การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากเศษเหลือทิ้งของสับปะรด

ธันยนันท์ ศรีพันธ์ลม และ จิรภิญญา คงอภิรักษ์

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จังหวัดนครปฐม 73000
*ผู้รับผิดชอบบทความ: email Jirapinyakhongpirak@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากเศษเหลือทิ้งของสับปะรด โดยเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค จากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้เศษสับปะรด 3 ส่วนคือ เปลือก ก้าน และจุกในสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวียจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ผลการทดลองพบว่า การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคให้ผลดีกว่าการสกัดแบบดั้งเดิม การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในส่วนของจุกสับปะรดมีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 107.47 mg/mL รองลงมาคือ เปลือกเท่ากับ 106.27 mg/mL และก้านเท่ากับ 45.53 mg/mLตามลำดับ และเมื่อศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค ที่เวลา 10 และ 20 นาที พบว่า เวลา 10 นาทีมีค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดีกว่า 20 นาที และค่ากิจกรรมที่ดีที่สุดคือส่วนของจุกสับปะรดมีค่าเท่ากับ 0.1339 Units/mL ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคมีความเหมาะสมในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากเศษเหลือทิ้งของสับปะรด

คำสำคัญ : สับปะรด, โปรตีน, การโซนิเคท, โบรมิเลน

Ultrasonic – assisted extraction of Bromelain from pineapple waste

Thanyanan Sripanlom and Jirapinya Khongpirak

Chemistry program, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University 73000

*coeersponding author: email Jirapinyakhongpirak@gmail.com

Abstract

In this study, researchers use ultrasonic wave for extraction of Bromelain from pineapple waste. by comparing the results of traditional extraction methods and ultrasonic extraction methods. To study the optimal conditions for ultrasonic extraction methods. by using three parts of pineapple waste such as peels, stalks and corks in the Pattavia pineapple originaled from Prachuap Khiri Khan Province. The results of the experiment show that the ultrasonic extraction is better than the traditional extraction. Moreover, ultrasonic extraction of the pineapple cork has the highest protein amount 107.47 mg/mL followed by peels 106.27 mg/mL and stalks 45.53 mg/mL respectively. And the period of time for the optimal conditions is studied by ultrasonic extraction viz at 10 and 20 minutes. It is found that the enzyme activity at 10 minutes is better than 20 minutes and the best activity is found to be 0.1339 Units/mL. The results of this study show that the use of ultrasonic waves is appropriate to extraction of Bromelain from pineapple waste.

Keyword : Pineapple, Protein, Sonication, Bromelain

1.บทนำ

สับปะรด หรือ Pineapple ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Ananas comosus* เป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่งที่มีต้นกำเนิดมาจากบริเวณทวีปอเมริกาใต้ลำต้นมีขนาดสูงประมาณ 80-100 เซนติเมตร การปลูกสามารถปลูกได้ง่ายโดยการฝังกลบหน่อหรือส่วนยอดของผลที่เรียกว่า จุก เปลือกของผลสับปะรดภายนอกมีลักษณะคล้ายตาล้อมรอบผล รูปลักษณะ ไม้ล้มลุกอายุหลายปี สูง 90-100 ซม. มีลำต้นอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยวเรียงสลับ ซ้อนกันถี่มากรอบต้น กว้าง 6.5 ซม. ยาวได้ถึง 1 เมตร ไม่มีก้านใบ ดอกช่อออกจากกลางต้น มีดอกย่อยจำนวนมาก ผลเป็นผลรวม รูปทรงกระบอก มีใบเป็นกระจุกที่ปลาย สับปะรดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เมื่อเจริญเป็นผลแล้วจะเจริญต่อไปโดยตาที่ลำต้นจะเติบโตเป็นต้นใหม่ได้อีก และสามารถดัดแปลงเป็นไม้ประดับได้อีกด้วย (เกศินี ระมิงค์วงศ์)

