บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์	รูปแบบ (model)	บริษัทหรือหน่วยงานผู้ผลิต หรือประเทศผู้ผลิต
เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์	UV-240	Shimadzu, Japan
เครื่องเขย่า (rotary shaker)	Big Bill	Thermolyne, West Germany
เครื่องชั่งไฟฟ้า	1518 MP8	Sartorius, West Germany
เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด	2462	Sartorius, West Germany
เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM)	JSM 35 CF	JEOL, Japan
เครื่องเคลือบทอง (fine coat)	Iron sputter model JEC - 1100	JEOL, Japan
เครื่องย่อยโปรตีน	Kjeldatherm	Garhardt, West Germany
เครื่องกลั่นโปรตีน	Vapodest 1	Garhardt, West Germany
เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป	แบบถังกวน	ประกอบขึ้นเองตามรูป 3.4-3.8

อุปกรณ์	รูปแบบ (model)	บริษัทหรือหน่วยงานผู้ผลิต หรือประเทศผู้ผลิต
เครื่อง Infrared Spectro--photometer	1760X	Perkin Elmer, USA
เครื่องวัดความหนืด (Brookfield viscometer)	DV-I	Sartorius, West Germany
เครื่องวัดความหนืด (Ostwald viscometer)		Sartorius, West Germany
ปั๊มสูญญากาศ (Vacuum pump)	0522-v103-G21DX	MFG, USA
เครื่องวัด pH	HI 8417	Hanna, West Germany
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath)	CB 60	DT Hetotherm, Japan
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	W350	Memert, West Germany
ตู้อบ (hot air oven)	E 53	WTB binder

3.2 วัสดุและสารเคมี

3.2.1 วัสดุและสารเคมีสำหรับการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม

กล้วยหอมที่ความสุกระดับ 7-8

Pectinex Ultra SP-L® (Novo Industri A/S Copenhegen, Denmark)

Celluclast 1.5L® (Novo Industri A/S Copenhegen,Denmark)

Ban 240L® (Novo Industri A/S Copenhegen,Denmark)

3.2.1.1 การเตรียมเนื้อกล้วยหอมบด

ใช้กล้วยที่ความสุกระดับ 7-8 ซึ่งมีสีของเปลือกมีจุดด่างสีน้ำตาลถึงมีจุดด่างสีน้ำตาลมาก (Gous และคณะ, 1987) ดังรูปที่ 3.1 นำมาให้ความร้อน (blanching) ด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อกล้วยหอม นำมาปอกเปลือก และทั่นเนื้อกล้วยให้มีขนาดชิ้นเล็กลง แล้วจึงนำไปบดปั่นให้ละเอียด

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.1 ลักษณะของกล้วยหอมที่ความสุกระดับ 7-8

3.2.1.2 การเตรียมการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม ตามแผนภูมิรูปที่ 3.2

นำเนื้อกล้วยหอมบดที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.1.1 มาวัดความหนืดโดยใช้ Brookfield viscometer ซึ่งขนาดของเข็มที่ใช้คือเบอร์ 5-6 และใช้ความเร็วรอบการหมุนของเข็ม 100 รอบ/นาที จากนั้นชั่งเนื้อกล้วยประมาณ 100 กรัม นำมาเติมเอนไซม์และบ่มโดยใช้ปริมาณเอนไซม์ และภาวะต่างๆตามที่ระบุไว้ในแต่ละการทดลอง จากนั้นจึงหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในน้ำเดือด 10 นาที วัดความหนืดของเนื้อกล้วยหอมบดอีกครั้งหนึ่ง และหาปริมาณของผลผลิตหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม โดยนำเนื้อกล้วยหอมบดที่ได้ข้างต้น ชั่งน้ำหนักอีกครั้งก่อนนำมากรอง หลังจากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.2 ภายใต้ระบบสูญญากาศ (suction) ที่ความดัน 27 นิ้วปรอท เป็นเวลา 10 นาที วัดปริมาณของน้ำผลไม้ที่ได้ ซึ่งขั้นตอนทั้งหมดดังกล่าวแสดงดังแผนภูมิรูปที่ 3.2

รูปที่ 3.2 ขั้นตอนในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมบัฟเฟอร์สำหรับการตรึงรูปเอนไซม์

Acetic acid (Merck)

Sodium acetate trihydrate (Fluka)

Disodium dihydrogen phosphate (Fluka)

Sodium dihydrogen phosphate (BHD)

Boric acid (May & Baker)

Disodium tetraborate (BHD)

Citric acid (BHD)

Sodium citrate (Fluka)

3.2.2.1 การเตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 4.0-5.0 โดยเตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-7.1

3.2.2.2 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6-7 โดยเตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-7.2

3.2.2.3 การเตรียมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ pH 9 โดยเตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-7.3

3.2.2.4 การเตรียมสารละลายซิเตรต pH 3.5-6 โดยเตรียมตามวิธีในภาคผนวก ก-7.4

3.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์

3.2.3.1 สารเคมีที่ใช้วัดแอคติวิตีของเพคติเนส

Pectin (62-65 % esterified) (Copenhegen)

วิธีเตรียม

เตรียมสารละลายเพคตินเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร ในน้ำกลั่น เจือจางด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร pH 4.0 ในอัตราส่วน 1:1 จะได้สารละลายเพคตินความเข้มข้นร้อยละ 1 ในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร pH 4.0

3.2.3.2 สารเคมีที่ใช้วัดแอคติวิตีของเซลลูเลส

D-glucose (Merck)

3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) (Fluka)

Phenol (Merck)

Sodium sulfite (Merck)

Sodium hydroxide (Merck)

Potassium Sodium tartrate (Merck)

Carboxymethylcellulose sodium salt (CMC)(Fluka)

3.2.3.2.1 สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

ชั่งน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียดให้ได้ปริมาณ 0.1 กรัมใส่ในขวดวัดปริมาตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จาก stock solution นี้นำมาเจือจางให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานที่มีความเข้มข้นในช่วง 0-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2.3.2.2 สารละลาย DNS

