ต่อตัวพยุงไคโตแซนที่ 1:2.5 โดยน้ำหนักจะให้แอคติวิตีของเอนไซม์ตรึงรูปสูงที่สุด และถ้าเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้น จะมีผลทำให้แอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปลดต่ำลง เนื่องมาจากการถูกบดบัง (steric effect) ของหมู่ที่ไวต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูปนั่นเอง และยังพบว่า เอนไซม์ตรึงรูปที่เตรียมได้จะสามารถลดพลังงานกระตุ้นของการเกิดปฏิกิริยาได้ โดยที่เอนไซม์ตรึงรูปและเอนไซม์อิสระจะมีพลังงานกระตุ้นของการเกิดปฏิกิริยาเท่ากับ 7.93 และ 11.95 กิโลแคลโลรี่/โมล ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า เอนไซม์ตรึงรูปที่ได้ จะมีค่า Km สูงขึ้น อันเนื่องมาจากปัญหาของการถ่ายเทมวลสาร (mass transfer) และกลูโคสในผลผลิตของปฏิกิริยาจะเป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูปเช่นเดียวกับในเอนไซม์อิสระอีกด้วย แต่เอนไซม์ตรึงรูปที่ได้จะมีเสถียรภาพต่ออุณหภูมิและ pH ที่สูงกว่าเอนไซม์อิสระ และยังสามารถใช้ในช่วง pH ที่กว้างกว่าด้วย

Fadda และคณะ (1984) ศึกษาการตรึงเซลลูเลสที่สกัดได้จาก Trichoderma viride บนตัวพยุง 3 ชนิดคือ CN-Br sepharose, Concanavalin-A-sepharose 4B (ConA-sepharose) และ CN-Br glass-beads พบว่าการตรึงรูปเซลลูเลสบนตัวพยุง ConA-sepharose จะให้ผลดีที่สุดและมีค่า Km ต่ำกว่าเซลลูเลสอิสระเล็กน้อย นั่นหมายความว่าการตรึงรูปดังกล่าวจะช่วยให้เซลลูเลสตรึงรูปมีความจำเพาะต่อสับสเตรทมากกว่าเซลลูเลสอิสระ นอกจากนี้พบว่าเซลลูเลสตรึงรูปบนตัวพยุงทั้งสาม มีความต้านทานต่อการยับยั้งการทำงาน โดยน้ำตาลกลูโคส และเซลโลบิโอสได้ดีกว่าเซลลูเลสอิสระ และยังสามารถย่อยสลายสารประกอบเชิงซ้อนของลิกนินและเซลลูโลส (lignocellulose) ในธรรมชาติ 3 ชนิด ได้แก่ หญ้า เปลือกข้าวสาลี และใบสนได้ดีกว่าเซลลูเลสอิสระด้วย สำหรับเซลลูเลสตรึงรูปบน ConA-sepharose หลังจากนำมาใช้งานซ้ำเป็นจำนวน 5 ครั้ง พบว่าเซลลูเลสตรึงรูปสูญเสียแอคติวิตีไปร้อยละ 30-50

Roy, Roy และ Dube (1984) ศึกษาการตรึงรูปเซลลูเลสที่สกัดจาก Macrophomina phaseolina บนตัวพยุงประเภท acrylamide polymer พบว่าเซลลูเลสตรึงรูปที่ได้ มีแอคติวิตีต่อเซลลูโลสที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น เส้นใยผ้าฝ้าย ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ และจากการศึกษาด้านจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ พบว่า เซลลูเลสตรึงรูปดังกล่าวมีค่า Km สูงกว่าเอนไซม์อิสระ ค่า Km ที่เพิ่มขึ้นนี้ อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดทางด้านการแพร่ของเซลลูเลสตรึงรูป แต่อย่างไรก็ตามเซลลูเลสตรึงรูปดังกล่าวมีเสถียรภาพของการใช้งานดีมาก โดยไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีเมื่อผ่านการใช้ซ้ำ 25-29 ครั้ง

