

การสกัดเอนไซม์จากวัสดุเหลือใช้เพื่อใช้ในการย่อยสลายแป้งพืชให้ได้น้ำตาลฟรุคแทน หรือ สารอินนูลิน

Enzyme extraction from crop waste to digest inulin in plant starch

จารุวรรณ บางแวก¹และ อนุวัฒน์ รัตนชัย¹

Charuwan Bangwaek¹ and Anuwat Ratanachai¹

¹สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

¹Postharvest and Processing Research and Development Office, Department of Agriculture

.....

Abstract

Fructan is a kind of sugar for diabetes. Inulin is rich in artichoke (*Cynara scolymus*) and onion (*Allium cepa* Linn.). Sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase และ fructan:fructan 1-fructosyltransferase were found as enzyme extraction for fructan from inulin. Normally, these enzymes were extracted from micro organisms and also in plants. This experiment was conducted at Post harvest and Processing Research Development Office, Department of Agriculture during 2011-12. The aim of this study was to extract enzyme fructanase from leaves of various plants. Also test enzyme activity and purify enzyme for inulin digestion from artichoke compare and job's tear without fructan. Enzyme fructanase was extracted from Yah wan, Paew leaves (Vietnamese coriander) in little but the activity was varied caused of leaf freshness and age of leaves, management after harvest. Though, enzyme fructanase to extract fructan was less in plant than microorganism, not economically for industrial investment. However, yah wan, paew leaves eat with artichoke and onion was recommend for diabetes.

Key words: coriander Vietnamese, enzyme, fructan, fructan:fructan 1-fructosyltransferase, sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase, inulin, Yah wan

บทคัดย่อ

น้ำตาลฟรุคแทนเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน อินนูลินพบมากในแป้งแก่นตะวัน หอมใหญ่ เป็นต้น แต่ในการย่อยอินนูลินในแป้งให้เป็นฟรุคแทนต้องใช้เอนไซม์ sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase และ fructan:fructan 1-fructosyltransferase ซึ่งพบในจุลินทรีย์ เอนไซม์นี้พบได้ในใบพืชเช่นเดียวกัน การทดลองนี้ดำเนินงานที่ สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ในปี ๒๕๕๔-๕๕ เพื่อผลิตเอนไซม์จากพืชเพื่อย่อยสารอินนูลินให้เป็นน้ำตาลฟรุคแทน จึงทำการทดลองโดยคั้นน้ำจากใบผักชนิดต่างๆ เช่น หญาหวาน ผักแพว โหระพา กระเพรา ฯลฯ แล้วนำน้ำคั้นมาทดสอบการย่อยแป้งแก่นตะวันที่มีฟรุคแทนสูง และแป้งเต๋อที่ไม่มีฟรุคแทน และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลฟรุคแทนเมื่อย่อยแป้งทั้ง ๒ ชนิด ถ้ามีปริมาณน้ำตาลฟรุคแทนสูงแสดงว่าน้ำคั้นมีเอนไซม์ดังกล่าวสูง จากการทดลอง พบว่า น้ำคั้นจากผักแพวมีแนวโน้มที่จะมีเอนไซม์สูง แต่ผลมักจะแปรปรวน อาจเป็นเพราะอายุ ความสดใหม่ของใบผักแพว วิธีการคั้นน้ำผัก เป็นต้น ทำให้ปริมาณ

น้ำตาลฟรุคแทนที่ได้ไม่แน่นอน อย่างไรก็ตามจากปริมาณฟรุคแทนที่ได้จากน้ำคั้นใบพืชมีน้อยมากแสดงว่าปริมาณเอนไซม์ในน้ำคั้นพืชมีน้อยมาก จึงทดลองใช้น้ำคั้นในปริมาณต่างๆ พบว่าเมื่อใช้ปริมาณน้ำคั้นมากขึ้น ก็สามารถย่อยแบ่งให้ได้น้ำตาลฟรุคแทนสูงขึ้นด้วย เมื่อนำน้ำคั้นมาทำให้บริสุทธิ์โดยการกรองโดยใช้สาร acetronitrile เป็นตัวดึงสารสีเหลืองออกได้แต่ปฏิกริยาก็ไม่แตกต่าง จึงสรุปได้ว่า น้ำคั้นจากผักแพวถึงแม้จะมีเอนไซม์ในการช่วยย่อยแบ่งให้เป็นน้ำตาลฟรุคแทนแต่ปริมาณเอนไซม์ต่ำมาก และมีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้ปฏิกริยาของเอนไซม์แปรปรวน จึงไม่นำน้ำใบผักแพวมาเพื่อผลิตเอนไซม์ย่อยน้ำตาลฟรุคแทนในทางการค้า แต่สามารถแนะนำให้ผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานสามารถปรุงอาหารที่มีผักแพวร่วมกับแก่นตะวันและหอมใหญ่

