Published Online: 20 JUL 2023

การเตรียมยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยกระบวนการทางเอนไซม์

Preparation of Yeast Hydrolysate from Brewer's Spent Yeast by Enzymatic Process

วรินทร สุนทรศิริ
อีเมล: 6351701274@lamduan.mfu.ac.th
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง
อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

กากยีสต์ เป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ที่นิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เนื่องจากอุดมด้วยสารอาหารและต้นทุนต่ำ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อเตรียมยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยกระบวนการทางเอนไซม์ และศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเตรียมยีสต์ไฮโดรไลเสทด้วยเอนไซม์ปาเปน ได้แก่ ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ (50 100 และ 200 ยูนิต) และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย (1, 2 และ 4 ชั่วโมง) จากการศึกษาระดับการย่อยสลาย พบว่า ปริมาณของเอนไซม์และเวลามีผลต่อระดับการย่อยสลายของกากยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสภาวะที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้สูงที่สุด คือ ปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้น 200 ยูนิต ที่เวลา 2 ชั่วโมง มีค่าการย่อยสลายร้อยละ 48.49 เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของยีสต์ไฮโดรไลเสท พบว่ากากยีสต์ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน 50 ยูนิต ระยะเวลา 2 ชั่วโมง สามารถให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุดเท่ากับ 76.42±1.33 มก.โปรตีน/กรัมของสารสกัด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ($p<0.05$) ขณะที่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของยีสต์ไฮโดรไลเสท และกากยีสต์ที่ไม่ผ่านกระบวนการย่อยมีค่าฟีนอลิกรวมอยู่ระหว่าง 9.90±0.63-13.99±0.24 มก.สมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

คำสำคัญ: ยีสต์ไฮโดรไลเสต, กากยีสต์, เอนไซม์ปาเปน, ฟีนอลิก

Abstract

Brewer's spent yeast (BSY) is a by-product obtained from the brewing industry. Due to its high nutritional content and low cost, it is mainly used in the animal feed industry. This study aimed to prepare yeast hydrolysates from brewer's spent yeast by an enzymatic process. In addition, the effects of enzyme concentration (50, 100 and 200 Unit) and reaction time (1, 2 and 4 h) using papain on the degree of hydrolysis and yeast hydrolysis preparation were also carried out. The results showed that the papain content and time had a statistically significant impact on that degree of hydrolysis ($p<0.05$). At 200 units of enzyme concentration with 2 h, the highest degree of hydrolysis reached 48.49% as compared to other treatments, while the 50 units of papain for 2 h gave the highest protein content of 76.42 ± 1.33 mg protein/g extract ($p<0.05$). The total phenolic content of yeast hydrolysates and untreated sample ranged from 9.90±0.63-13.99±0.24 mg GAE/g extract.

Keyword: Yeast Hydrolysates, Brewer's Spent Yeast, Papain, Phenolics

บทนำ/หลักการและเหตุผล

กากยีสต์ (Brewer's Spent Yeast) เป็นผลพลอยได้จากการผลิตเบียร์ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการหมัก โดยส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้ในอาหารสัตว์ (Rakowska et al., 2017) เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ อย่างไรก็ตามได้มีการนำกากยีสต์ที่ได้ไปตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการ พบว่ากากยีสต์อุดมไปด้วยโปรตีนร้อยละ 45–60 วิตามินบี และแร่ธาตุ (Podpora et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบว่ากากยีสต์มีส่วนผสมของสารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น โพลีฟีนอล สารต้านอนุมูลอิสระ เบต้า-กลูแคน และแมนโนโปรตีน ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากากยีสต์มีคุณค่าทางโภชนาการสูง สามารถนำมาเพิ่มมูลค่าโดยใช้เป็นวัตถุดิบได้ทั้งอุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง นอกจากนี้องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และองค์การอนามัยโลก (WHO) ยังรับรองการใช้กากยีสต์เป็นแหล่งผลิตโปรตีน และกรดอะมิโนที่น่าสนใจ (Jacob et al., 2019)