Wongkhalaung และคณะ (1985) ศึกษาการตรึงรูปเซลลูเลสที่สกัดจาก Aspergillus niger บนเดกซ์เตรน ที่กระตุ้นด้วยไซยาโนเจนโบรไมด์ พบว่า ระดับของไซยาโนเจนโบรไมด์ในการกระตุ้นเดกซ์เตรนที่เหมาะสม คือ 25 มิลลิกรัมต่อเดกซ์เตรน (น้ำหนักโมเลกุล 1.7×10^5-2×10^5) 370 มิลลิกรัม ที่ภาวะดังกล่าว มีการจับกันระหว่างเซลลูเลสกับตัวพยุงร้อยละ 50 และมีแอคติวิตีเทียบเป็นร้อยละ 70 ของเซลลูเลสอิสระ โดยที่เซลลูเลสตรึงรูปที่ได้มี pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับเซลลูเลสอิสระคือ 4.0 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่า เซลลูเลสตรึงรูปมีความเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลง pH และอุณหภูมิดีกว่าเซลลูเลสอิสระ

Rogalski และคณะ (1985) ศึกษาการตรึงรูปเซลลูเลสที่สกัดจากเชื้อ Aspergillus terreus F-413 บนแก้วพรุน โดยใช้ 3-aminopropyltriethoxysilane เป็นตัวกระตุ้น และใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวางระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุง พบว่าเซลลูเลสตรึงรูปมีปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ย 23 มิลลิกรัมต่อแก้วพรุน 1 กรัม โดยเซลลูเลสตรึงรูปที่ได้มีแอคติวิตีเทียบเป็นร้อยละ 71.6-98.1 ของเซลลูเลสอิสระ มี pH ที่เหมาะสมในการทำงานเท่ากันคือ pH 5.0 สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเซลลูเลสตรึงรูปและเซลลูเลสอิสระเท่ากับ 45 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

Shimizu และ Ishihara (1987) ศึกษาการตรึงรูปเซลลูเลสบนตัวพยุง แก้วซิลิกา อะลูมินา และไททาเนียม โดยการกระตุ้นตัวพยุงด้วย titanium tetrachloride ($TiCl_4$) และ 3-aminopropyltriethoxysilane (APTS) และใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวางระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุงที่ถูกกระตุ้น พบว่า จำนวนของเซลลูเลสที่ถูกตรึงรูปจะอยู่ในช่วง 10-15 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวพยุง ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวพยุง และวิธีการตรึงรูป ซึ่งการตรึงรูปเซลลูเลสบนซิลิกาโดยกระตุ้นด้วย APTS จะมีปริมาณเอนไซม์ที่ถูกตรึงรูปมากกว่าการกระตุ้นด้วย $TiCl_4$ อยู่ประมาณ 17 มิลลิกรัมเอนไซม์ต่อกรัมแก้วซิลิกา

Sriputtirut และ Anprung (1989) ศึกษาการเตรียมเซลลูเลสเชิงซ้อนตรึงรูปบนทราย พบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมเซลลูเลสและเซลโลบิเอส ตรึงรูปแบบเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์ โดยใช้สารละลาย APTS เข้มข้นร้อยละ 5 เป็นตัวกระตุ้นตัวพยุงให้มีหมู่ที่ไวต่อปฏิกิริยา และใช้กลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 2 เป็นสารสร้างพันธะร่วม และสัดส่วนโดยน้ำหนักของเซลลูเลสและเซลโลบิเอสในเซลลูเลสเชิงซ้อนเป็น 2:1 จากการเตรียมภายใต้ภาวะดังกล่าว หลังจากนำมาย่อยสลายสับสเตรทที่เป็นเซลลูโลส พบว่า ไม่มีเอนไซม์หลุดออกจากตัวพยุง และจากการศึกษาทางด้านสมบัติทางจลนพลศาสตร์ของเซลลูเลสเชิงซ้อนตรึงรูป พบว่ามีอุณหภูมิที่เหมาะสม ในการทำงานที่อุณหภูมิเดียวกับ เซลลูเลสเชิงซ้อนอิสระ คือ ที่ 50 องศาเซลเซียส และมี pH ที่เหมาะสมในการทำงานเคลื่อนไปทางด่าง 1 หน่วย นอกจากนี้ยังพบว่า เซลลูเลสเชิงซ้อนตรึงรูปมีความเสถียรต่อการเก็บที่อุณหภูมิห้องมากกว่าเซลลูเลสเชิงซ้อนอิสระ

7. เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป

เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปสามารถแบ่งตามประเภทของการทำงานและลักษณะการไหลของสับสเตรทและผลผลิต (Chibata, 1978) ดังนี้

7.1 เครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวน (Stirred tank reactor)

สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ ตามลักษณะของการทำงานดังนี้คือ

7.1.1 เครื่องปฏิกรณ์ถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง

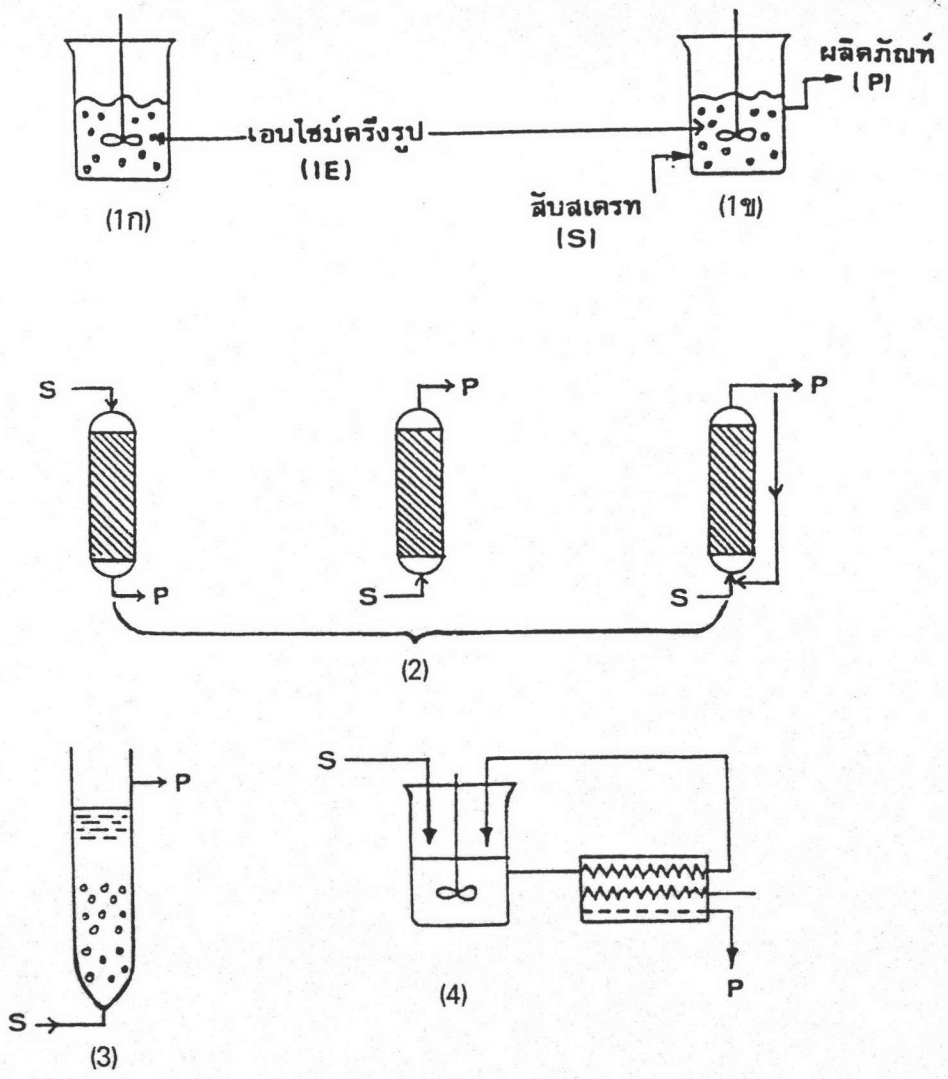
เป็นถังปฏิกิริยาธรรมดาที่มีตัวปั่น แสดงดังรูปที่ 2.17 (1ก) เหมาะสำหรับสับสเตรทที่มีความหนืดสูงและเอนไซม์ตรึงรูปที่มีแอคติวิตีต่ำ ข้อเสียของเครื่องปฏิกรณ์ชนิดนี้คือ การเสียสภาพของเอนไซม์ตรึงรูป เนื่องจากการถูกทำลายทางกายภาพ จากการเสียดสีกับตัวปั่น

