วารสารวิจัย UTK ราชมงคลกรุงเทพ

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้มะละกอ
Protein Digestion Efficiency of Papain Enzyme Crude Extract from Papaya Byproduct

ดวงทิพย์ ไข่แก้ว[1*], สารนิติ บุญประสพ[2]
Doungtip Kaikaew[1*], Saranit Boonprasop[2]

[1*]คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ
[2]วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี จังหวัดนนทบุรี
[1*]Faculty of Home Economics Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep
[2]Borommaratchonnani College of Nursing, Nonthaburi
*Corresponding author. Tel: 09 0197 6399, E-mail: doungtip.s@mail.rmutk.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนที่เหลือใช้ของมะละกอ โดยสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอแขกดำแล้วหาปริมาณสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักของส่วนที่เหลือใช้ ความเป็นกรดด่าง ปริมาณเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบ และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้านเนื้อสัมผัสและด้านปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเปลือกและเมล็ดมะละกอเท่ากับ 5.76 กรัมต่อ100 กรัมของเปลือก และ 8.92 กรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ด มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.56 และ 5.53 ตามลำดับ มีปริมาณเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอเท่ากับ 130.36 และ 167.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้านเนื้อสัมผัสจากการวัดแรงเฉือนของเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอเป็นเวลา 30 45 และ 60 นาที พบว่าเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอใช้แรงเฉือนเท่ากับ 128.75 119.24 11.35 และ 98.97 91.68 85.49 นิวตัน ตามลำดับ ซึ่งเนื้อหมูที่มีความนุ่มจะใช้แรงเฉือนต่ำจากการที่เอนไซม์มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนสูง ส่วนประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้านปริมาณโปรตีนในเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอเป็นเวลา 30 45 และ 60 นาที พบว่า ปริมาณโปรตีนในเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอเท่ากับ 0.442 1.021 1.604 และ 0.610 1.354 2.105 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น โดยสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเมล็ดมะละกอมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนมากกว่าจากเปลือกมะละกอ

คำสำคัญ : เอนไซม์ปาเปน สารสกัดหยาบ มะละกอ

Received 27-09-2021
Revised 17-12-2021
Accepted 27-12-2021

Abstract

This research was investigated the efficiency of proteins digestion of crude extracts, papain enzymes from papaya byproduct. By extracting crude extracts, papain enzymes from papaya peels and seeds variety of Khaek Dum, then determined the amount of crude extract to the weight of papaya byproduct, pH, the amount of papain enzymes in the crude extract incoulding the efficiency of protein digestion in the texture and protein content. It was found that the amount of crude extract from papaya peels and papaya seeds were 5.76 g/100 g and 8.92 g/100 g, respectively. The amount of papain enzymes in crude extracts from papaya peels and papaya seeds were 130.36 and 167.48 mg/ml, and pH values were 5.56 and 5.53 respectively. The efficiency of protein digestion was influenced by texture from the shear force of pork marinated with crude extract, papain enzymes from papaya peels and papaya seeds for 30, 45 and 60 min. The results found that shear forces of pork marinated with crude extract, papain enzymes from papaya peels and papaya seeds used were 128.75, 119.24, 11.35 and 98.97, 91.68, 85.49 N, respectively. The softer pork used lower shear forces for cutting because of the enzymes from papaya were high effective on digesting proteins. The protein content from the protein degradation of pork marinated with crude extracts papain enzymes, from papaya peels and papaya seeds for 30, 45 and 60 min were 0.442, 1.021, 1.604 and 0.610, 1.354, 2.105 mg/mL, respectively. The protein content was increased when increased marinated time. The efficiency of protein digestion of crude extracts, papain enzyme from the papaya seeds were higher than the papaya peels.

