Kasetsart J. (Nat. Sci.) 32 : 441 - 451 (1998) ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) ปีที่ 32 : 441 - 451 (2541)

การปรับสภาพที่เหมาะสมด้วยวิธีทางเคมีชีวภาพและกายภาพสำหรับการย่อยสลายยีสต์ขนมปังเพื่อผลิตยีสต์สกัด

Optimization of Chemical Biochemical and Physical Treatments for Baker's Yeast Lysis for Yeast Extract Production

ประศาสตร์ ฟูตระกูล[1] สุพจน์ บุญแรง[1] วีระสิทธิ์ กัลยากฤต[1]
และ จรัญ เจตนะจิตร[2]

Prasart Foo-trakul, Supot Boonraeng, Weerasit Kanlayakrit, and Charan Chetanachitra

ABSTRACT

The effects of chemical, biochemical and physical treatments on baker's yeast lysis were studied. The standard conditions for autolysis were pH 5.2, temperature 54°C and yeast concentration 13% dry wt. The optimum chemical treatment obtained by using 5% v/v ethanol and 5% w/v NaCl. The optimum biochemical and physical treatments were the use of 0.1%w/w of papain and 8,000 psi of homogenization respectively. The combination treatment of 5% ethanol and 5% NaCl exhibited highest protein content (61.90%).The physical treated sample obtained 42.45% of total carbohydrate yield and biochemical treated sample obtained 46.53% of autolysate. The chemical analysis of the samples showed the best result in the biochemical treated sample as (g/100g dry wt): 57.50 of total protein, 8.22 of amino-nitrogen, 24.27 of carbohydrate, 7.86 of nucleic acid and 10.72 of ash contents. This treatment showed the feasibility of producing yeast extract, yeast autolysate at pilot plant or industrial scale.

Key words : baker's yeast, lysis, yeast extract, yeast autolysate

1 ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
Department of Biotechnology, Faculty of Agro- Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

2 ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
Department of Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

บทคัดย่อ

จากการศึกษาอิทธิพลของการปรับสภาพทางด้านเคมี ชีวภาพและกายภาพต่อการย่อยสลายของยีสต์ขนมปัง ได้ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ขนมปังคือ pH 5.2 อุณหภูมิ 54°ซ และความเข้มข้นของยีสต์ร้อยละ 13 โดยน้ำหนักแห้ง กำหนดให้สภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะมาตรฐาน จากการทดลองพบว่าวิธีทางเคมีที่เหมาะสมใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ส่วนวิธีทางชีวภาพจะใช้เอนไซม์ปาเปนในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักของยีสต์สด (ความชื้นร้อยละ 70) และวิธีทางกายภาพโดยใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว มีความเหมาะสมมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบผลการปฏิบัติทั้งสามวิธี พบว่าการใช้เอทานอลและเกลือร่วมกันที่ระดับความเข้มข้นเหมาะสมคือร้อยละ 5 โดยปริมาตรและน้ำหนักตามลำดับ จะได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 61.90 โดยน้ำหนักยีสต์แห้ง วิธีทางกายภาพจะได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดโดยเฉลี่ยร้อยละ 42.45 และวิธีทางชีวภาพได้ปริมาณออโตไลเสตสูงสุดโดยเฉลี่ยร้อยละ 46.53 และผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สกัดซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยวิธีทั้งสามพบว่าตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์ปาเปนให้ผลดีที่สุดคือได้ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (กรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง) 57.50 อะมิโนไนโตรเจน 8.22 คาร์โบไฮเดรต 24.27 กรดนิวคลีอิก 7.86 และเถ้า 10.72 จึงเห็นว่าวิธีนี้น่าจะเหมาะสมที่จะใช้ในกระบวนการผลิตยีสต์สกัด ยีสต์ออโตไลเสต และศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตระดับกึ่งอุตสาหกรรมและอุตสาหกรรม

คำนำ

ยีสต์ขนมปัง (baker's yeast) มีองค์ประกอบภายในเซลล์ที่อุดมไปด้วยแหล่งของสารอาหารสำคัญ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามินบีรวม เกลือแร่ ไขมัน เส้นใย ซึ่งโปรตีนจากยีสต์มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายอย่างครบถ้วนโดยเฉพาะไลซีนมีอยู่ในปริมาณสูง(Reed and Nagodawithana,1991) ยีสต์สกัดเป็นผลิตภัณฑ์จากยีสต์ประกอบด้วยโปรตีนเป็นหลักและองค์ประกอบอื่นๆที่แยกได้จากเซลล์ยีสต์ด้วยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) (Hough and Maddox,1971) หรือได้จากการใช้สารเคมีและเอนไซม์ ยีสต์สกัดที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายตัวเองเรียกว่า"ยีสต์ออโตไลเสต" (yeast autolysate) และถ้ากระบวนการผลิตมีการแยกเอาผนังเซลล์ส่วนที่ไม่ละลายออกด้วยวิธีการกรองเรียกว่า "autolysed yeast extract" (Dziezak,1987) วิธีการโดยทั่วไปที่ใช้ในการสกัดยีสต์ได้แก่ วิธีทางเคมี โดยอาศัยกระบวนการพลาสโมไลซีส ด้วยการใช้โซเดียมคลอไรด์ หรือตัวทำละลายอินทรีย์ (non-polar organic solvents) เช่น โทลูอีน คลอโรฟอร์ม เอทิลแอซีเทต ไอโซโพรพานอล (Kelly,1983) วิธีทางชีวภาพคือ การใช้เอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน (proteolytic enzymes) และวิธีทางกายภาพคือการใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ (Watson *et al.*,1987)

