

บทที่ 4

ยีสต์ที่มีความสำคัญทางอาหาร

(Yeast Important in Food Microbiology)

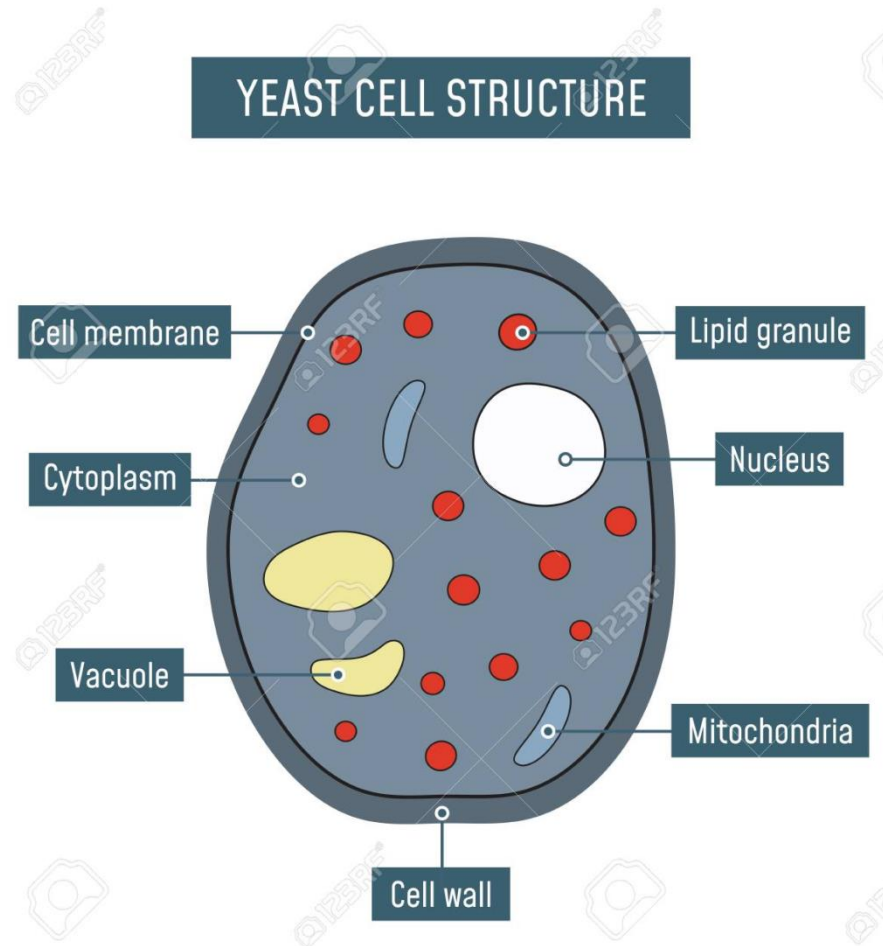


- ยีสต์เป็นฟองใจที่อยู่ในแอสโคไมซิทิสที่ไม่มีการเจริญแบบเส้นสาย แต่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ มีรูปร่างเป็นรูปไข่หรือกลม ยีสต์มีทั้งประโยชน์และโทษในอาหาร กระบวนการหมักของยีสต์มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมของอาหารหลายอย่าง เช่น ขนมปัง เบียร์ ไวน์ น้ำส้มสายชู เป็นต้น การผลิตเอนไซม์หรืออาหารหลายชนิดก็ได้จากการเจริญของยีสต์ ในทางตรงกันข้าม ยีสต์จะเป็นโทษเนื่องจากเป็นตัวทำให้อาหารหลายชนิด เช่น กะหล่ำปลีดอง น้ำผลไม้ น้ำเชื่อม น้ำผึ้ง เยลลี่ เนื้อสัตว์ ไวน์ และอื่น ๆ เสียหาย



- ลักษณะรูปร่างของยีสต์

ลักษณะรูปร่างของยีสต์ศึกษาได้จากกล้องจุลทรรศน์มีรูปร่างกลมถึงรูปไข่ มะนาว ลูกแพร์ ทรงกระบอกสามเหลี่ยม หรือมีเชลเรียงกันเป็นเส้นสายคล้ายไมซีเลียม ยีสต์มีขนาดแตกต่างกัน โครงสร้างที่มองเห็น ได้แก่ ผนังเซลล์ (**cell wall**) ไซโทพลาสซึม แวกิวโอล เม็ดไขมัน และแกลลูลูม อื่น ๆ เช่น เมทาโครมาติกแกลลูลูม เม็ดไข่ขาว และเม็ดแป้ง ถ้าต้องการดูนิวเคลียสจะต้องใช้วิธีย้อมสีพิเศษ