ในปัจจุบันการย่อยสลายโปรตีนเพื่อให้ได้โปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง รวมทั้งกรดอะมิโนที่จำเป็นได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากร่างกายมนุษย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่า รวมถึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง โดยปกติการย่อยสลายโปรตีนทำได้หลากหลายวิธี ทั้งทางกล ทางเคมี รวมถึงการใช้เอนไซม์ อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์จากแหล่งต่าง ๆ กำลังได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากสภาวะที่

ใช้ไม่รุนแรง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม จึงเป็นการประหยัดพลังงานในขั้นตอนผลิต ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ขนาดโมเลกุลมีความสม่ำเสมอ

การย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสจะให้โปรตีนที่มีเปปไทด์ขนาดเล็กและกรดอะมิโนอิสระในปริมาณสูง โดยเอนไซม์ที่นิยมใช้ ได้แก่ เอนไซม์ปาเปน (Jeong & Hur, 2010) เอนไซม์อัลคาเลส เอนไซม์โบรมิเลน เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์ฟลาโวไซม์ เป็นต้น ซึ่งเป็นเอนไซม์กลุ่ม Endopeptidase ที่ได้จากพืช และจุลินทรีย์ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง ทั้งนี้การย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ เช่น แหล่งโปรตีนตั้งต้น ชนิดและความเข้มข้นของเอนไซม์ รวมถึงอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง ระยะเวลาที่ใช้ เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีขนาดโมเลกุลของกรดอะมิโน และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ (Jaipakdee et al., 2015)

ในการศึกษานี้ผู้วิจัยสนใจที่จะเพิ่มมูลค่ากากยีสต์โดยนำมาพัฒนาเป็นยีสต์ไฮโดรไลเสทเพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง โดยได้ศึกษาอิทธิพลของการใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปน และระยะเวลาในการย่อยที่แตกต่างกัน เพื่อดูผลของปริมาณโปรตีน และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อเตรียมยีสต์ไฮโดรเสทจากกากยีสต์ด้วยกระบวนการทางเอนไซม์
2. เพื่อศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเตรียมยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยเอนไซม์ปาเปน ได้แก่ ปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย
3. เพื่อศึกษาปริมาณโปรตีน และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของยีสต์ไฮโดรไลเสทที่ย่อยได้

ขอบเขตของการศึกษา

1. เตรียมยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยเอนไซม์ปาเปน
2. วิเคราะห์คุณภาพของยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ โดยวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย ปริมาณโปรตีน และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากยีสต์ไฮโดรไลเสท

ทบทวนวรรณกรรม

กากยีสต์ (Brewer’s Spent Yeast) เป็นผลพลอยได้จากการผลิตเบียร์ในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการหมัก มีลักษณะเป็นครีมหรือมูล (Slurry) ทั้งหมดประมาณร้อยละ 15-20 (Jaeger et al., 2020) ส่วนมากจะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เนื่องจากต้นทุนต่ำ การนำกากยีสต์มาใช้ให้เกิดประโยชน์สามารถช่วยลดการกำจัดของเสีย ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และยังสามารถเปลี่ยนให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาของ Bertolo et al., (2019) พบว่ากากยีสต์ที่สกัดด้วยเอนไซม์ มีกรดอะมิโนที่จำเป็นอย่างลิวซีนและไลซีนมากสุดร้อยละ 4.1–8.8