นำกรดไดไนโตรซาลิไซลิค 10 กรัม ฟีนอล 2 กรัม โซเดียมซัลไฟต์ 0.5 กรัม และ โปตัสเซียมโซเดียมตาร์เตรต 200 กรัม ละลายรวมกันในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร จำนวน 500 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

3.2.3.2.3 สารละลาย CMC

เตรียมสารละลาย CMC เข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก/ปริมาตรในน้ำกลั่น เจือจางด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร pH 4.8 ในอัตราส่วน 1:1 จะได้สารละลายเพคตินความเข้มข้นร้อยละ 1 ในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร pH 4.8

3.2.3.3 สารเคมีที่ใช้วัดแอคติวิตีของอะมัยเลส

Soluble starch (Merck)

Iodine (Fluka)

Potassium iodide (Merck)

วิธีเตรียม

3.2.3.3.1 สารละลายน้ำแป้ง

เตรียมสารละลายน้ำแป้งความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร ในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 โมล/ลิตร pH 5.0

3.2.3.3.2 สารละลายไอโอดีน

ละลายไอโอดีน 0.0317 กรัม และ โปตัสเซียมไอโอไดด์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ซึ่งมีสารละลายกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร จำนวน 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.2.3 <u>สารเคมีที่ใช้ในการตรึงรูปเพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลส</u>

ผ้าไนลอน 6

hydrochloric acid (Merck)

ɣ-Aminopropyltriethoxysilane (APTS) (Sigma)

Glutaraldehyde (Fluka)

Pectinex Ultra SP-L®

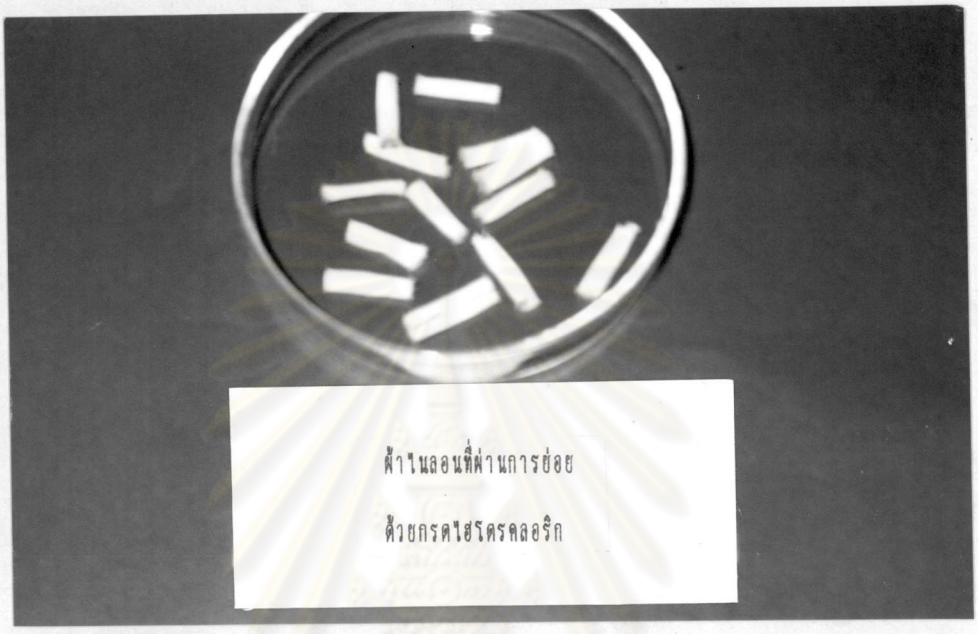
Celluclast 1.5L®

Ban 240L®

3.2.3.1 การเตรียมผ้าไนลอนก่อนการตรึงรูป

ตัดชิ้นผ้าไนลอนให้มีขนาด 2.5 x 2.5 ตารางเซนติเมตร จำนวน 100 ชิ้น นำมาย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 8 นอร์มัล ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เขย่าใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จาก

นั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นจนหมด และล้างด้วยเอธานอลปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 1 ครั้ง นำไปอบแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส ผ้าไนลอนที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริคแล้วแสดงดังรูป 3.3



รูปที่ 3.3 ผ้าไนลอนที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริค

3.2.3.2 เตรียมสารละลายอะมิโนโพรพิวไตรเอทอกซีไซเลน (APTS)

เตรียมสารละลาย APTS ความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยปริมาตร ในน้ำกลั่น ซึ่งจะได้ pH ประมาณ 10 และเตรียมในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 5, 7 และ 9 ในสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และบอเรตบัฟเฟอร์ ตามลำดับ ซึ่งในการปรับ pH เพื่อให้ได้ pH 5, 7 และ 9 จะใช้กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 2 นอร์มัล ช่วยในการปรับ เมื่อได้ pH ที่ต้องการแล้วจึงเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการโดยใช้บัฟเฟอร์ สารละลาย APTS นี้จะทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นตัวพยุงในการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูป

3.2.3.3 เตรียมสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยปริมาตรในน้ำกลั่น ซึ่งจะได้ pH ประมาณ 3 และเตรียมในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 7 และ 9 โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และบอเรตบัฟเฟอร์ตามลำดับ ซึ่งกลูตารัลดีไฮด์จะทำหน้าที่เป็นสารสร้างพันธะเชื่อมขวางในการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูป

3.2.3.4 สารละลายเพคติเนส

เตรียมสารละลายเพคติเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยปริมาตรในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร pH 4.0 (1 มิลลิลิตรของเพคติเนสมีแอคติวิตี 22,615 ยูนิต)

3.2.3.5 สารละลายเซลลูเลส

เตรียมสารละลายเซลลูเลสความเข้มข้นร้อยละ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยปริมาตรในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร pH 4.8 (1 มิลลิลิตรของเซลลูเลสมีแอคติวิตี 1,769,258 ยูนิต)

