บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกออกไปอย่างกว้างขวางทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ โดยมีพื้นที่ปลูกภายในประเทศ ในปี 2542/2543 รวม 58,838ไร่ ให้ผลผลิตคิดเป็น 135,095 ตัน (นิพนธ์ ทวีชัย, 2545) โดยทั่วไปนิยมนำขิงมาทำเป็นเครื่องเทศและสมุนไพร รวมถึงใช้เป็นส่วนผสมทางยาเพื่อบรรเทาหรือรักษาโรคต่างๆ ทั้งในรูปของ ขิงสดและขิงแห้ง (พิทยา สรวมศิริ, 2529) นอกจากนี้ได้มีรายงานการวิจัย พบว่าในขิง ยังมีส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ช่วยย่อยโปรตีน (Thompson *et al*., 1973; Ichikawa *et al*., 1973) ที่ชื่อว่า เอนไซม์ซิงกิเบน (Zingibain) รวมอยู่ด้วย (Ohtsuki *et al*., 1995) ซึ่งในปัจจุบันเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชชนิดต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นเอนไซม์ปาเปน ฟิซิน หรือโบรมิเลนนั้น (Caygill, 1979) ได้มีการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวาง (Neidleman, 1991) โครงการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ซิงกิเบนจากขิง ซึ่งนับว่าเป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่ง (Thompson *et al*., 1973; Lee *et al*., 1986) ทั้งนี้เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่า อาหารประเภทโปรตีนนั้นนับว่ามีความสำคัญต่อมนุษย์เป็นอย่างมาก ซึ่งเราสามารถเลือกบริโภคแหล่งของโปรตีนได้จากอาหารหลากหลายประเภท เช่น เนื้อสัตว์ เป็ด ไก่ และผลิตภัณฑ์ ถั่วเมล็ดแห้ง และน้ำนม เป็นต้น (กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2535) แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าภายหลังการบริโภคนาน 4 ชั่วโมง ยังคงมีโปรตีนบางส่วนที่ยังไม่ผ่านการย่อยที่บริเวณลำไส้เล็ก (Tome and Debabbi, 1998) ซึ่งมีรายงานการวิจัย พบว่าการใช้เอนไซม์ในการย่อยโปรตีนบางส่วน จะช่วยให้ร่างกายสามารถย่อยและดูดซึมโปรตีนได้มากและรวดเร็วขึ้น (Giangiacomo *et al*., 1991) ดังนั้น

โครงการวิจัยชิ้นนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงกรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส รวมถึงการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งผลการทดลองนี้จะเป็นแนวทางเลือกหนึ่งในการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากขิง และเป็นการเพิ่มมูลค่าผลผลิต ตลอดถึงใช้เป็นข้อมูลเพื่อให้ผู้ดำเนินการธุรกิจที่เกี่ยวข้องได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม และพัฒนาเป็นสินค้าส่งออกในเชิงพาณิชย์ต่อไป

ตรวจเอกสาร

1. ขิง (Ginger)

ขิงเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียและหมู่เกาะแปซิฟิก ปัจจุบันมีการปลูกขิงกันอยู่ทั่วไปในทวีปเอเชีย อัฟริกาตะวันออก หมู่เกาะอินเดียตะวันออก เกาะคาร์ริบเบียน ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และจาไมก้า ขิงจัดอยู่ในตระกูล Zingiberaceae วงศ์ Zingiberales มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* Roscoe (Etorama, 1954) และมีชื่อเรียกในแต่ละท้องถิ่นแตกต่างกันไป เช่น ขิงแดง (จันทบุรี) ขิงเผือก (เชียงใหม่) หรือสะเอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) เป็นต้น (ชัยโย และคณะ, 2524) สำหรับในต่างประเทศ มีชื่อเรียกขิงที่แตกต่างกันไปเช่นกัน เช่น Jahe (อินโดนีเซีย) Luya (ฟิลิปปินส์) Shoga (ญี่ปุ่น) เป็นต้น (Sastrapradja and Soetjipto, 1981) ขิงเป็นพืชตระกูลเดียวกับขมิ้น ข่า และกระชาย มีลำต้นหรือเหง้าอยู่ใต้ดิน ซึ่งเป็นส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งทางด้านอาหารและด้านการแพทย์ (ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยี, 2532)

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ขิงจัดเป็นพืชที่มีส่วนของลำต้นแท้จริงอยู่ใต้ดิน (underground stem) เรียกว่าเหง้าหรือแง่งขิง (rhizome) เช่นเดียวกับพืชเศรษฐกิจบางชนิด เช่น กล้วย ไผ่ และอ้อย (Hartmann *et al*., 1990) แง่งขิงมีลักษณะเป็นแท่งสั้น แข็ง สีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีเยื่อและเกล็ดห่อหุ้ม ซึ่งบริเวณนี้เป็นตำแหน่งที่เกิดของรากฝอยจำนวนมาก (กรมวิชาการ

เกษตร, 2525) การแตกแขนงของแง่งขิงมีลักษณะคล้ายนิ้วมือ คือ แง่งอันแรกจะเจริญและแตกแง่งย่อยต่อๆ กันไป แง่งขิงขณะอ่อนจะมีสีเขียว ต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลเมื่อแก่ (พิทยา สรวมศิริ, 2529) ส่วนลำต้นที่อยู่เหนือพื้นดินนั้นถือเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) ที่เกิดจากกาบใบซ้อนทับและอัดแน่นกันเป็นชั้นๆ เหนือดิน โดยเจริญมาจากตาขิงที่ปรากฏอยู่บริเวณข้อบนของแง่งขิง ลักษณะตั้งฉากกับผิวดิน มีสีเขียวอ่อนในระยะแรก ต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีเขียวแก่ มีอายุเพียงฤดูกาลเดียวเมื่อถึงฤดูเก็บเกี่ยว หรือมีอายุประมาณ 8-12 เดือน หลังจากนั้นจะเหี่ยวและตายไปในที่สุด (คำนึง คำอุดม, 2531) ขิงเป็นพืชที่มีแผ่นใบบาง ยาวประมาณ 15-27 เซนติเมตร ออกดอกและติดเมล็ดน้อยมากโดยดอกของขิงเป็นช่อยาวประมาณ 5-7 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) (เบลเยี่ยม เจริญพานิช, 2523)