Keyword : Papain enzymes, Crude extracts, Papaya

1. บทนำ

ปัจจุบันในอุตสาหกรรมมีการประยุกต์ใช้เอนไซม์ที่สกัดได้มาจากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เพื่อช่วยลดต้นทุนในกระบวนการผลิต ลดการใช้สารเคมีที่มีราคาสูงซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้เอนไซม์ที่สกัดได้จากพืช เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าเอนไซม์จากสัตว์และจุลินทรีย์ [1] โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ปาเปนจากมะละกอและเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดที่พบได้ตามธรรมชาติ [2] ซึ่งเอนไซม์ปาเปนและเอนไซม์โบรมิเลนจัดเป็นเอนไซม์โปรติเอส (Protease) ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีน และมีอยู่มากมายหลายชนิดสามารถพบได้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยเอนไซม์กลุ่มนี้มีหลายชนิดและมีความแตกต่างกันด้านความจำเพาะของสับสเตรต กลไกในการเร่งปฏิกิริยา ลักษณะของบริเวณเร่ง สารยับยั้งและเร่งปฏิกิริยา ลำดับของกรดอะมิโนในโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล ช่วงของความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน เป็นต้น [3] โดยเอนไซม์โปรติเอสที่นิยมผลิตใช้กันอย่างแพร่หลายนั้นได้มาจากพืช ได้แก่ เอนไซม์

ปาเปน (Papain) จากยางมะละกอ และเอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain) จากสับปะรด เอนไซม์ปาเปนมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนได้ดีในสภาวะที่ เป็นกลางในช่วงพีเอช 6.0 – 7.5 เมื่อมีการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ในโปรตีนหรือย่อยสลายโปรตีนที่มีโพลิเปปไทด์ขนาดเล็กและมีกรดอะมิโนอิสระเป็นจำนวนมาก เอนไซม์ปาเปนได้มาจากพืชด้วยการสกัดจากยางมะละกอ (*Carica papaya* L.) ซึ่งมีในส่วนของใบ ก้านใบ ลำต้น และผลดิบ จัดอยู่ในกลุ่มของซีสเตอีนโปรตีเอส (Cystiene protease) ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีน [4] เอนไซม์ปาเปนเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 212 ตัว กรดอะมิโนซิสเตอีน 7 ตัว ซึ่งเอนไซม์ปาเปนได้จากมะละกอมีคาร์โบไฮเดรต เป็นส่วนประกอบด้วย และในการผลิตเอนไซม์ปาเปนระดับอุตสาหกรรมต้องใช้ต้นทุนสูงและมีราคาค่อนข้างแพง [5] มีการนำเอนไซม์ปาเปนมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น การทำให้เครื่องดื่มใส การทำให้เนื้อสัตว์มีความนุ่ม การฟอกหนังให้นุ่ม [6] ด้านอาหารประเภทเนื้อสัตว์เอนไซม์ปาเปนจะย่อยสลายโปรตีนที่อยู่ในเนื้อสัตว์ทำให้เนื้อสัตว์มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่นุ่มขึ้น และเป็นผลทำให้ร่างกายดูดซึมกรดอะมิโนได้ [7] และใช้เป็นยารักษาสภาวะการเกิดลิ่มเลือดหัวใจและหลอดเลือด ใช้เป็นยาฆ่าพยาธิ ยาช่วยย่อยอาหาร [8] ในประเทศไทยมีการบริโภคมะละกอกันทั่วไปทุกภาคไม่ว่าจะเป็นในระดับครัวเรือนหรือระดับอุตสาหกรรม นิยมบริโภคมะละกอพันธุ์แขกดำกันเป็นส่วนใหญ่ โดยใช้เฉพาะส่วนของเนื้อมะละกอ ส่วนเปลือกและเมล็ดต้องทิ้งไปเป็นขยะที่ไม่ได้ประโยชน์ ดังนั้นจึงนำส่วนเปลือกและเมล็ดของมะละกอมาสกัดเป็นเอนไซม์ในรูปของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนด้วยน้ำกลั่นที่เป็นวิธีการสกัดที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และปลอดภัย เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบและประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากส่วนของเปลือกและส่วนของเมล็ดมะละกอ เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกไปใช้ในด้านอาหาร ยา และเครื่องใช้ต่อไป

