บทคัดย่อ

T141522

การศึกษาเงื่อนไขของการเก็บรักษาเปลือกมะละกอ มีความสำคัญต่อการผลิตโปรติเอส เปลือกมะละกอมีโปรติเอสเสมอในขณะที่ไม่เน่า มะละกอดิบเก็บไว้ได้นานถึง 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) การห่อผลหรือการแช่ผลมะละกอในน้ำช่วยยืดเวลาให้เปลือกมีความสด แต่ไม่สามารถเพิ่มแอคติวิตีของโปรติเอส เปลือกมะละกอมีโปรติเอสมากที่สุดในวันที่เก็บผลจากต้น แอคติวิตีโปรติเอสของเปลือกคงที่ในช่วง 28 วัน ที่ 4 และ –20 °C ในช่วงอากาศร้อนเปลือกมะละกอจะเน่าได้ในวันที่ 2 ในขณะที่ในช่วงอากาศเย็น (< 25 °C) ความสดของเปลือกจะอยู่ได้นานขึ้น 1-2 วัน จากข้อสังเกตพบว่า ผลที่เปียกน้ำก่อนปอกเปลือก มีผลทำให้เปลือกเน่าได้เร็วขึ้น การเตรียมเปลือกแห้งที่เหมาะสมทำได้โดยอบเปลือกสดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 °C การเตรียมเปลือกแห้งโดยการทำให้แห้งที่ 55 °C 10 ชั่วโมง ทำให้เปลือกสูญเสียแอคติวิตีของโปรติเอส 17.91% การเก็บเปลือกแห้งไว้ 28 วัน ที่ –20, 4, 25 และ 35 °C ทำให้แอคติวิตีของโปรติเอสลดลงเหลือ 75.39, 64.02, 60.22 และ 50.26% ตามลำดับ ที่ 35 °C เปลือกแห้งมีแอคติวิตีโปรติเอสค่อนข้างคงที่นานกว่า 6 เดือน เปลือกจากผลห่ามและสุกมีโปรติเอสใกล้เคียงกัน (0.55 และ 0.58 ยูนิต/กรัมเปลือกสด) ทั้งสองมีโปรติเอสต่ำกว่าเปลือกดิบ (0.99 ยูนิต/กรัมเปลือกสด)

ความแตกต่างของแอคติวิตีของโปรติเอสในตัวอย่างน้ำล้างผลนั้น ขึ้นอยู่กับความบอบช้ำบนผิวของผลมะละกอในระหว่างการเก็บจากต้นและการขนส่ง สารละลายที่ล้างผลมะละกอที่ปอกเปลือกแล้ว 1 กิโลกรัม มีโปรติเอส 293.87 ยูนิต และเนื้อสารทั้งหมด 0.7% โปรติเอสผงละเอียดเตรียมโดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 20% และได้ผลผลิต 86.89% การตรวจสอบด้วยแคโทดิกเจลอิเลคโตรฟอริซีส บ่งชี้ว่า

สารละลายน้ำล้างผลมะละกอ ประกอบด้วย ไกลซิลเอนโดเพปทิเดส ไคโมปาเปน เอ และ บี และคาริ-เคน

โปรติเอสจากเปลือกมะละกอสกัดโดยการบดละเอียดในน้ำ (เปลือกสด : น้ำ = 1 : 2 น้ำหนัก/ปริมาตร) การสกัดด้วยการบดละเอียดมีประสิทธิภาพสูงกว่าการแช่เปลือกมะละกอในน้ำเพื่อการผลิตโปรติเอส ยกเว้นสำหรับเปลือกที่ได้จากการเก็บผลมะละกอจากต้นในวันนั้น ซึ่งทำให้การสกัดด้วยวิธีทั้งสองมีโปรติเอสใกล้เคียงกัน สิ่งสกัดนี้ใช้ผลิตโปรติเอสด้วยวิธี 3 วิธี : โดยการตกตะกอนด้วยเอทา-นอล การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต-โซเดียมคลอไรด์ และการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งพ่นฝอย

วิธีแรก โปรติเอสตกตะกอนจากสิ่งสกัดโดยเอทานอล 70% ผลผลิต 6.76 และ 7.42% ได้จากเปลือกสดและเปลือกแห้งตามลำดับ ในขณะที่ปาเปนไม่บริสุทธิ์ซึ่งได้จากการตกตะกอนยางมะละกอด้วยวิธีเดียวกัน ได้ผลผลิต 88.90% วิธีที่สอง โปรติเอสตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 70% สารละลายอิ่มตัว – โซเดียมคลอไรด์ 35% ตะกอนโปรติเอสจากเปลือกสดและเปลือกแห้งมีผลผลิต 17.16 และ 3.79% ตามลำดับ มีความแตกต่างกับการตกตะกอนปาเปนจากยางมะละกอด้วยแอมโมเนียมซัล-เฟต 45% สารละลายอิ่มตัว-โซเดียมคลอไรด์ 10% ทำให้เตรียมปาเปนบริสุทธิ์ได้และมีผลผลิต 3 ชนิด สองชนิดในนี้คือ ไกลซิลเอนโดเพปทิเดส และไคโมปาเปน บี ซึ่งพบในปาเปนจากยางมะละกอที่ยังไม่บริสุทธิ์ โปรติเอสอีกหนึ่งชนิดคือโปรตีนที่มีประจุบวกมากกว่าปาเปน SDS-PAGE บ่งชี้ว่าโปรติเอสจากเปลือกมะละกอมีโปรตีนอย่างน้อย 5 ชนิด ซึ่งมีมวลโมเลกุลที่ 45000, 39811, 23442, 21380 และ 14300 ดาลตัน แถบโปรตีนที่ 23442 จัดว่าเป็นมวลโมเลกุลของไกลซิลเอนโดเพปทิเดส และไคโมปา-เปน บี