Sugimoto(1974) ได้ใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 2 - 5 และเอทานอลร้อยละ 5-9 เป็นตัวเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ขนมปังเพื่อผลิตยีสต์สกัดมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ ซึ่ง Johnson and Johnson (1976) พบว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีกลิ่นรสใกล้เคียงกับเนื้อสกัดมาก และจากการศึกษาเพิ่มเติมของ Johnson (1977) การผลิตยีสต์สกัดด้วยการใช้โซเดียมคลอไรด์และเอทานอลนี้ได้ปริมาณผลผลิตที่สกัดได้บริสุทธิ์ร้อยละ 60.01 และ

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 85.42

Chao *et al.*(1980) ได้ใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.01-0.3 โดยน้ำหนักยีสต์แห้ง พบว่าเอนไซม์สามารถย่อยสลายยีสต์ได้ยีสต์สกัดที่มีความสามารถในการละลายได้สูงกว่าสองเท่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ดังกล่าว นอกจากนี้ Verduyn *et al.*(1997) พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.25-1.0 โดยน้ำหนัก มีความเหมาะสมที่สุดต่อการผลิตยีสต์สกัดโดยได้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 57-59

Brookman (1974) ได้สกัดยีสต์ขนมปังโดยใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 25,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ได้โปรตีน 120-125 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมน้ำหนักยีสต์แห้ง ต่อมา Cunningham *et al* (1975) ใช้โฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 10,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้วสามารถสกัดโปรตีนจากยีสต์ได้สูงกว่าสามเท่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านโฮโมจีไนซ์ และในทำนองเดียวกัน Newell *et al.* (1975) ได้สกัดยีสต์สายพันธุ์ *Candida utilis* โดยใช้โฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ได้โปรตีน กรดนิวคลีอิก คาร์โบไฮเดรต และเถ้า ในปริมาณร้อยละ 72.0, 10.2, 9.6 และ 4.7 โดยน้ำหนักตามลำดับ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของการปรับสภาพด้านเคมี ชีวภาพ และกายภาพต่อการย่อยสลายยีสต์ขนมปัง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาผลการใช้วิธีทางเคมี

เตรียมเซลล์ยีสต์ขนมปังสดจากบริษัท ไทยเมจิ (ประเทศไทย) จำกัด ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 13 โดยน้ำหนักแห้ง ปรับ pH เท่ากับ 5.2 ด้วยกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วแบ่งใส่ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0-5 โดยน้ำหนัก และอีกส่วนหนึ่งเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0-5 โดยปริมาตร นำไปบ่มในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิ 54°ซ ที่เขย่าอย่างต่อเนื่องซึ่งที่สภาวะดังกล่าวเหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ขนมปัง (Foo-trakul and Boonraeng, 1997) แล้วเก็บตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีลาว์รี (Lowry's method) และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Herbert *et al.*, 1971) และปริมาณออโตไลเสต (วิธีดัดแปลงจาก Hill, 1981)

2. การศึกษาผลการใช้วิธีทางชีวภาพ

เตรียมตัวอย่างยีสต์เช่นเดียวกับ ข้อ 1 แล้วเติมเอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.0-0.25 โดยน้ำหนักยีสต์สด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 54°ซ เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อ 1

3. การศึกษาผลการใช้วิธีทางกายภาพ

เตรียมตัวอย่างยีสต์สด (ครีมยีสต์) เข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมต่อการใช้โฮโมจีไนซ์ (สุพจน์, 2539) ปรับ pH 5.2 แล้วนำไปผ่านเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 2,000 ถึง 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 54°ซ เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อ 1

4. ศึกษาเปรียบเทียบการใช้วิธีทางเคมี ชีวภาพ และกายภาพต่อการย่อยสลายยีสต์ขนมปัง

ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1-3 โดยเลือกระดับความเข้มข้นของเอทานอล NaCl เอนไซม์ปาเปน และความดันที่เหมาะสม เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกันข้อ 1 ส่วนการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สกัด ดำเนินการโดยภายหลังจากบ่มตัวอย่างไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว นำตัวอย่างไปเหวี่ยงแยกเศษเซลล์ (cell debris) ออก