การสืบพันธุ์

- ส่วนใหญ่ยีสต์จะสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศโดยการแตกหน่อ ซึ่งการแตกหน่ออาจจะเกิดขึ้นได้ที่ทุกส่วนของเซลล์ (**multilateral budding**) หรือเกิดได้เฉพาะที่ขั้วของเซลล์เท่านั้น (**polar budding**) กระบวนการเกิดขึ้นโดยโปรโทพลาสซึมจะดันผนังเซลล์ให้โป่งออกไปกลายเป็นหน่อซึ่งจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ จนมีขนาดเท่าเซลล์แม่ ในยีสต์บางชนิด เช่น ฟิล์มยีสต์ หน่อจะมีลักษณะคล้ายที่อยู่ยื่นออกมาจากเซลล์แม่ มีการเพิ่มจำนวนนิวเคลียสแล้วแบ่งกันในเซลล์แม่และลูกมียีสต์ไม่กี่สปอร์ที่สืบพันธุ์โดยวิธีฟิชชัน (**fission**) และวิธีฟิชชันผสมกับการแตกหน่อ (**bud fission**)

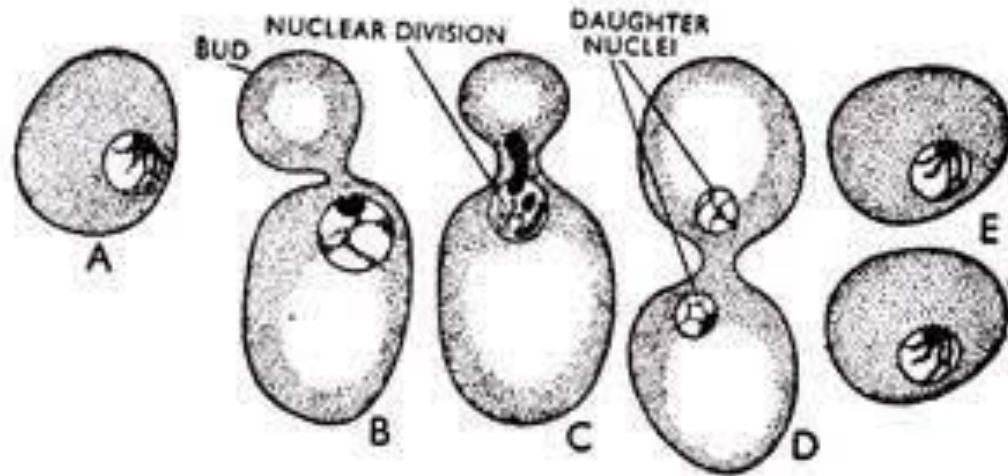
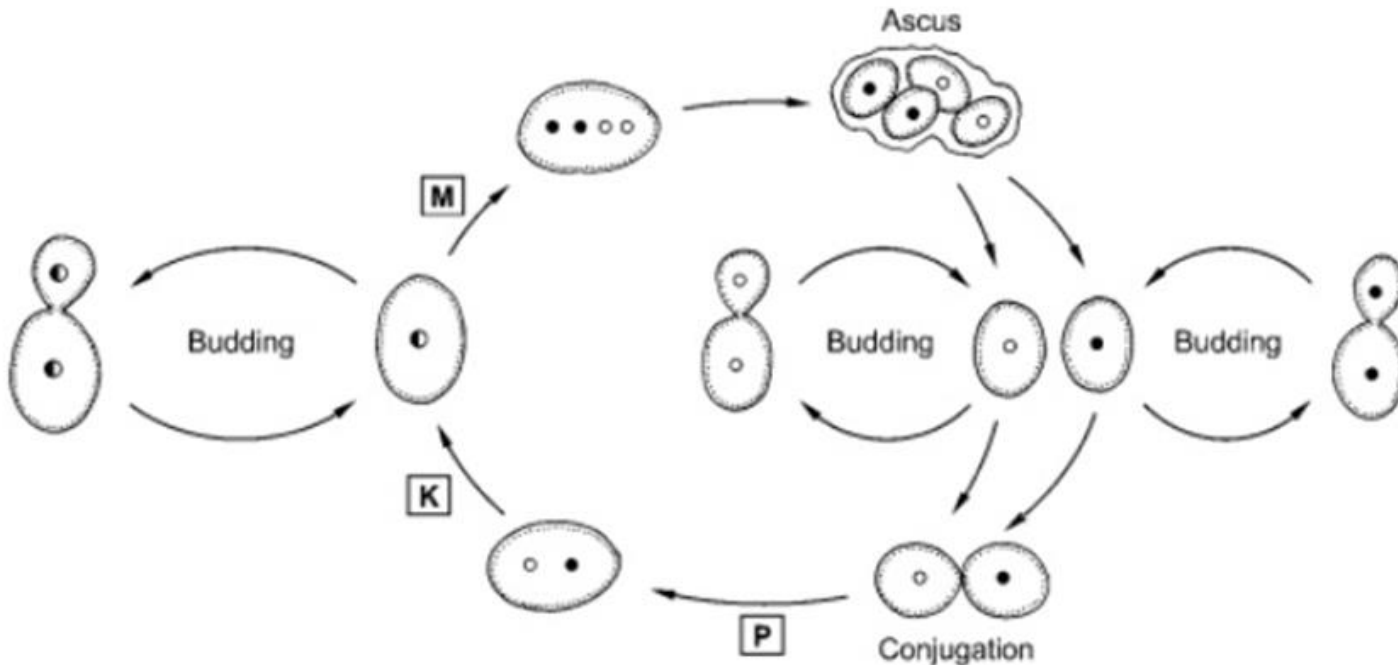


