

การสกัดและการประยุกต์ใช้เบต้ากลูแคนจากยีสต์ Extraction and Application of Yeast Beta Glucan

สุภัทรา รุจันนท์ และ ศศิธร คงเรือง

Supatsara Rujanant and Sasithorn Krongrung

Received: August 24, 2017

Accepted: October 17, 2017

บทคัดย่อ

เบต้ากลูแคน (Beta-glucan) จากยีสต์พบได้ในโครงสร้างผนังเซลล์ของยีสต์ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมโมเลกุลของน้ำตาลและเรียงต่อกันในรูปแบบต่างๆ ปริมาณของเบต้ากลูแคนในยีสต์จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ สภาพะในการเลี้ยง ความเป็นกรด-ด่าง มีงานวิจัยและการศึกษาที่ผ่านมาได้รายงานถึงการนำเบต้ากลูแคนจากยีสต์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร การเกษตร ปศุสัตว์ และทางการแพทย์ ผลการทดลองชี้ให้เห็นถึงคุณประโยชน์ของเบต้ากลูแคน และยังพบวิธีการสกัดเบต้ากลูแคนด้วยวิธีต่างๆ ในสถานะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนในปริมาณสูง ดังนั้นในบทความนี้ได้รวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับเบต้ากลูแคนจากยีสต์ วิธีการสกัดเบต้ากลูแคน ปริมาณเบต้ากลูแคนจากยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

คำสำคัญ: เบต้ากลูแคน ยีสต์ ผนังเซลล์ วิธีการสกัด

1. เบต้ากลูแคน

เบต้ากลูแคน (beta-glucan) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมโมเลกุลของน้ำตาลและเรียงต่อกันในลักษณะต่างๆ เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของโครงสร้างผนังเซลล์ของยีสต์ สาหร่าย เห็ดแบคทีเรีย แต่ไม่พบในสัตว์และมนุษย์ ซึ่งเบต้ากลูแคนในผนังเซลล์ของยีสต์พบเป็น ร้อยละ 30 โดยน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ทั้งหมด เบต้ากลูแคนจากแหล่งที่มาต่างกันจะมีโครงสร้างไม่เหมือนกัน และความแตกต่างของโครงสร้างนี้จะส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของเบต้ากลูแคน [1] เนื่องจากเบต้ากลูแคนประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสมาเรียงต่อกันในลักษณะต่างๆ กันตามแต่ชนิดของสารตั้งต้น ดังนั้นคำว่าเบต้ากลูแคนจึงเป็นคำเรียกรวมของสารประเภทนี้ เนื่องจากโครงสร้างที่ต่างกัน จึงทำให้มีคุณสมบัติที่ต่างไปกันด้วย ในการนำไปใช้เราจึงต้องทราบว่า เบต้ากลูแคนนั้นมาจากสารตั้งต้นชนิดใด

2. เบต้ากลูแคนจากยีสต์

เบต้ากลูแคนจากยีสต์เป็นโมเลกุลของน้ำตาลมาเรียงต่อเป็นสายยาว ซึ่งส่วนประกอบที่สำคัญของโครงสร้างผนังเซลล์ของยีสต์ ดัง Figure 1a เบต้ากลูแคนจากผนังเซลล์ยีสต์มีโครงสร้างการเรียงตัวสายหลักที่ต่อกันด้วยพันธะ 1,3 และมีสายแขนงออกไปด้านข้างด้วยพันธะ 1,6 กล่าวคือ คาร์บอนตัวที่ 1 ของโมเลกุลกลูโคสตัวต้นจับกับ คาร์บอนตัวที่ 3 ของกลูโคสตัวถัดไปต่อกันเป็นสายยาวซึ่งเป็นสายหลัก และมีสายรองหรือเป็นแขนงออกด้านข้าง โดยที่คาร์บอนตัวที่ 1 ของสายแขนงนั้นจะมาจับกับ คาร์บอนตัวที่ 6 ของสายหลัก เราเรียกเบต้ากลูแคนชนิดนี้ว่า เบต้า 1,3/1,6 กลูแคน ซึ่งองค์ประกอบหลักของเบต้ากลูแคนจากยีสต์ประมาณร้อยละ 85 ที่เป็นส่วนแกนเบต้า-1,3 กลูแคน และส่วนกิ่งมีประมาณ ร้อยละ 3 คือ เบต้า-1,6 กลูแคน [2] Figure 1b โดยเบต้ากลูแคนเป็นโครงสร้างหลักของผนังเซลล์พบ

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

ประมาณ ร้อยละ 50-60 [3-4] ส่วนเบต้า-1,3 กลูแคนเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติทางกลและโครงสร้างของผนังเซลล์ของยีสต์ และยังช่วยในการดูดซับสารพิษ สำหรับเบต้า-1,6 กลูแคนเป็นตัวกำหนดโครงสร้างผนังเซลล์โมเลกุลของยีสต์เนื่องจากเชื่อมโยงเบต้า-1,3 กลูแคนด้วยไคตินและเอนไซม์แมนโนโปรตีน และนี่คือเหตุที่ทำให้ผนังเซลล์ยีสต์ถึงไม่ละลายน้ำ [5] นอกจากนี้แล้วยังพบไกลโคเจนที่

มีโครงสร้าง α -(1,4)-D-glucan ในผนังเซลล์ของยีสต์ซึ่งพบประมาณ ร้อยละ 3-7 สามารถเชื่อมกับเบต้ากลูแคนด้วยพันธะโควาเลนต์ในรูปของ α, β -glucan complexes [6] องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ยีสต์แสดงดัง Table 1

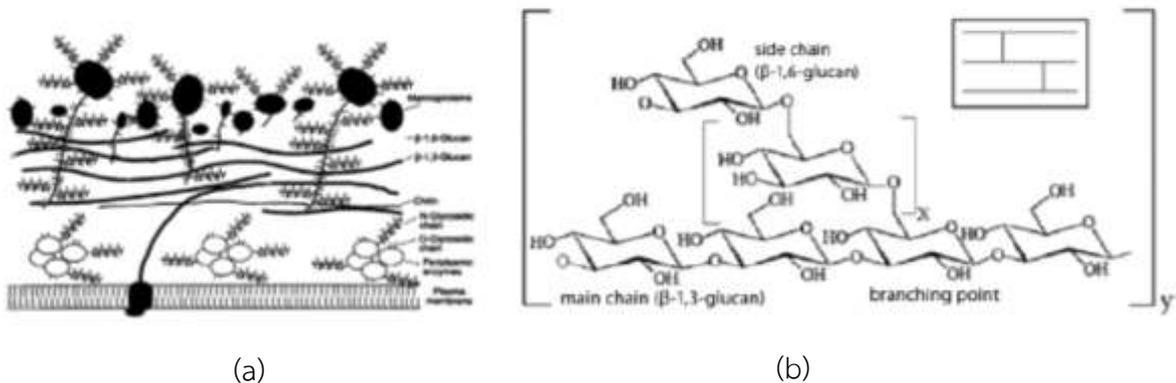


Figure 1. (a) Structure of the cell wall of yeast *Saccharomyces cerevisiae* [7], (b) Chemical structure of β -glucan in yeast *Saccharomyces cerevisiae* [8].