1.2 การเพาะปลูกขิงในประเทศไทย

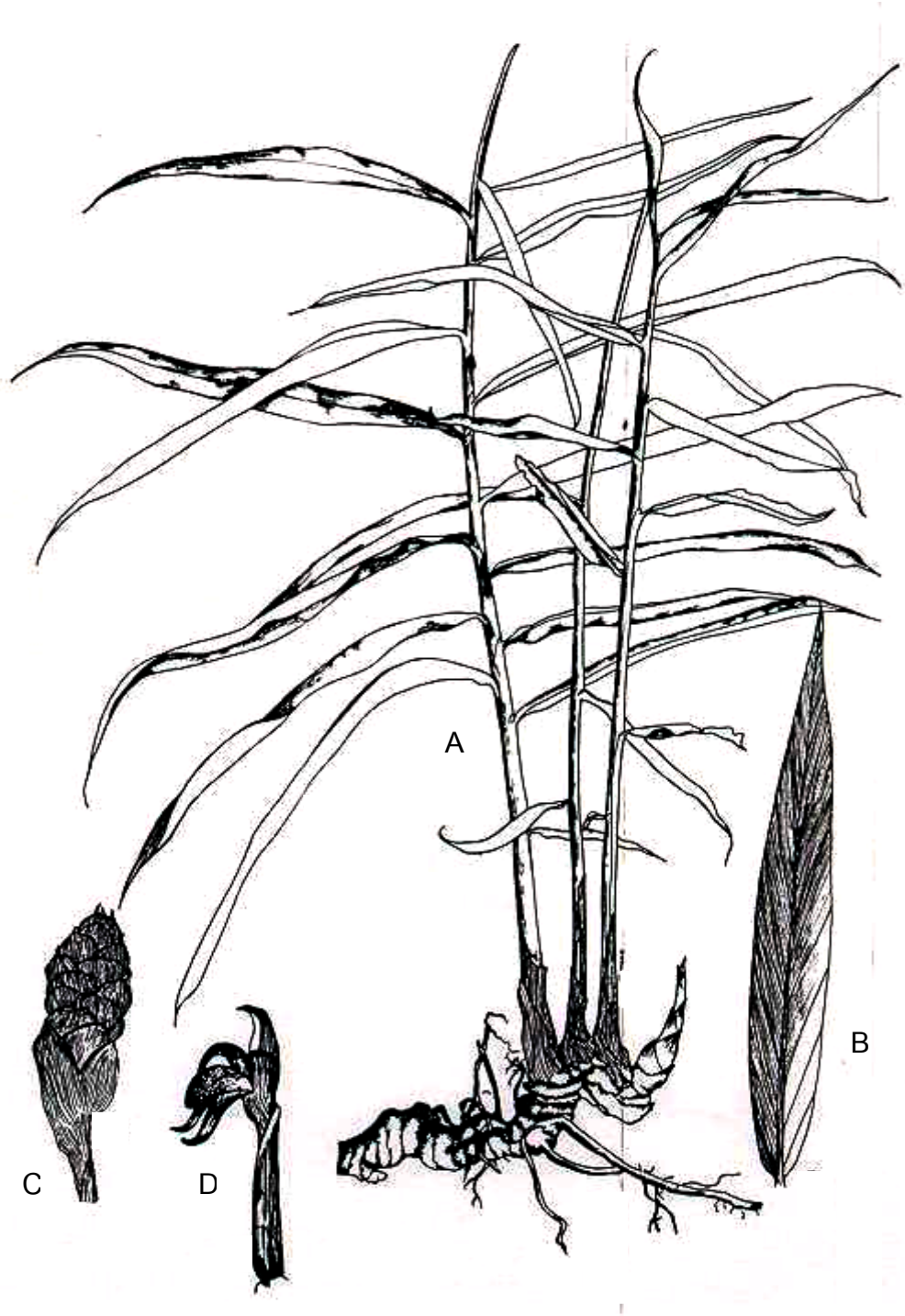
ขิงที่ปลูกในประเทศไทย แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท (พิทยา สรวมศิริ, 2529; คำนึง คำอุดม, 2531; นิพนธ์ ทวีชัย, 2545) คือ

1.2.1 ขิงเล็กหรือขิงเผ็ดหรือขิงดำ

ขิงชนิดนี้มีลักษณะเด่น คือ แง่งขิงมีลักษณะเล็กและสั้น แง่เบียดกันชิดมาก เนื้อมีเสี้ยนมาก รสชาติค่อนข้างเผ็ด ลักษณะของตาบนแง่งขิงแหลม เมื่อเจริญเติบโตเป็น ลำต้นและแตกใบแล้ว ปลายใบจะมีลักษณะแหลม

1.2.2 ขิงใหญ่หรือขิงหยวกหรือขิงขาว

ขิงชนิดนี้มีข้อห่าง แง่งขิงมีขนาดใหญ่ เนื้อละเอียด ตาบนแง่งขิงมีลักษณะกลมมน ปลายใบป้าน และมีความสูงมากกว่าขิงเล็ก มีรสเผ็ดน้อย เป็นพันธุ์ที่สามารถหาซื้อได้ง่ายและเกษตรกรนิยมปลูกในเชิงการค้ากันมาก



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของต้นขิง (A. ต้นและแง่งขิง B. ใบ C. ช่อดอก D. ดอก)

The ginger plant (A. Plant with rhizome, B. Leaf, C. Inflorescence, D. Flower)
Source: Purseglove (1985)

ประเทศผู้ผลิตขิงที่สำคัญของโลก ได้แก่ อินเดีย จีน ไนจีเรีย จาไมก้า รองลงมา ได้แก่ ออสเตรเลีย ฟิจิ เนปาล บังคลาเทศ ไต้หวัน และไทย ซึ่งสำหรับประเทศไทยนั้น ขิงเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่มีการผลิตกระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ โดยมีพื้นที่เพาะปลูกและผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากประมาณ 52,227 ไร่ และ 127,786 ตัน ในฤดูกาลผลิต 2540/2541 เป็นประมาณ 58,838 ไร่ และ 135,095 ตัน ในฤดูกาลผลิต 2542/2543 ในส่วนของภาคใต้ จังหวัดที่มีการผลิตขิงมาก ได้แก่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี สงขลา และนครศรีธรรมราช (นิพนธ์ ทวีชัย, 2545) ในด้านการขยายตัวของตลาด ขิงถือเป็นพืชผักที่มีอนาคต เนื่องจากตลาดมีความต้องการค่อนข้างสูง ตลาดขิงที่สำคัญประกอบด้วย ญี่ปุ่น ฮ่องกง ปากีสถาน และสหรัฐอาหรับเอมิเรตส์ (ไฉน ยอดเพชร, 2542)

1.3 การเก็บเกี่ยวขิง

1.3.1 อายุการเก็บเกี่ยว

อายุการเก็บเกี่ยวขิงขึ้นอยู่กับการนำไปใช้ประโยชน์ (เบลเยี่ยม พานิช และ จเร สดากร, 2525) กล่าวคือขิงอ่อนจะเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 4-6 เดือน ซึ่งเป็นระยะที่ขิงมีเนื้ออ่อน เสี้ยนน้อย เหมาะสำหรับใช้รับประทานสด หรือแปรรูปขิงดอง ส่วนการเก็บเกี่ยวขิงแก่ให้มีคุณภาพดี ควรเก็บเกี่ยวเมื่อขิงมีอายุ 8-12 เดือน โดยขิงที่เจริญเติบโตเต็มที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวนั้น ส่วนของลำต้นและใบจะเริ่มเหี่ยวเฉาและแห้ง (Akamine, 1962 อ้างโดย จารุวรรณ มนัสสากร, 2538) อย่างไรก็ตามการยืดระยะเวลาเก็บเกี่ยวขิงออกไป พบว่าจะได้ขิงที่มีคุณภาพไม่ดี ปริมาณเสี้ยนและความเผ็ดมากขึ้น และมักถูกโรคและแมลงเข้าทำลายหรือมีหน่องอกขึ้นมา (กรมวิชาการเกษตร, 2525)

1.3.2 การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวขิง

ภายหลังการเก็บเกี่ยวขิง จำเป็นต้องมีการปฏิบัติที่ถูกต้องเพื่อให้สามารถจำหน่ายขิงได้ในราคาสูง (ไฉน ยอดเพชร, 2542) โดยทั่วไปการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว

ขิงมีขั้นตอนที่สำคัญคือ การทำความสะอาดแง่งขิง ซึ่งสามารถทำได้โดยเทขิงบริเวณใต้ร่มเงา กองเกลี่ยไว้บนเสื่อ แล้วใช้เครื่องสูบน้ำฉีดบนกองขิงจนสะอาด จากนั้นคัดเลือกและตัดแต่งขิง โดยคัดเลือกขิงที่ไม่เป็นโรคหรือถูกทำลายโดยแมลง และไม่มีรอยช้ำขณะเก็บเกี่ยว นำมาตัดรากหรือลอกกาบใบที่ติดอยู่กับแง่งขิงออกให้หมด แล้วบรรจุในถุงพลาสติก เข่ง ลังไม้ และกระสอบพลาสติก โดยเมื่อบรรจุเรียบร้อยแล้วจะมัดด้วยเชือกเพื่อสะดวกในการขนส่ง