สับปะรดมีองค์ประกอบทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ในสับปะรดมีเอนไซม์ประกอบอยู่หลายชนิด โบรมิเลน (bromelain) และ อนาเนน (ananain) เป็นเอนไซม์ที่พบมากที่สุดและพบในทุกๆส่วนของสับปะรดแม้กระทั้งลำต้นและเหง้า (ทะนง ภัครัชพันธุ์) เอนไซม์โบรมิเลนและอนาเนนเป็นเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอสชนิดซีสเตอินโปรเอสนี้มีหน้าที่ในการย่อยสลายชีวโมเลกุลประเภทโปรตีนให้กลายไปเป็นเพปไทด์หรือกรดอะมิโน (จินตนา ศรีเปรมฤดี) การประยุกต์ใช้เอนไซม์โบรมิเลนในอุตสาหกรรมมาเป็นเวลานานกว่า 30 ปี ส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เครื่องสำอาง และยา (จารุพันธ์ ทองแถม)

ปัจจุบันมีผู้บริโภคสับปะรดในรูปผลสดและในลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปมากขึ้นได้แก่ น้ำสับปะรด สับปะรดกวน ทำให้มีของเหลือจากกระบวนการผลิตจำนวนมาก ซึ่งได้แก่ เปลือก ก้าน และจุกสับปะรด ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจจะนำของเหลือจากกระบวนการผลิตมาทำวิจัยเพื่อศึกษาผลของการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลน ซึ่งผลจากการวิจัยจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนมาใช้ประโยชน์และเป็นการนำเอาของเหลือมาใช้ให้เกิดประโยชน์

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

2.1. เพื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

2.2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

3. สมมติฐานของงานวิจัย

การสกัดโบรมิเลนจากสับปะรดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคดีกว่าวิธีการแบบดั้งเดิม

4. ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการศึกษาการสกัดโบรมิเลนโดยการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคจากสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

5. ตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง

5.1 เปรียบเทียบผลของการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

ตัวแปรต้น	วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค
ตัวแปรตาม	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้และการทำงานของเอนไซม์
ตัวแปรควบคุม	น้ำกลั่น, เวลา, อุณหภูมิ, สับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย

5.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์จากสับปะรดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค

ตัวแปรต้น	ระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสม
ตัวแปรตาม	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้และการทำงานของเอนไซม์
ตัวแปรควบคุม	น้ำกลั่น, เวลา, อุณหภูมิ, สับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย

6. วิธีการดำเนินงาน

6.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

นำสับปะรดมา 1 ลูกล้างน้ำให้สะอาดและมาแยกส่วนออกเป็น 3 ส่วน คือ เปลือก ก้าน และจุกสับปะรดจากนั้นนำมาหั่นให้เป็นชิ้นจนมีขนาดเล็ก

6.2 ศึกษาการเปรียบเทียบผลของการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

6.2.1 การสกัดแบบดั้งเดิม

นำเศษสับปะรด 3 ส่วน (เปลือก ก้าน และจุกสับปะรด) มาชั่ง 25 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร และนำเศษสับปะรดใส่ลงในเครื่องปั่นผลไม้ เติมน้ำกลั่นเย็นลงไป 50 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1 : 2) ทำการปั่นเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเทลงในบีกเกอร์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาดเบอร์ 42 เก็บส่วนใสใส่ภาชนะปิดฝาให้แน่น

6.2.2 การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

นำเศษสับปะรด 3 ส่วน (เปลือก ก้าน และจุกสับปะรด) มาชั่ง 25 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร และนำ ตัวอย่างเศษสับปะรดใส่ลงในเครื่องปั่นผลไม้ เติมน้ำกลั่นแบบเย็นลงไป 50 มิลลิลิตร ทำการปั่นเป็นเวลา 3 นาที เท ลงใน บีกเกอร์ นำไปเข้าเครื่องอัลตร้าโซนิคที่ 45 kHz, 100 w เป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาดเบอร์ 42 เก็บส่วนใสใส่ภาชนะปิดฝาให้แน่น

6.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry (ดัดแปลงจาก Lowry et.at., 1951)

