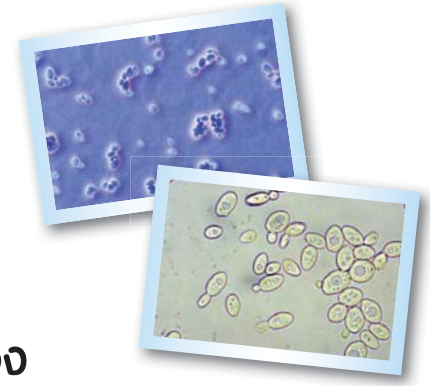


ยีสต์กับการปรับปรุงคุณภาพของ โดขนมปังแช่เยือกแข็ง

ดร. ยุทธนา พิมลศิริผล
สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

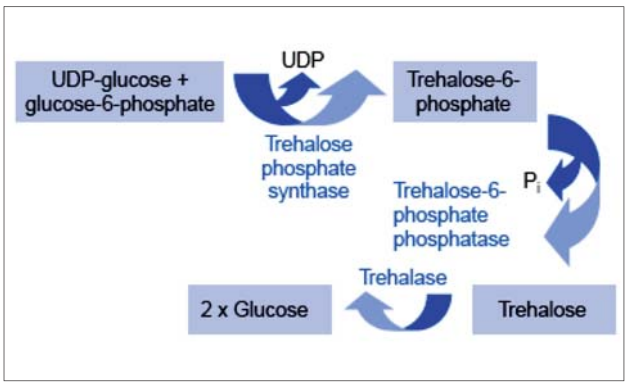
เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ในกระบวนการผลิตขนมปังหรือขนมปังแช่เยือกแข็งนั้น ยีสต์เป็นสิ่งที่มีความสำคัญและจำเป็นต้องใช้ เพื่อเป็นตัวการสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของขนมปังในด้านต่างๆ ได้แก่ การขึ้นฟูซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ หรือการเกิดกลิ่นรสที่ดีจากการสร้างสารประกอบพวกแอลกอฮอล์ (alcohol) แอลดีไฮด์ (aldehyde) หรือคีโตน (ketone) ซึ่งหากเกิดการตายหรือประสิทธิภาพในการทำงานของยีสต์ลดลง จะส่งผลด้านลบต่อคุณภาพของขนมปังอย่างมาก ซึ่งจะเห็นได้ชัดในกระบวนการผลิตโดขนมปังแช่เยือกแข็งที่พบว่า เมื่อนำโดที่เก็บรักษาไว้มาทำการอบ จะได้ขนมปังที่มีขนาดเล็ก ไม่ขึ้นฟู หรือใช้เวลาในการทำให้ขึ้นฟูนาน นั่นก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับยีสต์โดยตรง เนื่องจากยีสต์ตายหรือสูญเสียสภาพในการทำงาน จากการผ่านกระบวนการแช่เยือกแข็งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ หรือการเก็บรักษาที่ไม่ดีเพียงพอ (Phimolsiripol et al., 2008a) ดังนั้นก่อนที่จะกล่าวถึงวิธีการในการปรับปรุงคุณภาพของโดแช่เยือกแข็งผ่านการทำงานของยีสต์ จึงควรต้องทราบถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อกระบวนการทำงานของยีสต์ ซึ่งปัจจัยต่างๆ ที่พบได้แก่

1. การตายของเซลล์ยีสต์ เมื่อเซลล์ยีสต์ตายจะมีการปล่อยสารประเภทกลูตาไธโอน (glutathione) ออกมา มีผลทำให้โครงสร้างของกลูเตน (gluten) ไม่แข็งแรง (Kline and Sugihara, 1968) ซึ่งโดยทั่วไป การผลิตโดแช่เยือกแข็งจะหลีกเลี่ยงการเกิดกระบวนการหมัก (fermentation) ของยีสต์ก่อนการแช่เยือกแข็ง เนื่องจากยีสต์ที่ทำงานแล้วผนังเซลล์มีความแข็งแรงลดลง ทำให้ไม่ทนต่อแรงดันออสโมติกได้ดีพอ
2. การเปลี่ยนแปลงระดับของสารต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในระดับเซลล์ เช่น ปริมาณทรีฮาโลส (trehalose) ปริมาณกลีเซอรอล (glycerol) ระดับของการเกิดโปรตีนที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน (heat shock protein) องค์ประกอบของไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ของยีสต์ หรือจำนวนของกรดอะมิโน (Izawa et al., 2007) หรือปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์ ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ยีสต์ที่มีความเหมาะสมสำหรับโดแช่เยือกแข็งควรมีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 57 (Hsu et al., 1979)