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนที่เหลือใช้ของมะละกอ

2.1.1 เตรียมสารสกัดหยาบ

สารสกัดหยาบจากเมล็ดมะละกอโดยนำเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียดกับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 2:1 กรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นของเหลวแล้วนำไปเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge : HERMLE, Model WB10, Germany) ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งจะได้สารสกัดหยาบเป็นสารละลายใสอยู่ด้านบนและด้านล่างเป็นตะกอน ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกของมะละกอเตรียมเช่นเดียวกันกับเมล็ดมะละกอ นำสารสกัดหยาบที่เป็นสารละลายส่วนที่ใสไว้ในขวดแก้วและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปใช้ต่อไป และคำนวณปริมาณสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักของเมล็ดหรือของเปลือกมะละกอ (กรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ด/ของเปลือก)

2.1.2 ตรวจสอบปริมาณเอนไซม์ปาเปน

โดยวิธี Bradford Protein Assay [9] ด้วยการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับระดับความเข้มข้นของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ใช้ความเข้มข้นที่ 200, 400,

600, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมสารละลาย Bio - Rad 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปใส่ในเครื่องหมุนผสม (Vortex Mixer : Vortex-Genie 2 Scientific, United States) นานอย่างน้อย 5 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ แล้วจึงนำสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ไปทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทร (Spectrophotometer รุ่น Biochrome libra S70 PC Double Beam, United States) นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาสมการเส้นตรง และค่า R-squared (R^2) เพื่อเป็นกราฟมาตรฐาน สำหรับใช้ในการคำนวณปริมาณเอนไซม์ต่อไป

วิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบจากเมล็ดและจากเปลือกมะละกอส่วนที่ใส โดยนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} แล้วนำสารสกัดหยาบมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย Bio - Rad 5 มิลลิลิตร นำไปใส่ลงในเครื่องหมุนผสมนานอย่างน้อย 5 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากนั้นจึงนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปแทนค่าในสมการเส้นตรงบนกราฟมาตรฐานและคำนวณปริมาณเอนไซม์เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA)

2.1.3 วัดความเป็นกรดด่างของสารสกัดหยาบจากเปลือกและเมล็ดมะละกอ ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter รุ่น Extech PH100 : Exstik, United States)

2.2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเหลือใช้ของมะละกอ

2.2.1 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้านเนื้อสัมผัส (Texture)

โดยนำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากเมล็ดและเปลือกมะละกอพันธุ์แขกดำมาหมักกับเนื้อหมูส่วนสะโพกขนาด กว้าง 3 ± 0.5 เซนติเมตร ยาว 5 ± 0.5 เซนติเมตร และหนา 1 ± 0.5 เซนติเมตร โดยใช้สารสกัดหยาบร้อยละ 20 ของน้ำหนักเนื้อหมู และเนื้อหมูไม่ได้หมัก (Control) เป็นเวลา 30 45 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำเนื้อหมูมาทำการวัดแรงเฉือน (Shear force) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis รุ่น TA TXplus) ด้วยหัววัดรหัส HDP/BSK โดยวางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 Factorial in CRD และทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย ANOVA และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT (Duncan's new multiple rang test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS 17 for windows

2.2.2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้านปริมาณโปรตีน

นำเนื้อหมูส่วนสะโพกขนาด กว้าง 3 ± 0.5 เซนติเมตร ยาว 5 ± 0.5 เซนติเมตร และหนา 1 ± 0.5 เซนติเมตร หมักด้วยสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่สกัดได้จากเมล็ดและเปลือกมะละกอพันธุ์แขกดำและเนื้อหมูที่ไม่ได้หมัก (Control) เป็นเวลา 30 45 และ 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำปั่นให้

ละเอียดและเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 10^{-1} ใส่เครื่องหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นำสารสกัดหยาบส่วนที่ใสด้านบน (Crude protein) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลาย Bio-Rad 5 มิลลิลิตร อย่างน้อย 5 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรแล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปแทนค่าในสมการเส้นตรงบนกราฟมาตรฐานและคำนวณปริมาณเอนไซม์เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) วางแผนการทดลองแบบแบบ 2 x 3 Factorial in CRD และทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย ANOVA และหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT (Duncan's new multiple rang test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS 17 for windows