7.1.2 เครื่องปฏิกรณ์ถังกวนแบบต่อเนื่อง

เครื่องปฏิกรณ์ถังกวนแบบต่อเนื่องแสดงดังรูปที่ 2.17 (1ข) มีข้อได้เปรียบในด้านการควบคุม pH และการเปลี่ยนเอนไซม์ทำได้ง่าย เหมาะสำหรับเอนไซม์ตรึงรูปที่มีค่าครึ่งชีวิตต่ำ มีประสิทธิภาพดีกว่าแบบไม่ต่อเนื่อง

7.2 เครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ (Packed bed reactor)

เครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ ที่นิยมใช้สำหรับเอนไซม์หรือเซลล์ตรึงรูป แสดงดังรูปที่ 2.17 (2ก 2ข และ 2ค) ซึ่งแตกต่างกันตามทิศทางการไหลของสับสเตรท โดยทั่วไปมักจะป้อนสับสเตรทแบบไหลขึ้น เนื่องจากการไหลลงอาจทำให้เกิดการอัดแน่นของเอนไซม์ตรึงรูปได้ สับสเตรทที่ใช้ไม่ควรมีความหนืดสูง เพราะจะทำให้เกิดความดันลดสูงมาก ข้อเสียของเครื่องปฏิกรณ์แบบนี้คือมีราคาแพง เปลี่ยนเอนไซม์ยาก ไม่เหมาะกับเอนไซม์ตรึงรูปที่มีค่าครึ่งชีวิตต่ำ และยากต่อการควบคุม pH ให้สม่ำเสมอตลอดคอลัมน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ ปฏิกิริยามีการปลดปล่อยกรดหรือด่าง อย่างไรก็ตามข้อดีของเครื่องปฏิกรณ์นี้คือ มีประสิทธิภาพสูงในการเปลี่ยนสับสเตรท เป็นผลิตภัณฑ์ ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยานั้นจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ก็ตาม ง่ายต่อการควบคุมแบบอัตโนมัติ ลดค่าแรงงาน มีเสถียรภาพในการใช้งาน และง่ายต่อการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์



รูปที่ 2.17 เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป

1 = เครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวน (1ก = เครื่องปฏิกรณ์ถังกวนไม่ต่อเนื่อง
1ข = เครื่องปฏิกรณ์ถังกวนต่อเนื่อง)

2 = เครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ (2ก = แบบไหลลง
2ข = แบบไหลขึ้น
2ค = แบบไหลวนซ้ำ)

3 = เครื่องปฏิกรณ์แบบฟลูอิไดซ์เบด

4 = เครื่องปฏิกรณ์แบบเยื่อกรองบาง

7.3 เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิไดซ์เบด (Fluidized bed reactor)

เครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิไดซ์เบด เหมาะสำหรับสับสเตรทที่มีความหนืดสูง หรือสับสเตรทหรือผลิตภัณฑ์ที่เป็นก๊าซ แสดงดังรูปที่ 2.17 (3) เครื่องปฏิกรณ์ชนิดนี้มีข้อได้เปรียบกว่าเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดบรรจุ ในแง่การถ่ายเทความร้อนและการถ่ายเทมวล เนื่องจากลักษณะการไหลของของไหลในคอลัมน์ จากเหตุผลดังกล่าวทำให้เอนไซม์ตรึงรูปมีแอคติวิตีสูงในการทำปฏิกิริยากับสับสเตรท

7.4 เครื่องปฏิกรณ์แบบเยื่อกรองบาง (Ultrafiltration membrane devices)

เครื่องปฏิกรณ์แบบเยื่อกรองบางแสดงดังรูปที่ 2.17 (4) เหมาะสำหรับสับสเตรทที่มีโมเลกุลสูง และผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