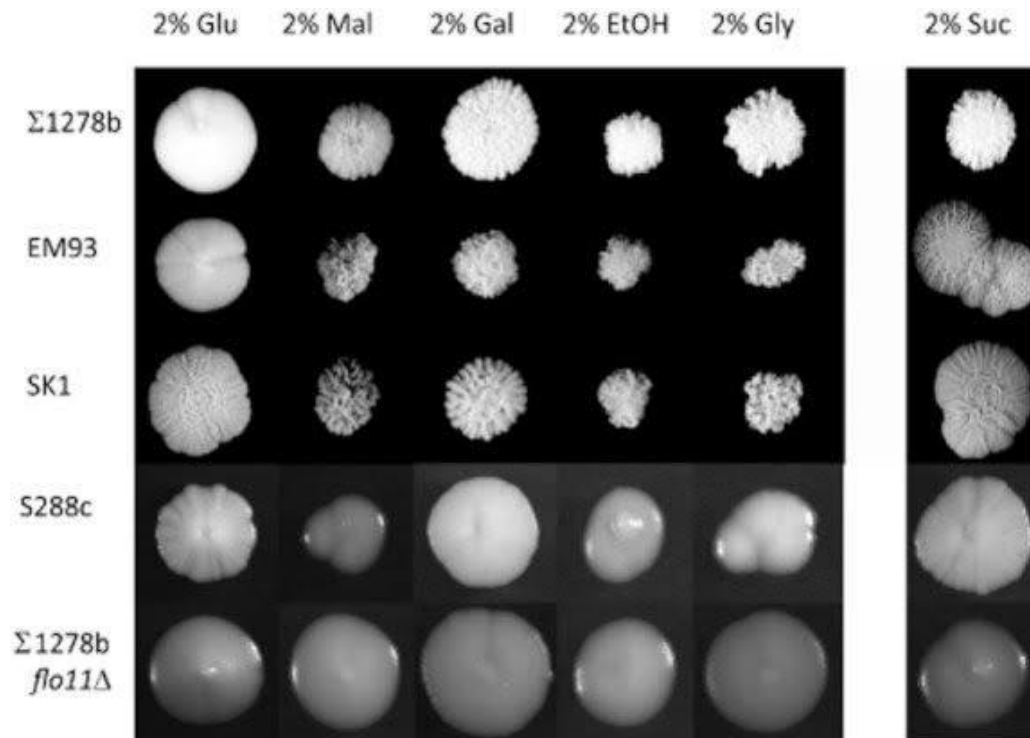
Fig. 218. *Saccharomyces cerevisiae*. Stages in cell multiplication by budding.

- ยีสต์แท้ (**true yeasts, Ascomycotina**) จะมีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ โดยสร้าง แอสโคสปอร์ เซลของยีสต์เปรียบเสมือนแอสคัส การเกิดแอสโคสปอร์ของยีสต์แท้ส่วนใหญ่ จะเกิดขึ้นภายหลังการเกิดการคอนจูเกต (**conjugation**) ของเซลล์ 2 เซล แต่ในยีสต์ บางชนิดอาจเกิดแอสโคสปอร์ได้โดยไม่ต้องการมีคอนจูเกต หลังจากนั้นก็จะมีการคอนจูเกต ของแอสโคสปอร์ จำนวนของแอสโคสปอร์ในแอสคัสและลักษณะของแอสโคสปอร์จะเป็นตัว บอกชนิดของยีสต์ สีผิว และรูปร่างของแอสโคสปอร์จะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของยีสต์ ส่วนยีสต์เทียม (**false yeasts**) เป็นยีสต์ที่ไม่สร้างแอสโคสปอร์หรือไม่มีการสืบพันธุ์แบบ ใช้เพศ จัดเป็นพวกฟังไจไม่สมบูรณ์ ยีสต์พวกนี้มักจะสร้างคลาไมสปอร์