เอาส่วนใสที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศที่อุณหภูมิ 50°ซ จนได้ของแข็งประมาณร้อยละ 70 แล้ววิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

5. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์ได้แก่ปริมาณโปรตีนทั้งหมด อะมิโนไนโตรเจน และเถ้า (AOAC,1985) คาร์โบไฮเดรต กรดนิวคลีอิก (Herbert *et al.*,1971)

ผลและวิจารณ์

1. ผลของการใช้วิธีทางเคมี

1.1 ผลของการใช้เอทานอล

การศึกษาอิทธิพลของเอทานอลต่อการย่อยสลายยีสต์ขนมปังอาศัยข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองของ Sugimoto (1974) พบว่าเอทานอลสามารถช่วยเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ได้ (Figure 1) และเมื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ย พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากตัวอย่างที่ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2-5 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Breddam and Beenfeldt (1991) ก็ได้ผลในทำนองเดียวกัน โดยใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 และ 10 เพื่อเร่งการย่อยสลายยีสต์ขนมปังพบว่าสัดส่วนปริมาณโปรตีนที่ถูกปลดปล่อย (fraction of release, FR) มีค่าเท่ากับ 0.20 และ 0.19 ตามลำดับ (ค่า FR เท่ากับ 1.0 คือปริมาณโปรตีนถูกปลดปล่อยออกมาจากยีสต์ทั้งหมด)

ผลการทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยปริมาณคาร์โบไฮเดรตพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่มีค่าสูงคือ ใช้เอทานอลร้อยละ 2, 4 และ 5 อย่างไรก็ตามอาจสรุปได้ว่าการใช้เอทานอลไม่มีผลต่อการปลดปล่อยคาร์โบไฮเดรตในระหว่างที่กระบวนการย่อยสลายยีสต์เกิดขึ้น จากผลการทดลองของ Yoshikawa *et al.* (1994) ได้สกัดทรีฮาโลส (trehalose) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดไดแซ็กคาไรด์ที่ไม่ไวต่อปฏิกิริยารีดิวส์ พบว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0-50 โดยน้ำหนัก ได้ส่วนสกัดทรีฮาโลสไม่แตกต่างกัน

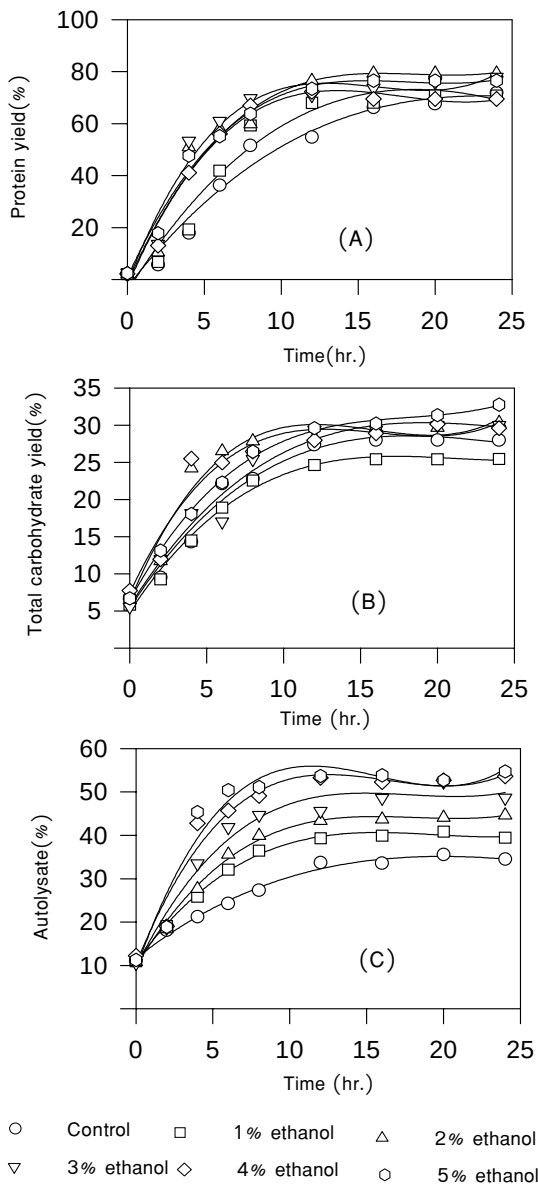

Figure 1 Effect of ethanol on yeast autolysis.