3.2.3.6 สารละลายอะมัยเลส

เตรียมสารละลายอะมัยเลสความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 และ 10 โดยปริมาตรในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร pH 5 (1 มิลลิลิตรของอะมัยเลสมีแอคติวิตี 151,488 ยูนิต)

3.2.3.7 เตรียมเอนไซม์ตรึงรูปบนผ้าไนลอน

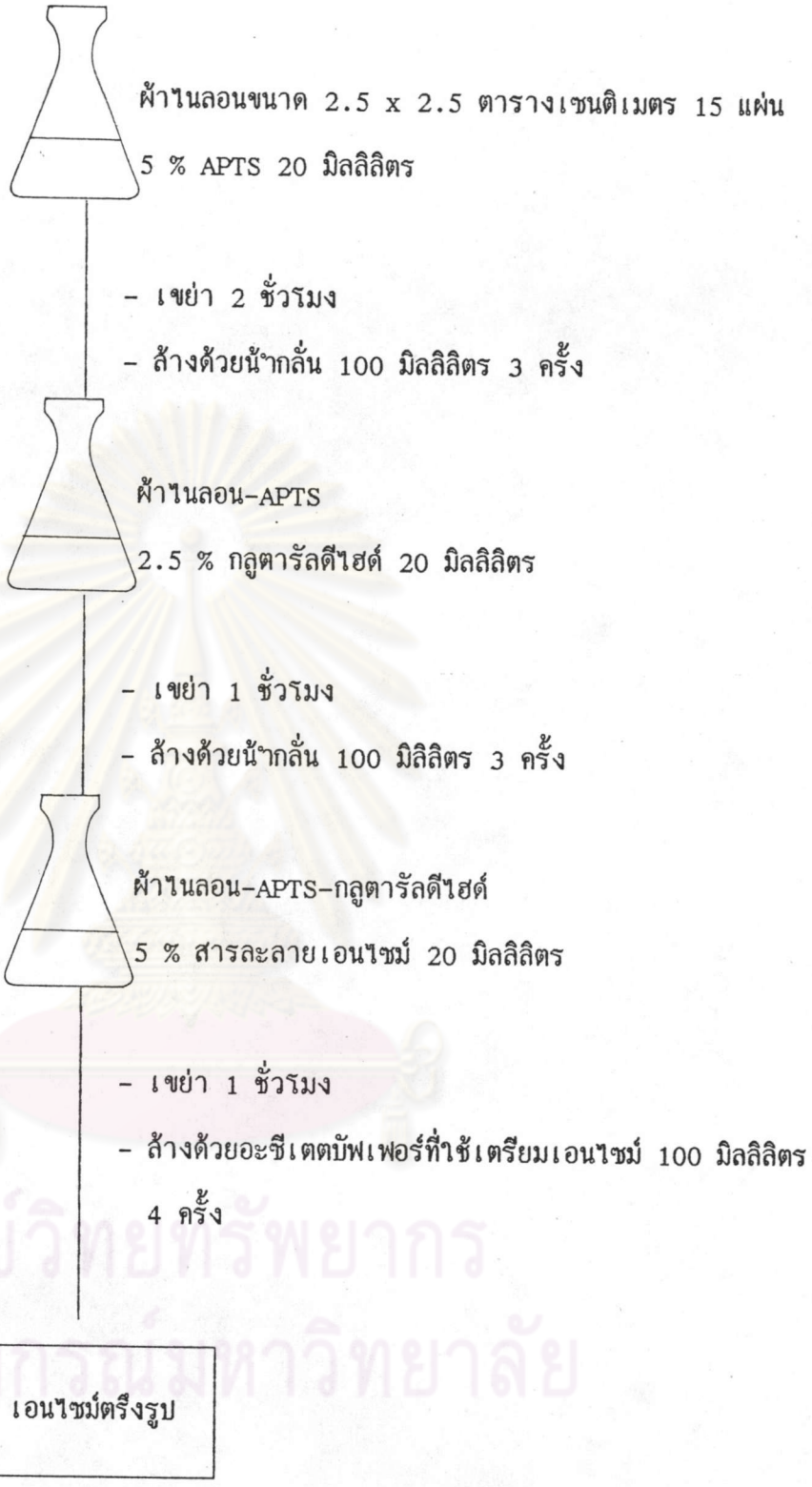
นำผ้าไนลอนขนาด 2.5 x 2.5 ตารางเซนติเมตร ที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริคแล้ว จำนวน 15 แผ่น เติมสารละลาย APTS ที่เข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร 3 ครั้ง เติมสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร 3 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตรในอะซีเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร ที่มี pH ต่าง ๆ สำหรับเอนไซม์แต่ละชนิดดังนี้คือ pH 4 สำหรับเพคติเนส pH 4.8 สำหรับเซลลูเลส และ pH 5 สำหรับอะมัยเลส จำนวน 20 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่านาน 1 ชั่วโมง ล้างด้วยอะซีเตตบัฟเฟอร์ที่ใช้เตรียมสารละลายเอนไซม์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร 4 ครั้ง ซึ่งขั้นตอนทั้งหมดแสดงในแผนภูมิรูปที่ 3.4

3.2.5. <u>วัสดุอุปกรณ์ และ สารเคมีสำหรับศึกษาการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปแบบถังกวนที่ไม่ต่อเนื่อง</u>

3.2.5.1 กล้วยหอมที่ความสุกระดับ 7-8 โดยการเตรียมเนื้อกล้วยหอมบดเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.1