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ทั่วโลกมีเหลือจำนวนมากหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมักเซลล์ยีสต์ที่แยกออกจะถูกนำมารวมไว้ในรูปแบบที่เรียกว่า ยีสต์สลัดจ์ (Yeast sludge) ซึ่งยังมีประโยชน์สามารถนำมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ได้หลายชนิด เช่น วิตามินอี วิตามินดี เอนไซม์ คาโรทีนอยด์

ฟอสโฟแมนแนน และกรดอะมิโนหลายชนิด ส่วนใหญ่มักจะขายในรูปของอาหารสัตว์หลังจากนำไปผ่านความร้อนหรือเป็นอาหารเสริม อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ยังมีมูลค่าต่ำ และส่วนที่เหลือจะต้องมีกระบวนการในการจัดการให้เหมาะสม เนื่องจากประกอบด้วยสารอินทรีย์ที่สามารถก่อให้เกิดมลพิษต่อแหล่งน้ำธรรมชาติ [9]

Table 1. Chemical composition of the cell walls [10]

Compounds	Content (%)
Dried cell wall yeast	96 \pm 2
Glucans	55 \pm 5
Mannans	15 \pm 5
Lipids	18-22
Proteins	12-18
Chitin	1-2

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

3. การนำเบต้ากลูแคนไปใช้ประโยชน์

เบต้ากลูแคนจากยีสต์ได้รับการพิสูจน์ว่ามีประโยชน์ต่อการป้องกันโรคของมนุษย์และสัตว์ ในช่วง 50 ปีที่ผ่านมา มีการเผยแพร่งานวิจัยมากกว่า 2,000 ฉบับที่มีการนำเบต้ากลูแคนมาใช้ในงานทางการแพทย์และทางอาหาร พบว่าเบต้ากลูแคนเป็นตัวปรับการตอบสนองทางชีวภาพ (biological response modifiers) เนื่องจากความสามารถในการเสริมสร้างและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ ด้านโรคภูมิแพ้ โรคสะเก็ดเงิน โรคมะเร็ง โรคมะเร็ง โรคเบาหวานชนิดที่ 1 โรคตับอักเสบ โรคเบาหวาน [11] ในปัจจุบันได้มีการนำยีสต์ที่มีสารสำคัญเบต้ากลูแคนเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่มีคุณสมบัติเด่นเฉพาะมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ทางเภสัชกรรม ทางการเกษตร และทางอุตสาหกรรม โดยเฉพาะด้านการเกษตรในการเลี้ยงสัตว์ เช่น สัตว์ปีก ซึ่งส่งผลต่อการ

เติบโตของสัตว์เหล่านั้น สัตว์จะมีน้ำหนักตัวมากและมีปริมาณของเนื้อมากขึ้น และที่สำคัญที่สุดคือสัตว์ปราศจากโรคทำให้เพิ่มความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เบต้ากลูแคนยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอาหาร เช่น เป็นสารให้ความเข้มข้น สารทดแทนไขมันและเป็นสารให้ความคงตัว นำไปผลิตน้ำสลัดให้มีรสชาติที่ดีขึ้น อาหารทะเลแช่แข็ง ซอส โยเกิร์ต และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ทั้งนี้ยังสามารถใช้เป็นส่วนผสมในการทำเค้กได้อีก ผลทางการแพทย์บ่งชี้อย่างชัดเจนว่าการกินเบต้ากลูแคนจากยีสต์มีความปลอดภัย และมีผลต่อการทำงานตลอดจนการปรับปรุงของระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ให้ดีขึ้น และส่งผลดีต่อระบบได้เป็นเวลานาน [12] การประยุกต์ใช้เบต้ากลูแคนในผลิตภัณฑ์อาหารแสดงดัง Table 2

Table 2. The application of β -glucan in food products [13-29]

Food products	References
gelling thickeners for functional food products	Shukla and Halpern, 2005; Laroche and Michaud, 2007
biscuits and cookies	Seeley, 1977; Shukla and Halpern, 2005
meat products	Thammakiti, et al., 2004; Shukla and Halpern, 2005
soft cheese	Shukla and Halpern, 2005
bread, bread mixture, pancakes, toast, dough	Shukla and Halpern, 2005
nibbling food (salty and sweet)	Shukla and Halpern, 2005
ice creams, yogurts, milk drinks	Shukla and Halpern, 2005; Tudorica et al., 2004
salad dressings (creamy, vinegar, mayonnaise) and their ready mixture for use	Shukla and Halpern, 2005; Worrashinchai et al., 2006
sauces and mixture for their preparation	Shukla and Halpern, 2005
soups and mixture for soups, concentrates for soups	Shukla and Halpern, 2005
beverages, including juices and dairy drinks	Naumann et. al., 2006

4. วิธีการสกัดเบต้ากลูแคน

ในปัจจุบันโรงงานส่วนใหญ่ที่เข้ามาลงทุนผลิตเบต้ากลูแคนจะเป็นโรงงานที่ต่อยอดจากธุรกิจเดิม เช่น โรงงานผลิตเอทานอล โรงงานน้ำตาล และโรงงานผลิตเปียร์ เป็นต้น ซึ่งโรงงานผลิตเอทานอลเดินเครื่องผลิตแล้ว 21 ราย มีกำลังการผลิตรวม 4.44 ล้านลิตรต่อวัน ทำให้เกิดยีสต์สลัดจ์ที่ได้จากสิ้นสุดกระบวนการหมัก

2.8 ตัน/วันโดยประมาณ ซึ่งคิดรวมทั้งหมด 21 โรงงาน จะมียีสต์สลัดจ์มากถึง 58.8 ตัน/วัน [30] ดังนั้นจึงมีการจัดการกับยีสต์สลัดจ์เหล่านั้นในรูปสารสำคัญเบต้ากลูแคน ซึ่งเพิ่มมูลค่าของยีสต์สลัดจ์ที่จากเดิมขายเป็นอาหารเสริมที่มีราคาต่ำได้ จึงได้มีงานวิจัยได้กล่าวถึงการสกัดเบต้ากลูแคนจากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีวิธีการสกัดที่หลากหลายแตกต่างกันและหาวิธีหรือ