ส่วนปริมาณออโตไลเสตจะเห็นได้ว่ามีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ร้อยละ 0-5 คือ ได้ปริมาณออโตไลเสตโดยเฉลี่ยจากชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 24 ร้อยละ 26.56, 31.56, 34.26, 38.29, 42.30 และ 47.57 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Johnson (1973) พบว่าการใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0-5 โดยปริมาตรได้ส่วนสกัดบริสุทธิ์จากยีสต์ขนมปังเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่ใช้คือ ร้อยละ 25.9, 30.6, 35.7, 44.4, 59.1 และ 69.2 ตามลำดับ ดังนั้นจากการใช้เอทานอลพบว่าระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือร้อยละ 5 เนื่องจากได้ปริมาณออโตไลเสตสูงสุด แม้ว่าการใช้เอทานอลที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นจะได้ปริมาณออโตไลเสตเพิ่มสูงขึ้นก็ตามแต่การใช้ที่ความเข้มข้นสูงๆทำให้ได้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ไม่ดีเท่าที่ควร (Johnson and Robbins, 1973)

1.2 ผลของการใช้โซเดียมคลอไรด์

การใช้ NaCl เป็นสารพลาสโมไลซ์เพื่อเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ขนมปังได้ดำเนินการทดลองที่สภาวะเช่นเดียวกับการใช้เอทานอล ได้ผลดังแสดงใน Figure 2 และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และออโตไลเสต พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากตัวอย่างที่ใช้ NaCl ร้อยละ 4 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากตัวอย่างที่ใช้ NaCl ร้อยละ 1-5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่ค่าเฉลี่ยปริมาณออโตไลเสตพบว่าตัวอย่างที่ใช้ ของ NaCl แต่ละความเข้มข้นมีความแตกต่างกัน ($P<0.05$) ทั้งนี้เพราะปริมาณ NaCl ที่ใช้ซึ่งมีความเข้มข้นต่างกันละลายปนอยู่ในส่วนใส (clear extract) ทำให้ปริมาณออโตไลเสตแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือร้อยละ 4-5 โดยน้ำหนัก แต่ในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไปเพราะมีผลช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการย่อยสลายยีสต์เกิดขึ้น

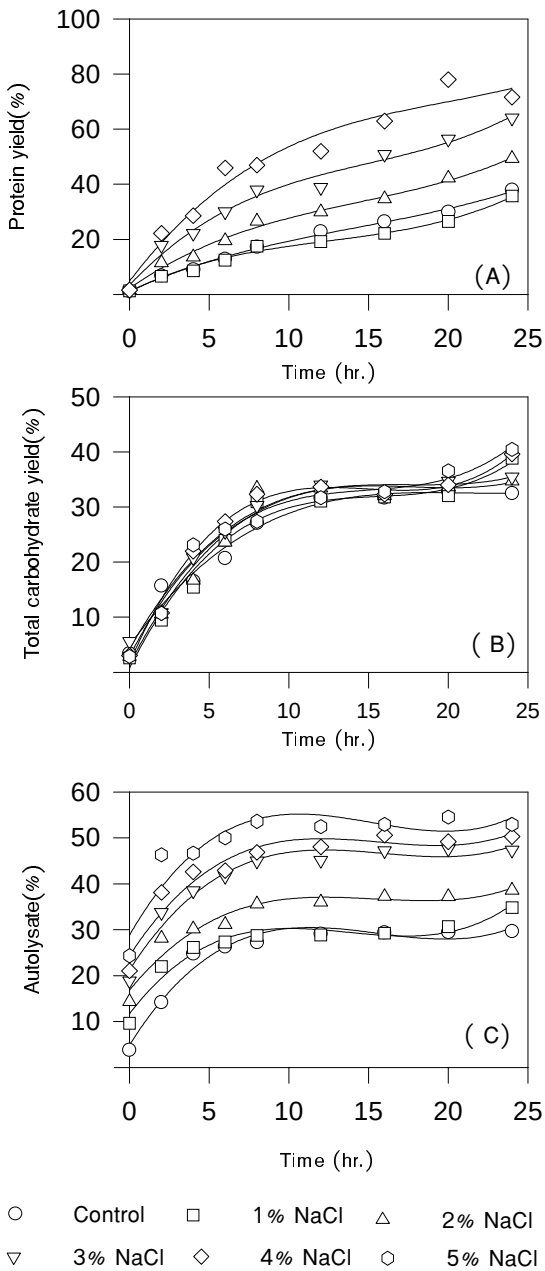

Figure 2 Effect of NaCl on yeast autolysis.

(Kelly,1983) และจากการศึกษาของ Nurmi *et al.* (1980) พบว่าการใช้ NaCl เข้มข้นร้อยละ 5 มีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายยีสต์ขนมปังที่อุณหภูมิ 50°ซ pH 5.0 มากที่สุด

2. ผลของการใช้วิธีทางชีวภาพ

วิธีทางชีวภาพที่ได้ศึกษาคือการใช้เอนไซม์ปาเปนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.05-0.25 ของน้ำหนักยีสต์สด ได้ผลการทดลองดังแสดงใน Figure 3 จากการทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และออโตไลเสต พบว่าตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์เข้มข้นร้อยละ 0.1-0.25 ได้ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับผลการทดลองของจตุพร (2530) พบว่าการใช้เอนไซม์ปาเปน ร้อยละ 0.1 กับร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนักได้ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน

ค่าเฉลี่ยปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์ร้อยละ 0.05 กับ 0.10 มีค่าเฉลี่ยสูงแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ปริมาณออโตไลเสตจากตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์ร้อยละ 0.10-0.25 ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) ดังนั้นเมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วการใช้เอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.10 ของน้ำหนักยีสต์สดมีความเหมาะสมมากที่สุด เพราะได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดทั้งยังได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ออโตไลเสตไม่แตกต่างจากตัวอย่างในกลุ่มที่มีค่าเฉลี่ยสูง

3. ผลของการใช้วิธีทางกายภาพ

การศึกษาวิธีทางกายภาพโดยใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ ที่ความดัน 2,000-8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi) จำนวน 2 ครั้งได้ผลดังแสดงใน Figure 4 การใช้ความดันสูงทำให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นและผลการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยพบว่าปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และออโตไลเสตของตัวอย่างที่ผ่านการโฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว มีค่าสูงสุดแตกต่างจากตัวอย่างอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ

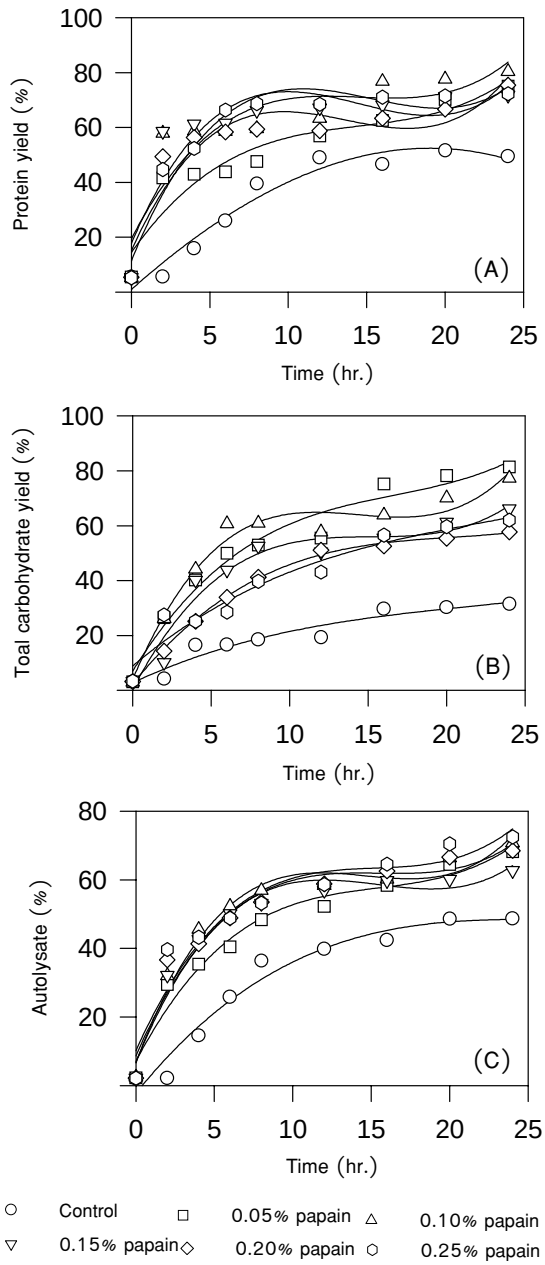

Figure 3 Effect of papain on yeast autolysis.