คำหลัก: น้ำตาลฟรุคแทน สารอินูลิน ปฏิกริยาเอนไซม์ ผักแพว หล้าหวาน เตื่อย

คำนำ

ปัจจุบันผลผลิตที่มีคุณภาพด้านรสชาติอย่างเดียวยังไม่เพียงพอในการแข่งขันในตลาด ต้นทุนการผลิตสูง คุณภาพของผลผลิตที่ต้องคำนึงถึง คือ คุณค่าทางอาหาร เช่น ปริมาณโปรตีน วิตามิน สารแอนติออกซิแดนท์ น้ำตาลที่ไม่เป็นพิษต่อโรคเบาหวาน เป็นต้น การแปรรูปเป็นวิธีที่จะเพิ่มมูลค่าได้ทางหนึ่ง แต่การแปรรูปในปัจจุบันต้องคำนึงถึงคุณค่าอาหาร

ผลิตผลเกษตรในประเทศไทยมีหลากหลายชนิด แต่มักจะมีปริมาณมากในช่วงฤดูผลผลิต ทำให้ราคาผลิตผลเกษตรที่ได้มักจะต่ำเสมอ หรือผลผลิตที่คุณภาพไม่ได้มาตรฐาน หรือไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้มีผลผลิตคุณภาพต่ำมาก จึงควรนำผลผลิตเหล่านี้มาเพิ่มมูลค่าด้วยการแปรรูป ทั้งการลดต้นทุนในการแปรรูปก็เป็นสิ่งจำเป็น วัสดุเหลือใช้หลังจากแปรรูปเช่น เปลือกผลไม้ กากผลไม้ ก็ยังมีปริมาณของสารอาหารที่มีประโยชน์หลงเหลืออยู่มาก ดังนั้นการนำเอาผลผลิตที่มีราคาต่ำ และวัสดุเหลือใช้มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาสูง ก็จะเป็นการใช้ประโยชน์จากผลิตผลเกษตรอย่างสมบูรณ์

อินูลินเป็นสารชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เป็นน้ำตาลสำหรับผู้ป่วยเบาหวานหรือผู้ที่ไม่ต้องการกลูโคส แต่อินูลินเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีประกอบด้วยสายโมเลกุลของน้ำตาลฟรุคแทนหรือ fructo-oligosaccharides (FOS) พบมากในแก่นตะวัน (artichoke :*Cynara scolymus*) หอมใหญ่ เป็นต้น อินูลินเป็นประโยชน์ เมื่อมีเอนไซม์ sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase and fructan:fructan 1-fructosyltransferase ย่อยให้เป็นฟรุคแทนที่ให้ความหวาน แต่ไม่มีพลังงาน มีลักษณะเหมือนเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ ส่วนใหญ่เอนไซม์จะมีในจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ (colon) จะทำให้มีประโยชน์ต่อต้านมะเร็ง จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตสามารถย่อยอินูลินได้

เอนไซม์ sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase and fructan:fructan 1-fructosyltransferase จะพบในใบต้นอ่อนข้าวสาลีมาก (Riet *et al.*, 2006)

การทดลองนี้จึงศึกษาหาวิธีที่จะนำเอาวัสดุเหลือใช้ ผักและอื่นๆ มาใช้ประโยชน์ในรูป สารสกัดเอนไซม์จากผลไม้ แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์แทนการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เพื่อนำไปย่อยอินูลินที่มีอยู่ในแป้งพืชให้เป็นน้ำตาลฟรุคแทน นำไปผลิตเป็นเอนไซม์เพื่อใช้ในทางการค้า ให้มีมูลค่าสูงขึ้น และเผยแพร่สู่ผู้สนใจวิชาการ เกษตรกร ผู้ประกอบการ และ ผู้ส่งออก ในการใช้วัสดุเหลือใช้จากผลิตผลเกษตรให้มีมูลค่าสูงขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

- ใบผักชนิดต่างๆ เช่น ผักแพว ตะไคร้ โหระพา กระเพรา เป็นต้น
- เครื่องคั้นน้ำผลไม้
- เอนไซม์มาตรฐาน Fructanase สำหรับย่อยอินูลิน (บริษัทเมกาไซม์, ไอร์แลนด์)
- เครื่อง Spectrophotometer
- เครื่องกรองด้วยระบบ vacuum (Vacuum funnel)
- pH meter
- อุปกรณ์อื่นๆ เช่น เต้าไฟฟ้า ปีกเกอร์ แท่งแก้วคน เทอร์โมมิเตอร์ water bath น้ำแข็ง เป็นต้น