1.3.3 การจัดระดับคุณภาพขิง

สำหรับเกณฑ์การจัดระดับคุณภาพขิงสดนั้น ได้มีข้อกำหนดขั้นต่ำในด้านคุณภาพของแง่งขิง โดยในกรณีขิงอ่อนขิงต้องมีลักษณะเป็นแง่ง เนื้อสีขาว มีเสี้ยนน้อย เป็นขิงที่เก็บเกี่ยวก่อนจะแก่เต็มที่ ประมาณ 4-6 เดือนหลังจากเพาะปลูก และกรณีขิงแก่ขิงต้องมีผิวกร้านเป็นสีน้ำตาลและเป็นมัน เป็นขิงที่เก็บเกี่ยวในช่วง 8-12 เดือนหลังจากเพาะปลูก ลักษณะแง่งขิงต้องไม่เน่าเละ ไม่มีรากหญ้าหรือต้นเจาะทะลุแง่งขิงจนเกิด บาดแผลขนาดใหญ่ และไม่มีตำหนิจากโรคหรือแมลง (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2544)

สำหรับขิงที่มีคุณภาพผ่านข้อกำหนดขั้นต่ำ สามารถแบ่งชั้นคุณภาพตามความ สวยงามของแพ รูปร่างขิง ผิว และความแกร่ง ได้ดังนี้

1.3.3.1 ขิงชั้นพิเศษ แง่งขิงต้องสมบูรณ์ แพมีความสวยงาม ไม่ซ้อนทับกัน ไม่มีรอยแตกในแพ หรือหากมีเมื่อแตกแล้วต้องยังคงลักษณะแพขนาดใหญ่ ไม่แตกเป็นแพย่อย ผิวขิงสะอาดและมีความแกร่ง (ผิวมันวาว เต่งตึง เนื้อแข็ง)

1.3.3.2 ขิงชั้นธรรมดา เป็นขิงที่ไม่มีตำหนิที่กำหนดในข้อกำหนดขั้นต่ำ แต่มีคุณภาพของความสวยงามของแพ รูปร่างแง่งขิง ผิว และความแกร่งด้อยกว่าขิงชั้นพิเศษ

นอกจากนี้ได้มีการจัดระดับขนาด (sizing) ของขิง โดยใช้น้ำหนักขิงแต่ละแง่งเป็นหลักในการแบ่ง ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น ขิงขนาดชั้นต่ำน้ำหนักแง่งขิงจะน้อยกว่า 100 กรัม ขิงขนาดเล็กน้ำหนักแง่งขิงตั้งแต่ 100-200 กรัม ขิงขนาดกลางน้ำหนักแง่งขิงตั้ง

แต่ 200-300 กรัม ขิงขนาดใหญ่น้ำหนักแง่งขิงตั้งแต่ 300-500 กรัม และขิงขนาดใหญ่พิเศษน้ำหนักแง่งขิง 500 กรัม ขึ้นไป

วิธีการตรวจคุณภาพแง่งขิงสดจะอาศัยเกณฑ์คุณภาพที่สำคัญ คือ ระดับความแก่อ่อน ตำหนิ และขนาด โดยระยะเวลาการเก็บเกี่ยวจะเป็นสิ่งที่ใช้กำหนดความแก่อ่อนที่แน่นอนของขิง สำหรับตำหนิจากโรคและแมลง จะพิจารณาจากลักษณะอาการไส้ซึม อาการเพลี้ยหอย และอาการเน่า เป็นต้น

1.4 คุณค่าทางโภชนาการของขิงสด

คุณค่าทางโภชนาการของขิงสดสามารถแสดงได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการในส่วนที่บริโภคได้ของขิงสด 100 กรัม

Nutrition of raw ginger 100 gram of edible portion

Composition	Young ginger	Mature ginger
Energy (Kcal)	12	25
Protein (g)	0.5	0.4
Fat (g)	0.3	0.6
Carbohydrate (g)	1.9	4.4
Calcium (mg)	34	18
Phosphorus (mg)	5	22
Iron (mg)	0.4	1.2
Vitamin B 1 (mg)	0.02	0.02
Vitamin B 2 (mg)	0.05	0.02
Niacin (mg)	0.14	1

Vitamin C (mg)	10	1
Fiber (g)	-	-

Source: กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2535)

1.5 ประโยชน์ของขิง

แง่งขิงมีส่วนประกอบสำคัญที่ทำให้ขิงมีกลิ่นรสที่เผ็ดร้อน แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 น้ำมันหอมระเหย (volatile oil) โดยจะมีอยู่ในขิงประมาณร้อยละ 1-3 ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ ซิงจิเบอรีน (Zingiberene) ซิงจิเบอรอล (Zingiberol) ไบซาโบลีน (Bizabolene) และแคมฟีน (Camphene) เป็นต้น

ส่วนที่ 2 น้ำมันชัน (oleoresin) โดยจะมีอยู่ในขิงประมาณร้อยละ 4-7.5 เป็นส่วนประกอบหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ฉุนและเผ็ด ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ จิงเจอรอล (Gingerol) โชกาออล (Shogaol) และซิงเจอโรล (Zingerone) เป็นต้น

ในน้ำมันชันจะมีจิงเจอรอลเป็นองค์ประกอบหลัก (Variyar *et al*., 2001) ขณะที่โชกาออลและซิงเจอโรลนั้น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีขณะที่เตรียมและเก็บน้ำมันชัน โดยจิงเจอรอลจะเปลี่ยนเป็นโชกาออลซึ่งมีกลิ่นที่หอมฉุนมากกว่าจิงเจอรอลด้วยปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (dehydration) และเปลี่ยนเป็นซิงเจอโรลด้วยปฏิกิริยารีโทร-อัลดอล (retro-aldol) (Balladin *et al*., 1997) ดังนั้นน้ำมันชันที่มีโชกาออลและ ซิงเจอโรลจะมีคุณภาพต่ำ จิงเจอรอลที่มีอยู่ในขิงจะประกอบด้วย [6] -, [8] - และ [10] - Gingerols โดยขิงสดจะประกอบด้วย [6] - Gingerol ในปริมาณที่สูง หลังจากนั้นจะค่อยๆ มีปริมาณลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา (Chen *et al.,* 1986)

สารสำคัญในขิงนับว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างมากในการใช้เป็นยาหรือส่วนผสมทางยาเพื่อบรรเทาหรือรักษาโรคต่างๆ ทั้งในรูปของขิงสดและขิงแห้ง ไม่ว่าจะช่วยต้านอนุมูลอิสระ ต้านการเกิดบาดแผลในกระเพาะอาหาร ลดอาการอักเสบ และ

ขับลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ (Etorama, 1954; Purseglove, 1985) การที่ใช้ขิงเป็นยาขับลมได้นั้น เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยในแง่งขิงจะไปมีผลต่อการทำงานของกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยไปกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อที่ผนังของระบบทางเดินอาหารให้มีการบีบตัวเพิ่มมากขึ้นจึงเกิดการผายลมออกมา (ธีระพล ศรีชนะ และขจรพล สุริไพศาลสกุล, 2534) ส่วนสารที่ให้ความเผ็ดในขิง อันได้แก่ จิงเจอรอล โซกาออล หรือซิงเจอโรลนั้น จะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอล (Aruoma *et al*., 1997) ซึ่งสารประกอบฟีนอลดังกล่าวจะเป็นตัวให้อะตอมของไฮโดรเจนหรืออิเลคตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันหยุดชะงัก เกิดเป็นสารที่มีความคงตัว (Branen *et al*., 1990) จากการศึกษาของ Kikuzaki และ Nakatani (1993) พบว่าสารประกอบของจิงเจอรอลจะมีประสิทธิภาพในการเป็นวัตถุกันหืนได้ดีกว่าสารแอลฟา-โทโคฟีรอล (∝-tocopherol)