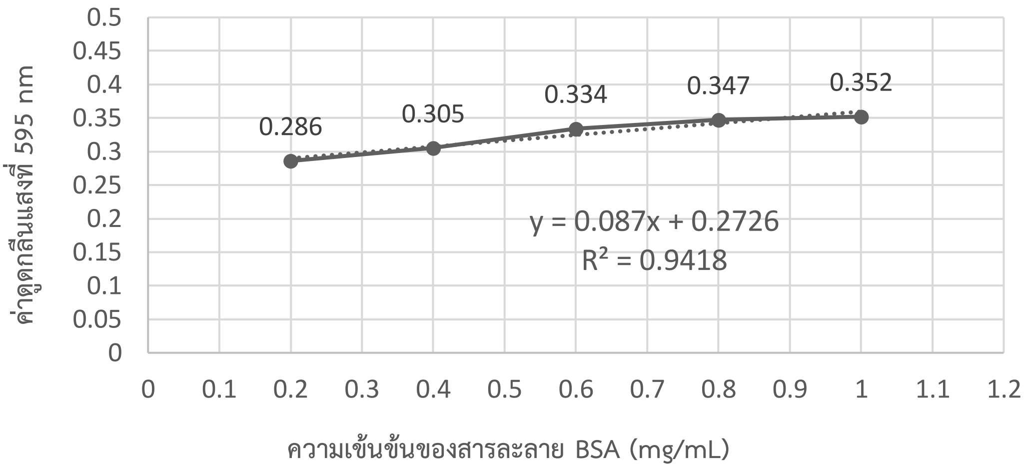
3.ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนที่เหลือใช้ของมะละกอ

สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเมล็ดและเปลือกของมะละกอพันธุ์แขกดำมีลักษณะเป็นสารละลายสีขาวใสและสารละลายสีเขียวอ่อน มีปริมาณ 8.92 กรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ด และ 5.76 กรัมต่อ 100 กรัมของเปลือก ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งปริมาณสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเมล็ดมะละกอมีปริมาณมากกว่าจากเปลือกมะละกอ เนื่องจากภายในเมล็ดมีปริมาณของน้ำยางมากกว่าในเปลือกมะละกอ เมื่อนำมาตรวจสอบปริมาณเอนไซม์ปาเปนด้วยวิธี Bradford Protein Assay โดยการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณความเข้มข้นของสารละลาย BSA ดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งกราฟแสดงเส้นแนวโน้มสมการ $y= 0.087x + 0.2726$ และมีค่า R-squared (R^2) เท่ากับ 0.9418 คำนวณหาปริมาณเอนไซม์ปาเปนจากสมการ พบว่าปริมาณเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเมล็ดมะละกอมีปริมาณมากกว่าจากส่วนเปลือกมะละกอ โดยมีปริมาณของเอนไซม์ปาเปนเท่ากับ 167.48 และ 130.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.56 และ 5.53 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยในส่วนของเปลือกมะละกอจะมีปริมาณน้ำยางน้อยกว่าเนื่องจากเกิดการสูญเสียไปในระหว่างการปอกเปลือก มีสอดคล้องกับงานวิจัยของ Esti และคณะ [10] รายงานว่าเอนไซม์ปาเปนมีอยู่มากในน้ำยางของส่วนต่าง ๆ ของมะละกอ ได้แก่ ใบ ก้านใบ ลำต้นและผลดิบ

ตารางที่ 1 ปริมาณสารสกัดหยาบ ปริมาณเอนไซม์ปาเปนและความเป็นกรดด่าง(pH)