เมื่อทราบถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องแล้ว ในการปรับปรุงคุณภาพของโดขนมปังแช่เยือกแข็งจึงมักจะเน้นไปที่การทำงานของยีสต์ โดยทั่วไปแล้ว จะมี 2 วิธีการหลักๆ คือ

1. **การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์** (yeast selection)

วิธีการนี้จะเน้นการศึกษาในด้านการแสดงออกของยีน (gene expression)เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่ทนต่อการแช่เยือกแข็ง (freeze-tolerant yeast) หรือทำการดัดแปรการทำงานของเซลล์ยีสต์ (yeast cellular metabolism modification) หรือทำการดัดแปรพันธุกรรมด้วยเทคนิคพันธุวิศวกรรม (genetically engineering) โดย Oda et al. (1986) ได้ทำการคัดเลือกยีสต์ Saccharomyces กว่า 300 สายพันธุ์ จนได้ยีสต์จำนวน 11 สายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อการแช่เยือกแข็งได้ดี สามารถอยู่รอดหลังกระบวนการแช่แข็งได้ ซึ่งเหมาะแก่การนำไปใช้ในการผลิตโดแช่เยือกแข็งเมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์ทางการค้าทั่วๆ ไป ซึ่งพบว่า สายพันธุ์ยีสต์ที่ผ่านการคัดเลือกมีปริมาณทรีฮาโลสมากกว่ายีสต์ทางการค้าถึง 3 เท่า โดยทรีฮาโลสจะช่วยให้ชั้นไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ยีสต์มีความแข็งแรง และช่วยป้องกันเซลล์จากการสูญเสียน้ำมากขึ้น ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบไขมันในเซลล์ยีสต์ Murakami et al. (1996) ระบุว่าองค์ประกอบไขมันของเซลล์ยีสต์มีส่วนสำคัญในการควบคุมอัตราการแพร่ผ่านของเซลล์ที่จะทำให้เซลล์คงสภาพอยู่ได้ (membrane fluidity) คือ ถ้าอัตราส่วนโมลของสเตอรอล (sterol) ต่อฟอสโฟลิปิด (phosphlipid) ที่เรียกว่า S/P ratio มีค่ามากจะทำให้เซลล์ยีสต์ไม่ทนต่อการแช่เยือกแข็ง เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์จะเสียสภาพไม่สามารถควบคุมอัตราการแพร่ผ่านได้ เกิดแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) สูงจากการลดอุณหภูมิลง ขณะที่ Teunissen et al. (2002) ใช้วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์โดยการแช่เยือกแข็งแล้วนำมาทำละลาย (thawing) มากถึง 200 รอบ เพื่อแยกสายพันธุ์ โดยพบว่าเซลล์ยีสต์ที่มีโครโมโซมคู่ (diploid DNA) จะมีความเหมาะสมสำหรับการผลิตโดแช่เยือกแข็ง อย่างไรก็ตาม ยีนที่แสดงออกหรือควบคุมยังไม่แน่ชัดนัก เนื่องจากแม้ว่าจะตัดยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ทรีฮาโลสออก (trehalose-6-phosphate synthase, TPS1) และยีนที่เป็นตัวควบคุมด้านการทนต่อความร้อน (heat shock protein, HSP104) ออกไป เซลล์ยีสต์ก็ยังคงแสดงความสามารถในการทนต่ออุณหภูมิได้อยู่ (Van Dijck et al., 2000) โดยกลไกการสังเคราะห์ทรีฮาโลสในเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะมีเอนไซม์ทรีฮาโลส-6-ฟอสเฟตซินเทส (trehalose-6-phosphate synthase, TPS) และเอนไซม์ทรีฮาโลส-6-ฟอสเฟตฟอสฟาเทส (trehalose-6-phosphate phosphatase, TPP) ที่จะเปลี่ยนกลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate) รวมทั้งยูริดีนไดฟอสเฟตกลูโคส (Uridine diphosphate glucose, UDP-glucose) ไปเป็น trehalose และจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ทรีฮาเลส (Penna, 2003) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กลไกการสังเคราะห์และเมแทบอลิสมของทรีฮาโลส
ที่มา : Penna (2003)

2. **การผ่านกระบวนการทางกายภาพ** (physical treatment)

