



**PREPARATION OF 5'-GMP-RICH YEAST EXTRACTS
FROM SPENT BREWER'S YEAST**

PHANIDA SOMBUTYANUCHIT

ฉบับนี้หนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-664-992-2

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
P535P
2000

3936487 SCBT/M : MAJOR : BIOTECHNOLOGY ; M. Sc. (BIOTECHNOLOGY)

KEY WORDS : 5'-GMP / BREWER'S YEAST / YEAST EXTRACT / MALT ROOTLETS

PHANIDA SOMBUTYANUCHIT : PREPARATION OF 5'-GMP-RICH YEAST

EXTRACTS FROM SPENT BREWER'S YEAST. THESIS ADVISORS : MANOP

SUPHANTHARIKA, Ph.D., SAIYAVIT VARAVINIT, Dr.Ing., PAIROJ LUANGPITUKSA,

D.Arg.Sc, CHOCKCHAI THEERAKULKAIT, Ph.D., 117 P. ISBN 974-664-992-2

Spent brewer's yeast was autolysed and used as a raw material for the preparation of 5'-GMP-rich yeast extracts. Fresh malt rootlet extract, dried malt rootlets extract and rice rootlets extract were analyzed for specific activity of 5'-phosphodiesterase for use as a source of enzyme. The highest specific activity was obtained from fresh malt rootlet extract followed by dried malt rootlets and rice rootlets, respectively. Dried malt rootlets were used as a source of 5'-phosphodiesterase due to their lowest cost. Before the dried malt rootlet extract was used, it was concentrated by ammonium sulfate precipitation at 40-80 % saturation and then was pre-treated to inactivate 5'-nucleotidase. The optimum pretreatment conditions were heating at 65°C for 30 min or 70°C for 7 min. The effects of autolysis time (at 15% w/v solids, pH 5, 50°C), phosphodiesterase concentration and incubation period on 5'-GMP content were examined. The suitable autolysis time was 8-12 hrs. The preferable enzyme treatment period was in the range of 8-14 hrs. Longer autolysis and enzyme incubation periods caused a decrease in the 5'-GMP content from 0.7-0.9%(w/w) to 0.2-0.4 %(w/w). The 5'-GMP content in extracts from debittered yeast using 2 % sodium carbonate was not different from non-debittered yeast. The highest 5'-GMP content in yeast extract was 0.93 %(w/w), obtained with a phosphodiesterase concentration of 160 units/100 ml of yeast extract (5% w/v).

3936487 SCBT/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ ; วท.ม (เทคโนโลยีชีวภาพ)

พินิตา สมบัติยานุชิต : การเตรียมสารสกัดที่มีปริมาณ 5'-GMP สูงจากยีสต์ที่ใช้แล้วจากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ (PREPARATION OF 5'-GMP-RICH YEAST EXTRACTS FROM SPENT BREWER'S YEAST). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : มานพ สุพรรณศรีกร, Ph.D., ไสยวิชญ์ วรวินิต, Dr. Ing., ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์, D.Arg.Sc, โชคชัย ธีรกุลเกียรติ, Ph.D. 117 หน้า. ISBN 974-664-992-2

ยีสต์ที่ใช้แล้วจากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ถูกนำมาศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมสารสกัดที่มีปริมาณ 5'-GMP สูง รากข้าวหมอลำแห้ง สด และรากข้าวเจ้าถูกนำมาศึกษาถึงปริมาณ specific activity ของ 5'-phosphodiesterase เพื่อเลือกใช้เป็นแหล่งของเอนไซม์ สารสกัดจากรากข้าวหมอลำแห้งให้ปริมาณเอนไซม์มากที่สุด รองลงมาคือรากข้าวหมอลำแห้งและรากข้าวเจ้าตามลำดับ รากข้าวหมอลำแห้งถูกเลือกนำไปใช้เป็นแหล่งของ 5'-phosphodiesterase เนื่องจากมีราคาต่ำกว่าก่อนที่สารสกัดจากรากข้าวหมอลำแห้งจะถูกนำไปใช้จะถูกนำไปเพิ่มความเข้มข้นด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นอิ่มตัว 40-80 % จากนั้นจึงถูกนำไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5'-nucleotidase โดยสภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งคือการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที ในการเตรียมสารสกัดที่มีปริมาณ 5'-GMP สูงครั้งนี้ ได้ศึกษาถึงความเหมาะสมของระยะเวลาในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ (ที่ปริมาณของแข็งของยีสต์ 15 % w/v, ความเป็นกรดต่าง 5, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส), ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5'- phosphodiesterase และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยพบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์คือ 8-12 ชั่วโมง ระยะเวลาที่เหมาะสมของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์คือ 8-14 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยสลายตัวเองของยีสต์และการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่นานขึ้น มีผลทำให้ปริมาณ 5'-GMP ลดลงจาก 0.7-0.9 % (w/w) เป็น 0.2-0.4 % (w/w) ปริมาณ 5'-GMP ในสารสกัดจากยีสต์ที่ผ่านกระบวนการกำจัดความขมด้วย 2% โซเดียมคาร์บอเนตให้ผลไม่แตกต่างจากการไม่กำจัดความขม ปริมาณสูงสุดของ 5'-GMP ในสารสกัดจากยีสต์คือ 0.93 % w/w ได้จากปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ 160 unit ต่อสารสกัดจากยีสต์ 100 มิลลิลิตรที่ปริมาณของแข็ง 5 %