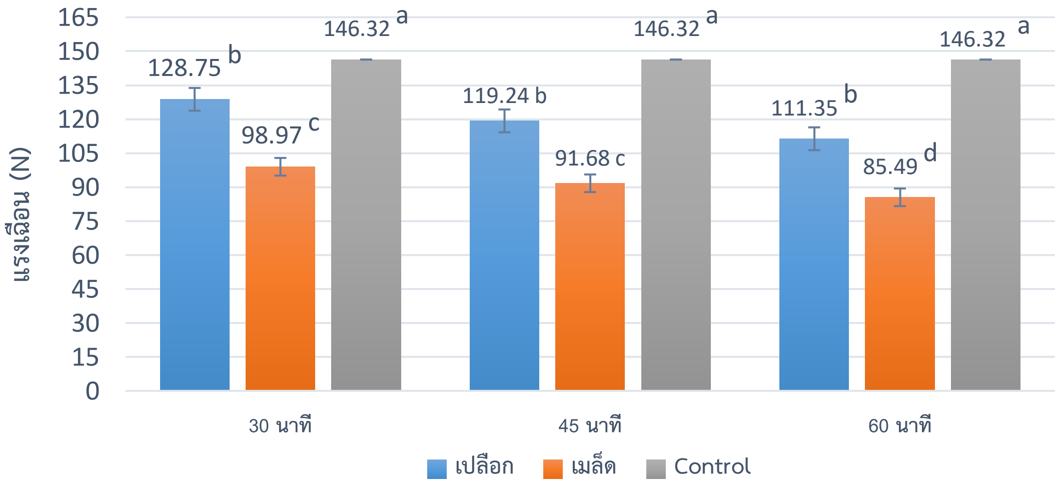
	ปริมาณสารสกัดหยาบ (g/100 g)	ปริมาณเอนไซม์ปาเปน (mg/mL)	ความเป็นกรดด่าง (pH)
เมล็ดมะละกอ	8.92	167.48	5.56
เปลือกมะละกอ	5.76	130.36	5.53



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA)

3.2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบปาเปนจากส่วนเหลือใช้มะละกอ

นำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเมล็ด และส่วนเปลือกมะละกอพันธุ์แขกดำมาใช้หมักเนื้อหมู แล้ววัดประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนด้านเนื้อสัมผัสจากการวัดเนื้อสัมผัสในเนื้อหมูด้วยการวัดแรงเฉือนและปริมาณโปรตีนจากการละลายของโปรตีนในเนื้อหมู ดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่าเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกและส่วนเมล็ดมะละกอ มีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนน้อยกว่าเนื้อหมูที่ไม่ได้หมัก



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนด้านเนื้อสัมผัสจากการวัดแรงเฉือน (Shear force)

หมายเหตุ: a,b,c หมายถึง มีความแตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

โดยมีแนวโน้มจากมากไปหาน้อยเมื่อใช้เวลาในการหมักมากขึ้น โดยเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเปลือกมะละกอมีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนจากการหมักในเวลา 30 45 และ 60 นาที เท่ากับ 98.97 91.68 และ 85.49 นิวตัน (N) ตามลำดับ ส่วนเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเมล็ดมะละกอมีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนจากการหมักในเวลา 30 45 และ 60 นาที เท่ากับ 128.75 119.24 และ 113.35 นิวตัน (N) ตามลำดับ และเนื้อหมูที่ไม่ได้หมัก (Control) มีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนที่เวลา 30 45 และ 60 นาที เท่ากับ 146.32 นิวตัน (N) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเมล็ดมะละกอมีค่าเฉลี่ยแรงเฉือนน้อยกว่าแต่มีปริมาณเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบมากกว่า (ตารางที่ 1) ซึ่งเนื้อหมูที่มีความนุ่มจะใช้แรงเฉือนต่ำและความนุ่มของเนื้อหมูจากการที่เนื้อหมูถูกย่อยสลายโปรตีนจากเอนไซม์ปาเปน และขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ เนื่องจากเยื่อเกี่ยวพันและโปรตีนในกล้ามเนื้อทำให้เนื้อนุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Erdmann และคณะ [7] รายงานว่าเอนไซม์ปาเปนจะไฮโดรไลซ์หรือย่อยสลายโปรตีนในเนื้อสัตว์ทำให้สายโพลิเปปไทด์สั้นลงได้กรดอะมิโนจำนวนมากและทำให้เนื้อมีลักษณะนุ่มขึ้น และเป็นผลทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมกรดอะมิโนได้เมื่อเอนไซม์ทำงานได้ดีและมีประสิทธิภาพมาก

ในด้านปริมาณโปรตีนเป็นการหาปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาจากเนื้อหมูโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงเพื่อหาประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา ซึ่งจะมีปริมาณโปรตีนหรือกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าเนื้อหมูที่ผ่านการหมักมีปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเนื้อหมูที่ไม่ได้ผ่านการหมัก โดยปริมาณโปรตีนที่วัดได้จากเนื้อหมูหมักกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเปลือกมะละกอที่เวลา 30 45 และ 60 นาที มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้เท่ากับ 0.578 1.157 และ 1.740 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเมล็ดที่เวลา 30 45 และ 60 นาที มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้เท่ากับ 0.746 1.490 และ 2.241 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเนื้อหมูที่ไม่ได้หมักที่เวลา 30 45 และ 60 นาที มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้เท่ากับ 0.136 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนในส่วนของเมล็ด