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

สภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเบต้ากลูแคนมากที่สุด

จากงานวิจัยของ Thammakiti และคณะ (2004) [16] ได้ทำการสกัดเบต้ากลูแคนจากผนังเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยการสกัดด้วย อัลคาไลน์ซึ่งง่ายและราคาถูก ผลการทดลองพบว่า พารามิเตอร์ในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนสูงสุด คือ ใช้ระยะเวลาการสกัดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 N อุณหภูมิในการสกัด 90 องศาเซลเซียส และผนังเซลล์ยีสต์ต่ออัตราส่วนของสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 1: 5 (w/v) ทำให้ได้เบต้ากลูแคน ร้อยละ 51 ของผนังเซลล์ (w/w) และยังมีงานวิจัยในการใช้เบต้ากลูแคนจากยีสต์ที่เหลือจากอุตสาหกรรมสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในอาหารโดยมีขั้นตอนการสกัดมีขั้นตอนดังต่อไปนี้ คือ ขั้นตอนแรกยีสต์ที่เหลือจากอุตสาหกรรม ปริมาณ 60 ลิตร ถูกทำให้เซลล์แตก (autolyze) โดยปริมาณยีสต์เริ่มต้น ร้อยละ 15 (w/w) solids content และ pH เท่ากับ 5 ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยอัตราการกวนปานกลางในถังที่สามารถปรับอุณหภูมิแบบมีใบกวน จากนั้นใช้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3565 g เป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำส่วนใสทิ้งแล้วเก็บส่วนที่เป็นผนังเซลล์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ขั้นตอนต่อมาทำให้ผนังเซลล์เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization) โดยการนำส่วนของผนังเซลล์ยีสต์เติมด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้สารแขวนลอย (suspension) มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 15 (w/v) จากนั้นนำส่วนของสารแขวนลอยมาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า high pressure homogenizer ที่ 600 bar สำหรับขั้นตอนการสกัดเริ่มต้นการสกัดด้วยแอลคาไลน์ (Alkali) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 N ที่ 80 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วสกัดต่อด้วยกรดโดยใช้กรดแอซิติก (acetic acid) ความเข้มข้น 0.5 N ที่ 75 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่

3565 g เป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง เพื่อนำไกลโคเจน (glycogen) ไคติน (chitin) ไคโตซาน (chitosan) และโปรตีน (protein) ที่เหลือออก เมื่อได้สารสกัดเบต้ากลูแคนแล้วนำไปทำการพ่นแห้งแบบฝอย (spray dry) โดยเติมน้ำกลั่นในสารสกัดเบต้ากลูแคนเพื่อให้สารแขวนลอย มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 7 แล้วทำการพ่นแห้งแบบฝอยที่อุณหภูมิเข้า 180 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิออก 85 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง Niro Mobile Minor spray dryer ซึ่งการทดลองทั้งหมดจะแสดงดัง Figure 2 สำหรับศึกษาผลของการทำให้ผนังเซลล์เป็นเนื้อเดียวกัน จะทำให้เบต้ากลูแคนที่สกัดออกมาได้มีปริมาณมากกว่า และมีความหนืดมากกว่าการสกัดแบบปกติ เนื่องจากมีการกระจายตัวของผนังเซลล์ นอกจากนี้มีความสามารถในการจัดเก็บน้ำ และมีความสามารถในการเป็นสารอิมัลชัน (emulsion) ได้ดีอีกด้วย [16]

Zechner-Krpan และคณะ (2010) [31] ได้ทำการสกัดเบต้ากลูแคนจาก *S. cerevisiae* งานวิจัยนี้เพื่อการผลิตเบต้ากลูแคนจากผลิตภัณฑ์ยีสต์ที่เหลือหลังจากการหมักแอลกอฮอล์ในการผลิตเบียร์ ใช้การย่อยสลายเซลล์ (cell lysis) แบบอ่อนๆ แทนที่จะใช้สารเคมีหรือเครื่องแตกเซลล์ (homogenizers, sonicators) เบต้ากลูแคนถูกสกัดโดยใช้ NaOH แล้วกรองเซลล์ยีสต์ด้วย 125 μm analytical sieve แล้วจึงทำการกรองด้วยสุญญากาศ (Vacuum) จากนั้นเติม NaOH (pH 10 / 50°C / 10 min) เพื่อขจัดความขม (debittered cells) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (6000 rpm/10min) แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นนำ Debittered cells ที่เตรียมทำการย่อยสลายเซลล์ (Autolysis) (50°C / 36 h) นำไปปั่นเหวี่ยง (6000 rpm / 4°C / 10 min) นำส่วนตะกอน (sediment) เติมด้วย NaOH (1 M / 90°C / 2 ชั่วโมง) ผล คือ ได้เบต้ากลูแคนที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble β -glucan) นำไปทำแห้ง กระบวนการสกัดงานวิจัยนี้สรุปได้ดัง Figure 3

Javmen และคณะ (2012) [32] ทำการสกัดเบต้ากลูแคนจาก *S. cerevisiae* ด้วยการใช้เอนไซม์ *Actinomyces rutgersensis* 88 yeast lytic enzymatic complex

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

สำหรับการย่อยสลายเซลล์ (Cell lysis) ซึ่งเตรียมได้จากแบคทีเรีย *Actinomyces rutgersensis* 88 สามารถทำลายส่วนของผนังเซลล์ทำให้เซลล์แตก ส่งผลให้ออร์แกเนลล์ (organelles) อื่นๆ ออกจากไซโทพลาสซึม (cytoplasm) ซึ่งวิธีนี้หากต้องการให้ผลผลิตจำนวนมากจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ในการสกัดจำนวนมากที่ ดังนั้นในระดับอุตสาหกรรมจะส่งผลให้ต้นทุนเพิ่มขึ้นและใช้เวลานานในการสกัด งานวิจัยนี้ได้รายงานถึงสถานะที่เหมาะสมในการสกัด คือ เอนไซม์ 40

mL(1.5 U) สารละลายบัฟเฟอร์ 3M ปริมาตร 20 mL และเซลล์ยีสต์ปริมาณ 3 กรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 10 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อผ่านการสกัดจะได้ผนังเซลล์ล้างด้วยน้ำกลั่นสามครั้งและใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5M ปริมาตร 25 mL ต่อเซลล์ยีสต์ 5 กรัม เป็นเวลา 4 ชั่วโมง อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่ง pH เป็นกลาง กระบวนการสกัดงานวิจัยนี้สรุปได้ดัง Figure 3