วิธีการ

ทำแบ่งมาตรฐาน

-นำแป้งแก่่นตะวัน และเดือย ทำเป็นแบ่งมาตรฐาน ที่มีฟรุคแทนสูงและไม่มีฟรุคแทน ตามลำดับ เพื่อสำหรับใช้ทดสอบเอนไซม์

เตรียมเอนไซม์

-สกัดเอนไซม์จากใบพืชชนิดต่างๆ เช่น ผักแพว ตะไคร้ โหระพา กระเพรา ตำลึง เป็นต้น นำไป centrifuge ที่ 2500 rpm นำส่วนน้ำใส (aliquot) มากรองจนได้เอนไซม์ที่มีความบริสุทธิ์ ทุกขั้นตอนทำในภาชนะที่บรรจุน้ำแข็ง

ทดสอบปฏิกิริยาของเอนไซม์

นำเอนไซม์มาย่อยสลายแป้งแก่่นตะวัน แป้งเดือย เปรียบเทียบกับเอนไซม์การค้า ด้วยวิธีเดียวกับที่ใช้กับเอนไซม์มาตรฐาน นำสารละลายที่ได้ไปวัดความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm

การทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์

นำเอนไซม์ที่ได้มากรองด้วยคอลัมน์ที่บรรจุสาร acetronitirle ในสภาพอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองและวิจารณ์

ปริมาณเอนไซม์จากน้ำคั้นใบพืช

พบว่าน้ำคั้นจากใบพืชมีเอนไซม์ ที่สามารถย่อยแป้งพืชให้น้ำตาลฟรุคแทนในแป้งแก่่นตะวัน เช่น ใบหญ้าหวาน ผักแพว ตำลึง ผักหวาน เป็นต้น (Table 1) แต่สารสกัดจากใบพืชมีเอนไซม์ในปริมาณน้อย

ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์

พบว่าเอนไซม์จากใบพืชชนิดเดียวกันจะมีปฏิกิริยาไม่เท่ากันขึ้นกับ อายุใบ ความสด อายุหลังการเก็บเกี่ยว เป็นต้น

ความเข้มข้นของน้ำคั้น

พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำคั้นใบพืชก็สามารถเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำให้ปริมาณน้ำตาลฟรุคแทนเพิ่มขึ้น แต่เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จากใบพืชต่ำมากจึงต้องใช้ปริมาณน้ำคั้นในปริมาณสูงมากถึงจะเท่ากับเอนไซม์ในทางการค้า

การทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์

กรองน้ำคั้นใบพืชที่มีสีเหลืองด้วยคอลัมน์ที่บรรจุสาร acetronitrile ทำให้สารที่ได้ไม่มีสี แต่ปฏิกิริยการย่อยแป้งไม่ต่างกัน

สรุปผลการทดลอง

ใบผักแพวมีเอนไซม์ที่สามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลฟรุคแทน แต่ปฏิกิริยาของเอนไซม์แปรปรวนขึ้นกับความสด อายุของใบพืช และปริมาณเอนไซม์ที่ได้้น้อยมาก การกรองด้วยคอลัมน์ของสาร acetronitrile จะทำให้สารบริสุทธิ์ขึ้นแต่ปฏิกิริยาไม่แตกต่าง ดังนั้นการใช้เศษพืชที่เหลือใช้จะไม่คุ้มค่ากับการลงทุน

เอกสารอ้างอิง

Riet, L.V., V.Nagaral, W. V. den Ende, S. Clerans, A. Wiemken and A.V.Laera. 2006.

Purification, cloning and functional characterization of a fructan 6-exohydrolase from wheat (*Triticum aestivum* L.). J. of Ex. Batany. 57(1):213-223.

Table 1 The activity of enzyme from vegetable leaf to extract inulin flour (Artichoke) become fructan compare to commercial enzyme

Leaf extract'	Artichoke	Job's tear	Difference
Commercial enzyme	0.667	0.007	0.660
Yah wan (1)	0.273	0.31	-0.037
Yah wan (2)	0.499	0.224	0.357
Pae Tum Tueng	0.105	0.112	-0.007
Tum Leung (1)	0.412	0.443	-0.031
Tum Leung (2)	0.272	0.134	-0.022
Banana fruit (1)	0.207	0.212	-0.005
Banana fruit (2)	0.067	0.075	0.021
Ma rum	1.922	1.947	-0.025
Paew (1)	0.207	0.191	0.016
Paew (2)	0.113	0.134	-0.022
Pak wan	0.645	0.607	0.038