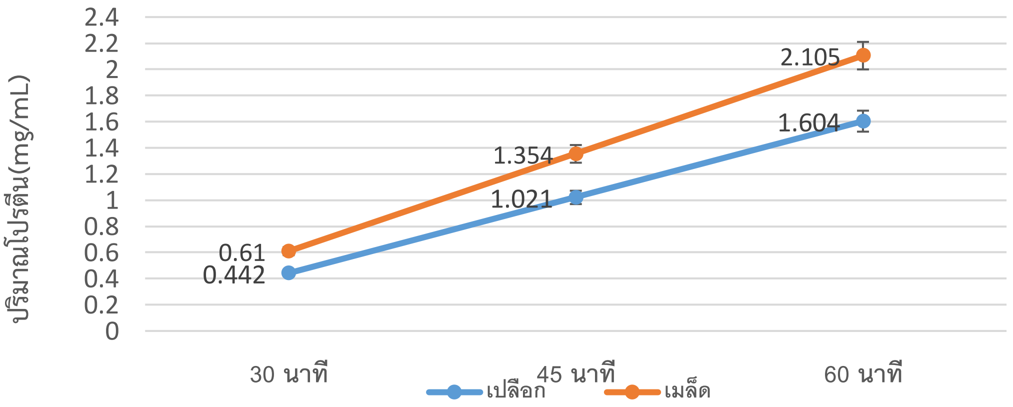
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากเปลือกและเมล็ดมะละกอ

ตัวอย่าง	ปริมาณโปรตีน (mg/mL)		
	30 นาที	45 นาที	60 นาที
เนื้อหมู (control)	0.0	0.0	0.0
หมูหมักสารสกัดหยาบจากเปลือก	0.442±0.02^{d}	1.021±0.03^{c}	1.604±0.02^{b}
หมูหมักสารสกัดหยาบจากเมล็ด	0.610±0.01^{d}	1.354±0.02^{b}	2.105±0.01^{a}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} หมายถึง มีความแตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

± หมายถึง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

และส่วนของเปลือกจากปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาของเนื้อหมูหมักเทียบกับเนื้อหมูที่ไม่ได้หมัก (Control) ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกมาจากเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนในส่วนของเมล็ดที่เวลา 30 45 และ 60 นาที มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้เท่ากับ 0.610 1.354 และ 2.105 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนส่วนของเปลือกที่เวลา 30 45 และ 60 นาที มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้เท่ากับ 0.442 1.021 และ 1.604 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มปริมาณโปรตีนเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักมากขึ้นดังแสดงในภาพที่ 3 แสดงให้เห็น ว่าระยะเวลาในการหมักที่เพิ่มขึ้นนั้นทำให้เอนไซม์มีประสิทธิภาพและสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดี เนื่องจากเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบไปย่อยสลายโปรตีนในเนื้อเยื่อของเนื้อหมูและมีกรดอะมิโนอิสระจำนวนมากละลายออกมาส่งผลให้ปริมาณของโปรตีนที่วัดได้มีมากขึ้นด้วย โดยที่สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนของเมล็ดมะละกอมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนได้ดีมากกว่าจากส่วนของเปลือกมะละกอตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ซึ่งในการหมักเนื้อหมูกับสารสกัดหยาบอยู่ในช่วงอุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส) และอยู่ในสภาวะที่เป็นกลางจึงทำให้เอนไซม์ปาเปนมีประสิทธิภาพในการทำงานได้ดี เมื่อมีระยะเวลาในการหมักมากขึ้นจึงช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนได้มากขึ้นด้วย โดยที่มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Konno และคณะ [11] ระบุว่าเอนไซม์ปาเปนมีประสิทธิภาพในการทำงานได้ดีช่วงอุณหภูมิ 30 – 40 องศาเซลเซียส และในสภาวะที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมมากในช่วง 5 – 10 ซึ่งก็ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอนไซม์ด้วยอยู่อีกทั้งก็ยังมีการย่อยสลายโปรตีนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาการหมักที่ 60 นาทีแรก หลังจากนั้นระดับการย่อยสลายโปรตีนจะคงที่ [12]



