การเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนในส่วนเปลือกและเมล็ดของมะละกอผลดิบ

Comparison of the amount of crude extract, papain enzymes in the peel and seed parts of raw fruit papaya (*Carica papaya L.*)

ดวงทิพย์ ไข่แก้ว[1*] , ดวงฤทัย ธำรงโชติ[1*] และ วิภาวัน จุลยา[1*]

Doungtip Kaikaew[1*], Duangrutai Thumrongchote[1*]and Wipavan Julaya[1*]

สาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

149 ถนนเจริญกรุง แขวงยานนาวา เขตสาทร กรุงเทพฯ 10120

ผู้นิพนธ์ประสานงาน : doungtip.s@mail.rmutk.ac.th

วันที่รับบทความ: 19 กันยายน 2564 / วันที่แก้ไขบทความ: ครั้งที่ 1: 23 พฤศจิกายน 2564 / วันที่ตอบรับการตีพิมพ์: 11 กุมภาพันธ์ 2565
วันที่แก้ไขบทความ: ครั้งที่ 2: 8 กุมภาพันธ์ 2565

บทคัดย่อ : งานวิจัยนี้เป็นการเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเปลือกและส่วนเมล็ดของมะละกอผลดิบ และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบต่างสายพันธุ์ ซึ่งใช้มะละกอผลดิบพันธุ์ฮอลแลนด์ พันธุ์แขกนวล และพันธุ์แขกดำ ปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเปลือกและส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำมีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 131.34 และ 169.13 mg/ml ตามด้วยพันธุ์แขกนวล 105.47 และ 147.33 mg/ml และพันธุ์ฮอลแลนด์ 92.67 และ 145.58 mg/ml ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเมล็ดมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนมากกว่าจากส่วนของเปลือกมะละกอผลดิบด้วยการวัดแรงเฉือนด้านเนื้อสัมผัส สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้ของมะละกอผลดิบพันธุ์แขกดำมีประสิทธิภาพสูงที่สุดทั้งจากส่วนของเมล็ดและส่วนของเปลือก มีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนเท่ากับ 101.35 N และ 136.22 N ประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเป็นกรดด่าง

คำสำคัญ : มะละกอ, เอนไซม์ปาเปน, สารสกัดหยาบ

Abstract : This research compares the amount of crude extracts, papain enzymes extracted from the peel and seed parts of raw papaya, and tests the effectiveness of coarse extracts from the waste parts of different varieties of raw papaya. Which uses raw papaya variety of Holland Kuekdam and Kueknuan. The amount of crude extracts, papain enzymes extracted from the peel and seed portions of Kuekdam varieties, was as high as 131.34 and 169.13 mg/ml, followed by 105.47 and 147.33 mg/ml Kueknuan varieties and Holland varieties of 92.67 and 145.58 mg/ml respectively. Crude extraction, papain enzymes extracted from the seed part are more effective at digesting proteins than from the portions of raw fruit papaya peel by measuring texture shear. Crude extract, papain enzyme extract of papaya, raw fruit, Kuekdam

varieties, has the highest efficiency both from the seed part and the part of the peel. The shear average is 101.35 N and 136.22 N. The effectiveness of protein degradation depends on temperature and alkaline acidity.