วิธีที่สาม โปรติเอสผงละเอียดเตรียมจากสิ่งสกัดจากเปลือกที่มีเนื้อสารทั้งหมด 1.17-1.55% การเติมโซเดียมคลอไรด์ 5-20% ทำให้ได้ผลผลิตของโปรติเอสผงละเอียด 93.26-156.55% เปรียบเทียบกับผลผลิตของปาเปนผงละเอียด 106.92% ซึ่งได้จากยางมะละกอโดยไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ เครื่องทำแห้งพ่นฝอยที่ใช้ในที่นี้ได้ถูกประดิษฐ์ขึ้นเองด้วยงบประมาณทั้งหมด 200,000 บาท

การทดสอบการทำให้เนื้อนุ่ม บ่งชี้ว่าโปรติเอสจากเปลือกมะละกอมีแอคติวิตีหรือความจำเพาะต่อการย่อยโปรตีนในเนื้อหมู ต่ำกว่าปาเปนจากยางมะละกอ

ต้นทุนการผลิตโปรติเอสจากเปลือกมะละกอดิบ 1 กิโลกรัม ได้ถูกประเมินราคา การเตรียมโปรติเอสผงละเอียด ตะกอนโปรติเอสวิธีแรกและวิธีที่สอง ได้แอคติวิตีของเอนไซม์ 1,768, 38.76 และ 19.66 ยูนิต ซึ่งมีราคาทุนการผลิตที่ 303.25, 120.07 และ 159.67 บาท ตามลำดับ การผลิตโปรติเอสจากเปลือกมะละกอทั้งสามวิธีใช้ต้นทุนสูงกว่าการผลิตปาเปนจากยางมะละกอ

Abstract

TE 1415x.2

The study of papaya peel preservative conditions is important for protease production. Papaya peel possesses protease activity as long as it is not spoil. Raw papaya could be kept for 3 weeks at room temperature (30 °C). Wrapping or soaking papaya fruit in water could extend the freshness of the peel but could not increase the activity of protease. Papaya peel provided the maximum proteolytic activity on the harvest day. Its protease activity were constant within 28 days at 4 and –20 °C. In the hot weather it turned to spoil in the second day whereas in the cold weather (< 25 °C) the freshness of the peel prolonged 1-2 days. The observation indicated that the wet fruit before peeling induced the spoilage sooner. Drying the fresh peel at temperature below 60 °C is the appropiate preparation of dried peel. Preparation of dried peel by drying at 55 °C for 10 hours caused 17.91% lost of proteolytic activity. Keeping dried peel for 28 days at –20, 4, 25 and 35 °C made their proteolytic activities decease to 75.39, 64.02, 60.22 and 50.26 % respectively. At 35 °C the dried peel showed nearly constant proteolytic activity more than 6 months. The simi-ripe peel contained approximately the same protease activity (0.55 and 0.58 unit/gram of fresh peel).

They are lower than those of raw peel (0.99 unit/gram of fresh peel).

The difference of proteolytic activity in each sample of peeled papaya depends on the bruises to the skin of the fruit during the harvest and transportation. The washed solution of one kilogram of peeled papaya contained 293.87 units of protease activity and 0.7 % total solid. The spray-dried protease was prepared by addition of 20 % sodium chloride and 86.89% yield was obtained. Verification by cathodic gel electrophoresis indicated that washed solution of peeled papaya composed of glycyl endopeptidase, chymopapain A and B and caricain.

Protease from papaya peel was extracted by finely crush in water (fresh peel : water = 1 : 2 w/v). Extraction by crushing is more efficient than soaking in water for protease production. Except for the papaya peel of the first harvest day that the both extracts possessed approximately the same proteolytic activity. The crude extract was used for protease production by 3 methods : precipitation by ethanol, precipitation by ammonium sulfate – sodium chloride and drying with spray dryer.

The first method, protease was precipitated from the crude extract by 70 % ethanol. The yield of 6.76 and 7.42 % were obtained from fresh and dried peel respectively whereas crude papain 88.90% yield was precipitated from papaya latex by the same method. The second method, protease precipitated by 70 % saturated ammonium sulfate – 35 % sodium chloride. Precipitated protease 17.16 and 3.79 % were separated from fresh and dried peel respectively. The difference was found in the precipitation of papain from papaya latex by 45 % saturated ammonium sulfate – 10% sodium chloride. Purified papain 3.40 % yield was prepared. The two precipitated proteases from papaya peel composed of 3 proteases : two of them were equal to glycyl endopeptidase and chymopapain B as found in crude papain from papaya latex. Another protease is a more positive charge protein comparing to papain. SDS – PAGE indicated that proteases from papaya peel contained at least five proteins with molecular weight of 45,000, 39,811, 23,442, 21,380 and 14,300 daltons. Protein band at 23,442 is defined as molecular weight of glycyl endopeptidase and chymopapain B.

The third method, spray-dried protease was prepared from papaya peel extraction containing only 1.17–1.55 % total solid. Addition of 5–20 % sodium chloride provided 93.26–156.55 % yield of spray-dried protease. Comparing to 106.92 % yield of spray - dried papain from papaya latex without addition of sodium chloride. The spray drier used here was invented with the total sum of 200,000 Bahts.

Test for tenderization of meat indicated that protease from papaya peel provided lower activity or specificity of protease than papain from papaya latex.

The cost for productions of protease from one kilogram of fresh peel were estimated. The preparation of spray-dried protease, precipitated protease of the first and second method produced enzyme activities of 1,768, 38.76 and 19.66 unit with the estimated cost 303.25, 120.07 and 159.69 Bahts respectively. The cost of all three-method for production of protease from papaya peel is higher than that of the productions of papain from papaya latex.