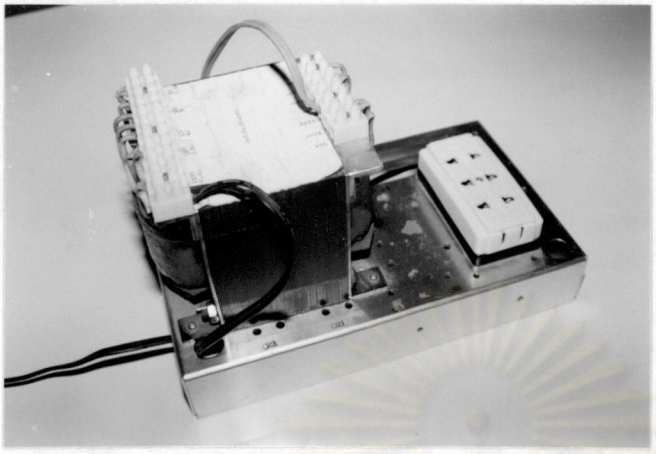
3.2.5.2 เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปแบบถังกวนในระบบการผลิตไม่ต่อเนื่อง ประกอบด้วย มอเตอร์หมุนพร้อมใบพัดซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวปั่นให้เอนไซม์ตรึงรูปสัมผัสกับเนื้อกล้วยหอมบดอย่างทั่วถึง (รูปที่ 3.5) หม้อแปลงไฟฟ้า (รูปที่ 3.6) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (รูปที่ 3.7) และภาชนะบรรจุทรงกระบอก ซึ่งในที่นี้ใช้บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร การจัดชุดอุปกรณ์แสดงแผนภาพดังรูปที่ 3.8 และ รูปที่ 3.9

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

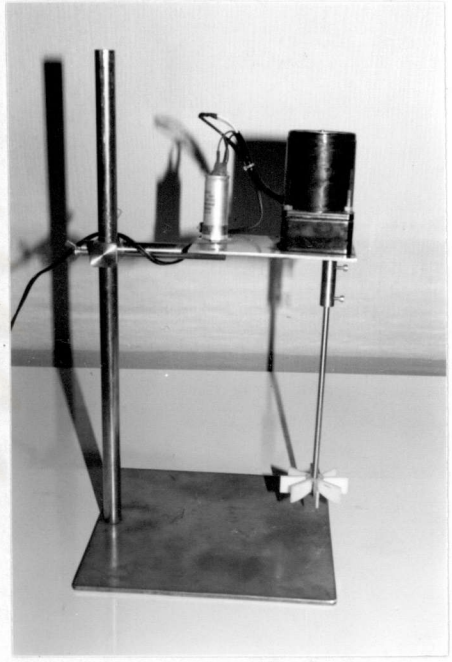


รูปที่ 3.4 แผนภูมิขั้นตอนการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปบนไนลอน
แบบเชื่อมด้วยพันธะโคเวเลนต์

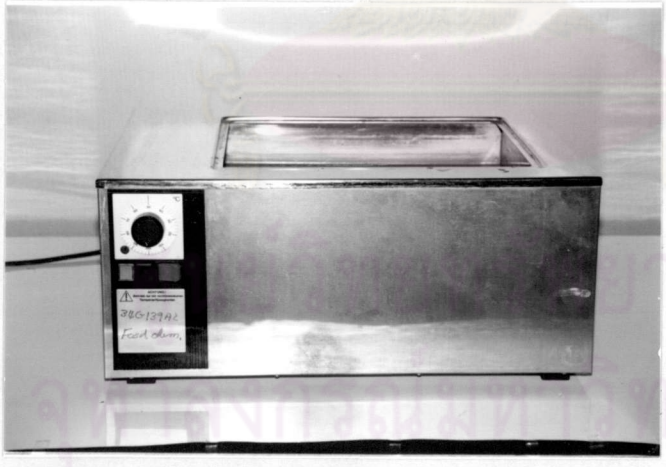
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



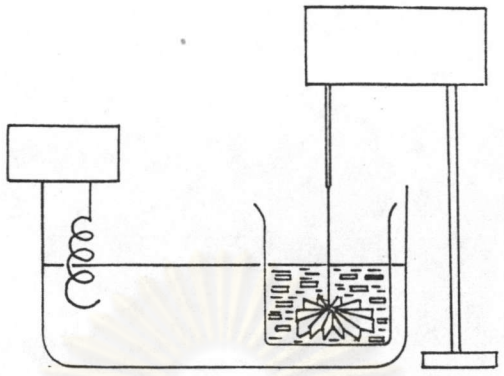
รูปที่ 3.6 หม้อแปลงไฟฟ้า



รูปที่ 3.5 มอเตอร์หมุนพร้อมใบพัด

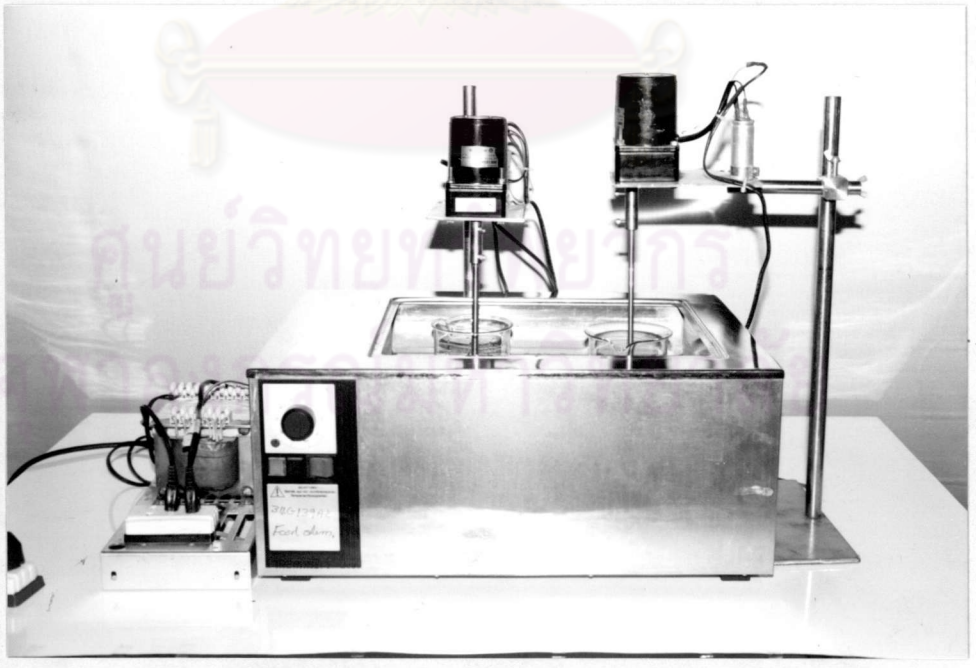


รูปที่ 3.7 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ



รูปที่ 3.8 แผนภาพเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปแบบถังกวนในระบบการผลิตไม่ต่อเนื่อง พร้อมชุดอุปกรณ์