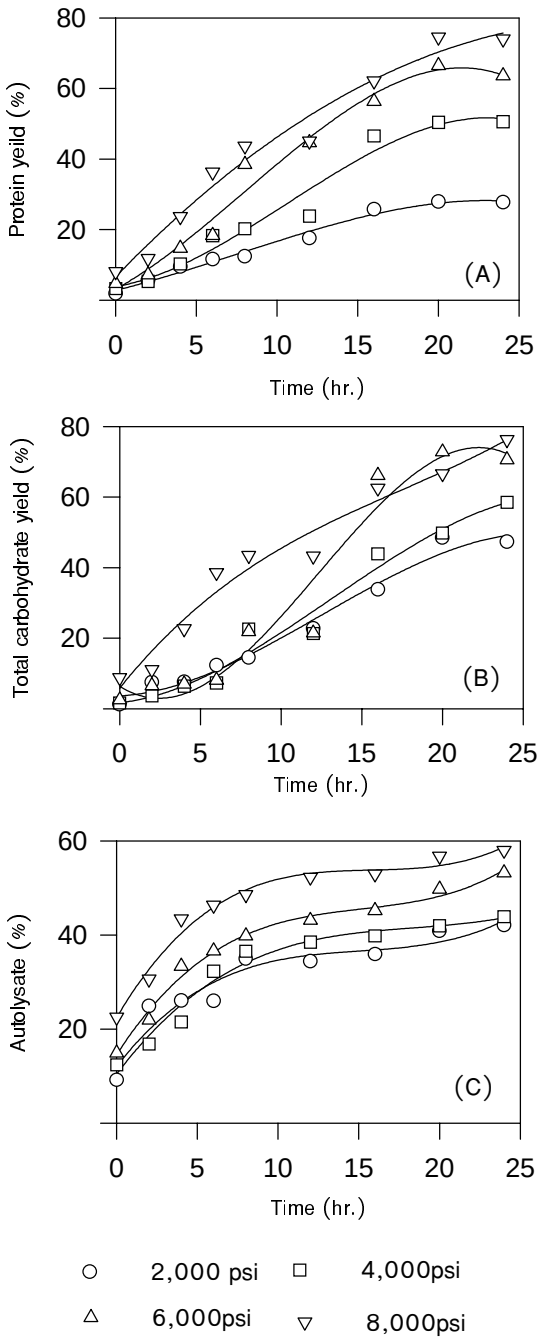

Figure 4 Effect of homogenization on yeast autolysis.

(P<0.05) ดังนั้นการใช้โฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้วมีความเหมาะสมต่อการปรับสภาพให้เซลล์ยีสต์แตกแล้วเกิดกระบวนการย่อยสลายได้ดีที่สุด แต่ถ้าเพิ่มความดันสูงถึง 10,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เกิดแรงเฉือนสูงทำให้โปรตีนบางเกิดการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติ เป็นตะกอนขาวขุ่นอย่างชัดเจน

4. ผลการศึกษาเปรียบเทียบการใช้วิธีทางเคมี ชีวภาพและกายภาพต่อการย่อยสลายยีสต์ขนมปัง

4.1 การเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยปริมาณผลผลิตได้

จากผลการทดลองข้อที่ 1-3 เมื่อได้ระดับความเข้มข้นของเอทานอล NaCl เอนไซม์ปาเปน และความดันของเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่เหมาะสมแล้วจึงดำเนินการทดลองเปรียบเทียบผลวิธีดังกล่าวทั้งหมดพร้อมกันโดยเตรียมตัวอย่างยีสต์สดร้อยละ 40 (หรือร้อยละ 12.58 โดยน้ำหนักแห้ง) สำหรับวิธีโฮโมจีไนซ์ใช้ตัวอย่างยีสต์สดเข้มข้นร้อยละ 30 ปรับ pH 5.2 นำไปผ่านเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้วจำนวน 2 ครั้ง ผลการทดลองดังแสดงใน Figure 5 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย ดังแสดงใน Table 1 พบว่าปริมาณโปรตีนของตัวอย่างที่ใช้เอทานอลร่วมกับ NaCl มีค่าเฉลี่ยสูงสุดแต่เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ใช้ NaCl แล้วไม่แตกต่างกัน ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตพบว่าตัวอย่างยีสต์ที่ผ่านการโฮโมจีไนซ์มีค่าเฉลี่ยสูงสุด แสดงให้เห็นว่าวิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถทำให้เซลล์ของยีสต์แตกได้ดี ทั้งนี้เนื่องมาจากแรงเฉือนที่เกิดขึ้นระหว่างการอัดตัวอย่างยีสต์ผ่านช่องแคบๆในโฮโมจีไนซ์และปริมาณออโตไลเสตจากตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์ปาเปนมีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือตัวอย่างที่ใช้ NaCl เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของสองตัวอย่างที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว พบว่าไม่แตกต่างกัน

Table 1 Mean of recovery yields from samples with treated by different methods[1/].

Treatments	Means of yields		
	Protein[2/] (%)	Carbohydrate (%)	Autolysate (%)
Control	20.38^{e}	28.40^{c}	24.99^{d}
5% ethanol	51.64^{bc}	32.63^{bc}	39.35^{c}
5% NaCl	57.52^{ab}	35.22^{abc}	44.26^{ab}
5% eth+5%NaCl	61.90^{a}	30.87^{c}	40.67^{bc}
0.10% papain	48.76^{c}	39.67^{ab}	46.53^{a}
Homo.8,000 psi	36.60^{d}	42.45^{a}	41.10^{bc}

1/ Mean in the column of recovery yields followed by the same super script letters are not significantly different at P=0.05 according to DMRT

4.2 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สกัด

การผลิตยีสต์สกัด ภายหลังจากปล่อยให้เกิดการย่อยสลายยีสต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำมาเหวี่ยงแยกเซลล์ออกนำส่วนใสไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum evaporator) จนได้ตัวอย่างเข้มข้นมีของแข็งประมาณร้อยละ 70 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีแสดงใน Table 2.

Table 2 Chemical compositions of yeast extract under difference processing conditions.