8. ฟลูอิไดเซชั่น

8.1 นิยามของฟลูอิไดเซชั่น

สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ (2532) อธิบายว่า ฟลูอิไดเซชั่น คือ กระบวนการที่ของไหล ซึ่งได้แก่ ของเหลว และก๊าซ ทำให้อนุภาคของของแข็งเกิดการเคลื่อนไหวแบบของไหล

ลักษณะทั่วไปของการเกิดฟลูอิไดเซชั่น จะเกิดภายในภาชนะ ซึ่งนิยมใช้รูปทรงกระบอกบรรจุไว้ด้วยอนุภาคของของแข็ง ซึ่งวางอยู่บนแผ่นกระจายตัว (distributor) ซึ่งอาจเป็นแผ่นวัสดุที่มีรูพรุน เช่น แผ่นเซรามิค หรือโลหะเจาะรูเล็กๆ หรือตะแกรงถี่ ชั้นของอนุภาคนี้เรียกว่า เบด (bed) เมื่อให้ของไหลผ่านเบด ความดันของของไหลจะลดลงเนื่องจากแรงเสียดทานระหว่างของไหลกับผนังภาชนะและแรงเสียดทานระหว่างของไหลกับอนุภาคของแข็ง ความดันของของไหลที่ลดลงหมายถึง พลังงานจลน์ที่สูญเสียไปเนื่องจากการไหลผ่านภาชนะที่บรรจุอนุภาคของแข็ง แต่ความดันลดลงมากขึ้น เมื่อเพิ่มความเร็วของของไหล ขณะที่ความเร็วต่ำเบดจะไม่มีการเคลื่อนไหว เนื่องจากแรงที่กระทำต่ออนุภาคอยู่ในลักษณะสมดุล อนุภาคพยายามจัดเรียงตัวใหม่เพื่อให้เกิดแรงต้านต่อการไหลลดน้อยลงที่สุด เป็นผลให้อนุภาคเกิดการเคลื่อนไหว ขณะเดียวกันเบดจะมีการขยายตัว ทำให้ความสูงของเบดเพิ่มขึ้น ความดันที่วัดได้ขณะนี้จะมีค่าเท่ากับน้ำหนักของอนุภาคหารด้วยพื้นที่หน้าตัดของเบด เมื่อเพิ่มความเร็วต่อไปอีกเบดจะมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แต่ความดันที่วัดได้มีค่าคงที่เท่ากับน้ำหนักของเบดหารด้วย

พื้นที่หน้าตัดและหากเพิ่มความเร็วต่อไปอีก จนกระทั่งความเร็วของของไหลมีค่าเท่ากับความเร็วที่อนุภาคตกอย่างอิสระ (free falling velocity หรือ terminal velocity) อนุภาคจะหลุดออกจากภาชนะไปพร้อมกับการไหล

8.2 ข้อได้เปรียบและเสียเปรียบของฟลูอิไดเซชั่น

8.2.1 ข้อได้เปรียบ

(1) เนื่องจากเม็ดของแข็งเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา ทำให้เกิดการผสมกันของสารปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ อุณหภูมิภายในเบดคงที่ตลอด

(2) พื้นที่สัมผัสระหว่างเม็ดของแข็งกับของไหลจะมีมากกว่าเมื่อเทียบกับเบดนิ่งที่ใช้เม็ดของแข็งจำนวนเท่ากัน จึงมีประโยชน์ในการขยายงานที่มีทั้งงานถ่ายเทความร้อนและการถ่ายเทมวลสาร

(3) การทำงานด้วยฟลูอิไดซ์เบดจะเสียพลังงานน้อยกว่า เพราะแรงเสียดทานและความดันตกของเบดน้อยกว่าเบดบรรจุมาก