ปิเปตน้ำตัวอย่างจากเศษสับปะรดมาอย่างละ 10 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายอัลคาไล คอปเปอร์รีเอเจนท์ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิเป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลายโฟลีนซิ โอเคททู รีเอเจนท์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที สารละลายจะ เปลี่ยนสีจากสีขาวเป็นสีน้ำเงินเข้ม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรและคำนวณหาปริมาณโปรตีน จากกราฟมาตรฐานโบวินเซรั่มอัลบูมิน

6.2.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

เติมสารละลายเคซีน 1% ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง อุ่นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตส่วนใสที่ได้จากข้อ 6.3 มา 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน เข้าตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการเติมกรดไตรคลอโรอะซิติกปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมากรองด้วยกระดาษกรองและเตรียมทำหลอดควบคุมโดยการเติมสารละลายกรด ไตรคลอโรอะซิติกปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เติมน้ำสับปะรด 1 มิลลิลิตรและเติมสาระลายเคซีน 1% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นดูดส่วนใสทั้งหลอดตัวอย่างและหลอดควบคุมปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.4 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโฟลีนซิโอเคลทูรีเอเจนท์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 660 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดอะมิโนไทโรซีนจากกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไทโรซีน

6.3 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์จากสับปะรดโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

นำเศษสับปะรด 3 ส่วน (เปลือก ก้าน และจุกสับปะรด) มาชั่ง 25 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร และนำเศษสับปะรดใส่ลงในเครื่องปั่นผลไม้ แล้วเติมน้ำกลั่นแบบเย็นลงไป 50 มิลลิลิตร ทำการปั่นเป็นเวลา 3 นาที จากนั้น เทส่วนที่ปั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคที่ 45 kHz, 100 w เป็นเวลา 10, 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาดเบอร์ 42 เก็บส่วนใสใส่ภาชนะปิดฝาให้แน่น นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry ตามข้อ 6.2.3 และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสตามข้อ 6.2.4

7. ผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนออกจากสับปะรด โดยศึกษาการ สกัดเอนไซม์โบรมิเลน เปรียบเทียบ 2 วิธี 1) การสกัดแบบดั้งเดิม 2) การสกัดแบบใช้อัลตร้าโซนิคและศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดเอนไซม์จากสับปะรดด้วยการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค เสนอผลการวิจัยครั้งนี้

7.1 การศึกษาเปรียบเทียบผลของการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคเวลา 10 นาที

การสกัดแบบดั้งเดิมและแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคโดยจะหาปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์ภายใน สับปะรด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีนและการทำงานของเอนไซม์ที่ได้จากการสกัดแบบดั้งเดิมและแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

สับปะรด	ปริมาณโปรตีน(mg/mL)		กิจกรรมของเอนไซม์(Units/mL)	
	ดั้งเดิม	อัลตร้าโซนิค	ดั้งเดิม	อัลตร้าโซนิค
เปลือก	$69.03^{b} \pm 0.48$	$106.27^{a} \pm 1.43$	$0.0219^{b} \pm 0.00$	$0.0632^{a} \pm 0.01$
ก้าน	$38.05^{b} \pm 0.64$	$45.53^{a} \pm 1.02$	$0.0090^{b} \pm 0.01$	$0.0405^{a} \pm 0.00$
จุกสับปะรด	$69.58^{b} \pm 0.83$	$107.47^{a} \pm 0.85$	$0.0638^{b} \pm 0.01$	$0.1339^{a} \pm 0.00$

หมายเหตุ : a-b ในแนวนอนเดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณโปรตีนและกิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้จากการสกัดแบบดั้งเดิมและการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคโดยเปรียบเทียบการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