ขิงนิยมนำมาใช้เป็นเครื่องเทศและสมุนไพร ได้มีรายงานการวิจัย พบว่าขิงที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมงครึ่ง แล้วบดเป็นผง สามารถใช้เพื่อเป็นยาขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ทดแทนการใช้ยาแผนปัจจุบันและสามารถใช้กับผู้ป่วยในโรงพยาบาลได้ (ธีระพล ศรีชนะ และขจรพล สุริไพศาลสกุล, 2534) นอกจากนี้ขิงยังนิยมนำมาใช้ทางด้านอาหารมากมาย เช่น การใช้เพื่อป้องกันการหืน (Aruoma *et al*., 1997; Kikuzaki and Nakatani, 1993; Lee *et al*., 1986) ผลิตภัณฑ์จากขิงต่างๆ เช่น ขิงดองและขิงแห้ง (พิทยา สรวมศิริ, 2529) คุกกี้สมุนไพรจากขิง (ไพลิน ผู้พัฒน์ และคณะ, 2546) ขิงแห้งป่น ชาขิง แคปซูลขิง หรือการใช้เป็นเครื่องปรุงอาหารประจำโต๊ะ เป็นต้น (Purseglove, 1985) นอกจากนี้ในขิงยังประกอบด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งมีชื่อว่า เอนไซม์ซิงกิเบน (Zingibain) รวมอยู่ด้วย (Thompson *et al*., 1973; Ichikawa *et al*., 1973)

สำหรับขิงแห้งป่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขิงแก่ที่ผ่านการอบให้แห้งแล้วบด ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดแรกเป็นขิงแห้งป่นชนิดไม่ผสมน้ำตาล มีลักษณะ

เป็นชิ้นเล็กๆ หรือเป็นผง โดยขิงชนิดนี้ปริมาณความชื้นต้องไม่เกินร้อยละ 10 ส่วนชนิดที่สองเป็นขิงแห้งป่นชนิดผสมน้ำตาล มีลักษณะเป็นผงละเอียดและปริมาณความชื้นต้องไม่เกินร้อยละ 2.5 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2528) โดยทั่วไปขิงสด 100 กิโลกรัม สามารถนำมาผลิตขิงแห้งได้ปริมาณ 16-22 กิโลกรัม (ไฉน ยอดเพชร, 2542) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งขิง คือ 55-60 องศาเซลเซียส (มารีนา มะหนิ และคณะ, 2546) การอบแห้งไม่ควรใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไป เพราะทำให้ สีของขิงแห้งคล้ำกว่าปกติ และทำให้สูญเสียน้ำมันหอมระเหยมากเกินไป (พิทยา สรวมศิริ, 2529) โดยองค์ประกอบที่สำคัญของขิง แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบที่สำคัญของขิง

Chemical compositions of ginger

	Fresh ginger [1]	Fresh ginger [2]	Fresh ginger [3]	Dried ginger [3]
	%	%	%	%
Moisture	82.0	80.8	86.5	9.4
Protein	2.5	2.3	1.4	7.4
Fat	0.8	1.0	0.6	3.3
Carbohydrate	11.0	12.3	7.2	60.0
Fiber	2.1	2.4	NA[4]	NA
Ash	1.6	1.2	NA	NA

Source: [1] Tindail (1968 อ้างโดย คำนึง คำอุดม, 2531)

[2] Purseglove (1985)

[3] Holland (1991)

[4] NA-Not available

2. เอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzymes)

เอนไซม์ย่อยโปรตีน มีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรติเนส โปรติเอส เปปไทด์ไฮโดรเลส และเอนไซม์โปรติโอไลติค ซึ่งสามารถย่อยสารตั้งต้นที่ประกอบด้วยพันธะเปปไทด์ต่อเป็นโมเลกุลยาว เช่น โปรตีน ให้เป็นสารประกอบที่มีขนาดเล็กลง ซึ่งเซลล์สามารถดูดซับได้ (Ward, 1983) เอนไซม์ย่อยโปรตีนสามารถพบได้จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากสัตว์ เช่น เรนนินจากกระเพาะ ลูกวัว (Pang and Ernstrom, 1986) และลูกอูฐ (Elagamy, 2000) เปปซิน (pepsin) จากกระเพาะไก่ (Mcmahon and Brown, 1985) เอนไซม์โปรติเอสจากกาบหอย (Chen and Zall, 1986a; 1986b) เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช เช่น ปาเปน (papain) จากมะละกอ (Arnon, 1970) โบรมิเลน (bromelain) จากสับปะรด (Ernstrom, 1980) ฟิซิน (ficin) จากมะเดื่อ (Whitaker, 1959) และเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากจุลินทรีย์ เช่น นูรี เรนนิน (noury rennin) จาก *Mocor pusillus* (Arima *et al*., 1970) ซูราเรน (suraren) จาก *Endothia parasitica* (Alichanidis *et al*., 1984) เคซิเนส (caseinase) จาก *Panicillium oxalicum* (Hashem, 2000; 1999) เป็นต้น (ตารางที่ 3) เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากแหล่งต่างๆ มีกิจกรรมย่อยสลายโปรตีนแตกต่างกัน โดยทั่วไปเอนไซม์เรนนินจากสัตว์มีกิจกรรมย่อยสลายโปรตีนน้อยกว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช (Freitas and Malcata, 1996) และมีรายงาน พบว่าการผลิตเอนไซม์ในเชิงการค้า ส่วนมากจะนิยมสกัดเอนไซม์จากพืชและจุลินทรีย์ (Naveena *et al*., 2004)

ตารางที่ 3 เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากแหล่งต่างๆ

Source of protease

Source	Enzyme	pH optimum	Reference
Animals-			
Pancreas	Pancreatic protease	9	Belitz and Grosch (1999)
Swine or bovine	Pepsin	2	Belitz and Grosch (1999)
	Trypsin	7-9	Nissen (1993)
	Chymotrypsin	8-9	Nissen (1993)
Calf	Chymosin	6-7	Belitz and Grosch (1999)
	Rennin	4-6	Nissen (1993)
Plants-			
Papaya latex	Papain	5-9	Greenberg (1995)
Pineapple	Bromelain	5-8	Godfref and West (1996b)
Fig	Ficin	7.5	Whitaker (1957)

Microbial-			
Bacillus subtilis	Subtilisin	6-8	Belitz and Grosch (1999)
Aspergillus oryzae	Neutral protease	5-7	Alichanidis *et al*. (1984)
Mucor pusilus	Noury rennin	4-6	Alichanidis *et al*. (1984)

Ward (1983) แบ่งชนิดของเอนไซม์ย่อยโปรตีนตามตำแหน่งพันธะเปปไทด์ที่เอนไซม์เข้าไปเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลาย ได้แก่ เอนโดเปปติเดส (endopeptidase) และเอกโซเปปติเดส (exopeptidase) โดยเอนโดเปปติเดส หรือบางครั้งเรียกว่า โปรติเนส (proteinase) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการตัดพันธะเปปไทด์ภายในสายเปปไทด์แบบสุ่ม ขณะที่เอกโซเปปติเดส เป็นเอนไซม์ที่เร่งการตัดพันธะเปปไทด์ของกรดอะมิโนที่อยู่ตรงบริเวณปลายสายพอลิเปปไทด์ หากตัดพันธะเปปไทด์จากปลายด้าน C จะเรียกชื่อเอนไซม์ว่า คาร์บอกซีเปปติเดส และหากตัดพันธะจากปลายด้าน N จะเรียกชื่อเอนไซม์ว่า อะมิโนเปปติเดส สำรับเอนโดเปปติเดสจะมีบทบาทในอุตสาหกรรมอาหารมากกว่าเอกโซเปปติเดส (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) ในปัจจุบัน The Enzyme Commission (EC) ได้แบ่งเอนโดเปปติเดสตามความแตกต่างของลักษณะการทำงานของปฏิกิริยา (mechanism of action) ออกเป็น 4 ประเภท คือ เซรีนโปรติเอส (serine protease, EC 3.4.21) ซีสเตอีนโปรติเอส (cysteine protease, EC 3.4.22) แอสปาติคโปรติเอส (aspartic, EC 3.4.23) และเมททัลโลโปรติเอส (metalloprotease, EC 3.4.24) (Wong, 1995) ดังนี้