โปรตีนไฮโดรไลเสท คือ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยโปรตีนด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์ เป็นการย่อยสลายโปรตีนที่บริเวณพันธะเปปไทด์เพื่อให้ได้เปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจะส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของโปรตีน (Thaiphanit et al., 2016) โดยทำให้เปปไทด์มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและมีขั้วเพิ่มขึ้น ช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายได้ดี ในปัจจุบันโปรตีนไฮโดรไลเสทถูกนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เช่น เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง เป็นต้น (Sinha et al., 2007) โดยกระบวนการย่อยสลายโปรตีนสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพโดยอาศัยการใช้ความร้อน วิธีทางกลโดยไม่อาศัยการใช้ความร้อน และวิธีทางเคมี ซึ่งเป็นวิธีที่นำมาใช้มากที่สุดแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ วิธีการย่อยสลายด้วยกรด วิธีการย่อยสลายด้วยด่าง และวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ โดยวิธีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นที่นิยมนำมาใช้เพื่อปรับปรุงสมบัติของโปรตีนกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจงในการตัดพันธะเปปไทด์สูงกว่า มีสภาวะที่ไม่รุนแรง สามารถควบคุมระดับการย่อยได้ และอัตราการย่อยสลายค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการใช้กรดและด่าง โดยการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ควรคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ชนิดและขนาดโมเลกุลของโปรตีนที่เป็นสารตั้งต้น ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงอัตราส่วนของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น ระยะเวลา ความเป็นกรดด่างของเอนไซม์ และอุณหภูมิ ซึ่งปกติกระบวนการย่อยสลายโปรตีนจะทำที่ความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่ใช้ การควบคุมสภาวะที่เหมาะสมของการย่อยให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ สามารถส่งผลต่อสมบัติการทำงานของโปรตีนในด้านต่าง ๆ รวมทั้งด้านการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Vagadia et al., 2017)

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมยีสต์ไฮโดรไลเสทด้วยเอนไซม์ปาเปน

นำผงกากยีสต์ผสมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.0 ในอัตราส่วน 1:10 น้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำไปวางในเครื่องเขย่าสารพร้อมควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 125 rpm เติมสารละลายเอนไซม์ในปริมาณที่ต่างกัน คือ 50, 100 และ 200 ยูนิต โดยใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์ที่ 1, 2 และ 4 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายที่ได้ไปตรวจสอบระดับการย่อยสลายของโปรตีน ด้วยวิธีวิเคราะห์หมู่อะมิโนอิสระด้วยสาร 2,4,6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid (TNBS) และนำตัวอย่างส่วนใสที่เหลือไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตัวอย่างแห้งที่ได้เรียกว่า ยีสต์ไฮโดรไลเสท จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และปริมาณฟินอลิกทั้งหมด

2. การตรวจสอบระดับการย่อยของโปรตีน (Degree of Hydrolysis) ด้วยวิธี TNBS (Benjakul & Morrissey, 1997)

นำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเสทปริมาตร 125 ไมโครลิตร เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 8.2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย TNBS นำไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (ในที่มืด) หยุดปฏิกิริยาโดยเติมโซเดียมซัลไฟต์ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

3. การตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆของยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์

1) การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford (Bradford, 1976) โดยการนำยีสต์ไฮโดรไลเสทมาเตรียมเป็นสารละลายด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.0 จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างผสมกับน้ำและแบรดฟอร์ดรีเอเจนท์ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐานของโปรตีน BSA (bovine serum albumin)

2) การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยการนำกากยีสต์ไฮโดรไลเสทมาเตรียมเป็นสารละลายด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.0 จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างแล้วเติมน้ำกลั่น เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu Reagent ผสมให้เข้ากัน และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของยีสต์ไฮโดรไลเสทในรูปมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมของสารสกัด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4. การวิเคราะห์ด้วยสถิติ

วิเคราะห์ผ่านโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่นที่ 25 วิเคราะห์โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One Way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่โดยวิธี Duncan ซึ่งกำหนดค่า p-values น้อยกว่า 0.05 ($p<0.05$) ถือว่าการศึกษามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต

ผลวิจัยและอภิปราย

1. การตรวจสอบระดับการย่อยของโปรตีน (Degree of Hydrolysis; DH)

การตรวจสอบระดับการย่อยสลายของยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยเอนไซม์ปาเปนที่สภาวะต่าง ๆ โดยมีปัจจัยที่ส่งผลคือ ปริมาณของเอนไซม์ (50, 100 และ 200 ยูนิต) และระยะเวลาในการย่อยสลาย (1, 2 และ 4 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส pH 6.0 ผลการทดลองพบว่าเมื่อปริมาณของเอนไซม์ปาเปนและระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระดับการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้นในช่วงเวลา 0-2 ชั่วโมงแรก จากนั้นอัตราการย่อยสลายจะลดลงช้า ๆ คาดว่าโปรตีนที่เป็นสาร