Keywords : Papaya, Papain enzymes, Crude extracts

1. บทนำ

เอนไซม์มีความสำคัญมากต่อคุณภาพของอาหารในกระบวนการแปรรูปอาหารโดยได้มีการเติมเอนไซม์ลงไปในอาหารเพื่อที่จะปรับปรุงหรือเร่งกระบวนการผลิต ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีลักษณะและคุณภาพที่ดี ซึ่งเอนไซม์ได้มาจากพืช สัตว์และจุลินทรีย์ โดยเอนไซม์ที่ได้จากพืช เช่น เอนไซม์ปาเปนจากมะละกอ เอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด และเอนไซม์ฟิซินจากมะเดื่อ เอนไซม์ที่ได้จากสัตว์ เช่น เอนไซม์ทริปซินจากตับอ่อนสัตว์ เอนไซม์เพปซินจากกระเพาะอาหารสัตว์ ส่วนเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์นิวเทรสจากแบคทีเรีย เอนไซม์ ฟลาโวไซม์จากเชื้อรา ส่วนใหญ่แล้วผู้บริโภคจะยอมรับเอนไซม์จากพืชมากกว่าจากสัตว์และจุลินทรีย์ [1] เอนไซม์ปาเปนจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของซีสเตอีนโปรตีเอสที่สกัดได้จากยางและเนื้อเยื่อพืชในมะละกอผลดิบ มีความเสถียรที่อุณหภูมิช่วง 30 – 40 องศาเซลเซียส และจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยความเสถียรขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของเอนไซม์ สำหรับสภาวะความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์จะอยู่ในช่วง 5 – 9 ซึ่งส่วนใหญ่แล้วมีความเสถียรที่สภาวะเป็นกลาง [2] การใช้เอนไซม์จากพืชก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันเพื่อช่วยในการย่อยสลายโปรตีนในระดับอุตสาหกรรมมีการใช้เอนไซม์ปาเปนบริสุทธ์ผลิตเครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เนื้อ เบียร์ และหนังสัตว์เป็นต้น มีกระบวนการสกัดที่ยุ่งยาก ใช้ต้นทุนสูงและราคาค่อนข้างแพง ดังนั้นการสกัดหยาบเอนไซม์จึงเป็นวิธีหนึ่งที่มีกระบวนการสกัดง่าย สะดวก ปลอดภัย และใช้ต้นทุนค่อนข้างต่ำ

มะละกอเป็นผลไม้เขตร้อนมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Carica papaya L.* นิยมเรียกกันทั่วไปว่า papaya มีอยู่ 4 สกุลซึ่ง 3 สกุลมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา ซึ่งได้มีการนำเอามะละกอเข้ามายังเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในสมัยกรุงศรีอยุธยา เป็นต้นไม้ที่ขนาดเล็กเป็นพุ่มใบรวมกันเป็นกระจุก โดยมีน้ำยาง อยู่ทุกส่วนของลำต้นแต่จะมีมากในส่วนของใบ ลำต้น และผลดิบ ส่วนใหญ่มีการสกัดเอนไซม์ปาเปนจากส่วน ที่เหลือใช้ของมะละกอ ได้แก่ ใบ ก้านใบ ลำต้น และผลดิบ สำหรับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่มีปริมาณมากที่สุดได้มาจากส่วนของยางมะละกอผลดิบโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายในการสกัด [3] สารสกัดเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้มีความแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆ ของพืช โดยได้จากส่วนของผลดิบมากที่สุดและจากใบน้อยที่สุด [4] ซึ่งยังไม่พบว่ามีการสกัดเอนไซม์ปาเปนในส่วนของเมล็ดของผลดิบ

ประเทศไทยมีการบริโภคมะละกอผลดิบเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีหลากหลายสายพันธุ์ที่นิยมบริโภค ได้แก่ แขกดำ แขกนวล ฮอลแลนด์ ดำเนิน ปากช่องเป็นต้น โดยใช้เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อของผลดิบเท่านั้น ส่วนในอุตสาหกรรมมีการผลิตเอนไซม์ปาเปนเพื่อใช้ในการย่อยหรือตกตะกอนโปรตีนสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องใช้ โดยได้จากการสังเคราะห์ที่ต้องใช้ต้นทุนหรือค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงในกระบวนการผลิตทั้งหมดจึงส่งผลทำให้ราคาเอนไซม์สูงตามไปด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการสกัดเอนไซม์ปาเปนเพื่อเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากส่วนที่เหลือใช้ในส่วนของเปลือก

เมล็ดของมะละกอผลดิบสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการเลือกใช้เอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากวัตถุดิบธรรมชาติและเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกและเมล็ดของมะละกอ ซึ่งเป็นการนำเอาส่วนที่เหลือใช้ที่เป็นผลผลิตทางการเกษตรมาใช้ให้เป็นประโยชน์พร้อมทั้งลดปริมาณการสูญเสียวัตถุดิบและยังสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตเอนไซม์ได้ด้วย

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบ

การเตรียมสารสกัดหยาบตามวิธีของ Arpassorn และคณะ [3] เพื่อไม่ให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ โดยเตรียมจากเปลือกและเมล็ดของมะละกอผลดิบ 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ฮอลแลนด์ สายพันธุ์แขกดำ และสายพันธุ์แขกนวล ด้วยการนำไปปั่นกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 2:1 (กรัมต่อปริมาตร) กรองเอากากออก นำเอาส่วนที่เป็นของเหลวไปทำการเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge : HERMLE, Model WB 10, Germany) ที่ความเร็วรอบ 6000 rpm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบที่ได้เป็นส่วนของสารละลายที่ใสไว้ในขวดแก้วและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปศึกษาด้านปริมาณและด้านประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนต่อไป

