บทที่ 1
บทนำ

ยีสต์สกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเพื่อใช้ในกระบวนการแต่งกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ ในปัจจุบันมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เพราะเป็นแหล่งของสารอาหารประเภทกรดอะมิโน และ วิตามินในปริมาณมาก โดยการผลิตยีสต์สกัดนี้ได้จากการนำเอาสารต่างๆที่อยู่ในเซลล์ยีสต์ออกมา ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิค รวมถึงสารอื่นๆที่ละลายปะปนอยู่ภายในเซลล์ยีสต์ (Chae, Joo and In, 2001)

โดยปกติการผลิตยีสต์สกัดส่วนใหญ่จะผลิตจากวัตถุดิบที่เป็นเบเกอร์ยีสต์ แต่ก็ได้มีการพัฒนานำเอาบริวเวอร์ยีสต์มาใช้ในการเป็นวัตถุดิบ ซึ่งจากการสำรวจแนวโน้มการบริโภคเบียร์ทั้งในประเทศไทย และ ต่างประเทศนั้น พบว่าปัจจุบันเบียร์นับว่าเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอย่างมาก และยังพบว่ามีแนวโน้มความต้องการในการบริโภคเพิ่มขึ้นทุกๆปี ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มกำลังการผลิตเบียร์ให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค เป็นผลทำให้ปริมาณของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์จากโรงงานเบียร์มีแนวโน้มสูงขึ้นตามกำลังการผลิต (จันทนี และ ชัชวาลย์, 2529, Cortacero-Ramírez et al., 2003) สเปนท์บริวเวอร์ยีสต์นี้ คือ ยีสต์ที่มีการผ่านกระบวนการหมักมาหลายครั้งซึ่งจัดเป็นกากของเสียที่ได้จากกระบวนการหมักเบียร์ ได้มีการนำสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์นี้ไปใช้ประโยชน์ด้วยการนำไปเป็นอาหารสัตว์ซึ่งให้ผลตอบแทนที่ไม่คุ้มทุน หรือนำเอาไปใช้ในการถมที่ดินเพื่อใช้เป็นปุ๋ยซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์จนพบว่าภายในเซลล์ของยีสต์ยังมีองค์ประกอบประเภทสารอาหารที่เป็นประโยชน์อีกมาก ได้แก่ โปรตีน วิตามินบีรวม เกลือแร่ ไขมัน และ เส้นใย โดยเฉพาะโปรตีนซึ่งมีมากถึง 45 – 60 เปอร์เซ็นต์ (Chae, Joo and In, 2001)

ในงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการนำสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์กลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์ส่วนใหญ่ ได้กล่าวถึงการนำเอาโปรตีนที่อยู่ภายในเซลล์ของยีสต์กลับมาใช้ ซึ่งพบว่าโปรตีนที่ได้นี้เมื่อนำไปผ่านกระบวนทำให้มีขนาดเล็กลงจนเป็นกรดอะมิโนจะทำให้เกิดคุณประโยชน์ที่มากขึ้น จึงได้มีงานวิจัยมากมายที่พยายามศึกษาวิธีที่จะสกัดโปรตีน และ กรดอะมิโนที่อยู่ภายในเซลล์ออกมา ขั้นตอนหลักๆของการสกัดนั้น คือ การทำให้ผนังเซลล์แตกออก ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน วิธีทางเคมี วิธีทางกายภาพ วิธีทางชีวภาพ โดยในวิธีทางชีวภาพนั้นได้มีงานวิจัยที่ศึกษารูปแบบกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) เป็นจำนวนมาก เนื่องจากผลผลิตที่ได้จากกระบวนการนี้ คือ ยีสต์สกัด (yeast extract) ซึ่งเป็นโปรตีนภายในเซลล์ที่ถูกกระบวนการย่อยสลายตัวเองด้วยเอนไซม์จนได้เป็นกรดอะมิโนที่มีกลิ่นหอมคล้ายเนื้อสัตว์ ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก

กระบวนการย่อยสลายตัวเองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากการใช้เบเกอร์ยีสต์ (baker yeast) เป็นวัตถุดิบในการผลิตเนื่องจากเบเกอร์ยีสต์ไม่มีปัญหาเรื่องของความขมจึงได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมากมาย มีงานวิจัยจำนวนมากที่มุ่งศึกษาการนำสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์กลับมาใช้ในการผลิตยีสต์สกัด (Hough and Maddox, 1970, Knorr et al., 1979) แต่ปัญหาหลักๆ ในการแยกกรดอะมิโนที่อยู่ภายในเซลล์ของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์เพื่อนำกลับมาให้เกิดประโยชน์ คือ ปัญหาเรื่องของความขม

จากการศึกษามีงานวิจัยที่ได้เปรียบเทียบปริมาณความขมที่ได้จากสเปนท์บริเวอร์ยีสต์ที่ผ่านกระบวนการที่แตกต่างกัน พบว่าสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ที่ผ่านกระบวนการล้างความขมด้วยด่างก่อนการไปผ่านกระบวนการโฮโมจิไนเซอร์มีปริมาณความขมน้อยกว่าแบบที่ไม่ผ่านการล้างด้วยด่างก่อนการไปผ่านกระบวนการโฮโมจิไนเซอร์ กระบวนการโฮโมจิไนเซอร์เป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการฉีกขาดของผนังเซลล์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ภายในเซลล์ของยีสต์ จากผลการเปรียบเทียบความขมของทั้งสองกรณีแสดงให้เห็นว่าความขมน่าจะสะสมอยู่ที่บริเวณของผนังเซลล์ (cell wall) ของยีสต์ เนื่องจากความขมที่ได้จากยีสต์ที่ผ่านการล้างความขมด้วยด่างมีค่าน้อยกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความขมไม่ได้ปะปนอยู่ในไซโตพลาสซึมของยีสต์ในตอนแรก และการที่ความขมในแบบที่ไม่ผ่านการล้างด้วยด่างก่อนนั้นมีค่ามากกว่า แสดงให้เห็นว่าความขมที่วัดได้น่าจะเป็นความขมที่สะสมอยู่บริเวณผนังเซลล์ซึ่งหลุดไปปะปนอยู่ในส่วนของผลิตภัณฑ์เนื่องจากการกระบวนการโฮโมจิไนเซอร์ (ปราณี, 2543, Shotipruk et al., 2005)

ความขมที่พบที่เซลล์ยีสต์นั้นเกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตเบียร์ เนื่องจากสารแอลฟาแอซิด (alpha acid) ที่มีอยู่ในดอกฮอพ (hop) ที่ใช้เติมลงในน้ำเวิร์ต (wort) เกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) ไปเป็นไอโซ-แอลฟาแอซิด (iso-alpha acid) ซึ่งมีรสขม โดยความขมส่วนหนึ่งจะละลายอยู่ในน้ำเบียร์ และ ส่วนที่เหลือจะถูกดูดซึม (adsorp)อยู่ที่ผนังเซลล์ของยีสต์ ซึ่งความขมนี้เป็นปัญหาที่ตามมาของการสกัดกรดอะมิโน จึงมีงานวิจัยที่ศึกษาวิธีกำจัดความขมที่ปะปนในเซลล์ยีสต์ ซึ่งพบว่าความขมสามารถถูกกำจัดออกจากผนังเซลล์ของยีสต์ได้อย่างดีด้วยการล้างยีสต์ด้วยสารละลายด่าง แต่หลังจากกำจัดความขมเราต้องใช้น้ำจำนวนมากเพื่อที่จะล้างด่างออกก่อนที่นำยีสต์ไปใช้งานต่อไป ซึ่งส่งผลให้มีปัญหาด้านน้ำเสียตามมา อีกทั้งการใช้ด่างยังทำให้เปอร์เซ็นต์ของของแข็งในยีสต์มีค่าลดลง หรือแม้แต่การสกัดความขมจากยีสต์ด้วยตัวทำละลาย ดังตารางที่ 1.1 (อัมพร, 2541) ซึ่งแสดงการเปรียบเทียบค่าของโปรตีนและความขมที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ยีสต์สกัดจากกระบวนการใช้ด่างล้างความขม และ การสกัดความขมด้วยตัวทำละลาย