2.1 เซรีนโปรติเอส (Serine protease)

เอนไซม์กลุ่มนี้ เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, OH) ของอนุมูลเซรีนที่บริเวณเร่ง (active site) พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วงที่เป็นกลางจนถึงด่าง (ประมาณ 7-11) ตัวอย่างเอนไซม์กลุ่มนี้ ได้แก่ ทริปซิน (trypsin)

ไคโมทริปซิน A และ B (chymotrypsin A and B) ทรอมบิน (thrombin) และซับทิลิซิน (subtilisin) (Whitaker, 1994)

2.2 ซีสเตอีนโปรติเอส (Cysteine protease) หรือซัลฟ์ไฮดริลโปรติเอส (Sulfhydryl protease) หรือไทออลโปรติเอส (Thiol protease)

เอนไซม์กลุ่มนี้เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl group, -SH) อยู่ที่บริเวณเร่ง และอาจมีหมู่ฮิสติดิล (histidyl group) รวมอยู่ด้วย พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง (ประมาณ 6-7.5) และทนความร้อนได้ถึง 60-80 องศาเซลเซียส เอนไซม์กลุ่มนี้สามารถผลิตได้จากหลายแหล่ง เช่น พืชชั้นสูง สัตว์ และจุลินทรีย์บางชนิด แต่โดยส่วนมากจะได้จากพืช เช่น ปาเปน (papain) โบรมิเลน (bromelain) ฟิซิน (ficin) และซิงกิเบน (zingibain) เป็นต้น (Godfreg and West, 1996a; Ohtsuki *et al*., 1995)

2.3 แอสปาติคโปรติเอส (Aspartic protease) หรือแอซิดโปรติเอส (Acid protease) หรือคาร์บอกซิลโปรติเอส (Carboxyl protease)

เอนไซม์กลุ่มนี้เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) จากอนุมูลกรดแอสปาติกอยู่ที่บริเวณเร่ง โดยพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วงที่เป็นกรด (ประมาณ 2-4) ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เรนนิน (rennin) และเปปซิน (pepsin) เป็นต้น

2.4 เมททัลโลโปรติเอส (Metalloprotease)

เอนไซม์กลุ่มนี้เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีอิออนของโลหะเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในบริเวณเร่ง โดยโลหะที่เป็นองค์ประกอบในเอนไซม์ส่วนใหญ่จะเป็น Zn^{++} และ Mn^{++} (Folk, 1971) โลหะพวกนี้ทำหน้าที่สำคัญคือ จับสารตั้งต้นที่จะย่อยและเปลี่ยนเอนไซม์ – สารตั้งต้นคอมแพล็กซ์ (ES complex) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ พีเอชที่ เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง (ประมาณ 6.5-7.5) เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะถูกยับยั้งได้

โดยสารจับโลหะ (chelating agent) เช่น ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) ตัวอย่างของเอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ คาร์บอกซีเปปทิเดส A และ B (carboxypeptidase A and B) โปรลิเดส (prolidase) เป็นต้น

อย่างไรก็ตามเอนไซม์ย่อยโปรตีนแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความจำเพาะของเอนไซม์ต่อการย่อยสลายพันธะเปปไทด์

Protease specificity for peptide-bond cleavage

Enzyme	Preferential cleavage

Chymotrypsin	Tyr-, Trp-, Phe-, Leu-, Met-
Trypsin	Arg-, Lys-
Pepsin	Phe-, Leu-
Suparen	Also Glx-COOH
Neutrase	Leu-, phe-NH_2
Zingibain	Pro-
Ficin	Lys-, Tyr-, Ala-, Gly-, Asn-, Leu-, Val-
Papain	Arg-, Lys-, Phe-, Xaa-[(1)]
Bromelain	Lys-, Tyr-, Ala-, Gly-
Asclepain	Phe-Xaa

Source: Modified from Choi *et al*. (1999); Nissen (1993); Arai and Fujimaki (1991); Polg/ar (1989)

[(1)] Xaa – Unspecified amino acid

3. เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช (Plant protease)

3.1 แหล่งของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช

เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชพบในส่วนประกอบของพืชที่แตกต่างกันออกไป เช่น ผล ราก ลำต้น และใบ เป็นต้น โดยปริมาณของเอนไซม์จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพื้นที่เพาะปลูก ชนิด อายุ และส่วนประกอบของพืช จากการศึกษาของ Thompson และคณะ (1973) พบว่าแง่งขิงที่มีความแก่อ่อนต่างกันจะมีปริมาณเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่แตกต่างกัน โดยแง่งขิงแก่จะมีปริมาณเอนไซม์ย่อยโปรตีนสูงกว่าแง่งขิงอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Heinicke และ Gortner (1957) ที่พบว่าน้ำที่สกัดจาก ลำต้นสับปะรดที่แก่จัด จะมีปริมาณเอนไซม์สูงกว่าน้ำที่สกัดจากลำต้นสับปะรดที่ยังเจริญไม่เต็มที่ นอกจากนี้ในส่วนของผลบริเวณที่อยู่ใกล้ผิวเปลือกจะมีปริมาณเอนไซม์สูงกว่าเนื้อเยื่อ รวมถึงเอนไซม์ย่อยโปรตีนยังพบมากในส่วนของเอนโดสเปิร์มในเมล็ด คลอโรพลาส และไมโทคอนเดรียในใบ ราก และกิ่ง (Boyse *et al*., 1997) เอนไซม์ย่อยโปรตีน

สามารถพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง มันฝรั่ง ถั่วงอก สับปะรด และกล้วย เป็นต้น (Yamaguchi *et al*.,1982) โดยพืชบางชนิด เช่น มะละกอ สับปะรด มะเดื่อ และผลกีวี จะมีเอนไซม์ย่อยโปรตีนในปริมาณสูง เพื่อป้องกันพาราสิต เชื้อโรค และวัชพืชต่าง ๆ (Menard and Storer, 1998; Rowan, 1998) เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชส่วนใหญ่จัดเป็นซีสเตอีนโปรติเอส (Godfrey and West, 1996b) แหล่งของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช แสดงได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ

Plant protease from various source

Protease	Source	Sciencetific name	Reference
Papain	Papaya	*Carica papaya*	Ernstrom (1980)
Bromelain	Pineapple	*Ananas comosus*	Schwimmer (1981)
Ficin	Fig	*Ficus glabrata*	Whitaker (1959)
Actinidin	Kiwifruit	*Actinidia chinensis*	Boyse *et al.* (1997)
Aleurain	Barley	*Hordeum vulgare*	Smith *et al.* (1987)
Calotropin D	Madar plant	*Calotropis gigantea*	Smith *et al.* (1987)
Asclepains	Milkweed	*Asclepia syriaca*	Schwimmer (1981)
Cardosin	Cardoon	*Cynara cadunculus*	Salguero and Sajuan (1999)
Cucumisin	Melon	*Cocumis melo*	Uchikoba and Kaneda (1996)
Arachain	Peanut	*Arachis hypogen*	Schwimmer (1981)
Soyin	Soybean	*Soja hispidus*	Schwimmer (1981)
Pomiferin	Osage orange	*Maclura pomifera* Raf.	Aron (1970)
Zingibain	Ginger	*Zingiber officinale*	Ohtsuki *et al.* (1995)

3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อเสถียรภาพและกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช

ปัจจัยที่มีผลต่อเสถียรภาพและกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง กระบวนการสกัด สับสเตรต เป็นต้น