Treatments	Chemical compositions (g/100 g dry wt of sample)					
	Total protein	Lowry protein	Amino-nitrogen	Carbohydrate	Nucleic acid	Ash
Control	50.93	41.25	3.52	27.60	5.01	9.44
5% ethanol	50.80	46.47	4.46	25.78	5.71	9.78
5% NaCl	43.06	38.41	2.84	19.36	8.37	28.89
5%eth+5%NaCl	45.71	39.94	3.22	25.49	6.68	20.72
0.10%papain	57.50	50.57	8.22	24.27	7.86	10.72
Homo 8,000psi	37.90	26.73	2.17	24.43	12.03	16.69

จาก Table 2 พบว่าปริมาณโปรตีนทั้งหมด โปรตีนและอะมิโนไนโตรเจนในยีสต์สกัดจากตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์ปาเปนมีค่าสูงสุด เพราะเอนไซม์ปาเปนสามารถย่อยโปรตีนจากยีสต์ได้ดีโดยเฉพาะในสภาวะที่ทดลอง ซึ่ง Chao *et al.* (1980) พบว่าเอนไซม์ปาเปนนี้ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 40-60°ซ pH 5.0-6.5 และระยะเวลาความคงตัว 2-24 ชั่วโมง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตพบในตัวอย่างที่เอทานอลสูงที่สุด ยีสต์สกัดจากตัวอย่างที่ผ่านการโฮโมจีไนซ์มีปริมาณกรดนิวคลีอิคสูงสุด เนื่องจากการทำให้เซลล์ยีสต์แตก

ด้วยวิธีนี้จะเป็นการทำลายเซลล์ค่อนข้างสมบูรณ์ จึงทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ถูกปล่อยออกมาออกมาภายนอกเซลล์ได้ดี (Asenjo and Andrew,1990)

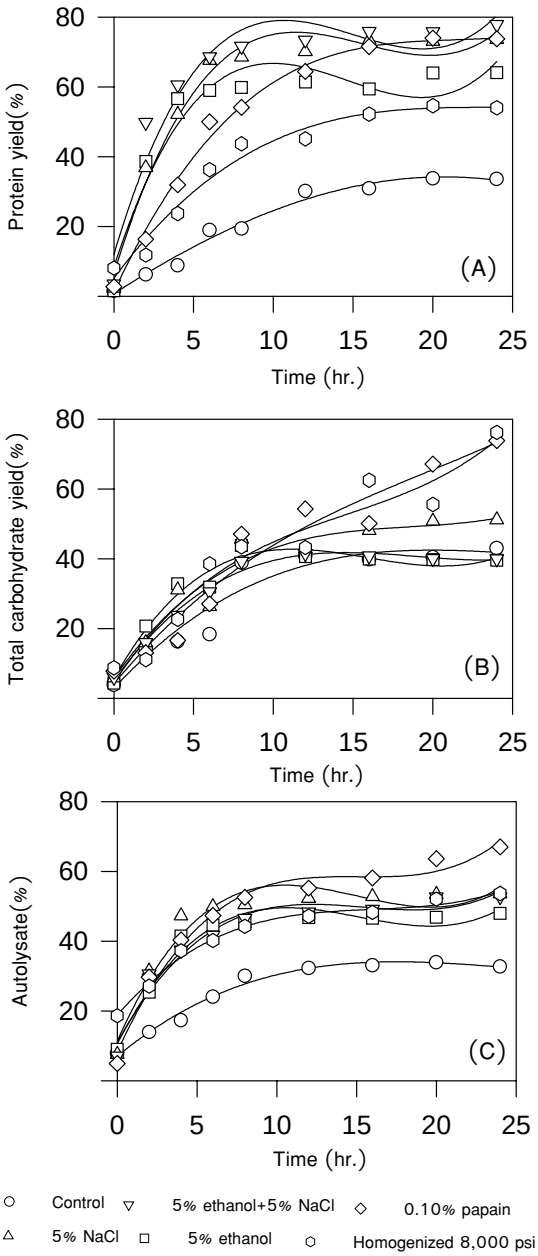

Figure 5 Comparison the effect of different treated methods on yeast autolysis.

และปริมาณเถ้าที่พบในตัวอย่างที่ใช้ NaCl สูงสุด เพราะการวิเคราะห์หาในการทดลองครั้งนี้คิดรวมกับ NaCl ด้วย