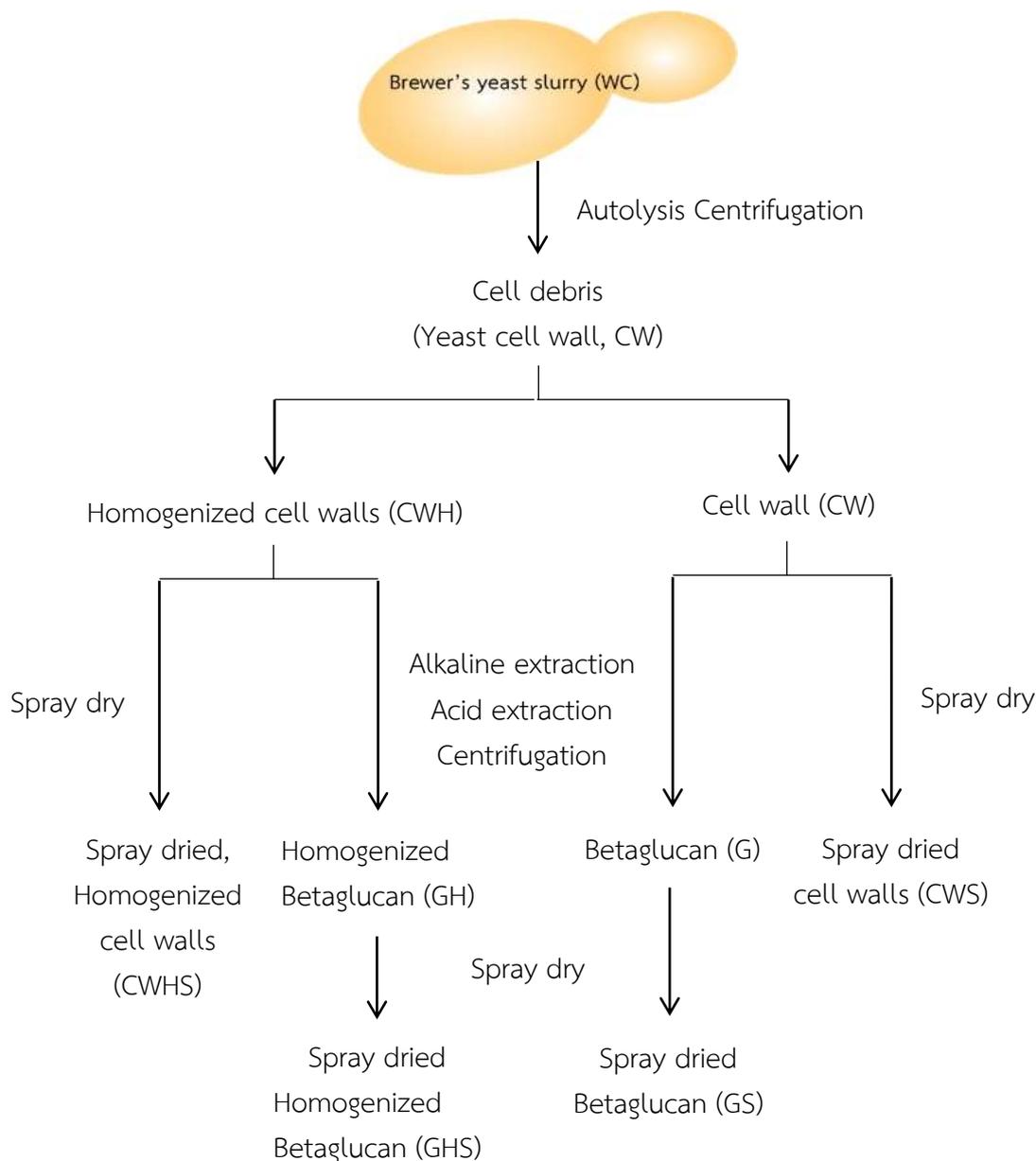


Figure 2. Scheme for the preparation of β -glucan from spent brewer's yeast for compared β -glucan Homogenization and β -glucan Non-homogenization.