ภาพที่ 3 ปริมาณโปรตีนที่ละลายออกจากเนื้อหมูที่หมักกับสารสกัดหยาบในส่วนของเปลือกและส่วนของเมล็ดมะละกอ

หมายเหตุ : * หมายถึง มีความแตกต่างกันในแนวตั้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

สรุปผล

สารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนเมล็ดของมะละกอพันธุ์แขกดำ มีปริมาณสารสกัดหยาบที่สกัดได้มากกว่าจากส่วนเปลือกมะละกอเท่ากับ 8.92 กรัมต่อ 100 กรัมของเมล็ด และ 5.76 กรัมต่อ100 กรัมของแปลือก และมีปริมาณเอนไซม์ปาเปนในสารสกัดหยาบจากส่วนเมล็ดและจากส่วนเปลือกเท่ากับ 167.48 และ 130.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.56 และ 5.53 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนที่ได้มีลักษณะเป็นสารละลายสีขาวใส โดยมีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนทางด้านเนื้อสัมผัสด้วยการวัดแรงเฉือน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของแรงเฉือนจากมากไปหาน้อยเมื่อใช้ระยะเวลาในการหมัก 30 45 และ 60 นาที เท่ากับ 98.97 91.68 และ 85.49 นิวตัน (N) ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนทางด้านปริมาณโปรตีนที่วัดได้จากการสลายตัวของโปรตีน ซึ่งสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนของเมล็ดมะละกอสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ปริมาณโปรตีนมากกว่าจากส่วนของเปลือกมะละกอ โดยปริมาณโปรตีนที่ละลายออกจากเนื้อหมูที่หมักภายในเวลา 30 45 และ 60 นาที เท่ากับ 0.610 1.354 และ 2.105 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งระยะเวลาในการหมักที่เพิ่มมากขึ้นมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนของสารสกัดหยาบเอนไซม์ปาเปนจากส่วนของเมล็ดและส่วนของเปลือกมะละกอเพิ่มมากขึ้นด้วยที่อุณหภูมิห้องหรือ 35 องศาเซลเซียส

อ้างอิง

[1] You L, Zhao M, Liu RH, et al. Antioxidant and antiproliferative activitiesof loach (Misgurnus anguillicaudatus) peptides prepared by papain digestion. J Agr Food Chem. 2010;14:7948-53.

[2] Sullivan GA and Calkins CR. Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low connective tissue. Meat Science J. 2010;85:730-4.

[3] Abdel-Naeem HHS and Mohamed HHM. Improving the physico - chemical and Sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. Meat Science J. 2016;118:52-60.

[4] Kristinsson HG. Aquatic food protein hydrolysates. In: Maximising the Value of Marine By Products. Cambridge Woodhead, UK; 2006.

[5] Fernandez J, Castaneda D and Hormigo D. New trends for a classical enzyme: papain, a biotechnological success story in the food industry. Journal Food Science and Technology. 2017;68:91–101.

[6] Kim DC, Cahe HJ and In MJ. Existence of stable fibrin clotting inhibitor in salt fermented anchovy sauce. Journal Food Compos Anal. 2004;17:113-8.

[7] Erdmann K, Cheung WY and Schroder H. The possible roles of food derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular diseases. J Nutr Biochem. 2008;19:643–54.

[8] Giannini MJ, Coleman M and Innerfiled I. Antithrombin activity in Homocystinuria. The Lancet J.1975;305:1090-4.

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

[10] Esti M, Benucci I, Lombardelli C, et al. Papain from papaya (*Carica papaya* L.) fruit and latex : Preliminary characterization in alcoholic-acidic buffer for wine application. J Food Biop Process.2013;91:595-8.

[11] Konno K, Hirayama C, Nakamura M, et al. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. The Plant J. 2004;37: 370-8.

[12] Abdulazeez SS, Ramamoorthy B, Ponnusamy P. Proximate analysis and production of protein hydrolysate from king fish of Arabian gulf coast - Saudi arabia. Int J Pharm Bio Sciences. 2013;3: 138-44.