(1) มอเตอร์หมุนพร้อมใบพัด
(2) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
(3) เอนไซม์ตรึงรูป
(4) เนื้อกล้วยบด



รูปที่ 3.9 ระบบเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปแบบถังกวนในระบบการผลิตไม่ต่อเนื่อง

3.2.5.3 การเตรียมการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมโดยใช้เครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปแบบถังกวน

บ่มกล้วยหอมบด 100 กรัมใน water bath ที่อุณหภูมิ 45 องศา-เซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที เติมเอนไซม์ตามที่ระบุไว้ในแต่ละการทดลอง บ่มใน water bath ต่อเป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยมีอัตราเร็วในการกวน 78 รอบ/นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.2 ภายใต้ระบบสูญญากาศที่ความดัน 27 นิ้วปรอท เป็นเวลา 40 นาที บันทึกปริมาณหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้

3.2.5.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาโปรตีน

Copper sulphate (Merck)

Potassium sulphate (Merck)

Sulfuric acid (Merck)

Sodium hydroxide (Merck)

Boric acid (Merck)

Methyl red (Merck)

วิธีเตรียม

3.2.5.4.1 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

3.2.5.4.2 เตรียมสารละลายกรดบอริคความเข้มข้นร้อยละ 4.0 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

3.2.5.4.3 เตรียมเมธิลเรด ความเข้มข้น 0.1 กรัม/100 ลูกบาศก์เซนติเมตรในเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 60

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมโดยใช้เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลสอิสระ

3.3.1.1 ศึกษาหาความเข้มข้นของเพคติเนส เซลลูเลส และอุณหภูมิที่เหมาะสม

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.1 โดยแปรความเข้มข้นของเพคติเนส 3 ระดับคือ ร้อยละ 0.02, 0.05 และ 0.10 โดยปริมาตร/น้ำหนักกล้วยหอมบด แปรความเข้มข้นของเซลลูเลส 3 ระดับคือ 0.02, 0.05 และ 0.10 โดยปริมาตร /น้ำหนักกล้วยหอมบด และแปรอุณหภูมิ 3 ระดับคือ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการบ่ม 3 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทดลอง 2 ซ้ำ ติดตามการลดลงของความหนืดของเนื้อกล้วยหอมบด และนำข้อมูลที่ได้มาหาความสัมพันธ์ในรูปสมการกำลัง 2 และนำสมการมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ในรูปแบบ Contour Plot และ Surface Plot เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาเลือกระดับความเข้มข้นของเพคติเนส เซลลูเลส และอุณหภูมิที่เหมาะสม

3.3.1.2 หาระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาย่อยสลายกล้วยหอมบดที่เหมาะสม

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.1 โดยใช้ความเข้มข้นของเพคติเนส เซลลูเลส และ ระดับของอุณหภูมิที่เหมาะสม จากการทดลองในข้อ 3.3.1.1 แปรระยะเวลาการบ่มกล้วยหอมบดด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิด ต่าง ๆ กัน คือ 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง ติดตามการลดลงของความหนืดของกล้วยหอมบด และ ร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อ--กล้วยหอมที่ได้ นำข้อมูลมาแสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการทำปฏิกิริยากับ ค่าร้อยละของการลดความหนืดของเนื้อกล้วยหอมบด และ ผลผลิตของหัวน้ำเชื้อกล้วยที่ได้

3.3.1.3 ศึกษาผลของอะมัยเลสต่อการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.1 ติดตามผลการลดความหนืดและการเพิ่มขึ้นของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้ โดยแปรระดับความเข้มข้นของอะมัยเลส 3 ระดับ คือร้อยละ 0.02, 0.05, และ 0.10 โดยปริมาตร/น้ำหนักกล้วยหอมบด โดยกำหนดลำดับการทำปฏิกิริยาของอะมัยเลส เพคติเนส และเซลลูเลส ในลักษณะต่างกัน 3 ลักษณะดังนี้คือ

3.3.1.3.1 ย่อยสลายกล้วยหอมบดด้วยอะมัยเลสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงเติมเพคติเนสและเซลลูเลส โดยใช้ระดับความเข้มข้น อุณหภูมิ และ เวลาในการบ่มตามภาวะที่หาได้จากข้อ 3.3.1.1 และ 3.3.1.2

3.3.1.3.2 ย่อยสลายกล้วยหอมบดด้วยเพคติเนสและเซลลูเลส โดยใช้ระดับความเข้มข้น อุณหภูมิ และเวลาในการบ่มตามภาวะที่หาได้จากข้อ 3.3.1.1 และ 3.3.1.2 หลังจากนั้นย่อยสลายต่อด้วยอะมัยเลส ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.3.1.3.3 ย่อยสลายกล้วยหอมบดด้วยเพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลส ร่วมกันโดยใช้ภาวะที่หาได้ในข้อ 3.3.1.1 และ 3.3.1.2

นำข้อมูลจากการทดลอง 3.3.1.3.1, 3.3.1.3.2 และ 3.3.1.3.3 มาเสนอผลด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของอะมัยเลสที่ใช้ในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม กับ ค่าความหนืดเฉลี่ยของกล้วยหอมบด และค่าร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อ-กล้วยที่ได้

3.3.2 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรึงรูปเพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลสบนผ้าไนลอน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.2.1 <u>หาความเข้มข้น และ pH ของสารละลาย APTS ที่ใช้กระตุ้นผ้าไนลอนที่เหมาะสม</u>