3.2.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากอัตราเร็วของปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์จะผันแปรตามอุณหภูมิ และอุณหภูมิยังมีผลต่อความคงตัวของเอนไซม์ด้วย หากอุณหภูมิสูงเกินไป จะทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ และมีผลทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์สูญเสียไปด้วย เนื่องจากโครงสร้างที่ตำแหน่ง active-site เปลี่ยนไป (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2545) Scopes (1978) รายงานว่า เอนไซม์โปรติเอสมีเสถียรภาพดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และจะสูญเสียสภาพ ร้อยละ 50 ที่

อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ขณะที่สภาวะอุณหภูมิห้องหรือสูงกว่าเล็กน้อย (35-40 องศาเซลเซียส) ในช่วงเวลาสั้นๆ (18-30 นาที) สามารถช่วยในการสกัดเอนไซม์ได้เนื่องจากการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) มักเกิดที่ช่วงอุณหภูมินี้ นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคชวนะ (2530) สกัดแยกเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรดที่อุณหภูมิ 10-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที พบว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อการสกัดเอนไซม์จากลำต้นสับปะรด เพราะปริมาณโปรตีน กิจกรรมและกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เมื่อเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของการสกัด เนื่องจากเอนไซม์มีความเสถียรทนต่ออุณหภูมิสูงและระยะเวลาที่ใช้สกัดเอนไซม์เป็นช่วงเวลาสั้น ทำให้อุณหภูมิที่ใช้สกัดแยกไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์มากนัก ดังนั้นจึงเลือกสกัดเอนไซม์จากลำต้นสับปะรดที่อุณหภูมิห้อง เช่นเดียวกับอรวินท์ วงศ์มีเกียรติ (2527) ที่พบว่าการสกัดเอนไซม์สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) ส่วนการสกัดที่อุณหภูมิสูง (มากกว่า 40 องศาเซลเซียส) จะทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมน้อยลง

3.2.2 ความเป็นกรดด่าง

โดยทั่วไปเอนไซม์แต่ละชนิดมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงานแตกต่างกัน ความเป็นกรดด่างจะมีผลต่อการเกิดเอนไซม์-สับสเตรตคอมแพกซ์ การแตกตัวของสับสเตรต โคแฟกเตอร์ และผลิตภัณฑ์ รวมถึงความคงตัวและกิจกรรมของเอนไซม์ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคชวนะ (2530) พบว่าการใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรดด่าง 6.5 สกัดเอนไซม์โบรมิเลนจากลำต้นสับปะรด จะได้เอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงกว่าการใช้น้ำสกัดแยกเอนไซม์ประมาณร้อยละ 45 และ สูงกว่าการใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรดด่าง 3.5, 4.5 และ 5.5 สกัดแยกเอนไซม์ประมาณร้อยละ 49, 22 และ 10 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายบัฟเฟอร์ช่วยป้องกันการเสียสภาพของเอนไซม์จากกรดที่ถูกปล่อยออกมาเมื่อเซลล์แตก และโบรมิเลนมีการละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรดด่าง 6.5 ได้ดี โดยโบรมิเลนมีค่าไอโซอิเลคตริคที่ความเป็นกรดด่าง 9.5 ดังนั้นการสกัดแยกเอนไซม์ที่ความเป็นกรดด่างต่ำกว่าค่าไอโซอิเลคตริคจะทำให้โบรมิเลนมีประจุรวมเป็นบวก ส่วนโปรตีนอื่นๆ อาจละลายได้

น้อยที่ความเป็นกรดด่าง 6.5 ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่ความเป็นกรดด่างนี้มีค่าสูงสุด Gupta และ Eskin (1977) ทำการสกัดแยกเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากเนื้อ ฟักเขียว พบว่าเอนไซม์จะทำงานได้ดีในสภาวะความเป็นกรดด่างเป็นกลาง โดยเอนไซม์มีกิจกรรมย่อยสลายโปรตีนต่ำสุดที่ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.2 และมีค่าสูงขึ้นที่ความเป็นกรดด่าง 6-8 เมื่อเก็บรักษาเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 6-9 เป็นเวลา 10 วัน พบว่าเอนไซม์มีกิจกรรมลดลงประมาณร้อยละ 20-35 จากการศึกษาเอนไซม์คาร์โดซิน ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สกัดได้จากดอกคาร์โดน พบว่าอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีนเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดด่าง 5.7 (Heimgartner *et al*., 1990) อย่างไรก็ตามเอนไซม์ยังคงมีกิจกรรมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 7 เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แต่จะสูญเสียกิจกรรมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 10 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Lamas *et al*., 2001)

3.2.3 กระบวนการสกัดเอนไซม์จากพืช

การสกัดเอนไซม์จากพืชเป็นการทำให้ผนังเซลล์หรือสิ่งที่หุ้มเซลล์แตก ซึ่งวิธีการทำให้เซลล์แตกมีหลายวิธีแบ่งตามความรุนแรงของการสกัดได้ 3 วิธี ได้แก่ วิธีรุนแรง (vigorous method) เป็นการสกัดเนื้อเยื่อของพืชด้วยการอัดหรือบด แล้วบีบน้ำออก วิธีรุนแรงปานกลาง (moderate method) เป็นการปั่นผสมเพื่อทำให้เนื้อละเอียดมากขึ้น แล้วกรองแยกออกมา และวิธีไม่รุนแรง (gentle method) เป็นการสกัดโดยการตีปั่นกับสารละลายโดยตรง เช่น อะซิโตนหรือสารละลายบัฟเฟอร์ (Robyt and White, 1987)

ปัจจัยที่มีผลต่อชนิดและปริมาณของเอนไซม์ ได้แก่ อายุและส่วนของพืชที่นำมาสกัด ระยะเวลาแช่ตัวอย่างในสารสกัด อุณหภูมิขณะทำการสกัด และชนิดของสารละลายที่ใช้ในการสกัด เป็นต้น จากการศึกษาการสกัดแยกเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรด พบว่าสับปะรดที่ปอกเปลือก เอนไซม์จะมีกิจกรรมสูงกว่าสับปะรดที่ไม่ ปอกเปลือกประมาณร้อยละ 85 เนื่องจากการสกัดแยกทั้งสองวิธีนี้ใช้น้ำหนักสับปะรดเท่าๆ

กัน แต่เปลือกของต้นสับปะรดมีปริมาณเอนไซม์อยู่น้อย นอกจากนี้การปลูกสับปะรดมักมีการใช้สารเคมีปราบศัตรูพืช ซึ่งรากหรือเปลือกอาจดูดซึมไว้ เมื่อสกัดแยกเอนไซม์จากสับปะรดที่ไม่ปอกเปลือก สารเหล่านี้อาจยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ทำให้กิจกรรมมีค่าต่ำลง (นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคะชวนะ, 2530) อรวินท์ วงศ์มีเกียรติ (2527) ศึกษาผลของอายุลำต้นสับปะรดต่อปริมาณเอนไซม์ พบว่าปริมาณเอนไซม์จะมีมากในลำต้นที่แก่จัดและมีปริมาณน้อยในลำต้นที่ยังอ่อนอยู่ โดยลำต้นที่แก่จัดอายุประมาณ 3 และ 2 ปี จะมีปริมาณเอนไซม์เป็น 2.6 และ 1.7 เท่าของปริมาณเอนไซม์ในลำต้นสับปะรดอายุ 1 ปี นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลนในส่วนต่างๆ ของสับปะรด พบว่าปริมาณเอนไซม์มีมากที่สุดในส่วนของลำต้น รองลงมาคือ เนื้อ เปลือก แกน และจุกตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Su และคณะ (1975) ที่พบว่าเอนไซม์โบรมิเลนมีปริมาณสูงสุดในลำต้นเช่นกัน และรองลงมาคือ เนื้อ เปลือก แกน ใบที่ลำต้น ใบที่ผล และหน่อข้างตามลำดับ Adulyatham (2001) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในส่วนต่างๆ ของขิง พบว่าที่ปริมาณเอนไซม์จะมีน้อยในส่วนของเปลือก ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณดังกล่าวมีโปรตีนน้อย และมีสารประกอบฟีนอลอยู่ในปริมาณมาก การผลิตเอนไซม์ในพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดถึงบทบาทและหน้าที่ แต่การที่พบเอนไซม์ในทุกส่วนของพืช อาจเป็นไปได้ที่พืชสร้างขึ้นเพื่อเมตาบอลิซึมในการดำรงชีวิตบางอย่าง แล้วเก็บสะสมไว้ในส่วนต่างๆ โดยเฉพาะลำต้น ซึ่งมักเป็นแหล่งสะสมอาหารของพืชเกือบทุกชนิด (Collins, 1968; อรวินท์ วงศ์มีเกียรติ, 2527) รวมถึงเพื่อป้องกันพาราสิต เชื้อโรค และวัชพืชต่างๆ (Menard and Storer, 1998; Rowan, 1998)