ลักษณะการเจริญของยีสต์

- การเจริญของยีสต์บนอาหารไม่มีประโยชน์ในการวิเคราะห์ชนิดของยีสต์มากนัก แม้ว่าการเจริญของยีสต์บนผิวหน้าของอาหารเหลวจะบอกได้ว่าเป็นออกซิเดทีฟหรือฟิล์มยีสต์ก็ตาม การสร้างรงควัตถุพวกคาโรทีนอยด์ในยีสต์ สกุล **Rhodotorula** จะทำให้เกิดจุดสีบนอาหาร เป็นการยากที่จะแยกลักษณะโคโลนีของยีสต์กับแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากกันด้วยตาเปล่าได้ จึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจดูเท่านั้น โคโลนีของยีสต์ที่มีอายุน้อยจะขึ้นมากหรือเป็นเมือก ส่วนใหญ่จะมีสีขาว ครีมและชมพู บางโคโลนีเมื่ออายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ในขณะที่บางโคโลนีจะเริ่มแห้งและยุบ



ลักษณะทางสรีรวิทยา

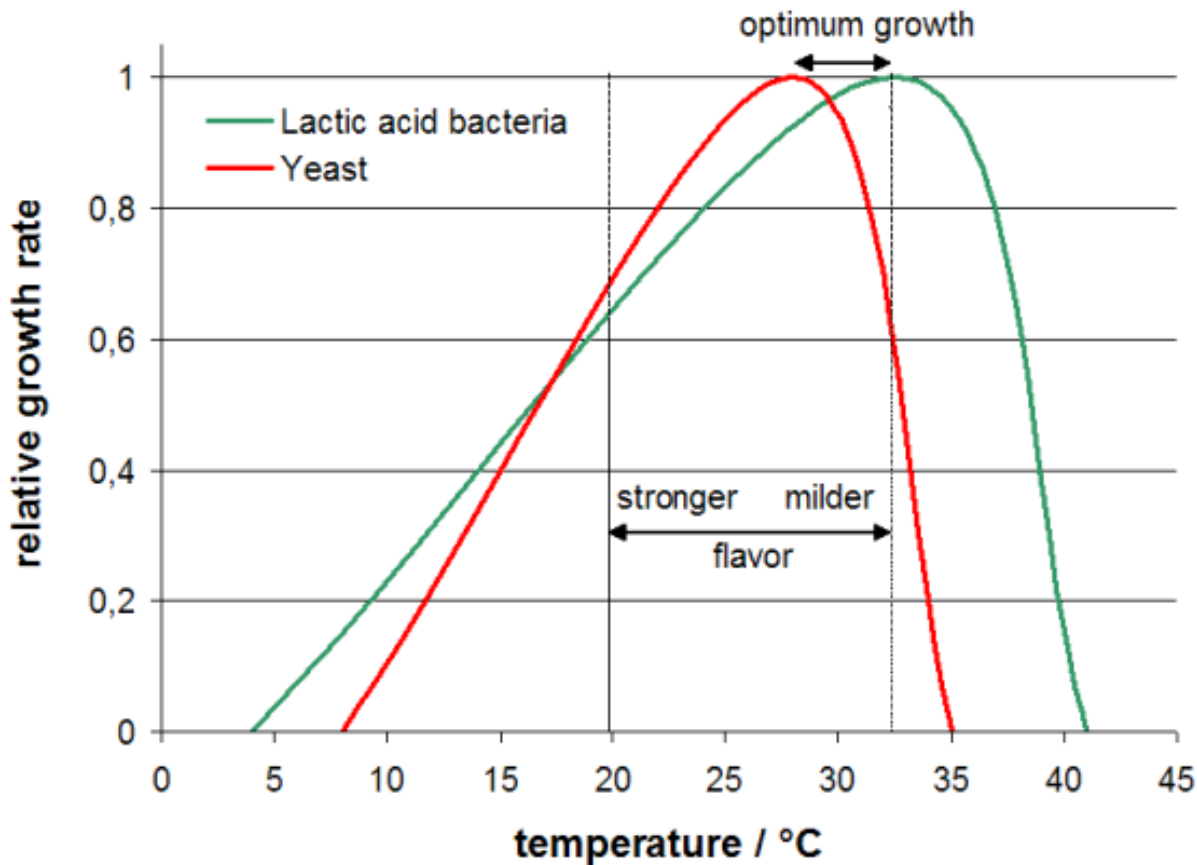
- ยีสต์มีความต้องการความชื้นน้อยกว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตามยีสต์ต้องการความชื้นมากกว่ารา เราอาจจำแนกยีสต์ได้เป็น 2 พวกตามความต้องการความชื้นของยีสต์ พวกยีสต์ทั่วไปกับพวกออสโมฟิลิก (**osmophilic yeasts**) พวกยีสต์ทั่วไปต้องการความชื้นสูง เช่น ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ (**beer yeast**) ยีสต์จากนมชั้นหวาน และยีสต์ใช้ในการทำเบเกอรี่ (**baker's yeast**) จะต้องการ ชื้นต่ำ 0.94, 0.90 และ 0.905 ตามลำดับ ในขณะที่ออสโมฟิลิกยีสต์เจริญอย่างช้าๆ ในน้ำเชื่อมที่มีค่า ต่ำตั้งแต่ 0.62 ถึง 0.65 และค่า **aw** ที่ยีสต์เจริญได้อาจเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม เช่น พีเอช ชนิดของอาหาร อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และสารยับยั้งการเจริญ