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

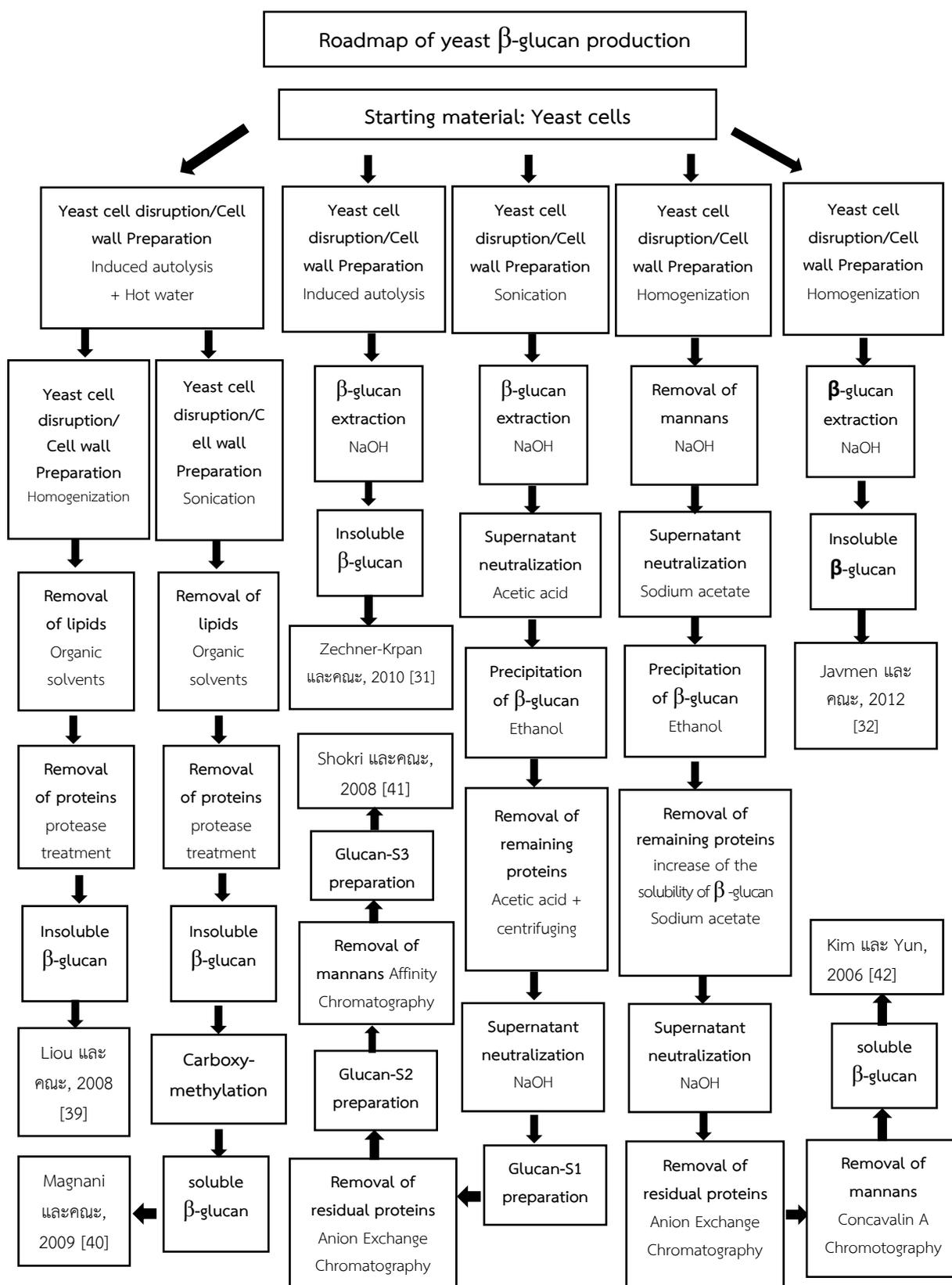


Figure 3. Schematic process of different β -glucan extraction and purification methods. [43]

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Noppawat และคณะ (2014) [33] ได้วิเคราะห์เบต้ากลูแคนจากยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ ด้วย yeast glucan assay kit (Megazyme, Ireland) แล้วเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนที่วิเคราะห์ได้ จาก 10 สายพันธุ์ ได้แก่ HII31, TISTR5003, TISTR5024, TISTR5051, TISTR5059, TISTR5191, TISTR5197, TISTR5278, TISTR5328 และ TISTR5623 ผลการวิเคราะห์เบต้ากลูแคนแสดงดัง Table 3 และทำการทดลองสกัดเบต้ากลูแคนจากยีสต์ *S. cerevisiae* HII31 เริ่มแรกใช้เซลล์ยีสต์ 15%(w/v)

ทำให้ผนังเซลล์แตกด้วยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นำไปปั่นเหวี่ยงนำผนังเซลล์มาทำการสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0N ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงแล้วสกัดด้วยอะซิติกแอซิด (CH_3COOH) ความเข้มข้น 1.0 N ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำเบต้ากลูแคนที่สกัดได้ไปทดลองในหนูเพื่อประเมินผลของระบบภูมิคุ้มกัน

Table 3. Glucan contents of selected *Saccharomyces cerevisiae* from various strains. [33]

No.	<i>S. cerevisiae</i> strains	Yield (g/L)	Total-glucan (% , w/w)	α -glucan (% , w/w)	β -glucan (% , w/w)
1	HII31	3.53 \pm 0.26	49.21 \pm 3.96 ^a	7.52 \pm 0.93	41.69 \pm 2.83 ^{a*}
2	TISTR5003	3.30 \pm 0.28	44.52 \pm 3.73	8.21 \pm 0.96	36.31 \pm 2.57
3	TISTR5024	3.41 \pm 0.26	46.34 \pm 3.82	7.86 \pm 0.94	38.48 \pm 2.67
4	TISTR5051	3.66 \pm 0.30 ^b	47.45 \pm 3.87	8.03 \pm 0.95	39.42 \pm 2.72
5	TISTR5059	3.52 \pm 0.28	48.73 \pm 3.94 ^b	7.49 \pm 0.92	41.24 \pm 2.83 ^b
6	TISTR5191	3.23 \pm 0.25	46.42 \pm 3.82	7.84 \pm 0.94	38.58 \pm 2.68
7	TISTR5197	3.63 \pm 0.22 ^c	45.91 \pm 3.80	7.84 \pm 0.90	38.07 \pm 2.65
8	TISTR5278	3.38 \pm 0.27	47.92 \pm 3.90	7.85 \pm 0.89	40.07 \pm 2.76
9	TISTR5328	3.11 \pm 0.20	46.25 \pm 3.81	7.72 \pm 0.95	38.53 \pm 2.68
10	TISTR5623	3.72 \pm 0.31 ^a	47.93 \pm 3.91 ^c	7.33 \pm 0.92	40.60 \pm 2.78 ^c

Remark: *Significant value ($p < 0.05$); ^{a-c} Represents the order of the highest values of representative parameters.

จาก Table 3 แสดงปริมาณกลูแคนในยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ TISTR5623 ให้ผลผลิตกลูแคนสูงสุดมากถึง (3.72 \pm 0.31 g/L) แต่ปริมาณเบต้ากลูแคนสูงสุดได้จากสายพันธุ์ HII31 (49.21 \pm 3.96%) ตามด้วย TISTR5059 (48.73 \pm 3.94%) [33]

นอกจากการสกัดเพื่อให้ได้เบต้ากลูแคนยังสามารถเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้ในระหว่างกระบวนการสกัดเบต้ากลูแคน เช่น ผนังเซลล์ของยีสต์ที่ได้รับหลังจากการสลายเซลล์ (cell lysis) สามารถนำมาใช้ในเทคโนโลยีการผลิตไวน์ เนื่องจากผนังเซลล์ยีสต์จะดูดซับสารระเหยฟีนอลที่ไม่พึงประสงค์ เนื่องจากสารฟีนอล

ความเข้มข้นสูงในกระบวนการผลิตไวน์อาจก่อให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์และทำให้รสชาติไวน์เปลี่ยนไป ผนังเซลล์ยังช่วยกำจัดสารที่เป็นอันตรายหรือสารที่มีผลต่อการหมักแอลกอฮอล์ เช่น กรดไขมันกรดไขมันสายกลาง (medium chain fatty acids) เช่น กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล 12-14 อะตอม ได้แก่ กรดลอริก (lauric acid) และกรดไมริสติก (myristic acid) หรือสารที่ให้ผลต่อคุณภาพไวน์ในทางลบ เช่น ethyl phenols และ ochratoxin A ผนังเซลล์ยีสต์สามารถลดสารฟีนอลระเหย (4-ethylphenol และ 4-ethylguaiacol) จากกระบวนการหมักไวน์ที่ได้ 1