2.2 การตรวจสอบปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบ

2.2.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

โดยการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับระดับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน Brovine Serum Albumin (BSA) ด้วยการเจือจางสารละลายมาตรฐาน BSA ให้มีความเข้มข้น 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (μg/ml) ใส่สารละลาย Bio - Rad 5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองที่มีสารละลายมาตรฐาน BSA เข้มข้น แต่ละระดับอยู่ที่ 1 มิลลิลิตร นำไปใส่ในเครื่องหมุนผสม (Vortex Mixer : Vortex-Genie2 Scientific, United States) อย่างน้อย 5 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยการใช้เครื่อง Spectrophotometer (รุ่น Biochrome libra S70PC Double Beam, United States) แล้วคำนวณสมการเส้นตรง R-Squared (R^2) จากกราฟ

2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบแต่ละสายพันธุ์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนด้วยวิธี Bradford Protein Assay [5] โดยการเตรียมสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเปลือกและส่วนเมล็ดของมะละกอผลดิบพันธุ์แขกดำ พันธุ์แขกนวล และพันธุ์ฮอลแลนด์ มาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} แล้วนำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่ผ่านการเจือจางแล้วมา 1 มิลลิลิตร บรรจุลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายละลาย Bio - Rad 5 มิลลิลิตร แล้วใส่ลงในเครื่องหมุนผสม (Vortex Mixer : Vortex-Genie2 Scientific, United States) อย่างน้อย 5 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ หลังจากนั้นจึงนำสารละลายที่มีอยู่ในหลอดทดลองทั้งหมดไปทำการวัดหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer (รุ่น Biochrome libra S70PC Double Beam, United States) ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เมื่อได้ค่าดูดกลืนแสงแล้วก็นำค่าดูดกลืนแสงทั้งหมดที่ได้ไปแทนค่าในสมการเส้นตรงบนกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่อยู่ในสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้

2.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนในส่วนเปลือกและเมล็ดของมะละกอผลดิบแต่ละสายพันธุ์

โดยการย่อยโปรตีนจากการนำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเปลือกและแมล็ดของมะละกอแต่ละสายพันธุ์ ในปริมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักเนื้อวัว หมักกับเนื้อวัวสันนอกที่มีขนาด กว้าง 2.5 ± 0.5 เซนติเมตร ยาว 4 ± 0.5 เซนติเมตร และ สูง 1 ± 0.5 เซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำเนื้อวัวสันนอกมาลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ทำการวัดแรงเฉือน (Shear force) ด้วยเครื่อง Texture Analysis รุ่น TA TXplus และใช้หัววัดรหัส HDP/BSK

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design: RCBD) และทำการทดลอง 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย ANOVA และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT (Duncan's New Multiple Range Test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์ทางสถิติ

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบ

จากการสกัดสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเปลือกและเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ แขกนวล และฮอลแลนด์ พบว่าสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากเปลือกมะละกอมีลักษณะเป็นสารละลายใสมีสีเขียว โดยสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเปลือกมะละกอพันธุ์แขกดำมีสีเขียวมากกว่า รองลงมาเป็นพันธุ์แขกนวล และพันธุ์ฮอลแลนด์ ในเปลือกของมะละกอผลดิบมีสีเขียวที่เรียกว่าคลอโรฟิลล์(Chlorophyll) ซึ่งเป็นเม็ดสีหรือรงควัตถุที่สามารถละลายได้ในน้ำมันและสารละลายอินทรีย์สามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อได้รับแสง ความร้อน และในสภาวะความเป็นกรดด่าง [6] ในการสกัดใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีผลต่อการเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์แต่สามารถทำให้รงควัตถุละลายออกมาได้จึงส่งผลให้รงควัตถุสีเขียวกระจายตัวอยู่ในสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้ ซึ่งตามธรรมชาติแล้วเปลือกของมะละกอผลดิบมีสีเขียวแต่จะมีความเข้มของ สีเขียวแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์มะละกอ โดยมะละกอพันธุ์แขกดำจะมีเปลือกสีเขียวเข้มมากที่สุด และตามด้วยพันธุ์แขกนวล และพันธุ์ฮอลแลนด์ แสดงว่าให้เห็นสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกของมะละกอที่ได้จะมีสีเขียวจากคลอโรฟิลล์ในเปลือกของมะละกอและมีความเข้มของสีขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์มะละกอ