Table 1. **Common spoilage organisms and their a_w limits for growth.**

Microbial Group	Example	a_w	Products Affected
Normal bacteria	<i>Salmonella species</i> <i>Clostridium botulinum</i>	0.91	Fresh meat, milk
Normal yeast	<i>Torulopsis species</i>	0.88	Fruit juice concentrate
Normal molds	<i>Aspergillus flavus</i>	0.80	Jams, Jellies
Halophilic bacteria	<i>Wallemia sebi</i>	0.75	Honey
Xerophilic molds	<i>Aspergillus echinulatas</i>	0.65	Flour
Osmophillic yeast	<i>Saccharomyces bisporus</i>	0.60	Dried fruits

ลักษณะทางสรีรวิทยา

- ยีสต์เจริญในช่วงอุณหภูมิเดียวกันกับรา ช่วงที่เหมาะสมอยู่ที่ $25 - 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ และอุณหภูมิขั้นสูงที่เจริญได้คือ $35 - 47\text{ }^{\circ}\text{C}$ ยีสต์บางชนิดเจริญได้ที่ $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ หรือต่ำกว่า ยีสต์เจริญได้ดีที่พีเอช $4 - 4.5$ และเจริญได้ไม่ดีในอาหารที่เป็นด่าง การเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเป็นไปได้ดีมาก ในขณะที่พวกเฟอร์เมนเททิฟจะเจริญอย่างช้า ๆ ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน



optimum of pH and temp for yeast

KILLER STRAIN	TEMPERATURE (°C)	pH	REFERENCE
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15.0–25.0	3.5–4.5	Heard and Fleet (1987)
<i>Kluyvermyces phaffii</i>	24.0	4.0	Ciani and Fatichenti (2001)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20.0	4.3–4.4	Lebionka et al. (2002)
<i>Candida tropicalis</i>	20.0–30.0	4.0	Izgu et al. (2004)
<i>Pichia membranifaciens</i>	25.0	3.0–4.8	Santos and Marquina (2004)
<i>Pichia anomala</i>	4.0–37.0	4.5	Izgu et al. (2006)

ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์และจัดจำแนกสกุลของยีสต์

- 1. มีการสร้างแอสโคสปอร์หรือไม่
- 2. ถ้ามีการสร้างแอสโคสปอร์
 - 2.1 วิธีการในการสร้างแอสโคสปอร์
 - 2.1.1 เกิดขึ้นโดยไม่มีคอนจูเกชันของเซลล์ยีสต์ การเกิดสปอร์เกิดขึ้นภายหลังโดย
 - ก. คอนจูเกชันของแอสโคสปอร์ หรือ
 - ข. คอนจูเกชันของเซลล์ลูก
 - 2.1.2 เกิดขึ้นหลังจากเกิดคอนจูเกชันแบบไอโซแกมมิก (**isogamic conjugation**) คือ เซลล์ที่มาคอนจูเกตกันมีลักษณะเหมือนกัน
 - 2.1.3 เกิดขึ้นภายหลังเกิดคอนจูเกชันแบบเฮเทอโรแกมมิก (**heterogamic conjugation**) คือ เซลล์ที่มาคอนจูเกตกันมีลักษณะแตกต่างกัน
 - 2.2 ลักษณะของแอสโคสปอร์ ขนาด รูปร่าง และสี สปอร์ส่วนใหญ่จะกลม หรือรูปไข่ แต่บางชนิดมีลักษณะคล้ายหมวก เช่น สปอร์ของ **Hansenula**
 - 2.3 จำนวนของแอสโคสปอร์ในแอสคัส 1, 2, 4 หรือ 8
- 3. ลักษณะของเซลล์ ขนาด รูปร่าง สี และอื่น ๆ
- 4. วิธีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ
 - 4.1 แตกหน่อ
 - 4.2 พิซชัน

ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์และจัดจำแนกสกุลของยีสต์

- 4.3 แดกหน่อ และฟิชชัน
- 4.4 อาร์โธรสปอร์
- 5. การเกิดไมซีเลียมแท้ ไมซีเลียมเทียม หรือไม่มีไมซีเลียม
- 6. เจริญเป็นฟิล์มบนอาหารเหลว หรือเจริญทั่วทุกส่วนของอาหารเหลว
- 7. สีของโคโลนียีสต์ที่เห็นด้วยตาเปล่า
- 8. ลักษณะทางสรีรวิทยา (ใช้แยกสปีชีส์และสายพันธุ์)
 - 8.1 แหล่งไนโตรเจน และแหล่งคาร์บอน
 - 8.2 ความต้องการวิตามิน
 - 8.3 ออกซิเดทีฟหรือเฟอร์เมนเททีฟ
 - 8.4 คุณสมบัติในการย่อยไขมัน ย่อยยูเรีย การผลิตกรด และการสร้างสารประกอบประเภทแป้ง

ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์และจัดจำแนกสกุลของยีสต์

- การวิเคราะห์ยีสต์ในอาหารในปัจจุบันได้มีการปรับให้เป็นวิธีที่ง่ายกว่าเดิม โดยอาศัยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของยีสต์ วิธีการวิเคราะห์ประกอบด้วยคุณสมบัติพื้นฐาน ทำให้แยกออกเป็นกลุ่มย่อยต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่มย่อยก็มีการทดสอบคุณสมบัติต่อไปอีก การทดสอบส่วนใหญ่จะเป็นการทดสอบคาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ การทำให้ยูเรียแตกตัว และการใช้ประโยชน์จากไนเทรต หลังจากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแล้วจึงศึกษาลักษณะรูปร่างเพื่อสังเกตการเกิดสปอร์ชนิดอาศัยเพศ การมีไมซีเลียมแท้หรือเทียม แล้วตามด้วยการศึกษาลักษณะการเจริญ จากข้อมูลที่ได้ก็จะสามารถวิเคราะห์ชนิดของยีสต์ได้โดยอาศัยคู่มือที่ **Deak** ได้รวบรวมไว้ในเรื่อง **Foodborne Yeasts** ในหนังสือของ **Neldleman and Laskin** ที่มีชื่อว่า **Advanced in Applied Microbiology**

Table 3. Physiology of yeast species found in yoghurts.

Yeast species	Growth at		Fermentation of		Growth on sorbate at		Growth on benzoate at	
	5°C	10°C	Sucrose	Lactose	150 µg ml ⁻¹	300 µg ml ⁻¹	150 µg ml ⁻¹	300 µg ml ⁻¹
<i>Debaryomyces hansenii</i>	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	W	+	+	-	+	-	+	+
<i>Mrakia frigida</i>	+	+	+	-	+	+	+	+
<i>Candida parapsilosis</i>	W	+	W	-	+	W	W	W
<i>Candida maltosa</i>	W	+	+	-	+	-	+	-
<i>Debaryomyces castellii</i>	+	+	+	-	+	W	+	W
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	W	+	+	-	+	+	+	W
<i>Candida mogii</i>	+	+	+	-	+	W	+	W
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	W	+	+	+	+	+	+	+

+ = positive, - = negative, W = weak or slow growth.

ยีสต์ที่มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรม

ยีสต์แท้ (Class Hemiascomycetes)

- สกุล *Schizosaccharomyces* ยีสต์พวกนี้เป็นพวกที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีฟิชชัน และให้แอสโคสปอร์จำนวน 4 หรือ 8 สปอร์ในแอสคัสหลังจากเกิดโอโซแกมมิกคอนจูเกชัน มักอยู่ในผลไม้เมืองร้อน กากน้ำตาล (molasses) ดิน น้ำผึ้ง และอื่น ๆ สปีชีส์ที่รู้จักกันดี คือ *S. pombe*



S. pombe



สกุล *Saccharomyces*

- ยีสต์พวกนี้จะเป็นรูปกลม รูปไข่ หรือค่อนข้างยาว การสืบพันธุ์จะเป็นแบบแตกหน่อชนิดที่เกิดได้ที่ขั้วของเซลล์ และโดยการสร้างแอสโคสปอร์ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากคอนจูเกชัน สปีชีส์ที่สำคัญคือ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีบทบาทในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น ขนมอบี้ัง ไวน์ กลีเซอรอล และอินเวอเทส (**invertase**) มีทั้ง ทอปยีสต์ (**Top yeast**) ที่เป็นเฟอร์เมนเทอร์ (**fermenter**) ที่แอ็คทีฟ (**active**) มาก และเจริญได้อย่างรวดเร็วที่ 20⁰ซ เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาอย่างรวดเร็ว ทำให้เซลล์ลอยขึ้นไปอยู่บนผิวหน้าของอาหาร จึงเรียกว่า ทอปยีสต์ และบอตทอมยีสต์ (**bottom yeast**) ซึ่งเซลล์จะเจริญอย่างช้า ๆ เป็นเฟอร์เมนเทอร์ที่ดีในอุณหภูมิต่ำ (10 ถึง 15⁰ซ) เนื่องจากไม่มีการรวมกลุ่มของเซลล์และการเจริญเป็นไปอย่างช้า ๆ ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์น้อย เซลล์จึงค่อย ๆ ตกตะกอนอยู่ที่ก้นภาชนะ จึงเรียกว่า บอตทอมยีสต์

