

ภาวะที่เหมาะสมต่อการเตรียมเดกซ์แทรนเนสตรังรูปบนทรายโดยวิธีเชื่อมพันธะโควาเลนต์ คือ ใช้ทรายแม่น้ำขนาด 50-60 เมช เป็นตัวพอง สารละลาย APTS เข้มข้น 5% โดยปริมาตรเป็นสาร กระตุ้น ตัวพอง สารละลายกลูตารัลดีไฮด์ เข้มข้น 1% โดยปริมาตรเป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวาง สารละลายเดกซ์แทรนเนส เข้มข้น 5% โดยปริมาตร (788800 ยูนิต/มิลลิลิตร) ตรังรูปที่อุณหภูมิ 4 °C พีเอช 4.5 เวลาของการเขย่าทรายที่ผ่านการเติม APTS และกลูตารัลดีไฮด์กับสารละลายเดกซ์แทรนเนส 90 นาที พีเอชที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายเดกซ์แทรนของเดกซ์แทรนเนสตรังรูปและเดกซ์แทรนเนสอิสระ คือ พีเอช 7.0 และ 5.0 ตามลำดับ เดกซ์แทรนเนสทั้งสองชนิดมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 55 °C ค่าคงที่ไมคูลิส (K_m) ของเดกซ์แทรนเนสตรังรูปที่อุณหภูมิ 55 °C พีเอช 7.0 เท่ากับ 3.67×10^{-4} มิลลิโมลาร์ ต่ำกว่า K_m ของเดกซ์แทรนเนสอิสระ 1.93 เท่า ค่าแอกติวิตีจำเพาะของเดกซ์แทรนเนส ตรังรูปที่ พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 40 °C เท่ากับ 6574.07 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ต่ำกว่า เดกซ์แทรนเนส อิสระ 3.09 เท่า พบว่าสารละลายซูโครสเข้มข้น 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ช่วยเพิ่มเสถียรภาพต่อความร้อนของเดกซ์แทรนเนสอิสระ ภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บเดกซ์แทรนเนสตรังรูปคือ พีเอช 3.5 อุณหภูมิ 8-10 °C ค่าครึ่งชีวิตภายใต้ภาวะนี้มากกว่า 81 วัน และมีแอกติวิตี 82.6% ที่ระยะเวลาดังกล่าว ผลของสารปฏิกิริยาความเข้มข้น 6×10^{-3} โมลาร์ ต่อแอกติวิตีเดกซ์แทรนเนสพบว่าเดกซ์แทรนเนสอิสระถูกยับยั้งด้วย AgNO_3 Ca(OH)_2 และ Zn(AcO)_2 มากกว่าเดกซ์แทรนเนสตรังรูป และสำหรับ $\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$ ยับยั้งแอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสอิสระ แต่กลับกระตุ้นแอกติวิตีเดกซ์แทรนเนสตรังรูป

จากการศึกษาการย่อยสลายเดกซ์แทรนในน้ำอ้อยรวมที่ พีเอช 5.0 โดยใช้เครื่องปฏิกรณ์ เดกซ์แทรนเนสตรังรูป แบบฟลูอิดไคด์เบด ขนาด 1.4x60 cm ค่า space velocity (SV) ที่เหมาะสมคือ 1.62 (นาท)^{-1} ระดับการย่อยสลายเดกซ์แทรน ที่อุณหภูมิ 55 °C สูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง ระดับการย่อยสลายเดกซ์แทรนค่อนข้างสมบูรณ์ เมื่อนำน้ำอ้อยรวมผ่านเครื่องปฏิกรณ์ 2 รอบ การสลายแอกติวิตีของเดกซ์แทรนเนสในคอลัมน์ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 55 °C มีลักษณะคล้ายกัน

C326702 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEY WORD : IMMOBILIZED DEXTRANASE/SUGAR CANE JUICE

PRONTHIP JARUPAN : Dextranase immobilized on sand for continuous removal of dextran in sugar cane juice, THESIS ADVISOR: ASSO.PROF PRANEE ANPRUNG, Ph.D.ASSIST. PROF. SUTHEP THANİYAVARN, Ph.D. 214PP., ISBN 974-581-087-8

The optimum condition for preparation of immobilized dextranase by covalently binding method were : 50-60 mesh river-bed sand as carrier, 5% by volume of APTS solution as carrier activator, 1% by volume of glutaraldehyde solution as intermolecular cross-linker, and 5% by volume of dextranase solution (788800 unit/ml) at 4°C, pH 4.5 for 90 min with shaking. The optimum pH for dextran hydrolysis of the immobilized dextranase and the free dextranase were 7.0 and 5.0, respectively. Both free and immobilized dextranase had optimum temperature for dextran hydrolysis at 55°C. The Michaelis constant, K_m of the immobilized dextranase at 55°C and pH 7.0 was 3.67×10^{-4} mM which was 1.93 times lower than that of free dextranase. The specific activity of immobilized dextranase at pH 5.5, 40°C was 6574.07 unit/mg protein which was 3.09 times lower than that of free dextranase. Moreover, in the presence of 20% sucrose, the thermal stability of the immobilized and free dextranase was high. The optimum condition for storage stability of immobilized dextranase was pH 3.5 at 8-10°C and the half life under this condition was > 81 days and the retained activity was 82.6%. In the enzyme reaction studies with inorganic salt and chelating agent (6×10^{-3} M), it was found that the immobilized form was less inactivated in the presence of AgNO_3 , Ca(OH)_2 and Zn(AcO)_2 . Furthermore, $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ inactivated free dextranase but activated the immobilized dextranase.

The hydrolysis of dextran in mixed juice at pH 5.0 using the immobilized dextranase in fluidized bed reactor 1.4x60 cm was studied. The optimum space velocity (SV) was 1.62 (min)^{-1} . The degree of hydrolysis of dextran at 55°C was higher than at room temperature. The degree of hydrolysis was up to nearly complete when only 2 cycles of cane juice was passed. Moreover, it was found that the decay of activity of the column for dextran hydrolysis at 55°C and at room temperature showed the same decay profile.