โดยทั่วไปแล้ว สิ่งมีชีวิตจะสามารถปรับตัวเองและเปลี่ยนแปลงให้สามารถทนทานต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะทำให้มีชีวิตรอดและเพิ่มจำนวนได้ และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะมีผลต่อการปรับตัวของเซลล์ยีสต์ ดังนั้นการประยุกต์ใช้วิธีการทางกายภาพเพื่อสร้างแรงกดดัน(stress)ให้กับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย (Beales, 2004) ซึ่งวิธีการนี้ก็จะเน้นไปที่การเหนี่ยวนำให้เซลล์ยีสต์ที่ใช้ในการทำขนมปังปกติทั่วๆ ไป (normal baker's yeast) ด้วยวิธีการต่างๆ ก่อน แล้วจึงเข้าสู่กระบวนการผลิตโดขนมปังแช่เยือกแข็งแบบปกติ โดย Nakagawa and Ouchi (1994) พบว่า สามารถปรับปรุงคุณภาพของเซลล์ยีสต์ทางการค้าทั่วไปให้มีความทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ด้วยการใช้กระบวนการทางความร้อน (heat treatment) ของโดก่อนนำไปแช่เยือกแข็ง โดยนำโดที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 นาน 10 นาที จะทำให้ยีสต์สามารถผลิตปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าโดที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทางความร้อน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้ เนื่องจากเซลล์ยีสต์มีปริมาณทรีฮาโลสเพิ่มขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยกระบวนการทางความร้อน มีผลทำให้สามารถทนทานต่อการแช่เยือกแข็งได้ดีขึ้น (Neves et al., 1992) สาเหตุหลักคือเมื่อมีการผ่านความร้อน (heat shock) จะทำให้ปริมาณกลูโคสในเซลล์ (intracellular glucose) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว พร้อมทั้งทำให้ความเข้มข้นของเฮกโซสฟอสเฟต (hexose phosphate) และฟรุกโตส 2,6-บิสฟอสเฟต (fructose 2,6-bisphosphate) ลดลง โดยเอนไซม์ทรีฮาเลสจะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส ซึ่งมีผลต่อระดับกลูโคสในเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่เอนไซม์ทรีฮาโลส-6-ฟอสเฟตซินเทส หรือเอนไซม์ทรีฮาโลส-6-ฟอสเฟตฟอสฟาเทส สามารถทำงานได้ดีกว่าเอนไซม์ทรีฮาเลสถึง 3 เท่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และนั่นคือสาเหตุที่ทำ

ให้การเพิ่มขึ้นของปริมาณทรีฮาโลสในเซลล์มีมาก เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่ไม่สูงนัก โดยกลไกการสร้างทรีฮาโลสจะเกิดขึ้นหลังช่วงแรกของการเจริญเติบโตหรือช่วงแลค (lag phase) ประมาณ 10 นาที (Teunissen et al., 2002)

ในบางกรณีเรายังสามารถทำได้โดยนำเซลล์ยีสต์ไปแช่สารละลายบางชนิด เช่น การแช่เซลล์ยีสต์ในสารละลายทรีฮาโลสที่มีความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมงจะทำให้ยีสต์มีความทนทานต่อการแช่เยือกแข็งมากขึ้น (Hirasawa et al., 2001) หรือการเติมพอลิแกมมากลูตาเมต (poly-γ-glutamate) ลงในส่วนผสมของโดที่ใช้ยีสต์ชนิดต่างๆ ได้แก่ ยีสต์ที่ทนต่อการแช่เยือกแข็ง (freeze-tolerant) ยีสต์ที่ทนต่อแรงดันออสโมติก (osmotic-tolerant) ยีสต์ที่ไม่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ (low-temperature-sensitive) และยีสต์ทั่วๆ ไป (ordinary bakers' yeasts) พบว่า เมื่อใช้พอลิแกมมากลูตาเมตร้อยละ 1 จะทำให้อัตราการอยู่รอดของยีสต์เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 10-70 ขึ้นกับชนิดของยีสต์ที่ใช้ (Yokoigawa et al., 2006) รวมทั้งการเติมกรดอะมิโนของถั่วเหลืองสกัดหรือซอยเปปไทด์ (soy peptide) ร้อยละ 2 จะให้ผลดีในการช่วยปรับปรุงคุณภาพของโดขนมปังได้