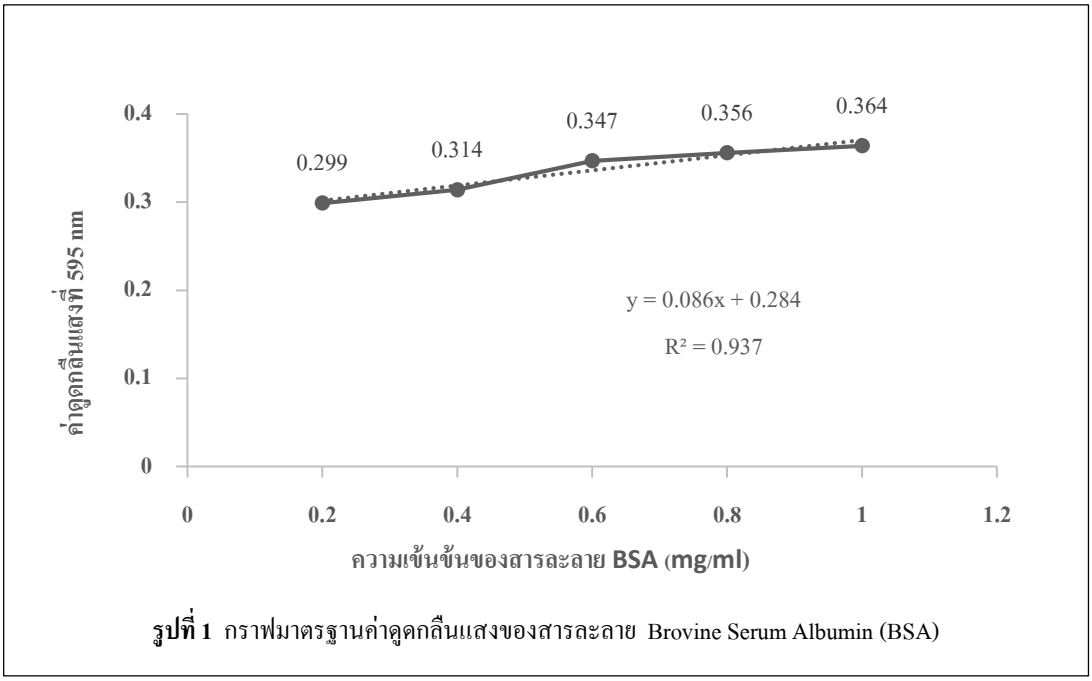
สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเมล็ดมะละกอพันธุ์แขกดำ แขกนวล และฮอลแลนด์ มีลักษณะเป็นสารละลายสีขาวใส เนื่องจากในเมล็ดของมะละกอดิบมียางสีขาวเมื่อนำมาผ่านการสกัดและผ่านการหมุนเหวี่ยงให้ตกตะกอนและจับตัวกันอยู่ที่ก้นหลอดทดลอง ซึ่งมีส่วนของสารละลายสีขาวใสอยู่ด้านบน ดังนั้นสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จึงมีลักษณะเป็นสีขาวใสเหมือนกัน

3.2 ผลการตรวจสอบปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบแต่ละสายพันธุ์

3.2.1 ผลการสร้างกราฟมาตรฐาน

จากการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน Brovine Serum Albumin (BSA)

ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณความเข้มข้นของสารละลาย BSA ที่ระดับความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำปฏิกิริยาสมบูรณ์กับสมสารละลาย Bio - Rad ซึ่งวัดค่าดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0.299, 0.314, 0.347, 0.356 0.364 เมื่อนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณสมการเส้นตรง R-Squared



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย Brovine Serum Albumin (BSA)

(R^2) จากกราฟ พบว่ากราฟสมการเส้นตรงแสดงเส้นแนวโน้มของสมการ $y = 0.086x + 0.284$ และมีค่า R-squared (R^2) = 0.937 ดังแสดงในรูปที่ 1