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

มิลลิกรัม/ลิตร [10] นอกจากนี้ยังมีแมนโนโปรตีน (Mannoprotein) ที่ได้หลังจากทำการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ หรือน้ำร้อน ที่ทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน [34] สารต้านมะเร็ง [35] และยังเป็นสารเพิ่มความข้นหนืดทางชีวภาพ (Bio-emulsifier) [36] อีกทั้งแมนโนโปรตีน (Mannoprotein) ยังมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการเจริญของแบคทีเรียในโวนที่ทำให้กรดมาลิกแตกตัวเป็นแล็กติกและคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้มีรสนุ่มกลมกล่อมมากขึ้น และแมนโนโปรตีนยังเป็นบำรุงเส้นประสาทได้อีกด้วย [37-38]

ดังนั้นจากงานวิจัยการสกัดเบต้ากลูแคนมีขั้นตอนการทำให้ผนังเซลล์แตกที่แตกต่างกัน แต่มีขั้นตอนการสกัดเบต้ากลูแคนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เหมือนกัน ตามการออกแบบการทดลองของแต่ละงานวิจัยจะทำให้ได้ผลผลิตเบต้ากลูแคนที่แตกต่างกัน เมื่อทำให้เซลล์แตกด้วยปริมาณยีสต์เริ่มต้น ร้อยละ 15 (w/w) (pH5 /80°C /24 ชั่วโมง) สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH 1.0N / 90°C / 2 ชั่วโมง) ผล คือ ได้ปริมาณเบต้ากลูแคน ร้อยละ 51 (w/w) ของผนังเซลล์ [16] การทำให้เซลล์แตก (50°C / 36 ชั่วโมง) สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH 1.0M / 90°C / 2 ชั่วโมง) ผลคือได้ปริมาณน้ำหนักแห้งของเบต้ากลูแคน ร้อยละ 13.64 (w/w) ของน้ำหนักแห้งยีสต์เริ่มต้น [31] สำหรับทำให้ผนังเซลล์แตกด้วยปริมาณยีสต์เริ่มต้น ร้อยละ 15 (w/w) (pH5 /50°C /48 ชั่วโมง) สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH 1.0N / 80°C / 2 ชั่วโมง) แล้วสกัดด้วยอะซิติกแอซิด (CH₃COOH 1.0N / 80°C / 2 ชั่วโมง) ผลคือได้ปริมาณเบต้ากลูแคน ร้อยละ 84.41 (w/w) ของผนังเซลล์ [33]

5. การศึกษาการทำงานของเบต้ากลูแคนในสัตว์

มีการประเมินผลของเบต้ากลูแคนที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์จำนวนมาก โดยการศึกษาส่วนใหญ่ได้นำเม็ดเลือดขาวจากสัตว์ที่ได้ทดลองด้วยเบต้ากลูแคน แล้วกระตุ้นด้วยเชื้อก่อโรค (ex vivo) พบการผลิตไซโตไคน์มากขึ้น [44-45] มี oxidative burst เพิ่มมากขึ้น [35] และ chemotaxis มีจำนวนมากขึ้นด้วย มีการบ่งชี้ว่าเบต้ากลูแคนเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองของ Th1

อย่างจำเพาะ เมื่อทำการทดลองในหนูที่ติดเชื้อแบคทีเรียและได้รับการรักษาด้วย 1,4 β-glucan [46-48] นอกจากนี้ผลของเบต้ากลูแคนในสัตว์ยังมีการตอบสนองการติดเชื้อก่อโรคในสัตว์อีกด้วย เช่น สัตว์มีอัตราการอยู่รอดมากขึ้นหลังจากให้เบต้ากลูแคนโดยการทดลองกับหนู [48] และอีกรายงานในสัตว์ทดลอง มีการผลิตไซโตไคน์หลังจากให้เบต้ากลูแคนเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังกล่าวว่เบต้ากลูแคนฉีดเข้าไปในหนูเพื่อเพิ่มการมีชีวิตอยู่รอดหลังจากที่ติดเชื้อแบคทีเรียและพยาธิ [49] งานวิจัยที่มีมาอย่างต่อเนื่องแสดงให้เห็นว่าเบต้ากลูแคนจากยีสต์ มีศักยภาพในการต้านการบุกรุกของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และมีการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในสิ่งมีชีวิต อย่างไรก็ตามเบต้ากลูแคนไม่เพียงแต่ใช้ประโยชน์แค่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อในลำไส้ของสัตว์ ซึ่งในอนาคตอาจค้นพบเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์อื่นๆ ที่นอกเหนือจากสัตว์ปีก ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่จะใช้เบต้ากลูแคนเพื่อเสริมให้กับสัตว์ผ่านอาหารที่สัตว์รับประทานทุกวัน แล้วตรวจสอบผลโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมตรวจสอบผลจากการวิจัยว่ามีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อย่างไร เพื่อพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมการเกษตรทางด้านการเลี้ยงสัตว์ต่อไป

ในทางอุตสาหกรรมการเกษตรในการเลี้ยงสัตว์ปีกยังประสบกับปัญหาเกี่ยวกับการเกิดโรคของสัตว์ปีก ซึ่งทำให้คุณค่าทางเศรษฐกิจนั้นลดลงอย่างมาก และส่งผลถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยต้นเหตุของการเกิดโรคมามากจากการติดเชื้อชนิดต่างๆ ที่ทำให้เกิดอาการของโรคแตกต่างกันออกไป ยกตัวอย่างแบคทีเรีย *Clostridium perfringens* ก่อให้เกิดโรคในลำไส้ของสัตว์ และ *Salmonella enteritidis* ก่อให้เกิดโรคในลำไส้และม้ามของสัตว์ มีวิจัยที่แสดงว่าหลังจากการนำเบต้ากลูแคนเสริมให้กับสัตว์ พบว่าสามารถสร้างภูมิคุ้มกันป้องกันการเกิดโรคในสัตว์ได้ [50] พบการลดจำนวนของเชื้อ *C. perfringens* ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคลำไส้อักเสบในสัตว์ปีก (Necrotic enteritis, NE) ในทางเดินอาหารของไก่เนื้อ ไก่วง และสัตว์ปีกชนิดอื่นๆ และยังพบอีกว่าเบต้ากลูแคนจากยีสต์ช่วยป้องกัน