ตั้งต้นทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในช่วง 2 ชั่วโมง และผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้อัตราการย่อยสลายค่อนข้างลดลงเมื่อระยะเวลาการย่อยนานขึ้น (Valencia et al., 2014) จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ปริมาณของเอนไซม์และระยะเวลาส่งผลต่อระดับการย่อยสลายของกากยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งสภาวะที่ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงสุดคือ ปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้น 200 ยูนิต ระยะเวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง ให้ค่าระดับการย่อยสลายร้อยละ 48.49

ตารางที่ 1 ระดับการย่อยสลายของยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยเอนไซม์ปาเปนที่สภาวะต่างๆ

ปริมาณเอนไซม์	ระดับการย่อยสลาย (%DH) ที่ระยะเวลาต่าง ๆ (ชั่วโมง)		
(ยูนิต)	1	2	4
50	18.65 ± 2.84^{g}	28.58 ± 1.37^{de}	23.38 ± 1.10^{f}
100	25.77 ± 2.04^{ef}	39.83 ± 1.96^{b}	27.77 ± 1.30^{de}
200	30.67 ± 0.48^{cd}	48.49 ± 4.65^{a}	34.61 ± 2.69^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford

จากตารางที่ 2 พบว่าปริมาณโปรตีนที่มีการย่อยด้วยเอนไซม์ปริมาณต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง แสดงประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ($p<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ 76.42 ± 1.33 มก.โปรตีนต่อสารสกัด 1 กรัม ในขณะที่กากยีสต์ที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดเท่ากับ 38.78 ± 0.80 มก.โปรตีนต่อสารสกัด 1 กรัม และที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนที่ได้จะลดลงซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของระดับการย่อยสลาย

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนในยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน

ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณโปรตีน (มก.โปรตีนต่อสารสกัด 1 กรัม)
0	0	38.78 ± 0.80^{f}
50	1	44.41 ± 1.43^{d}
	2	76.42 ± 1.33^{a}
	4	45.03 ± 1.17^{d}

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณโปรตีน (มก.โปรตีนต่อสารสกัด 1 กรัม)
100	1	40.57±0.47^{e}
	2	71.08±0.51^{b}
	4	41.69±0.07^{e}
200	1	41.34±0.11^{e}
	2	67.69±1.10^{c}
	4	33.77±0.11^{g}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ผลของการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของกากยีสต์ที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์และกากยีสต์ที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมีค่าอยู่ระหว่าง 9.90±0.63 - 13.99±0.24 มก.สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด ซึ่งกากยีสต์ที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ และยีสต์ไฮโดรไลเสทที่ปริมาณความเข้มข้นเอนไซม์ 200 ยูนิต ระยะเวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) คือ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดท่ากับ 10.81±0.14 มก.สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด และ 10.86±0.48 มก.สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด ตามลำดับ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าปริมาณเอนไซม์และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และจากงานวิจัยของ Jacob et al. (2019), Vieira et al. (2016) และ Podpora et al. (2016) พบว่าสารสกัดจากยีสต์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วงตั้งแต่ 1.2 ถึง 37.51 มก.ของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด

ตารางที่ 3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของยีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์

ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มก.สมมูลกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด)
0	0	10.81±0.14^{d}
50	1	11.90±0.41^{bc}
	2	11.42±0.22^{cd}
	4	9.90±0.63^{e}