3.2.4 ปัจจัยอื่นๆ

3.2.4.1 เกลือ การละลายของโปรตีนในสารละลายจะขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือ ซึ่งแสดงด้วยความแรงของไอออนิก (Ionic strength) การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือให้สูงขึ้น การละลายของโปรตีนในสารละลายที่มีความแรงของไอออนิกต่ำจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากประจุของไอออนสามารถไปเพิ่มหรือไปบังประจุบนโมเลกุลของโปรตีน ทำให้เกิดการผลักกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีน โอกาสที่โมเลกุล

ของโปรตีนจะจับกับโมเลกุลของน้ำก็มากขึ้น ทำให้การละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่เรียกว่า salting in แต่หากเพิ่มความเข้มข้นของเกลือให้สูงมากขึ้นหรือสารละลายมีความแรงของไอออนิกสูง การละลายของโปรตีนกลับลดลง เนื่องจากเกิดการแย่งโมเลกุลของน้ำหรือตัวทำละลายระหว่างไอออนของเกลือที่เติมลงไปในสารละลายกับตัวถูกละลายอื่นๆ ไอออนของเกลือจะจับกับโมเลกุลของน้ำหรือตัวทำละลายเพื่อมาละลายได้ดีกว่า จึงทำให้โปรตีนละลายได้น้อยลง เป็นปรากฏการณ์ที่เรียกว่า salting out (อาภัสรา ชมิดส์, 2537) นิมิตพิสุทธิ์ ณรงคะชวนะ (2530) พบว่าการสกัดเอนไซม์ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.2 โมลาร์ จะได้เอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำกลั่นประมาณร้อยละ 58 และสูงกว่าการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.05 และ 0.1 โมลาร์ ประมาณร้อยละ 31 และร้อยละ 21 ตามลำดับ Yousif และคณะ (1996) ศึกษาการสกัดเอนไซม์โปรติเอสจากผลจูบีนด้วย น้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 โดยแช่ตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาต่างกัน คือ 3 ชั่วโมง 3 วัน และ 7 วัน พบว่าตัวอย่างที่แช่ในสารละลาย โซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 นาน 3 ชั่วโมง มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไม่แตกต่างจากการสกัดด้วยน้ำกลั่น แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาการสกัดให้นานขึ้น พบว่าผลจูบีนที่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าการแช่ในน้ำกลั่น

3.2.4.2 สารจับโลหะและสารให้ความคงตัว การปนเปื้อนของโลหะหนัก เช่น เหล็ก สังกะสี ตะกั่ว และทองแดง สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ซึ่งป้องกันได้โดยการเติมสารจับโลหะ เช่น EDTA ความเข้มข้น 1-2 มิลลิโมลาร์ การออกซิเดชันของหมู่ไธออลของเอนไซม์เป็นสาเหตุให้เอนไซม์มีกิจกรรม ลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มไธออล (–SH) ที่ active เป็นกลุ่มไดซัลไฟด์ (-S-S-) ที่ไม่ active ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการเติมสารที่ช่วยลดหรือกำจัดไม่ให้เกิดออกซิเดชัน เช่น 1,4-ไดไทโอทริทอล (1,4-dithiothreitol) หรือ เบต้า-เมอแคปโตเอทานอล (β-mercaptoethanol) (Caygill, 1979) นอกจากนี้การใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ หรือ

โซเดียมเบนโซเอต สามารถรักษาความเสถียรของเอนไซม์ได้เช่นกัน เนื่องจากมีผลทำให้ลดการเกิดออกซิเดชันจากออกซิเจนหรือจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในวัตถุดิบได้

คุณสมบัติบางประการของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช รวมถึงแหล่งที่มาของงานวิจัย แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณสมบัติบางประการของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช

Some characteristics of plant protease

Enzyme	pH optimum	Temperature optimum (^{o}C)	Reference
Actinidin	5.8-6.0	-	Boyse *et al.* (1997)
Actinidin	7.3-7.6	58-62	Yamaguchi *et al.* (1982)
Green asparagus	7.8-8.5	38-43	Yamaguchi *et al.* (1982)
Bromelain	5.0-8.0	60	Godfrey and West (1996b)
Papain	5.0-9.0	60-85	Godfrey and West (1996b)
Ficin	5.0-6.0	30-60	Whitaker (1959)
Zingibain	5.0-5.6	60	Thompson *et al.* (1973)
(ginger protease)	6.5-7.5	-	Ichikawa *et al.* (1973)
	6.0-8.0	60	Adulyatham (2001)

เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางด้านอุตสาหกรรมอาหารได้ (Godfrey and West, 1996b) เช่น การใช้ในอุตสาหกรรมขนมปัง เพื่อลดปริมาณกลูเตนในแป้งข้าวสาลีให้มีปริมาณเหมาะสม (Rotsen, 1996 อ้างโดย จำรัส นิมิตรพรชัย, 2534) การใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ การทำเนยแข็ง (Silva and Malcata, 2004 อ้างโดย Fahmy *et al.*, 2004; จำรัส นิมิตรพรชัย, 2534) การใช้เอนไซม์

ย่อยโปรตีนในอุตสาหกรรมอาหารจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน (Wong, 1995) ตัวอย่างการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอุตสาหกรรมอาหาร แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอุตสาหกรรมอาหาร

Applications of protease enzymes in food processing

Processing	Applications
Beer	Brewing, Treating
Meat	Tenderising
Bakery	Flour quality improvement
Condiment	Flavoring ingredient
Dairy	Protein hydrolysate, Cheese

Source: Neidleman (1991)

4. เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง (Ginger protease)

4.1 คุณสมบัติของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง

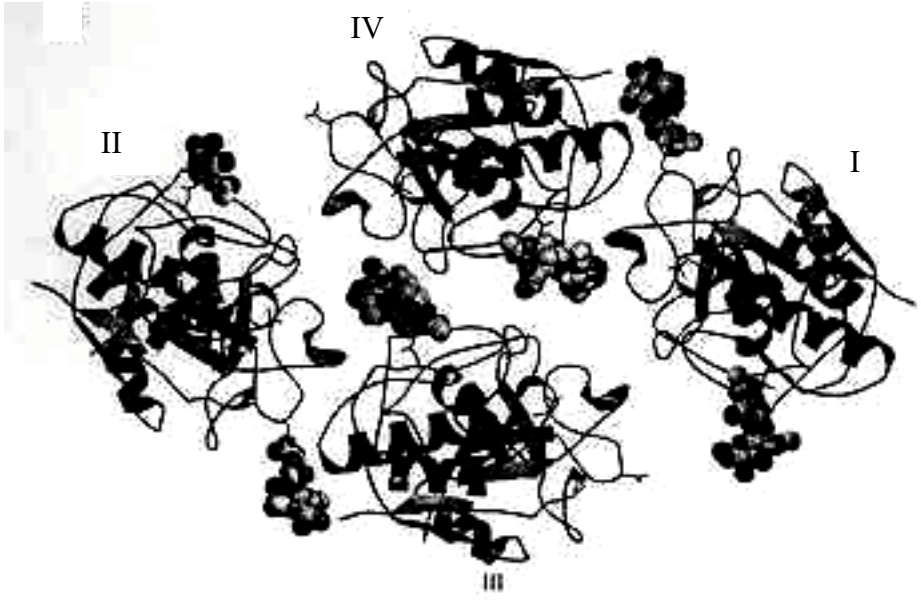
จากการศึกษาของ Ichikawa และคณะ (1973) และ Thompson และคณะ (1973) ถึงคุณสมบัติของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์คือ 6.5-7.0 (Ichikawa *et al*., 1973) และ 5.0-5.6 (Thompson *et al*., 1973) โดยจุดไอโซอิเลคตริคของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงมีค่าเท่ากับ 4.5-4.8 (Ohtsuki *et al*., 1995) ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์คือ 40-60 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่ทำให้เอนไซม์ดังกล่าวมีกิจกรรมสูงสุดคือที่ 60 องศาเซลเซียส