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

การติดเชื้อจาก *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* และ *Eimeria* species เนื่องจากเบต้ากลูแคนช่วยปรับปรุงสุขภาพลำไส้และเพิ่มความต้านทานโรคได้อีกด้วย [51-53]

การระบาดของ NE ในฝูงสัตว์ปีกจะสามารถควบคุมโดยการใชยาปฏิชีวนะ อย่างไรก็ตามปัญหาที่ตามมาคือการดื้อยาของเชื้อก่อโรค ทำให้เกิดการใชยาเกินขนาดและอาจตกค้างในเนื้อสัตว์ปีก โดยทั่วไปยาปฏิชีวนะแบบดั้งเดิมส่วนมากจะใช้ในการป้องกันและควบคุม NE โดยมีกรจำกัดหรือห้ามใช้สำหรับการผลิตสัตว์ปีก จึงมีความจำเป็นในการพัฒนาทางเลือกในการใชยาปฏิชีวนะที่สามารถลดการสูญเสียทางเศรษฐกิจในช่วงที่โรค NE ระบาด และการเสริมภูมิคุ้มกันด้วยเบต้ากลูแคนจากยีสต์ทางอาหารเป็นกลยุทธ์หนึ่งในการแก้ไขปัญหา เนื่องจากเบต้ากลูแคนสามารถเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันสามารถลดการใชยาปฏิชีวนะ ลดสารตกค้าง และเพิ่มความต้านทานโรคทางด้านปศุสัตว์และสัตว์ปีกอีกด้วย [12, 54]

ดังนั้นวิจัยที่มีมาอย่างต่อเนื่องสามารถสรุปได้ว่าเบต้ากลูแคนเป็นสารสำคัญที่มีคุณประโยชน์ที่สามารถพบได้ในผนังเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งเบต้ากลูแคนเป็นสารประกอบประเภทน้ำตาลหลายโมเลกุลชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติหลักสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์ทำให้สัตว์มีสุขภาพดี น้ำหนักตัวมากขึ้น และมีศักยภาพในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคลำไส้อักเสบในสัตว์ และป้องกันการติดเชื้อจากเชื้อก่อโรคได้อีกด้วย จึงทำให้มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการผลิตเบต้ากลูแคนให้ได้ในปริมาณสูงด้วยต้นทุนการผลิตน้อย รวมถึงได้ผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการสกัดเบต้ากลูแคนและสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหรือนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

[1] Barsanti, L., Passarelli, V., Evangelista, V., Frassanito, AM. and Gualtieri, P. (2011). Chemistry physico-chemistry and applications

linked to biological activities of β -glucans. Natural Product Reports. 28(3): 457-466.

- [2] Manners, D.J., Masson, A.J and Patterson, J.C. (1973). The structure of a β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan from yeast cell walls. Biochemical Journal. 135(1): 19-30.
- [3] Lipke, P.N. and Ovalle, R. (1998). Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. Journal of Bacteriology. 180(15): 3735-3740.
- [4] Nguyen, T.H., Fleet, G.H. and Rogers, P.L. (1998). Composition of the cell walls of several yeast species. Applied Microbiology and Biotechnology. 50: 206-212.
- [5] Vassileios, V., Liouni, M., Calokerinos, A.C. and Nerantzisc, E.T. (2016). An evaluation study of different methods for the production of β -D-glucan from yeast biomass. Drug Testing and Analysis. 8(1): 46-55.
- [6] Kwiatkowski, S., Thielen, U., Glenney, P. and Moran, C. (2009). A study of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall glucans. Journal of the Institute of Brewing. 115: 151-158.
- [7] Osumi M. (1998). The Ultrastructure of Yeast: Cell Wall Structure and Formation. Micron. 29: 207-233.
- [8] Kath, F. and Kulicke, W.M. (1999). Mild enzymatic isolation of mannan and glucan from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Angew Makromol Chem. 268: 59-68.
- [9] Zechner-Krpan, V. (2010). Application of Different Drying Methods on β -Glucan Isolated from Spent Brewer's Yeast Using Alkaline Procedure. Agriculturae Conspectus Scientificus. 75(1): 45-50.

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

- [10] Jiménez-Moreno, N. and Ancín-Azpilicueta, C. (2009). Sorption of volatile phenols by yeast cell walls. *International Journal of Wine Research*. 1: 11–18.
- [11] Novak, M. and Vetvicka, V. (2008). β -Glucans, history and the present: Immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *Journal of Immunotoxicology*. 5(1): 47-57.
- [12] Stier, H., Ebbeskotte, V. and Gruenwald, J. (2014). Immune-modulatory effects of dietary Yeast Beta-1,3/1,6-D-glucan. *Nutrition Journal*. 13: 38.
- [13] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 a). Emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0064068.
- [14] Laroche, C. and Michaud, P.H. (2007). New developments and properties for β -(1,3)-glucans. *Recent Patents on Biotechnology*. 1(1): 59-73.
- [15] Seeley, R.D. (1977). Fractionation and utilization of baker's yeast. *MBAA Tech Quart*. 14(1): 35-39.
- [16] Thammakiti, S., Supphantharika, M., Phaesuwan, T. and Verduyn, C. (2004). Preparation of spent brewer's yeast β -glucans for potential applications in the food industry. *International Journal of Food Science and Technology*. 39(1): 21-29.
- [17] Shukla, T.P. and Halpern G.J. (2005 b) Cookies comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0084584.
- [18] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 c) Processed meats comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0084590.
- [19] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 d). Processed cheeses comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid, US 2005/0084595.
- [20] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 e). Breads comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid, US 2005/0084585.
- [21] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 f). Snack foods comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0084588.
- [22] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 g). Ice creams comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0238781.
- [23] Tudorica, C.M., Jones, E., Kuri, V. and Brennan, C.S. (2004). The effect of refined barley β -glucan on the physico-structural properties of low-fat dairy products: curd yield, microstructure, texture and rheology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84: 1159-1169.
- [24] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 h). Dressings comprising emulsified liquid shortening compositions comprising