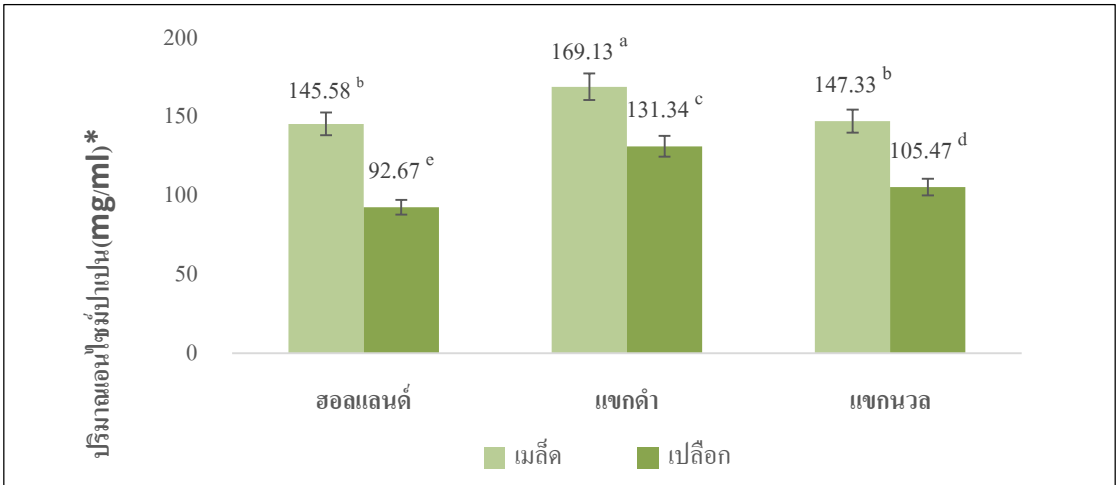
3.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอผลดิบแต่ละสายพันธุ์

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเปลือกและเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ พันธุ์ แขกนวล และพันธุ์ฮอลแลนด์ โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนกับสารละลายโปรตีนมาตรฐาน Brovine Serum Albumin (BSA) แทนค่าการดูดกลืนแสงในสมการ y แล้วคำนวณปริมาณโปรตีนเป็นสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้ ดังแสดงในรูปที่ 2 พบว่าปริมาณโปรตีนหรือสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนในส่วนเมล็ดมะละกอมีปริมาณมากกว่าในส่วนของเปลือกมะละกอเนื่องจากเมล็ดของมะละกอมีส่วนของน้ำยางบรรจุอยู่ภายในเมล็ดมากกว่าเปลือก และในขั้นตอนการปอกเปลือกมะละกอทำให้น้ำยางหลุดออกไปบางส่วนส่งผลให้ปริมาณน้ำยางที่มีอยู่เหลือน้อยลง และทำให้ปริมาณเอนไซม์ที่สกัดได้น้อยตามไปด้วย โดยจากผลการทดลองดังกล่าว ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jain [7] และ Esti และคณะ[8] รายงานว่าเอนไซม์ปาเปนสามารถสกัดได้จากยางมะละกอในส่วนต่างๆ ของใบ ก้านใบ ลำต้น และผลดิบ โดยปริมาณของน้ำยางในมะละกอจะมีมากตามส่วนต่างๆ ของมะละกอ

ได้แก่ ใบ ก้านใบ ลำต้น และ ผลดิบ ส่วนจะมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของมะละกอ และสภาพพื้นที่ในการเพาะปลูก จากผลการทดลองปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนของมะละกอพันธุ์แขกดำมีปริมาณมากที่สุดทั้งในส่วนของเมล็ดและส่วนของเปลือกมีปริมาณเท่ากับ 169.13 และ 131.34 mg/ml ตามด้วยพันธุ์แขกนวล 147.33 และ 105.47 mg/ml และพันธุ์ฮอลแลนด์ 145.58 และ 92.67 mg/ml ตามลำดับ โดยปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเหลือใช้ของมะละกอดิบในส่วนเมล็ดมีมากกว่าในส่วนเปลือก ซึ่งปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากมะละกอทั้ง 3 พันธุ์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 2 เนื่องมาจากเอนไซม์ปาเปนเกิดการทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและโปรตีนในกล้ามเนื้อทำให้เนื้อเกิดความนุ่มขึ้น ซึ่งได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Erdmann และคณะ [9] รายงานว่าเอนไซม์ปาเปนสามารถย่อยสลายโปรตีนในเนื้อสัตว์แล้วทำให้เนื้อสัตว์มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มขึ้น

3.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากในส่วนเปลือกและเมล็ดของมะละกอดิบแต่ละสายพันธุ์