ค่าปริมาณโปรตีนของการสกัดแบบดั้งเดิม เปลือกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 69.03 $\pm$0.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก้านมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 38.05 $\pm$ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและจุกสับปะรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 69.58 $\pm$ 0.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณโปรตีนของการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค เปลือกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 106.27 $\pm$ 1.43 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก้านมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 45.53 $\pm$ 1.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและจุกสับปะรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 107.47$\pm$ 0.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทั้ง 2 วิธีมีค่าปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ของการสกัดแบบดั้งเดิม เปลือกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0219 $\pm$ 0.00 ยูนิต ก้านมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0090 $\pm$ 0.01 ยูนิต และจุกสับปะรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0638 $\pm$ 0.1 ยูนิต กิจกรรมของเอนไซม์แบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค เปลือกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0632 $\pm$ 0.01 ยูนิต ก้านมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0405 $\pm$ 0.00 ยูนิตและจุกสับปะรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1339 $\pm$ 0.00 ยูนิต โดยทั้ง 2 วิธีมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

7.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์จากสับปะรดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิค

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์จากสับปะรดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคแบ่งเวลาออกเป็น 2 ช่วง แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การทำงานของเอนไซม์ที่ได้จากกรสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

สับปะรด	กิจกรรมของเอนไซม์(Units/mL)	
	เวลา 10 นาที	เวลา 20 นาที
เปลือก	$0.0632^{a} \pm 0.01$	$0.0425^{b} \pm 0.01$
ก้าน	$0.0405^{a} \pm 0.00$	$0.0114^{b} \pm 0.00$
จุกสับปะรด	$0.1339^{a} \pm 0.00$	$0.0426^{b} \pm 0.01$

หมายเหตุ : a-b ในแนวนอนเดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 2 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่การสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคโดยเปรียบเทียบเวลาระหว่าง 10 นาทีและ 20 นาที

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เวลา 10 นาที เปลือกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0632 $\pm$ 0.01 ยูนิต ก้านมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0405 $\pm$ 0.00 ยูนิต และจุกสับปะรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1339 $\pm$ 0.00 ยูนิต

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ 20 นาที เปลือกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0425 $\pm$ 0.01 ยูนิต ก้านมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0114 $\pm$ 0.00 ยูนิต และจุกสับปะรดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0426 $\pm$ 0.01 ยูนิต และพบว่าการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคที่เวลา 10 นาทีเหมาะสมกว่าที่ เวลา 20 นาที โดยทั้ง 2 วิธีมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

8. สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคและเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้เศษเหลือทิ้งจากสับปะรด วิธีในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดมีผลต่อปริมาณโปรตีนและค่ากิจกรรมของเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบการสกัด 2 วิธี พบว่าการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคพบในส่วนของจุกสับปะรดมีปริมาณโปรตีนและค่ากิจกรรมของเอนไซม์มากที่สุด (Sunantha at al) เนื่องจากเอนไซม์โบรมิเลนมีความสามารถในการทำงานหรือทำปฏิกิริยาได้ดีที่สุดที่ช่วงเวลาหนึ่งเมื่อสิ้นสุดช่วงเวลาในการทำงานที่เหมาะสมของเอนไซม์โบรมิเลน เอนไซม์โบรมิเลนจะเริ่มทำปฏิกิริยากับซับสเตรทต่อไปอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในสภาวะนี้เองเอนไซม์โบรมิเลนจะมีสภาวะการทำงานที่ไม่เหมาะสมจึงมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง (นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคะชวนะ, สุนันทาและคณะ) ซึ่งสอดคล้องกับปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เมื่อปริมาณซับสเตรทเพิ่มขึ้นและความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ อัตราเร็วของปฏิกิริยาก็ไม่เพิ่มขึ้นและส่งผลต่อการย่อยสลาย และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเพปไทด์ถูกทำลาย โครงสร้างโปรตีนจะถูกทำลายโดยเฉพาะพันธะระหว่างสายของโปรตีนกับโปรตีน หรือโปรตีนกับน้ำ ถ้าหากอุณหภูมิไม่สูงมากการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีนอาจผันกลับคืนได้ แต่หากอุณหภูมิสูงขึ้นระดับหนึ่งจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสภาพตามธรรมชาติของโปรตีนแบบผันกลับไม่ได้ (วราพันธ์และคณะ) ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดโดยวิธีการสกัดแบบใช้คลื่น อัลตร้าโซนิคที่เวลา 10 นาทีเหมาะสมในการสกัดเอนไซม์มากกว่าที่เวลา 20 นาที พบว่าเมื่อทำการสกัดที่ 10 นาทีอุณหภูมิหลังสกัดอยู่ที่ 57-58 องศาเซลเซียส และที่ 20 นาทีอุณหภูมิที่อยู่ 77 องศาเซลเซียส ดังนั้นโครงสร้างปฐมภูมิ โครงสร้างทุติยภูมิ โครงสร้างตติยภูมิ และโครงสร้างจตุรภูมิมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ เอนไซม์หลายชนิดทำงานได้ด้วยตัวของมันเองโดยใช้สมบัติของกรดอะมิโนชนิดต่างๆที่มีในโมเลกุล แต่บางชนิดจะต้องอาศัยโมเลกุลอื่นช่วย (อรวินทร์ วงศ์มีเกียรติ) ซึ่งสอดคล้องกับปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการเร่งของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงจุดสูงสุดหนึ่งแล้วจะลดลง ซึ่งเอนไซม์โบรมิเลนจะอยู่ในช่วง อุณหภูมิ 40–60 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดนี้มากๆเอนไซม์จะเกิดการเสียสภาพลง เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองของสุนันทาและคณะ (2012) พบว่าเอนไซม์โบรมิเลนทำงานได้ดีที่สุดในช่วง 50–60 องศาเซลเซียส