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

- dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0084589.
- [25] Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S. and Jamnong, P. (2006). β -glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. *Food Hydrocolloid*. 20: 68-78.
- [26] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 i). Sauces comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid, US 2005/0238785.
- [27] Shukla, T.P. and Halpern, G.J. (2005 j). Dips comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0233047.
- [28] Shukla T.P. and Halpern, G.J. (2005 k). Soups comprising emulsified liquid shortening compositions comprising dietary fiber gel, water and lipid. US 2005/0084600.
- [29] Naumann, E., van Rees, A.B., Onning, G., Oste, R., Wydra, M. and Mensink, R.P. (2006). Beta-glucan incorporated into fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentration. *The American journal of clinical nutrition*. 83(3): 601–605.
- [30] นรินทร์ ต้นไพบูรณ์. 2560. อุตสาหกรรมเอทานอล. แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรม ปี2560-62. ธนาคารกรุงศรีอยุธยา
- [31] Zechner-Krpan, V., Petravić-Tominac, V., Galović, P., Galović V., Filipović-Grčić, J. and Srećec, S. (2010). Application of different drying methods on β -glucan isolated from spent brewer's yeast using alkaline procedure. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 75: 45-50.
- [32] Javmen, A., Grigiškis, S. and Gliebute, R. (2012). β -glucan extraction from *Saccharomyces cerevisiae* yeast using *Actinomyces rutgersensis* 88 yeast lysing enzymatic complex. *Biologija*. 58(2): 51-59.
- [33] Noppawat, P., Bhagavathi, S., Sasithorn, S., Sartjin, P., Periyana, K., Khontaros, C. and Chaiyavat, C. (2014). Extraction of β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* : Comparison of different extraction methods and in vivo assessment of immunomodulatory effect in mice. *Food Science and Technology*. 37(1): 124-130.
- [34] Mikami, T., Nagase, T., Matsumoto, T., Suzuki, M., Suzuki, S. and Kumanom, N. (1982). Mitogenic effect of the mannans from *Saccharomyces cerevisiae* on mouse spleen lymphocytes. *Microbiology and Immunology*. 26: 913-922.
- [35] Mucksová, J., Babíček, K. and Pospisil, M. (2001). Particulate 1,3-beta-D-glucan. carboxymethylglucan and sulfoethylglucan- influence of their oral or intraperitoneal administration on immunological response of mice. *Folia Microbiol (Praha)*. 46(6): 559–563.
- [36] Kunst, A., van Schie, B.J., Schmedding, D.J.M. and Veenema, M.J. (1997). Emulsifier from yeast. *European Patent Application*. EP790316.
- [37] Caridi, A. (2006). Enological functions of pariental yeast mannoproteins. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 89: 417-422.

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

- [38] Gonzalez-Ramos, D. and Gonzalez, R. (2006). Genetic determinants of the release of mannoproteins of enological interest by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(25): 9411-9416.
- [39] Liou, X.L., Wang, Q., Cui, S.W. and Liou, H.Z. (2008). A new isolation method of β -D glucans from spent yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Hydrocolloids*. 22(2): 239-247.
- [40] Magnani, M., Calliari, C.M., de Macedo, F.C., Mori, M.P., de Syllos Cólus, I.M. and Castro-Gomez, R.J. (2009). Optimized methodology for extraction of (1,3)(1,6)- β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* and in vitro evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of the corresponding carboxymethyl derivative. *Carbohydrate Polymers*. 78: 658-665.
- [41] Shokri, H., Asadi, F. and Khosravi, A.R. (2008). Isolation of β -glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Natural Product Research*. 22(5): 414-421.
- [42] Kim, K.S. and Yun, S. (2006). Production of soluble β -glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*. 39: 496-500.
- [43] Vassileios, V., Liouni, M., Calokerinos, A.C. and Nerantzis, E.T. (2016). An evaluation study of different methods for the production of β -D-glucan from yeast biomass. *Drug Testing and Analysis*. 8(1): 46-55.
- [44] Adachi, Y., Okazaki, M., Ohno, N. and Yadomae, T. (1994). Enhancement of cytokine production by macrophages stimulated with (1 \rightarrow 3)-beta-D-glucan, grifolan (GRN) isolated from *Grifola frondosa*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 17(12): 1554-1560.
- [45] Abel, G. and Czop, J.K. (1992). Stimulation of human monocyte beta-glucan receptors by glucan induces production of TNF-alpha and IL-1 beta. *International Journal of Immunopharmacology*. 14(8): 1363-1373.
- [46] Lin, Y.L., Lee, S.S., Hou, S.M. and Chiang, B.L. (2006). Polysaccharide purified from *Ganoderma lucidum* induces gene expression changes in human dendritic cells and promotes T helper 1 immune response in BALB/c mice. *Molecular Pharmacology*. 70(2): 637-644.
- [47] Suzuki, Y. (2001). Th1/Th2-balancing immunomodulating activity of gel-forming (1 \rightarrow 3)-beta-glucans from fungi. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 24: 811-819.
- [48] Bedirli, A., Kerem, M., Pasaoglu, H., Akyurek, N., Tezcaner, T., Elbeg, S., Memis, L. and Sakrak, O. (2007). Beta-glucan attenuates inflammatory cytokine release and prevents acutelung injury in an experimental model of sepsis. *Shock*. 27(4): 397-401.
- [49] Yun, C.H., Estrada, A., Van Kessel, A., Park, B.C. and Laarveld, B. (2003). Beta-glucan, extracted from oat, enhances disease resistance against bacterial and parasitic infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 35(1): 67-75.

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร

Department of Biotechnology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok

- [50] Tian, X., Shao, Y., Wang, Z. and Guo, Y. (2016). Effects of dietary yeast-glucans supplementation on growth performance, gut morphology, intestinal *Clostridium perfringens* population and immune response of broiler chickens challenged with necrotic enteritis. *Animal Feed Science and Technology*. 215: 144–155.
- [51] Cox, C.M., Sumners, L.H., Kim, S., McElroy, A.P., Bedford, M.R. and Dalloul, R.A. (2010). Immune responses to dietary beta-glucan in broiler chicks during *Eimeria* challenge. *Poultry Science*. 89(12): 2597-2607.
- [52] Huff, G.R., Huff, W.E., Farnell, M.B., Rath, N.C., Solis de los Santos, F. and Donoghue, A.M. (2010). Bacterial clearance heterophil function and hematological parameters of transport-stressed turkey poults supplemented with dietary yeast extract. *Poultry Science*. 89: 447-456.
- [53] Revollo, L., Ferreira, C.S. and Ferreira, A.J., (2009). Prevention of *Salmonella* Typhimurium colonization and organ invasion by combination treatment in broiler chickens. *Poultry Science*. 88: 734–743.
- [54] Volman, J.J., Ramakers, J.D. and Plat, J. (2008). Dietary modulation of immune function by beta-glucans. *Physiology Behavior*. 94(2): 276-284.

* Corresponding author e-mail: s5904071820023@email.kmutnb.ac.th