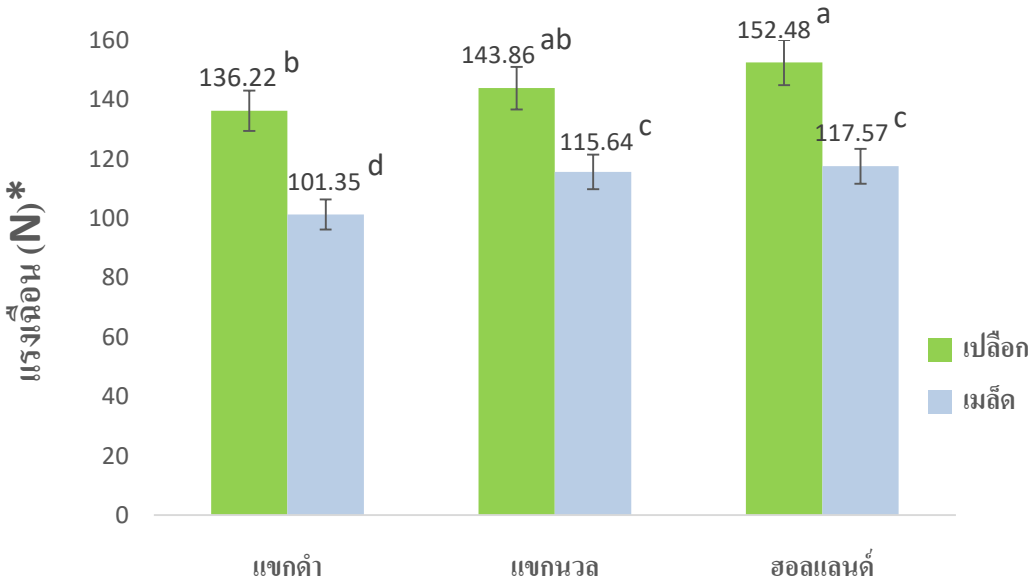
จากการนำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเปลือกและเมล็ดของมะละกอผลดิบทั้ง 3 พันธุ์ มาใช้หมักเนื้อวัวเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนด้วยการวัดเนื้อสัมผัสในเนื้อวัวที่ผ่านการลวกแล้วจากการวัดแรงเฉือน ดังแสดงในรูปที่ 3 พบว่าเนื้อวัวที่ผ่านหมักกับสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอมีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนมากที่สุดคือพันธุ์ฮอลแลนด์ รองลงมาคือพันธุ์แขกนวล และพันธุ์แขกดำ มีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนเท่ากับ 152.48 N, 117.57 N, 143.86 N, 115.64 N, 152.48 N และ 117.57 N ตามลำดับ โดยเอนไซม์ปาเปนจะทำให้สายโพลิเปปไทด์สั้นลง ส่งผลให้เนื้อสัตว์มีความนุ่มเมื่อได้รับความร้อน และการทำงานของเอนไซม์ในการเกิดปฏิกิริยาสิ้นสุดลง [10] มีความเสถียรอยู่ที่อุณหภูมิช่วง 30 - 40 องศาเซลเซียส และเกิดการสูญเสียกิจกรรมต่างๆ ต่ำกว่าร้อยละ 50 เมื่อความเป็นกรดด่าง (pH) น้อยกว่า 5 หรือ มากกว่า 10



รูปที่ 2 ปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเปลือกและเมล็ดมะละกอผลดิบแต่ละสายพันธุ์

หมายเหตุ : ^{a,b,c} หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ซึ่งสภาวะที่มีผลต่อความเสถียรของเอนไซม์ปาเปนขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่าง โดยส่วนใหญ่แล้วเอนไซม์ปาเปนมีความเสถียรมากในสภาวะที่เป็นกลาง [11] จากการทดลองมีการหมักเนื้อวัวสันนอกที่อุณหภูมิห้องและอยู่ในสภาวะเป็นกลางจึงทำให้สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนมีประสิทธิภาพมาก แสดงให้เห็นว่าที่ค่าเฉลี่ยแรงเฉือนต่ำเนื้อวัวสันนอกจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสนุ่มมากกว่าค่าเฉลี่ยแรงเฉือนสูงเนื่องจากสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนทำงานได้เต็มที่และสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดี โดยในสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วน