9. ข้อเสนอแนะ

9.1 ควรทำการศึกษาเอนไซม์โปรติเอสตัวอื่นๆในการสกัดโปรตีนจากผลไม้ เช่น เอนไซม์ปาเปน

9.2 ควรศึกษาผลไม้ท้องถิ่นชนิดอื่นๆที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูง เช่น มะละกอ มะเฟือง

9.3 ควรนำเอนไซม์โบรมิเลนมาสกัดเป็นผง เพื่อเป็นการต่อยอดงานวิจัย และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปในอนาคต

10. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ปีงบประมาณ 2563 ภายใต้โครงการวิจัยบูรณาการนักศึกษาและอาจารย์เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นและความเป็นเลิศทางวิชาการ

10. เอกสารอ้างอิง

เกศินี ระมิงค์วงศ์. (2539). **ตระกลูสับปะรด.** คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จารุพันธ์ ทองแถม. (2526). **สับปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดประเทศไทย.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จินตนา ศรีเปรมฤดี. (2550). **สารชีวโมเลกุล.** ค้นเมื่อ 19 กันยายน 2563 จาก http://sites.google.com/a/mengr Ai.ac.th/Jintana10141/khxmul-swn-taw.

นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคะชวนะ. (2530). **การผลิตโบรมิเลนจากต้นสับปะรด.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วราพันธ์ จินตณวิชญ์, อุทัย คันโธ, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และปุณฑริกา หะริณสุต. (2547). **การศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำคั้นสับปะรดและการนำไปใช้ประโยชน์ย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลือง.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุนันทา เกตุนาวา, ภานุพงศ์ ชัยวุฒิ และสาโรจน์ ดิบเถื่อน. (2555). **การแยกและลักษณะของสารสกัดโบรมิเลนจากเศษสับปะรดพันธุ์นางแลและภูแล**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

อรวินทร์ วงศ์มีเกียรติ. (2527). **การผลิตเอนไซม์โบรมิเลนจากส่วนเหลือทิ้งของสับปะรด.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Chang-Hui Shen. (2019). **Lowry Method. Diagnostic Molecular Biology.** Retrieved January, 15, 2021, from https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistrygenetics and-molecular-biology/lowry-protein assay

Sunantha Ketnawa, Phanuphong Chaiwut andSaroat Rawduen. (2012). **Pineapple wastes : A potentinalsource for bromelain extraction. Food and bioproducts processing.** chool of Agro-Industry. Mae Fah Luang University. Muang, Chiang Rai. (385 – 391).