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ระยะเวลา (ชั่วโมง)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มก.สมมูลกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด)
100	1	12.11 ± 0.39^{bc}
	2	11.85 ± 0.63^{bc}
	4	11.84 ± 0.27^{bc}
200	1	13.99 ± 0.24^{a}
	2	10.86 ± 0.48^{d}
	4	12.26 ± 0.24^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาระดับการย่อยสลายในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ ซึ่งมีปัจจัยที่ส่งผล คือ เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 1 2 และ 4 ชั่วโมง และ ปริมาณเอนไซม์ 50, 100 และ 200 ยูนิต ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าปริมาณของเอนไซม์และระยะเวลาส่งผลต่อระดับการย่อยสลายของกากยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสภาวะเหมาะสมที่สามารถย่อยโปรตีนได้สูงสุดคือ ปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้น 200 ยูนิต ระยะเวลาการย่อย 2 ชั่วโมง ซึ่งให้ค่าระดับการย่อยสลายร้อยละ 48.49 จากนั้นนำยีสต์ไฮโดรไลเสทมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ยูนิตต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง แสดงประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ($p<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ไฮโดรไลเสทจากกากยีสต์ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนมีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ 76.42±1.33 มก.โปรตีนต่อสารสกัด 1 กรัม ในขณะที่กากยีสต์ที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดเท่ากับ 38.78±0.80 มก.โปรตีนต่อสารสกัด 1 กรัม และที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนที่ได้จะลดลงซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของระดับการย่อยสลาย

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า ปริมาณฟีนอลิกรวมของยีสต์ไฮโดรไลเสทและกากยีสต์ที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการย่อยมีค่าอยู่ระหว่าง 9.90±0.63 - 13.99±0.24 มก.สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณเอนไซม์และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษาปริมาณกรดอะมิโน และสมบัติเชิงหน้าที่เพิ่มเติม ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้

รายการอ้างอิง

Benjakul, S., & Morrissey, M. T. (1997). Protein hydrolysates from Pacific Whiting Solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(9), 3423–3430.

Bertolo, A. P., Biz, A. P., Kempka, A. P., Rigo, E., & Cavalheiro, D. (2019). Yeast (Saccharomyces cerevisiae): evaluation of cellular disruption processes, chemical composition, functional properties and digestibility. *Journal of food science and technology*, *56*, 3697-3706.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, *72*, 248–254.

Jacob, F. F., Striegel, L., Rychlik, M., Hutzler, M., & Methner, F. J. (2019). Spent yeast from brewing processes: a biodiverse starting material for yeast extract production. *Fermentation*, *5*(2), 51.

Jaeger, A., Arendt, E. K., Zannini, E., & Sahin, A. W. (2020). Brewer's spent yeast (BSY), an underutilized brewing by-product. *Fermentation*, *6*(4), 123.

Jaipakdee, N., Trakanchaiwong, K., & Limpongsa, E. (2015). Evaluation of physical stability, efficacy and preference of anticellulite cream containing natural compounds. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *11*(2), 55-70.

Jeong, J., & Hur, W. (2010). Even-numbered peptides from a papain hydrolysate of silk fibroin. *Journal of Chromatography B*, *878*(9–10), 836–840.

Podpora, B., Świderski, F., Sadowska, A., Rakowska, R., & Wasiak-Zys, G. (2016). Spent brewer's yeast extracts as a new component of functional food. *Czech Journal of Food Sciences*, *34*(6), 554-563.

Rakowska, R., Sadowska, A., Dybkowska, E., & Świderski, F. (2017). Spent yeast as natural source of functional food additives. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, *68*(2), 115–121.

Sinha, R., Radha, C., Prakash, J., & Kaul, P. (2007). Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*, *101*(4), 1484–1491.

Thaiphanit, S., Schleining, G., & Anprung, P. (2016). Effects of coconut (Cocos nucifera L.) protein hydrolysates obtained from enzymatic hydrolysis on the stability and rheological properties of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, *60*, 252-264.

Vagadia, B. H., Vanga, S. K., & Raghavan, V. (2017). Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor – A Review. *Trends in Food Science and Technology*, *64*, 115–125.

Vieira, E., Teixeira, J., & Ferreira, I. M. (2016). Valorization of brewers' spent grain and spent yeast through protein hydrolysates with antioxidant properties. *European Food Research and Technology*, *242*(11), 1975–1984.

Valencia, P., Pinto, M., & Almonacid, S. (2014). Identification of the key mechanisms involved in the hydrolysis of fish protein by Alcalase. *Process Biochemistry*, *49*(2), 258-264.