ตารางที่ 1.1 เปรียบเทียบยีสต์สกัดที่ได้จากการผลิตด้วยวิธีต่างๆขนาดกึ่งอุตสาหกรรม (pilot scale) (อัมพร, 2541)

โปรตีน	ยีสต์สกัด		
	ไม่ได้ล้างความขม	ล้างด้วยสารละลายด่าง[b]	สกัดตัวทำละลาย[a]
ร้อยละผลได้ (% Protein Yield)	38.04	20.00	35.41
ร้อยละคืนกลับ (%Protein recovery)	50.94	37.00	52.83
ร้อยละของปริมาณ (%Protein Content)	57.78	62.00	57.83
ความขม (EBU)	35.03	16.20	16.50

[a] กระบวนการย่อยสลายตัวเองในถังหมัก

[b] กระบวนการย่อยสลายตัวเองในเคทเทิล (kettle)

และยังมีบางมีงานวิจัยที่ศึกษาลักษณะของการย่อยสลายด้วยตัวเองของยีสต์โดยเน้นการศึกษาการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูง เพื่อให้เอนไซม์ยังคงมีความเข้มข้นสูงๆ อยู่ภายในเซลล์ยีสต์ ซึ่งผลที่ได้นั้นพบว่าการย่อยสลายตัวเองโดยการใช้ยีสต์ที่ความเข้มข้นสูงแล้วจึงเติมน้ำทีหลังมีผลทำให้อัตราการถ่ายโอนโปรตีนและกรดอะมิโนมีค่าสูงมากกว่าในกรณีที่มีการย่อยสลายตัวเองด้วยเซลล์ยีสต์ที่มีการเจือจางตั้งแต่ต้น ซึ่งในกระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเองของยีสต์นั้นไม่ได้มีผลต่อรูปร่างของเซลล์ และผนังเซลล์ของยีสต์ยังคงรูปร่างเดิมได้ ดังนั้นความขมที่ติดอยู่ที่ผนังเซลล์ก็ไม่น่าจะหลุดออกมาปะปนกับผลิตภัณฑ์ในแบบที่เกิดขึ้นในกระบวนการโฮโมจิไนเซอร์ อีกทั้งในงานวิจัยต่างๆที่ผ่านมาได้มีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์โดยได้มีการศึกษาด้วยการเติมสารเร่งต่างๆ การเปลี่ยนอุณหภูมิของระบบ การปรับความเป็นกรด-ด่างของระบบ หรือแม้แต่การทำให้สภาวะเจือจาง การทำให้สภาวะเจือจางตั้งแต่ต้นของการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ด้วยการเติมน้ำลงไปนั้น น่าจะมีผลที่ทำให้สารที่อยู่ภายในเซลล์และเอนไซม์ออกมาพร้อมกับการย่อยสลายสารภายในเซลล์ ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุให้เอนไซม์ที่มีภายในเซลล์ที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเองเจือจางลง และเป็นผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าช้าลงด้วย อีก

ทั้งการที่เอนไซม์ที่ออกมาจากเซลล์อาจจะมีผลให้เกิดการย่อยสลายของผนังเซลล์ด้านนอก ทำให้เกิดการหลุดของความขมที่ติดอยู่ผนังเซลล์ด้านนอก (พึงใจ, 2546)

จากการพิจารณาในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพยายามนำสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์มาใช้ด้วยการปรับปรุงให้เกิดประโยชน์ในรูปแบบของการผลิตยีสต์สกัด จะเห็นว่าปัญหาหลักของการปรับปรุง คือเรื่องของความขมที่ติดอยู่ที่ตัวยีสต์ ซึ่งก็ได้มีผู้วิจัยเพื่อวิธีการกำจัดความขมส่วนนี้มากมายดังที่กล่าว ทั้งการใช้สารละลายด่าง หรือ สารอินทรีย์ เพื่อล้างความขมออกจากยีสต์ ซึ่งก็สามารถที่จะกำจัดได้แต่ก็มีการก่อให้เกิดปัญหาอื่นๆตามมา อีกทั้งในงานวิจัยส่วนใหญ่จะใช้การย่อยสลายตัวเองของยีสต์ด้วยยีสต์ที่มีการเจือจางความเข้มข้นตั้งแต่ต้น ซึ่งการที่มีการเจือจางตั้งแต่ต้นนั้นน่าจะมีผลให้เกิดการหลุดของความขมได้ตลอดเวลา ดังนั้นงานวิจัยนี้ซึ่งเป็นงานที่ศึกษาต่อจากงานวิจัยของพึงใจและ เห็นว่าจากการที่ในงานวิจัยของพึงใจสามารถเพิ่มผลได้ของกรดอะมิโนและ ผลได้ของโปรตีนด้วยการใช้ผลของการย่อยสลายด้วยตัวเองของยีสต์เข้มข้น ซึ่งผลของการใช้ยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูงในการย่อยสลายตัวเองอาจจะช่วยลดผลของการหลุดของขมที่ผนังยีสต์ได้ จึงมุ่งพิจารณาในส่วนของความขมที่อยู่ที่บริเวณผนังเซลล์ของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ที่นำมาผ่านกระบวนการย่อยสลายตัวเอง โดยเปรียบเทียบสภาวะของความเป็นกรด-ด่าง, เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์เข้มข้น และ ร้อยละของความเข้มข้นของยีสต์ ที่มีผลต่อการถ่ายโอนของความขมบริเวณผนังเซลล์ และผลิตภัณฑ์จากภายในเซลล์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณของความขมที่ปะปนในผลิตภัณฑ์ และเพิ่มปริมาณกรดอะมิโน และโปรตีนที่ได้กระบวนการย่อยสลายตัวเอง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

หาสภาวะที่เหมาะสมของค่าความเป็นกรด-ด่าง, เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเองด้วยยีสต์เข้มข้น และ ความเข้มข้นของยีสต์หลังการเจือจางในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เพื่อศึกษาปริมาณของความขม และ ผลได้ของกรดอะมิโน และผลได้ของโปรตีนที่ไหลออกจากภายในเซลล์ยีสต์สู่ของเหลวภายนอกเซลล์

ขอบเขตการวิจัย

1. ศึกษาปริมาณความขม, ผลได้ของกรดอะมิโน และ ผลได้ของโปรตีนตามเวลาของการย่อยสลายตัวเองของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ โดยเปรียบเทียบจากเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเองด้วยสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์เข้มข้น และค่าความเป็นกรด-ด่าง ดังนี้

1.1 เวลาที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเองด้วยสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์เข้มข้นเป็น 13, 25, 37 และ 48 ชั่วโมง

1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของการย่อยสลายตัวเองของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์เป็น 5, 5.5 และ 6 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

2. ศึกษาหาความเข้มข้นของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์หลังการเจือจางที่เหมาะสมในการลดปริมาณความขมที่หลุดจากผนังเซลล์ และเพิ่มผลได้ของกรดอะมิโนและผลได้ของโปรตีนที่ไหลออกจากภายในเซลล์ยีสต์สู่ของเหลวภายนอกเซลล์ โดยแปรความเข้มข้นของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ด้วยการเติมน้ำเพื่อเจือจางความเข้มข้นในกระบวนการย่อยสลายตัวเองจนได้ความเข้มข้นร้อยละ 15, 11.5 และ 9