

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการแยกเอนไซม์โปรตีเอสจากยางรักด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (ATPS; โพลีเอริลีนไกลคอล 1000 ร้อยละ 18 ในเกลือแมกนีเซียมซัลเฟตร้อยละ 14) ก่อนที่จะนำไปใช้สำหรับการย่อยโปรตีนกล้ามเนื้อ ติดตามรูปแบบการย่อยโปรตีนไมโอไฟบริลโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (โปรตีนไมโอซินเส้นหลัก และ แอกติน) พบว่าโปรตีนไมโอไฟบริลของปลาบึกสูงกว่าโปรตีนกล้ามเนื้อจากเนื้อวัวและปลาหมึกโดยสังเกตได้จากรูปแบบการย่อยโปรตีนเป็นสายเล็ก ๆ นอกจากนั้นสารสกัดหยาบจากยางรักยังใช้ในการศึกษาการทำเนื้อนุ่ม (เนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อไก่) อีกด้วย ตัวอย่างเนื้อเหล่านี้จะถูกหมักด้วยสารสกัดหยาบเอนไซม์ในความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.05 0.1 0.2 0.3 และ 0.5 (ร้อยละโดยน้ำหนัก) นาน 60 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำเป็นชุดควบคุม ก่อนที่จะนำตัวอย่างไปตรวจติดตามคุณภาพ จากผลการทดลองพบว่าการลดลงของความชื้นในตัวอย่างเมื่อมีการเติมสารสกัดหยาบเอนไซม์ลงไป นอกจากนั้นยังมีการลดลงของค่าความแน่นเนื้อและความเหนียวของตัวอย่างเนื้ออย่างมีนัยสำคัญภายหลังการบ่มด้วยสารสกัดหยาบเอนไซม์ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำและร้อยละการกลับคืนจากความร้อนไม่มีความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่ผ่านการบ่มที่สภาวะแตกต่างกัน แต่พบการเพิ่มขึ้นของการละลายของโปรตีนและปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดในทุกตัวอย่างที่มีการบ่มด้วยสารสกัดหยาบเอนไซม์ ซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนจากรูปแบบการย่อยโปรตีนภายใต้เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

สำหรับการทดลองสุดท้ายเป็นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของโปรตีเอสแต่ละชนิดกับโปรตีเอสจากยางรัก โดยโปรตีเอส 4 ชนิดที่นำมาใช้ในการบ่มตัวอย่างได้แก่ โปรตีเอสจากยางรัก ยางมะละกอ เอนไซม์ปาเปน และ เอนไซม์โบรมิเลน หลังจากบ่มตัวอย่างนาน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทำการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติของกล้ามเนื้อ โดยพบว่า พีเอชในเนื้อไก่ ปลาบึกและ หมู มีค่าลดลงหลังการบ่มด้วยสารสกัดหยาบเอนไซม์ นอกจากนั้นพบว่าคอลลาเจนมีการละลายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในทุกตัวอย่างที่ทำการทดสอบ เช่นเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของเปปไทด์ที่ละลายได้ในกรดและการย่อยสลายของโปรตีนไมโอไฟบริลสำหรับการติดตามการเปลี่ยนแปลงในระดับโครงสร้างกล้ามเนื้อขนาดเล็ก พบว่ามีการทำลายของกล้ามเนื้อในระดับเนื้อเยื่อ และการเชื่อมกันของเส้นใยกล้ามเนื้อระหว่างซาร์โคเลมมาและไมโอไฟบริลถูกทำลายเมื่อมีการบ่มด้วยเอนไซม์ เมื่อเปรียบเทียบเอนไซม์โปรตีเอสทุกชนิดที่ทดสอบพบว่า โปรตีเอสจากยางมะละกอให้ผลการย่อยกล้ามเนื้อทุกชนิดดีที่สุด รองลงมาคือโปรตีเอสจากยางรัก เอนไซม์ปาเปน และ โบรมิเลน ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์โปรตีเอสจากยางรักสามารถใช้เป็นสารทางเลือกจากธรรมชาติในการทำเนื้อนุ่ม

คำสำคัญ: ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค รัก ยาง โปรตีเอส โปรตีนกล้ามเนื้อ การทำเนื้อนุ่ม ความเหนียว

คอลลาเจน

ABSTRACT

The protease from the latex of *Calotropis procera* was isolated by an aqueous two-phase system (ATPS; 18% PEG 1000 containing 14% MgSO₄) and then applied to hydrolyze muscle proteins. The degradation of myofibrillar proteins observed by SDS-PAGE (myosin heavy chain: MHC and actin: AC) of farmed giant catfish was higher than that of beef and squid muscles as indicated by the degradation proteins with lower molecular weight. In addition, crude enzyme extract from *C. procera* latex was also conducted in order to tenderize muscle foods (pork, beef, and chicken). The muscle samples were marinated with distilled water (control) and 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.5% (w/w) of crude enzyme extract powder for 60 min at 4°C before subjected to quality monitoring. A decrease in moisture content was observed when the crude enzyme extract was added. Firmness and toughness of the muscle samples significantly decreased with the increased addition of crude enzyme extract ($p < 0.05$). The water holding capacity and cooking yield of the treated samples showed no significant difference throughout the crude enzyme extract addition ($p > 0.05$). An increasing in protein solubility and TCA-soluble peptides content was observed in all of the treated samples. The electrophoresis pattern of the muscle treated samples also revealed extensive proteolysis occurring in each muscle type.

The last investigation was compared the efficiency of different proteases to *C. procera* latex protease. The samples were treated with 4 proteases; *C. procera* latex, papaya latex, papain and bromelain. Changes of muscle properties were monitored after 24 h of 4°C aging. Decrease of muscle pH on chicken, giant catfish and pork was observed when enzymes was added ($p < 0.05$). Significantly increases of collagen solubility were also found in all muscle samples. An increase in TCA-soluble peptides, and myofibrillar protein degradation were observed in all enzyme treated samples ($p < 0.05$). At the microstructural level, tissue fibers were broken, and the connections between the sarcolemma and the myofibrils were loosen when each enzyme was applied. Comparing to all proteolytic enzymes used papaya latex proteases showed the highest hydrolysis activity to all muscle types followed by *C. procera* latex proteases, commercial papain and bromelain. The results show that the proteolytic enzymes from *Calotropis procera* latex could be used as an effective meat tenderizer.

Keywords: aqueous two phase, *Calotropis procera*, latex, proteases, muscle protein, tenderization, toughness, collagen