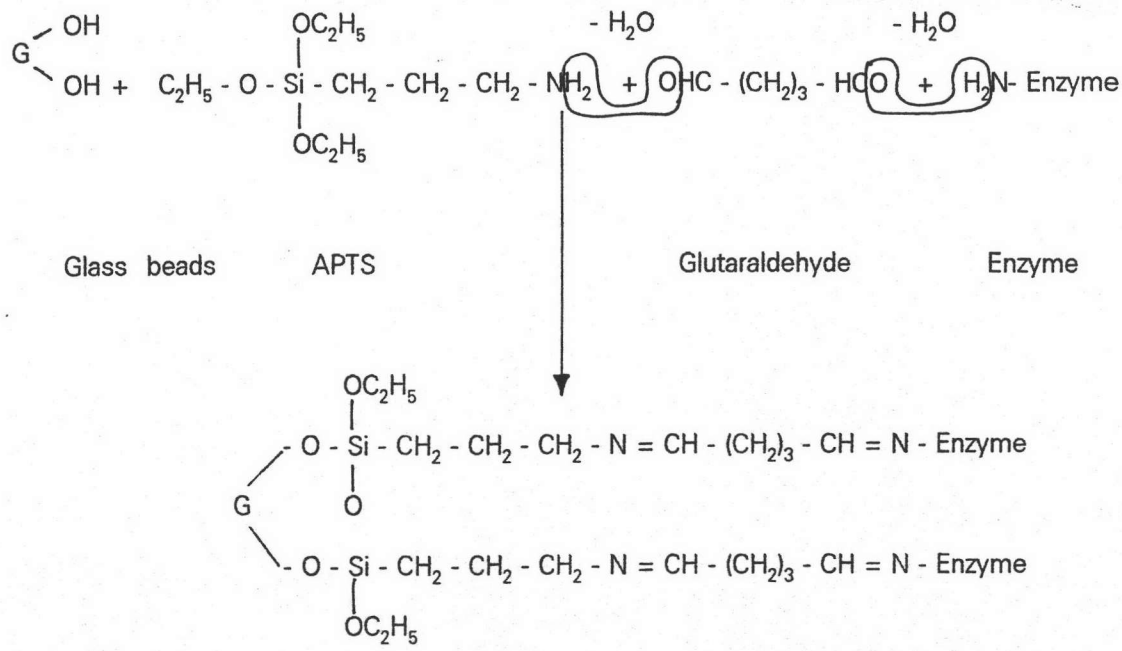
8.2.2 ข้อเสียเปรียบ

เวลาของของไหลสัมผัสกับเม็ดของแข็งสั้นมาก จึงต้องใช้เบดสูงๆ หรือเบดหลายชั้น ทำให้สิ้นเปลืองเงินลงทุนมาก

จากวารสารปริทัศน์ด้านต่างๆ ที่ได้กล่าวถึงข้างต้น ได้นำไปสู่งานวิจัยการผลิตน้ำแตงไทยโดยใช้เอนไซม์ตรึงรูป ด้วยเหตุปัจจัย และประสิทธิผลที่ประเมินไว้เบื้องต้นดังนี้

การผลิตน้ำแตงไทยน่าจะเป็นอุตสาหกรรมที่นักลงทุนในประเทศให้ความสนใจ และเกิดขึ้นได้โดยอาศัยพื้นฐานข้อมูลงานวิจัยในประเทศได้ เนื่องจากประเทศไทยมีปัจจัยต่างๆ ที่เอื้ออำนวยต่อการลงทุน ไม่ว่าจะเป็นปริมาณของวัตถุดิบที่สามารถผลิตได้ตลอดปี และกระบวนการผลิตที่ไม่ซับซ้อนนัก นอกจากนี้แตงไทยยังเป็นผลไม้ที่ให้กลิ่นหอม เช่นเดียวกันกับพวกเมลอนทั่วไป ซึ่งเป็นกลิ่นที่ได้รับการยอมรับทั่วโลก ทั้งในประเทศทางแถบยุโรป อเมริกา และเอเชีย ในปัจจุบันนอกจากจะมีการผลิตน้ำผลไม้โดยอาศัยเอนไซม์อิสระแล้ว ยังเป็นที่น่าสนใจที่จะนำเทคโนโลยีเอนไซม์ตรึงรูปมาใช้ในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ เนื่องจากระบบการผลิตน้ำผลไม้โดยใช้เอนไซม์อิสระยังคงอยู่ในลักษณะจำกัดหลายประการ ซึ่งเอนไซม์ตรึงรูปสามารถลดข้อจำกัด

เหล่านี้ได้ อีกทั้งในปัจจุบัน เทคโนโลยีการตรึงรูปเอนไซม์ ก็ได้เข้ามามีบทบาทต่อการผลิตน้ำผลไม้บางประเภท เช่น แอปเปิล องุ่น ภายในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมาได้มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำผลไม้โดยใช้เอนไซม์ตรึงรูปเกิดขึ้นมากมาย และงานวิจัยการผลิตน้ำแตงไทยโดยใช้เอนไซม์ตรึงรูปนี้ นับเป็นการสร้างฐานข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคการตรึงรูปเอนไซม์ และการใช้เอนไซม์ตรึงรูปที่ได้ในการผลิตน้ำผลไม้ต่อไปในอนาคต ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงการใช้เพคติเนสอิสระ ร่วมกับเซลลูเลสอิสระ ในการย่อยสลายแตงไทยตีป่น ภายใต้ปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง (simultaneous) เนื่องจากการใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกัน จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยสลายเนื้อเยื่อผักผลไม้ได้ (Kilara, 1982 ; Noach, 1986) และการทำปฏิกิริยาในลักษณะแบบต่อเนื่องจะมีประสิทธิภาพดีกว่า และให้กลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่าการใช้ในลักษณะเรียงกันตามลำดับก่อนหลัง (Sreenath, et al., 1984 ; วิภาดา ศุภจรรยา และปราณี อ่านเปรื่อง, 2537) นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงการนำเอนไซม์ตรึงรูปมาประยุกต์ใช้ในการสกัดน้ำแตงไทย โดยการตรึงรูปเพคติเนสและเซลลูเลส บนตัวพยุงประเภทซิลิกาได้แก่ เม็ดแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ซึ่งเม็ดแก้วนี้จะมีหมู่ฟังก์ชั่นเป็นหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ทั่วไปในปริมาณมาก มีเสถียรภาพสูง ทั้งต่อแรงดัน การกัดกร่อน และการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ทั่วไป นอกจากนี้ยังสามารถนำคืนกลับมาใช้ใหม่ โดยวิธีการที่ไม่ซับซ้อน (Turecek, Pittner and Birkner, 1990) ส่วนวิธีการตรึงรูปที่เลือกใช้ จะประกอบไปด้วยขั้นตอนการกระตุ้นหมู่ไฮดรอกซิลบนเม็ดแก้วให้เป็นหมู่อนุพันธ์ของอะมิโนที่มีความไวต่อปฏิกิริยา ด้วยสารประกอบ γ-aminopropyltriethoxysilane (APTS) และขั้นตอนการเชื่อมขวางระหว่างหมู่อะมิโนบนเม็ดแก้วที่ถูกกระตุ้นกับหมู่อะมิโนของเอนไซม์เกิดเป็นพันธะเปปไทด์ ด้วยสารประกอบกลูตารัลดีไฮด์ ซึ่งในการตรึงรูปเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดจะทำการตรึงรูปแยกกันโดยมีขั้นตอนการเกิด Schiff's base ดังรูปที่ 2.18 (Thomplison, Angelo and Mathur, 1983)



รูปที่ 2.18 ปฏิกิริยาเคมีของการเชื่อมพันธะโควาเลนต์ระหว่างเอนไซม์กับเม็ดแก้ว

ทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงรูปและศึกษาถึงสมบัติทางจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้ จากนั้นทำการทดลองนำเอนไซม์ตรึงรูปที่เตรียมได้มาใช้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเอนไซม์ตรึงรูปในลักษณะฟลูอิไดเซชั่น เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและความเป็นไปได้ในการสกัดน้ำแตงไทย และในขั้นตอนสุดท้ายได้ทำการทดสอบการยอมรับของผลิตภัณฑ์น้ำแตงไทยที่สกัดได้ ซึ่งขอบข่ายทั้งหมดนี้มีรายละเอียดดังจะเสนอเป็นลำดับต่อไป