เตรียมเอนไซม์ตรึงรูปตามวิธีในข้อ 3.2.3.7 โดยแปรความเข้มข้นของสารละลาย APTS 3 ระดับ คือ ร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยปริมาตร แปร pH ของสารละลาย 4 ระดับ คือ 5, 7, 9 และ 10

วัดแอคติวิตีของเพคติเนสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-1.3 วัดแอคติวิตีของเซลลูเลสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-2.3 และวัดแอคติวิตีของอะมัยเลสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-3 เลือกความเข้มข้นและ pH ของสารละลาย APTS ที่เหมาะสมโดยวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

3.3.2.2 <u>หาความเข้มข้นและ pH ของสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ที่เหมาะสม</u>

เตรียมเอนไซม์ตรึง รูปตามวิธีในข้อ 3.2.3.7 โดยกำหนดความเข้มข้นและ pH ของสารละลาย APTS ให้คงที่ตามภาวะที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3.2.1 แปรความเข้มข้นของสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยปริมาตร แปร pH ของสารละลาย 3 ระดับ คือ 3, 7 และ 9

วัดแอคติวิตีของเพคติเนสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-1.3 วัดแอคติวิตีของเซลลูเลสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-2.3 และวัดแอคติวิตีของอะมัยเลสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-3 เลือกความเข้มข้นและ pH ของสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ที่เหมาะสมโดยวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

3.3.2.3 <u>หาความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตรึงรูป</u>

เตรียมเอนไซม์ตรึงรูปตามวิธีในข้อ 3.2.3.7 โดยกำหนดความเข้มข้นและ pH ของสารละลาย APTS และ สารละลายกลูตารัลดีไฮด์ ให้คงที่ ตามสภาวะที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3.2.1 และ 3.3.2.2 ตามลำดับ แปรความเข้มข้นของสารละลายเพคติเนส

ร้อยละ 0.2, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยปริมาตร นำไปหาแอคติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-1.3 แปรความเข้มข้นของสารละลายเซลลูเลสร้อยละ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 โดยปริมาตร นำไปหาแอคติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-2.3 และแปรความเข้มข้นของสารละลายอะมัยเลส ร้อยละ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 และ 10 โดยปริมาตร นำไปหาแอคติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-3

เลือกความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์ที่ให้เอนไซม์ตรึงรูปมีแอคติวิตีสูงสุด จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ตรึงรูปกับความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์

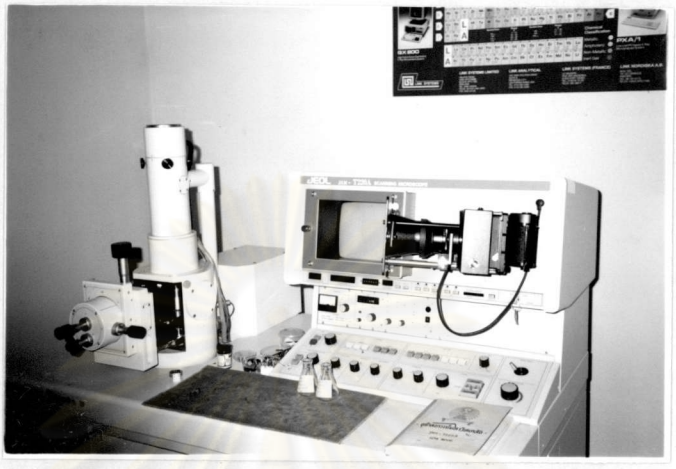
3.3.3 <u>การศึกษาโครงสร้างของเอนไซม์ตรึงรูปบนผ้าไนลอนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน</u> (Scanning Electron Microscope, SEM)

3.3.3.1 <u>ผ้าไนลอน</u>

เคลือบทองผ้าไนลอนขนาด 2.5 x 2.5 เซนติเมตร ด้วยเครื่อง Fine coat นาน 5 นาที ตรวจดูโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน (SEM) ดังรูปที่ 3.10 ที่กำลังขยาย 500 เท่า

3.3.3.2 <u>เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลสตรึงรูปบนไนลอน</u>

แช่เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลสตรึงรูปบนผ้าไนลอนขนาด 2.5 x 2.5 เซนติเมตร ในสารละลายกลูทารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 2 โดยปริมาตร ทิ้งไว้ข้ามคืน เทสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ออก จากนั้นแช่ในเอธิลอัลกอฮอล์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 50, 70 และ 95 ตามลำดับ โดยที่แต่ละความเข้มข้นจะแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที อบเพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลสตรึงรูปให้แห้งสนิท เคลือบทองด้วยเครื่อง Fine coat 5 นาที ตรวจดูโครงสร้างด้วยเครื่อง SEM ที่กำลังขยาย 1500-2000 เท่า ตัวอย่างที่ผ่านการเคลือบทองแสดงดังรูปที่ 3.11



รูปที่ 3.10 เครื่อง Scanning Electron Microscope

รูปที่ 3.11 ตัวอย่างที่ผ่านการเคลือบทอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.4 ศึกษาสมบัติบางประการทางจลน์พลศาสตร์ของเพคติเนส และเซลลูเลสตรึงรูปเทียบกับ เพคติเนสและเซลลูเลสอิสระ

3.3.4.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

เตรียมเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปตามภาวะที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 3.3.2 จำนวนหลอดละ 5 แผ่น และเตรียมสารละลายเพคติเนสและเซลลูเลสอิสระที่ความเข้มข้นอย่างละ 0.1 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร จำนวน 0.5 มิลลิลิตรในอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร pH 4.0 และ 4.8 ตามลำดับ โดยบ่มเอนไซม์กับสับสเตรทที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในช่วง 30-80 องศาเซลเซียส วิเคราะห์หาแอคติวิตีของเพคติเนสอิสระและเพคติเนสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-1 และวิเคราะห์หาแอคติวิตีเซลลูเลสอิสระและเซลลูเลสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-2 เปรียบเทียบช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป โดยเขียนเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์กับอุณหภูมิ