TOP/BOTTOM FERMENTED BEER



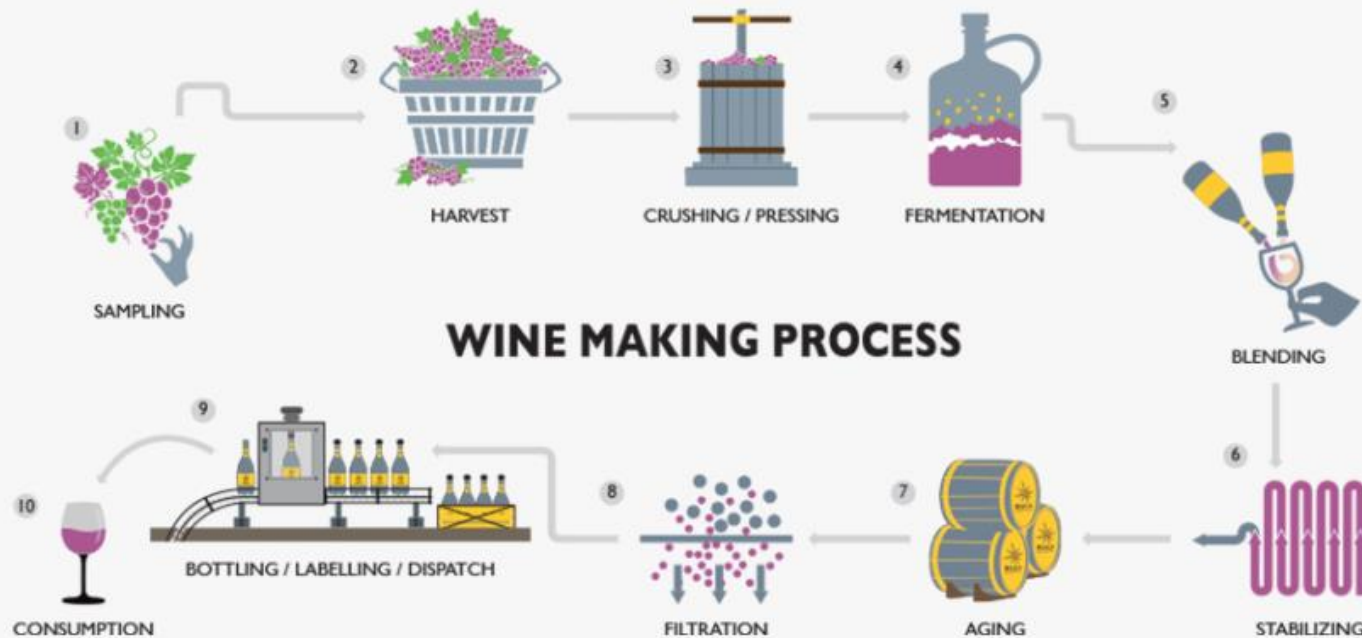
Saccharomyces cerevisiae

Bottom fermented

- **Yeast**
 - *Saccharomyces carlsbergensis*
- **Primary fermentation**
 - Takes place at 7-12 deg C
- **Holding**
 - Last for about a month.

Top fermented

- **Yeast**
 - *Saccharomyces cerevisiae*
- **Primary fermentation**
 - Takes place at 15-20 deg C
- **Holding**
 - Last for about a week



สกุล *Pichia* ยีสต์นี้มีรูปร่างเป็นรูปไข่ หรือทรงกระบอก สร้างไมซีเลียมเทียมแอสโคสปอร์มีลักษณะกลมหรือรูปคล้ายหมวก มีจำนวน 1 ถึง 4 สปอร์ต่อหนึ่งแอสคัส เจริญเป็นแผ่นฝ้าอยู่บนอาหารเหลว เช่น *P. membranaefaciens* เจริญเป็นแผ่นฝ้าบนเบียร์หรือไวน์

สกุล *Hansenula* มีลักษณะคล้าย *Pichia* แต่ก็มีความสามารถในการหมักดีกว่า บางสปีชีส์เจริญเป็นแผ่นฝ้า แอสโคสปอร์มีลักษณะคล้ายหมวกหรือดาวพระเสาร์