ขณะที่การใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็ว (Thompson *et al*., 1973) ซึ่งคุณสมบัตินี้มีความคล้ายคลึงกับเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืชชนิดอื่นดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น (ตารางที่ 6) และจากการศึกษาของ Ichikawa และคณะ (1973) พบว่าเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงมี น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 22,500 ดาลตัน อย่างไรก็ตามเอนไซม์ดังกล่าวสามารถถูกยับยั้งได้ด้วยสารบางชนิด เช่น กรดไอโอโดอะซิติก (iodoacetic acid) และไอโอโดอะซิโตเอไมด์ (iodoacetoamide) รวมถึงไอออนของโลหะบางชนิด เช่น Ag^{++}, Hg^{++}, Cu^{++}, Co^{++} และ Ni^{++} (Ichikawa *et al*., 1973; Ohtsuki *et al*., 1995)

4.2 โครงสร้างของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง

โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง แสดงดังภาพที่ 2 (a) โดยเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงจะอยู่ในรูปเตตระเมอร์ (tetramer) แต่ละโมโนเมอร์จะทำปฏิกิริยากับโมโนเมอร์ที่อยู่ติดกัน และจะไม่ทำปฏิกิริยากับโมโนเมอร์ที่อยู่ตรงข้ามกัน (กล่าวคือ โมโนเมอร์ I จะทำปฏิกิริยากับโมโนเมอร์ III และจะไม่ทำปฏิกิริยากับโมโนเมอร์ II) ดังภาพที่ 2 (b) (Choi *et al.*, 1999)

(A)



III

(B)

ภาพที่ 2 โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์โปรติเอสจากขิง (A) โมโนเมอร์ และ (B) เตตระเมอร์

Three dimensional structure of ginger protease (A) monomer and (B) tetramer

Source: Choi *et al*. (1999)

4.3 การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง

ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์ชนิดต่างๆ มาใช้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสามารถใช้เอนไซม์ในการลดต้นทุนการผลิต และช่วยปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้ดีขึ้น สำหรับเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง ปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์กันมากขึ้น Thompson และคณะ (1973) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงโดยนำเอนไซม์มาหมักกับเนื้อวัว แล้วนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นอบที่อุณหภูมิ 163 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิภายในผลิตภัณฑ์มีค่าเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส พบว่าผลิตภัณฑ์เนื้อที่ได้มีลักษณะนุ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างจากเนื้อวัวที่ไม่ผ่านการหมักด้วยเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่เอนไซม์ 1 กรัม (เตรียมได้จากขิงสดปริมาณ 40 กรัม) สามารถใช้หมักเนื้อได้ถึง 10 กิโลกรัม Lee และคณะ (1986) ทำการหมักเนื้อวัวปรุงรสด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำมาย่างจนกระทั่งอุณหภูมิภายในชิ้นเนื้อเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส พบว่า ชิ้นเนื้อดังกล่าวมีความนุ่มเพิ่มขึ้นตามปริมาณเอนไซม์จากขิงที่เติมลงไป เช่นเดียวกับ Naveena และ Mendiratta (2001) ที่ศึกษาการทำให้เนื้อไก่นุ่มโดยนำเนื้อไก่มาหมักกับสารสกัดจากขิง แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาอบจนกระทั่งอุณหภูมิภายในมีค่าเท่า

กับ 70 องศาเซลเซียส พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความนุ่มเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Naveena และคณะ (2004) ได้ศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากพืช 2 ชนิด ได้แก่ ขิงและกระชาย เปรียบเทียบกับเอนไซม์ปาเปนที่ผลิตในเชิงการค้า โดยนำเอนไซม์ดังกล่าวมาหมักกับเนื้อควาย แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มาอบที่อุณหภูมิ 75 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยขิงจะมีความนุ่มและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่หมักด้วยกระชายและปาเปนที่ผลิตในเชิงการค้า อันชี้ให้เห็นว่าขิงและกระชายสามารถนำมาใช้เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่เป็นทางเลือกใหม่แทนการใช้ปาเปนที่ผลิตเชิงการค้า อย่างไรก็ตามการเติมเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิง กระชาย และปาเปนที่ผลิตเชิงการค้านั้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความนุ่มและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการเติมด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนชนิดใดๆ ลงไปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ซึ่งการใช้เอนไซม์เพื่อทำให้เนื้อนุ่มนั้นมีมานานแล้ว ในระดับครัวเรือนจะใช้วิธีง่ายๆ โดยการผสมขิงหรือเติมน้ำสับปะรดลงในเนื้อหมักโดยตรง หรือการใช้ยางมะละกอซึ่งจัดเป็นปาเปนไม่บริสุทธิ์เติมในเนื้อหมัก ก็จะทำให้เนื้อนุ่มขึ้น ความนุ่มของเนื้อขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ลักษณะของเส้นใยของเนื้อ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งจะประกอบด้วยส่วนของคอลลาเจนและอีลาสติน เอนไซม์ที่ทำให้เนื้อนุ่ม อาจใช้พวกเอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์ ปาเปนจากมะละกอ ฟิซินจากมะเดื่อ โบรมิเลนจากสับปะรด หรือซิงกิเบนจากขิงก็ได้ แต่เอนไซม์จากจุลินทรีย์จะย่อยส่วนที่เป็นกล้ามเนื้อดีกว่าพวกเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำให้การใช้ไม่ค่อยได้ผล เพราะเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่อ่อนตัว การใช้ปาเปนก็อาจทำให้เนื้อมีลักษณะยุ่ย เนื้อสัมผัสไม่ดี เนื่องจากปาเปนย่อยทั้งกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และทนความร้อนสูงถึง 60-85 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิอบเนื้อ ดังนั้นขณะอบเนื้อปาเปนก็ยังย่อยเนื้อได้ ทำให้เนื้อยุ่ยเกินไป (Kang and Wanner, 1974; Pearson *et al*., 1983) ส่วนซิงกิเบนหรือเอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงนั้น มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานคือ 60 องศา

เซลเซียส เมื่ออบเนื้อ เอนไซม์ย่อยโปรตีนจากขิงก็จะทำงานได้น้อยลงหรือหยุดทำงาน ทำให้เนื้อไม่ยุ่ยเกินไป (Naveena and Mendiratta, 2001)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของขิงที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส
2. เพื่อศึกษาขนาดที่เหมาะสมของขิงผง วิธีการและระยะเวลาในการสกัดเอนไซม์โปรติเอสจากขิงผง
3. เพื่อศึกษาผลของแอสคอร์เบตและอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสของขิงผง
4. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ และเวลาต่อการย่อยโปรตีนบางส่วนของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทโปรตีนบางชนิด
5. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในระหว่างการเก็บรักษา
6. เพื่อสำรวจและทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส