



การสกัดและคุณสมบัติของเอนไซม์จากพืชที่ทำให้นมจับตัวเป็นก้อน
และการประยุกต์ใช้

Extraction and Characterization of Milk Clotting Enzymes from Plants
and Their Application

บุษยา ขุนแผ้ว

Busaya Koonpaew

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Food Technology

Prince of Songkla University

2547

เลขหมู่	TX 459.5.C48 นข5 2547 ก.1
Bib Key	242641
	13 ก.ค. 2547

ชื่อวิทยานิพนธ์	การสกัดและคุณสมบัติของเอนไซม์จากพืชที่ทำให้นมจับตัวเป็นก้อนและการประยุกต์ใช้
ผู้เขียน	นางสาวบุษยา ขุนแก้ว
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2546

บทคัดย่อ

การสกัดเอนไซม์จากส่วนต่าง ๆ ของพืชสด 71 ชนิด ด้วยสารละลายซีเตรตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.9 พบว่า สารสกัดเอนไซม์จากพืช 7 ชนิด ได้แก่ มะเขือพวง มะแว้ง มะเขือเหลือง มะเขือไข่เต่า มะเขือลาย ฟักเขียวและแตงไท ทำให้นมจับตัวเป็นก้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใน 3 ชั่วโมง การสกัดเอนไซม์จากพืช 7 ชนิด ดังกล่าวด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 2 ชนิด ที่พีเอชต่าง ๆ พบว่า สารสกัดเอนไซม์จากมะแว้ง มะเขือพวง มะเขือเหลืองและฟักเขียวมีกิจกรรมจำเพาะทำให้นมจับตัวเป็นก้อนสูงกว่าสารสกัดเอนไซม์จากมะเขือไข่เต่า มะเขือลายและแตงไท และสารสกัดเอนไซม์จากพืชที่สกัดด้วยสารละลายซีเตรต บัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.0 มีกิจกรรมจำเพาะทำให้นมจับตัวเป็นก้อนสูงกว่าสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดอื่น เอนไซม์จากพืช 4 ชนิด (มะแว้ง มะเขือพวง มะเขือเหลืองและฟักเขียว) ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวร้อยละ 21-60 มีค่ากิจกรรมจำเพาะทำให้นมจับตัวเป็นก้อนสูงกว่าเอนไซม์ที่ตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวร้อยละ 0-20 และ 61-80 เอนไซม์จากฟักเขียวและมะแว้งมีกิจกรรมจำเพาะทำให้นมจับตัวเป็นก้อนของเอนไซม์สูงกว่าเอนไซม์จากมะเขือพวงและ มะเขือเหลือง อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์จากฟักเขียวและมะแว้งคือ 45 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 6.0 และ 6.6 ตามลำดับ เอนไซม์จากฟักเขียวและมะแว้งทนร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ได้นานกว่า 5 ชั่วโมง และเอนไซม์จากฟักเขียวและมะแว้งจะสูญเสียกิจกรรมเมื่อได้รับความร้อน 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีและ 4 นาทีตามลำดับ เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดทนต่อพีเอชในช่วง 4.4-6.0 มากกว่า 7 ชั่วโมง และยังคงมี

กิจกรรมร้อยละ 98 การเติมสารโพลีไวนิลไพโรลิโดนร้อยละ 1.5 ร่วมกับสารละลาย บัฟเฟอร์ที่ใช้สกัดมีผลต่อกิจกรรมทำให้นมจับตัวเป็นก้อนของสารสกัดเอนไซม์จาก มะม่วงลดลง แต่ไม่มีผลต่อกิจกรรมของสารสกัดเอนไซม์จากผักเขียว

คอกเทลชีส สเปรดที่ผลิตด้วยเอนไซม์จากผักเขียว ใช้เอนไซม์ 1.45 ยูนิต/ นม 1 มล. ร่วมกับหัวเชื้อ *S. lactis* ร้อยละ 5 บ่มนํ้านมที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตะกอนโปรตีนที่ผสมกับคาร์ราจีแนน ร้อยละ 0.5 และไม่เติมไขมัน ผลิตภัณฑ์คอกเทลชีส สเปรดที่ผลิตได้ที่มีสมบัติทางกายภาพด้านเนื้อสัมผัสคล้ายกับ ครีมคอกเทลชีส สเปรดทางการค้า ผลิตภัณฑ์คอกเทลชีส สเปรดที่ผลิตได้มีไขมันต่ำ มี ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ร้อยละ 73.88 0.98 15.17 9.15 และ 0.82 ตามลำดับ ปริมาณแคลเซียม และพลังงาน เท่ากับ 323.53 มก./ 100 กรัม และ 106.1 กิโลแคลอรี/100 กรัม ตามลำดับ ตรวจไม่พบยีสต์และราและ จุลินทรีย์ที่ทำให้ก่อโรค

Thesis Title	Extraction and Characterization of Milk Clotting Enzymes from Plants and Their Application
Author	Miss Busaya Koonpaew
Major Program	Food Technology
Academic Year	2003

Abstract

Different parts of 71 plants were extracted with 0.1M citrate buffer at pH 5.9. It was found those 7 plants such as Turkey berry, Sparrow's brinjal, Craib eggplant, 2 types of *Solanum* spp. Ash gourd and Musk melon possessed the milk clotting time at 30 °C within 3 h. Extraction milk clotting enzyme from 7 plants was extracted by 2 buffers at various pH. Found that crude plant extracts from Sparrow's brinjal, Turkey berry Craib eggplant and Ash gourd showed higher specific milk clotting activity than 2 types of *Solanum* spp and Musk melon. Crude plant extracts using 0.1-M citrate buffer at pH 5.0 showed higher specific milk clotting activity than other buffers. Partial purification of 4 crude plant enzymes (Sparrow's brinjal, Turkey berry Craib eggplant and Ash gourd), which precipitated with 21-60% -saturated ammonium sulfate, obtained higher specific milk clotting activity than enzyme which precipitated with 0-21 and 61-80 % -saturated ammonium sulfate. Enzyme from Ash gourd and Sparrow's brinjal was higher specific milk clotting activity than enzyme from Turkey berry and Craib eggplant. The optimum temperature and pH of enzyme from Ash gourd and Sparrow's brinjal were 45°C at pH 6.0 and 6.6 respectively. Those of enzymes were stable at 65 °C were more than 5 h. and enzyme from Ash gourd and Sparrow's brinjal inactivate when heated at 80 °C for 15 min and 4 min respectively. Those of

enzymes were stable at pH 4.4-6.0 more than 7 hr. Their activity remaining 98 %. Adding 1.5% polyvinylpyrrolidone in extract buffer decreased milk clotting activity of enzyme from Sparrow's brinjal but no effect on enzyme from Ash gourd.

For cottage cheese spread production, 1.45 unit/ml milk of Ash gourd's enzyme was mixed with 5% starter culture and incubate at 35 °C for 4 h. The curd was then mixed with 5 % carragenane without cream. Cottage cheese spread was similar texture with commercial cream cottage cheese spread. Moisture content, fat, protein, carbohydrate and ash of low fat cottage cheese spread were 73.88 0.98 15.17 9.15 and 0.82 % respectively. Calcium content and energy were 323.53 mg/100g and 106.1 Kcal/100g respectively. Pathogenic bacterial, yeast and mold content were absent.