สกุล *Debaryomyces* มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ เจริญเป็นแผ่นบนเนื้อเค็ม แอสโคสปอร์มีผิวขรุขระ *D. kloeckeri* เจริญบนเนยแข็งและไส้กรอก

สกุล *Hanseniasporal* ยีสต์นี้มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว เจริญในน้ำผลไม้



P. membranaefaciens



Debaryomyces



Hanseniaspora

ยีสต์เทียม (Fungi Imperfecti)

- สกุล *Torulopsis* เป็นพวกที่มีรูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ เป็นสาเหตุในการทำให้เบียร์และอาหารชนิดอื่นเสีย *T. sphaerica* ย่อยสลายแอลกอฮอล์ได้จึงอาจทำให้ผลิตภัณฑ์นมเสีย สปีชีส์อื่นสามารถทำให้เกิดการเสียของนมข้นหวาน น้ำผลไม้เข้มข้น และอาหารที่เป็นกรดหลายชนิด
- สกุล *Candida* ยีสต์พวกนี้จะสร้างไฮฟีแท้หรือเทียมได้ หลายชนิดจะเจริญเป็นแผ่นฟิล์มบนอาหารที่มีเกลือหรือกรดสูงทำให้อาหารเสีย *C. utilis* ใช้เป็นอาหารได้
- สกุล *Brettanomyces* เป็นพวกที่มีรูปร่างโค้งงอ สามารถผลิตกรดได้ดี เป็นสาเหตุทำให้เบียร์และไวน์เสีย ได้แก่ *B. bruxellansis* และ *B. lambicus*



C. utilis



ยีสต์เทียม (Fungi Imperfecti)

- สกุล *Kloeckera* เป็นยีสต์ที่ไม่สมบูรณ์ มีรูปร่างคล้ายมะนาว *K. apiculata* เป็นพวกที่พบได้ทั่วไปในผลไม้และดอกไม้ รวมทั้งในดินด้วย
- สกุล *Trichosporon* พวกนี้เป็นพวกที่มีการแตกหน่อ และสร้างอาร์โธรสปอร์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำพบในเบียร์ ในเนื้อแช่เย็น เช่น *T. pullulans*
- สกุล *Rhodotorula* เป็นยีสต์ที่มีสีแดง ชมพู และเหลือง ทำให้อาหารไม่น่ารับประทาน เช่น ทำให้เกิดจุดสีบนเนื้อ และเกิดสีชมพูในกะหล่ำปลีดอง ผักกาดดอง เป็นต้น

กลุ่มต่าง ๆ ของยีสต์

- 1. พิล์มยีสต์ ได้แก่ยีสต์ที่อยู่ในสกุล *Pichia, Hansenula, Candida, Debaryomyces*, และ *Trichosporon* ซึ่งเจริญบนผิวหน้าของอาหารที่เป็นกรด เช่น ผักดอง *Hansenula* และ *Pichia* พบแอลกอฮอล์สูง ๆ ได้ดี พิล์มยีสต์อาจผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาลได้เล็กน้อยหรือไม่ได้เลย
- 2. ยีสต์ที่มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว ได้แก่ *Saccharomyces, hanseniaspora, Nadsonia*, และ *Kloeckera* ซึ่งจะเป็นตัวทำให้ไวน์มีกลิ่นรสไม่ดี มีแอลกอฮอล์ต่ำ และมีกรดระเหย (**volatile acid**) สูง

กลุ่มต่าง ๆ ของยีสต์

- 3. ออสโมฟิลิกยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces rouxii* และ *S. mellis* เจริญได้ดีในสภาวะแวดล้อมที่มีแรงดันออสโมซิสสูง เช่น ในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล เกลือ หรือตัวถูกละลายอื่น ๆ สูง ทำให้ผลไม้แห้ง น้ำผลไม้เข้มข้น น้ำผึ้ง และอื่น ๆ เสียได้
- 4. ยีสต์ทนเค็ม สามารถเจริญได้ในเนื้อเค็ม และปลาเค็ม ซีอิ๊ว และซอสอื่น ๆ พวกฟิล์มยีสต์ที่ทนเค็มได้มากที่สุดจะอยู่ในสกุล *Debaryomyces* เช่นเดียวกับยีสต์ *Saccharomyces rouxii*, *Torulopsis sp.*, *Brettanomyces sp.* ก็สามารถเจริญในอาหารเค็มได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Saccharomyces rouxii* มีความสำคัญในการผลิตแอลกอฮอล์ และสารแต่งกลิ่นรส ในอาหารเค็มด้วย

The end