3.3.4.2 pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

เตรียมเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปตามภาวะที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 3.3.2 จำนวนหลอดละ 5 แผ่น และเตรียมสารละลายเพคติเนสและเซลลูเลสอิสระที่ความเข้มข้นอย่างละ 0.1 ไมโครลิตร/มิลลิลิตรในน้ำกลั่น จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ บ่มกับสารละลายสับสเตรทในบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ ดังนี้คือ กรณีของเพคติเนส นำมาบ่มกับสารละลายเพคตินเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก/ปริมาตรในน้ำกลั่น จำนวน 5 มิลลิลิตร และซิเตรตบัฟเฟอร์ ที่ใช้ควบคุม pH ของสารละลายปฏิกิริยาเข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร pH 3-6 จำนวน 4.5 และ 5 มิลลิลิตร สำหรับเพคติเนสอิสระและเพคติเนสตรึงรูป ตามลำดับ วิเคราะห์แอคติวิตีของเพคติเนสอิสระและเพคติเนสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-1 และในกรณีของเซลลูเลส นำมาบ่มกับสารละลาย CMC ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก/ปริมาตรในน้ำกลั่น จำนวน 2.5 มิลลิลิตร และบัฟเฟอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ควบคุม pH ของสารละลายปฏิกิริยา คือ ซิเตรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร pH 3.5-6 หรือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.2 โมล/ลิตร pH 6-7 จำนวน 2 และ 2.5 มิลลิลิตร สำหรับเซลลูเลสอิสระและเซลลูเลสตรึงรูปตามลำดับ วิเคราะห์แอคติวิตีของเซลลูเลสอิสระและตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-2 เปรียบเทียบช่วง pH ที่เหมาะ

สมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยเขียนเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของแอคติวิตีสัมพัทธ์กับ pH ของสารละลายปฏิกิริยา

3.3.4.3 วัดค่าคงที่ Michaelis Menten (K_m)

เตรียมเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปตามภาวะที่เหมาะสมที่หาได้จากข้อ 3.3.2 จำนวน 5 แผ่น วิเคราะห์หาแอคติวิตีของเพคติเนส และเซลลูเลสตรึงรูปตามวิธีในภาคผนวก ก-1.3 และ ก-2.3 โดยใช้ pH และ อุณหภูมิ ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้จากข้อ 3.3.4.1 และ 3.3.4.2 ตามลำดับ และเตรียมสารละลายเพคติเนสและเซลลูเลสความเข้มข้นอย่างละ 0.1 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร วิเคราะห์หาแอคติวิตีตามวิธีในภาคผนวก ก-1.2 และ ก-2.2 โดยใช้ภาวะเช่นเดียวกับเอนไซม์ตรึงรูปดังกล่าวข้างต้น บ่มกับสารละลายสับสเตรทที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้คือ สำหรับเพคติเนสบ่มกับสารละลายเพคตินที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 0.2, 0.5, 0.8, 1.0 และ 2.0 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร สำหรับเซลลูเลสบ่มกับสารละลาย CMC ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 และ 1.5 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร อ่านค่า K_m ของเอนไซม์ทั้งสองชนิด โดยพลอตแบบ Lineweaver Burk plot ระหว่างส่วนกลับของความเข้มข้นของสับสเตรท และส่วนกลับของความเร็วปฏิกิริยา

3.3.5 การสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมโดยใช้เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลสตรึงรูป

จากข้อมูลภาวะที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม และปริมาณของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้ ของการทดลองข้อ 3.3.1 ได้นำมาใช้ในการศึกษาหาปริมาณเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมสำหรับการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม

3.3.5.1 หาปริมาณหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้โดยใช้เพคติเนสและเซลลู-
-เลสอิสระ

หาปริมาณของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่ได้จากการสกัดโดยอาศัยเอนไซม์อิสระในเครื่องปฏิกรณ์ถังกวน เพื่อใช้เป็นเกณฑ์สำหรับการพิจารณาหาปริมาณเพคติเนส

และ เซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม ที่ให้ปริมาณผลผลิตเทียบเท่ากับที่ได้จากเอนไซม์อิสระ

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.5.3 หาปริมาณของหัวน้ำ-เชื้อกล้วยหอมโดยอาศัยเพคติเนสและเซลลูเลสอิสระช่วยในการสกัดในเครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวนโดยใช้ภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3.1

3.3.5.2 <u>หาความเข้มข้นของเพคติเนสตรึงรูปที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม</u>

หาความเข้มข้นของเพคติเนสตรึงรูปที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำ-เชื้อกล้วยหอมที่ให้ปริมาณหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมเทียบเท่ากับที่สกัดได้โดยอาศัยเพคติเนสอิสระ เมื่อใช้ร่วมกับเซลลูเลสอิสระเช่นเดียวกัน เหตุที่ใช้เลือกศึกษาเพคติเนสตรึงรูปร่วมกับเซลลูเลสอิสระเพื่อศึกษาถึงการทำงานของเพคติเนสตรึงรูปโดยที่ไม่มีข้อจำกัดทางด้านอัตราการแพร่ของเซลลูเลสซึ่งเซลลูเลสจะมีการกระจายอยู่ในระบบอย่างทั่วถึง ดังนั้นผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ ผลผลิตที่ได้จากระบบที่มีเฉพาะเซลลูเลสอิสระเพียงชนิดเดียว สามารถนำมาคำนวณหา ปริมาณหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่เพิ่มขึ้นจากผลการทำงานของเพคติเนสอิสระและตรึงรูปได้ ซึ่งจะนำไปใช้ในการคำนวนหาค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปในข้อ 3.3.5.4