นอกเหนือจากกระบวนการทางความร้อนแล้ว การใช้กระบวนการทางความเย็นก็ให้ผลดีต่อการปรับปรุงคุณภาพของโดแช่เยือกแข็งเช่นกัน Phimolsiripol et al. (2008b) ได้ประยุกต์ใช้การผ่านกระบวนทางความเย็น (cold pretreatment) โดยตรงกับโดขนมปังก่อนนำไปแช่เยือกแข็งแบบปกติ ซึ่งพบว่าการนำโดขนมปังที่ผลิตได้ไปให้ความเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สามารถปรับปรุงคุณภาพของโดขนมปังแช่เยือกแข็งได้ดีขึ้น ซึ่งการนำโดไปผ่านความเย็นนั้นจะเป็นการช่วยป้องกันการเกิดกระบวนการหมักก่อนแช่เยือกแข็ง อีกทั้งยังทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการทำงานของยีสต์ และโครงสร้างของผนังเซลล์ยีสต์ ซึ่งทำให้ยีสต์สามารถควบคุมอัตราการซึมผ่านของของเหลวได้ดี มีความแข็งแรง หรือทำให้เกิดการดูดซับน้ำของโดเข้ากับส่วนประกอบอื่นๆ จึงทำให้การเกิดผลึกน้ำแข็งรอบๆ เซลล์ยีสต์ลดลง อันเป็นสาเหตุที่ทำให้ยีสต์ถูกทำลายน้อยลงหลังการแช่เยือกแข็งและการเก็บรักษา

ดังนั้นการปรับปรุงคุณภาพของโดขนมปังแช่เยือกแข็งยังสามารถทำได้โดยวิธีการอื่นๆ ได้อีก แต่ที่กล่าวมานี้จะเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในส่วนกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีสต์ ซึ่งยังสามารถที่จะศึกษา ค้นคว้า วิจัยในส่วนอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไปได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

Beales, N. 2004. Adaptation of microorganisms to cold temperature, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 3: 1-20.

Hsu, K. H., Hoseney, R. C., and Seib, P. A. 1979. Frozen dough. I. Factors affecting stability of yeasted dough. Cereal Chemistry. 56: 419-424.

Izawa, S., Ikeda, K., Takahashi, N. and Inoue, Y. 2007. Improvement of tolerance to freeze–thaw stress of baker's yeast by cultivation with soy peptides. Applied Microbiology and Biotechnology. 75: 533-537.

Kline, L. and Sugihara, T. F. 1968. Factors affecting the stability of frozen bread doughs. I - Prepared by the straight dough method. Baker's Digest. 42: 44-46 & 48-50.

Murakami, Y., Yogoigawa, K., Kawai, F. and Kawai, H. 1996. Lipid composition of commercial bakers' yeasts having different freeze-tolerance in frozen dough. Bioscience Biotechnology Biochemistry. 60: 1874-1876.

Nakagawa, S. and Ouchi, K. 1994. Construction from a single parent of baker's yeast strains with high freeze tolerance and fermentative activity in both lean and sweet doughs. Applied and Environmental Microbiology. 60: 3499-3502.

Oda, Y., Uno, K. and Ohta, S. 1986. Selection of yeasts for breadmaking by the frozen-dough method. Applied and Environmental Microbiology. 52: 941-943.

Penna, S. 2003. Building stress tolerance through over-producing trehalose in transgenic plants. Trends in Plant Science. 8: 355-357.

Phimolsiripol, Y., Siripatrawan, U., Tulyathan, V. and Cleland, D. J. 2008a. Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality. Journal of Food Engineering. 84: 48-56.

Phimolsiripol, Y., Siripatrawan, U., Tulyathan, V. and Cleland, D. J. 2008b. Effect of cold pre-treatment duration before freezing on frozen bread dough quality. International Journal of Food Science and Technology. 43: 1759-1762.

Teunissen, A., Dumortier, F., Gorwa, M.-F., Bauer, J., Tanghe, A., Loïez, A., Smet, P., Van Dijck, P. and Thevelein, J. M. 2002. Isolation and characterization of a freeze-tolerant diploid derivative of an industrial baker's yeast strain and its use in frozen doughs. Applied and Environmental Microbiology. 68: 4780-4787.

Van Dijck, P., Gorwa, M.-F., Lemaire, K., Teunissen, A., Versele, M., Colombo, S., Dumortier, F., Ma, P., Tanghe, A., Loiez, A. and Thevelein, J. M. 2000. Characterization of a new set of mutants deficient in fermentation-induced loss of stress resistance for use in frozen dough applications. International Journal of Food Microbiology. 55: 187-192.

Yokoigawa, K., Sato, M., and Soda, K. 2006. Simple improvement in freeze-tolerance of bakers' yeast with poly-[gamma]-glutamate. Journal of Bioscience and Bioengineering. 102: 215-219.