รูปที่ 3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากการวัดแรงเฉือน (Shear force)
หมายเหตุ : [a,b,c] หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ของเมล็ดมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนมากกว่าจากส่วนของเปลือกมะละกอผลดิบทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิและสภาวะความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์จึงสามารถย่อยสลายโปรตีนได้เป็นอย่างดี โดยสารสกัดหยาบจากเมล็ดและเปลือกมะละกอผลดิบพันธุ์แขกดำมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนได้มากที่สุด รองลงมาคือพันธุ์แขกนวลและพันธุ์ฮอลแลนด์

4. สรุปผล

งานวิจัยนี้ได้สกัดสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนที่เหลือใช้ของมะละกอผลดิบ 3 พันธุ์ คือพันธุ์ฮอลแลนด์ พันธุ์แขกดำ และพันธุ์แขกนวล จากส่วนของเปลือกและเมล็ดมะละกอ โดยสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่ได้จากส่วนเปลือกมีลักษณะเป็นสารละลายใส มีสีเขียวอ่อน ส่วนสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากเมล็ดเป็นสารละลายสีขาวใส

ปริมาณของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนของเมล็ดมะละกอผลดิบแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณมากกว่าและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนได้ดีกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกมะละกอทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยมะละกอพันธุ์แขกดำมีปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนมากที่สุด รองลงมาคือพันธุ์แขกนวล และพันธุ์ฮอลแลนด์ ภายใต้สภาวะของอุณหภูมิห้องและสภาวะความเป็นกลางของกรดด่าง ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากส่วนเหลือใช้ของมะละกอที่สกัดได้จากธรรมชาติ มีความปลอดภัย อีกทั้งมีขั้นตอนการสกัดที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว และใช้ต้นทุนในการสกัดต่ำ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ได้ในการปรับปรุงพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องดื่ม และอื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

[1] L. You, M. Zhao, R.H. Liu and J.M. Regenstein, "Antioxidant and antiproliferative activities of loach (Misgurnus anguillicaudatus) peptides prepared by papain digestion," *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* vol. 14, pp. 7948-7953, 2010.

[2] K. Konno, C. Hirayama, M. Nakamura, K. Tateshi, Y. Tamura, M. Hattori and K. Kohno, "Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex," *The Plant Journal*, vol. 37, pp. 370-378, 2004.

[3] S. Arpossorn and N. Kanjanaporn, "Proteolytic activity of crude extract from different parts of pineapple and papaya," *Khon Kaen Agriculture Journal*, vol. 48 suppl, pp. 1087-1092, 2020. (in Thai)

[4] S. Ketnawa, P. Chaiwut and S. Rawdkuen, "Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction.," *Food Bioprod. Process*, vol. 90, pp. 385-391, 2012.

[5] A. Ninfa, D. Ballou and M. Benore, Fundamental Laboratory Approaches for Biochemistry and Biotechnology, John Wiley & Sons Inc, 2010.

[6] N. Rattanapnont, Food Chemistry, Odeonstow Publishing, Bangkok, 2010. (in Thai)

[7] J. Jain, "Review on isolation and purification of papain enzyme from papaya fruit," *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology,* vol. 5, pp. 193–197, 2020.

[8] M. Esti, I. Benucci, C. Lombardelli, K. Liburdi, A. Maria and V. Garzillo, "Papain from papaya (Carica papaya L.) fruit and latex: Preliminary characterization in alcoholic-acidic buffer for wine application," *Journal of Food Bioprod Process*, vol. 91, pp. 595-598, 2013.

[9] K. Erdmann, W.Y. Cheung and H. Schroder, "The possible roles of food derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular diseases," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 19, pp. 643–654, 2008.

[10] Z. Liya, W. Cui, J. Yanjun and G. Jing, "Immobilization of Papain in Biosilica Matrix and Its Catalytic Prpperty," *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol. 21, pp. 670-675, 2013.

[11] W. Wang,Z. Li, J. Liu, Y. Wang, S. Liu and M. Sun, "Comparison between thermal hydrolysis and enzymatic proteolysis processes for the preparation of Tilapia skin collagen hydrolysates," *Czech Journal of Food Science*, vol. 31, pp. 1-4, 2013.

ประวัติผู้ประพันธ์ :

ดวงทิพย์ ไข่แก้ว
ปัจจุบันทำงานสาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

ดวงฤทัย ธำรงโชติ
ปัจจุบันทำงานสาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

วิภาวัน จุลยา
ปัจจุบันทำงานสาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