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.5.3 โดยแปรปริมาณของเพคติเนสตรึงรูปบนไนลอนขนาด 2.5 x 2.5 จำนวน 0, 20, 40 และ 60 แผ่น ใช้ร่วมกับเซลลูเลสอิสระซึ่งควบคุมไว้ในปริมาณที่คงที่ ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.3.1.1 เลือกปริมาณเพคติเนสตรึงรูปที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณของเพคติเนสตรึงรูปที่ให้ผลผลิตหัวน้ำ-เชื้อกล้วยหอมเทียบเท่ากับที่ได้จากเพคติเนสและเซลลูเลสอิสระจากการทดลองในข้อ 3.3.4.1

3.3.5.3 <u>หาความเข้มข้นของเซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม</u>

หาความเข้มข้นของเซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมในการสกัดหัว-
-น้ำเชื้อกล้วยหอมที่ให้ปริมาณหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมเทียบเท่ากับที่สกัดได้จากเซลลูเลสอิสระ เมื่อใช้ร่วมกับเพคติเนสอิสระเช่นเดียวกัน การใช้เซลลูเลสตรึงรูปร่วมกับเพคติเนสอิสระมีเหตุผลเช่นเดียวกับในข้อ 3.3.5.2 ซึ่งผลผลิตที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ ผลผลิตที่ได้จากระบบที่มีเฉพาะเพคติเนสอิสระเพียงชนิดเดียว สามารถนำมาคำนวณหา ปริมาณหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่เพิ่มขึ้นจากผลการทำงานของเซลลูเลสอิสระและตรึงรูปได้ ซึ่งจะนำไปใช้ในการคำนวนหาค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปในข้อ 3.3.5.4

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.5.3 โดยแปรปริมาณเซลลูเลสตรึงรูปบนผ้าไนลอนขนาด 2.5 x 2.5 จำนวน 0, 10, 20 และ 30 แผ่น ใช้ร่วมกับเพคติเนสอิสระซึ่งควบคุมไว้ในปริมาณที่คงที่ ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.3.1.1 เลือกปริมาณของเซลลูเลสตรึงรูปที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณของเซลลูเลสตรึงรูปที่ให้ผลผลิตหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมเทียบเท่ากับที่ได้จากเพคติเนสและเซลลูเลสอิสระจากการทดลองในข้อ 3.3.4.1

3.3.5.4 <u>เปรียบเทียบแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ตรึงรูปและเอนไซม์อิสระในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอม</u>

หาปริมาณโปรตีนของเพคติเนสอิสระและเพคติเนสตรึงรูป เซลลูเลสอิสระและเซลลูเลสตรึงรูป โดยใช้วิธี Semi Micro Kjeldahl distillation (AOAC, 1980) ทั้งนี้ในที่นี้ กำหนดให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะ คือ ปริมาณของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่เพิ่มขึ้นจากผลของเอนไซม์แต่ละชนิด ต่อ ปริมาณโปรตีนเอนไซม์เป็นมิลลิกรัม

3.3.5.5 <u>ศึกษาประสิทธิภาพและเสถียรภาพในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมโดยใช้เพคติเนสตรึงรูปร่วมกับเซลลูเลสตรึงรูปในเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปแบบถังกวน</u>

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.5.3 หาแอคติวิตีของเอนไซม์ในการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมของเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปเมื่อใช้ร่วมกันซ้ำหลาย ๆ ครั้ง

โดยใช้ปริมาณของเพคติเนส และเซลลูเลสตรึงรูป ที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.3.4.2 และ 3.3.4.3 ตามลำดับ สำหรับเพคติเนสตรึงรูปและเซลลูเลสตรึงรูปที่ผ่านการใช้งานแล้ว ให้นำมาล้างด้วยอะซีเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร pH 4.0 ทุกครั้ง ก่อนนำไปหาแอคติวิตีซ้ำกับสับสเตรทใหม่ในครั้งต่อ ๆ ไป นำข้อมูลมาแสดงผลด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้ กับจำนวนครั้งในการใช้งานของเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูป

3.3.5.6 <u>ศึกษาผลของการใช้อะมัยเลสตรึงรูปต่อการสกัดหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมเมื่อใช้ร่วมกับเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูป</u>

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.5.3 โดยแปรปริมาณของของอะมัยเลสตรึงรูปบนไนลอนขนาด 2.5 x 2.5 จำนวน 0, 10 และ 20 แผ่น ศึกษาการย่อยสลายกล้วยหอมบด โดยใช้ร่วมกับเพคติเนสและเซลลูเลสตรึงรูปในปริมาณที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 3.3.4.2 และ 3.3.4.3 ตามลำดับ ติดตามปริมาณของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่ได้และปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) นำข้อมูลมาแสดงผลด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของอะมัยเลสที่ใช้ในการสกัด กับ ปริมาณของหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่ได้และปริมาณของของแข็งทั้งหมด

3.3.6 <u>เปรียบเทียบสมบัติทางประสาทสัมผัสระหว่างหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้โดยอาศัยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป</u>

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสระหว่างหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมที่สกัดได้โดยอาศัยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป เตรียมผลิตภัณฑ์จากการนำหัวน้ำเชื้อดังกล่าวมาเป็นส่วนผสมในลักษณะเป็นน้ำกล้วยพร้อมดื่ม พิจารณาสมบัติดังนี้ คือ กลิ่น รส และการยอมรับรวม การเตรียมน้ำกล้วยมีอัตราส่วนของส่วนผสมดังนี้คือ หัวน้ำเชื้อกล้วยหอม : น้ำเย็น เท่ากับ 1:3 โดยปริมาตร แต่งรสโดยน้ำตาลร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ซึ่งน้ำกล้วยหอมที่เตรียมได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 10$\pm$0.5 ^{o}Brix มี pH 4.7$\pm$0.1 เปรียบเทียบสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จากหัวน้ำเชื้อกล้วยหอมทั้ง 2 กรณี โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 คน ตารางการทดสอบประสาทสัมผัสแสดงไว้ในภาคผนวก ก-9