สรุป

จากการศึกษาผลของการปรับสภาพด้วยวิธีต่างๆที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายยีสต์คือวิธีทางเคมี พบว่าการใช้เอทานอลร้อยละ 5 โดยปริมาตร ร่วมกับ NaCl ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่างมีความเหมาะสม และวิธีทางชีวภาพที่เหมาะสมคือการใช้เอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.10 โดยน้ำหนักยีสต์สด ส่วนวิธีทางกายภาพที่เหมาะสมคือการใช้โฮโมจีไนซ์ที่ความดัน 8,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และผ่านการอัดความดันจำนวน 2 ครั้ง เมื่อเปรียบเทียบการใช้ทั้ง 3 วิธี พบว่าการใช้เอทานอลร่วมกับเกลือได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดโดยเฉลี่ยร้อยละ 61.90 วิธีทางกายภาพได้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 42.45 และการใช้เอนไซม์ปาเปนได้ปริมาณออโตไลเสตสูงสุดโดยเฉลี่ยร้อยละ 46.53 และจากผลการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สกัดที่ผลิตโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจากการปรับสภาพในแต่ละวิธีที่กล่าวมา พบว่าตัวอย่างยีสต์สกัดที่ใช้เอนไซม์ปาเปนได้ปริมาณโปรตีนทั้งหมด โปรตีน และ อะมิโนไนโตรเจนสูงสุดคือ ร้อยละ 57.50, 50.57 และ 8.22 โดยน้ำหนักยีสต์สกัดแห้งตามลำดับ ดังนั้นจึงเห็นว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมและน่ามีความเป็นไปได้ในการผลิตยีสต์สกัดระดับอุตสาหกรรม

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่สนับสนุนทุนอุดหนุนวิจัยประจำปี 2540

เอกสารอ้างอิง

สุพจน์ บุญแรง. 2539. อิทธิพลของการปรับสภาพทางด้านเคมี-กายภาพและทางกลต่อการย่อยสลายตัวของยีสต์ขนมปัง. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

AOAC. 1985. Official Methods of Analysis 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. 1141 p.

Asenjo, J.A. and B.A. Andrew. 1990. Enzymatic cell lysis for product release,pp.143 -175. *In* J.A. Asenjo(ed.). Separation Process in Biotechnology. Marcell Dekker Inc., New York.

Breddam, M. and T. Beenfeldt. 1991. Acceleration of yeast autolysis by chemical methods for production of intracellular enzymes. Appl. Micro. Biotech. 35 : 323-329.

Brookman, J.S. 1974. Mechanical of cell disintegration in a high pressure homogenizer. Biotech. and Bioeng. 16 : 371-383.

Chao, K.C., E.F. McCarthy, and G.A. McConaghy. 1980. Yeast autolysis process. U.S. Patent. 4,218,481.

Cunningham, S.D.,C.M. Cater, and K.F. Mattill. 1975. Rupture and protein extraction of petroleum-grown yeast. J. Food Sci. 40 : 732-735.

Dziezak, J.D. 1987. Yeast and yeast derivatives: application. Food Tech. 41 : 121-125.

Foo-trakul, P. and S. Boonraeng. 1997. Optimizing condition for autolysed yeast extract production from baker's yeast, pp. 553-560. *In* The 35th Kasetsart University Annaul Conference, 3-5 February.

Herbert, D.,P.J. Phipps, and R.E. Strange. 1971. Chemical analysis of microbial cells, pp. 265-302. *In* Methods in Microbiology. vol. 5. Academic Press, London.

Hill, F.F. 1981. Process for the production of yeast autolysate. U.S. Patent 4,264,62.

Hough, J.S. and I.S. Maddox. 1971. Yeast autolysis. Process Biochem. 5 : 50-52.

Jonhson, J.C.1977. Yeast for food and other purposes. Noyes Data Coporation., New Jersey. 346 p.

Johnson, G.W. and J.W. Robbins. 1973. A process for producing yeast extract. U.K. Patent 1,445,855.

Kelly, M. 1983. Yeast extract, pp. 457-465. *In* T. Godfry and J. Reichelt(eds.). The Application of Enzyme inIndustry. Academic Press, London.

Newell, J.A., R.D. Suley, and I.A. Robbins. 1975. Mild alkaline extraction of homogenization cell. U.S. Patent 3,888,839.

Nurmi,T., K. Edelmann, and M. Jarvelalainen. 1980. Design of a yeast extract plant, pp. 646-652. *In* Food Process Engineering. vol.1. Applied Science Pubishers. Ltd.,London.

Reed G. and T.W. Nagodawithana. 1991. Yeast Technology. AVI. Publishing, New York. 456 p.

Sugimoto, H. 1974. Synergistic effect of ethanol and sodiun chloride on autolysis of baker's yeast for preparing food-grade yeast extract. J. Food Sci. 39 : 939-942.

Verduyn, C., A. Niemthanon, and M. Suphantharika. 1997. Effect of solids,papain and salt on yield and protein content of autolyzed yeast extract. ASEAN J. Sci. Technol. Develop. 14: 29- 40.

Watson, J.S., R.H. Cumming, G. Street, and I.M. Tuffvell. 1987. Release of protein by themolysis,

pp. 105-109. *In* M.S. Verrajj and M.J. Hudson (eds.). Separation for Biotechnology. Ellis Horwood Limited, West Sussex.

Yoshikawa, Y., K. Matsumoto, K. Nagato, and T. Sato. 1994. Extraction of trehalose from themally treated baker's yeast. Biosci.Biotech.Biochem. 58:1226-1230.

วันรับเรื่อง : 19 มี.ค. 41
วันรับตีพิมพ์ : 13 ก.ค. 41