

**RESEARCHES REGARDING THE OBTAINING OF
YEAST EXTRACTS THROUGH AUTOLYSIS AND
HYDROLYSIS WITH ADDITION OF EXOGENOUS
ENZYMES♦**

**RECHERCHES CONCERNANT L'OBTENTION
DES EXTRAITS DE LEVURE PAR AUTOLYSE
ET HYDROLYSE PAR ADDITION DES ENZYMES
EXOGENES**

Maria Iordan^{1*}, Alexandru Stoica¹, Aurelia Ionescu²

*¹"Valahia" University of Târgoviște, Department of Food Science,
18-20 Unirii Blvd., Târgoviște, Romania*

*²"Dunarea de Jos" University of Galați, Faculty of Food Science and
Engineering, 111 Domnească st., Galați, Romania*

*Corresponding author: marianaiordan@yahoo.com

Received: 22/05/2008

Accepted after revision: 16/06/2008

Abstract: This work presents the experimental results regarding to obtaining of bakery yeast extracts through exclusion of plasmolyse with NaCl. It was used exogenous proteolytic and cellulolytic enzymes for an easy release of cell yeast constituents. It was tested the extent of the yeast cell wall destruction by different exogenous proteolytic or cellulolytic

♦ Paper presented at the fifth edition of: "Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée – COFrRoCA 2008", 25 – 29 June 2008, Bacău, Romania.

enzymes. Also, it was compared different technological variants to obtain the yeast extracts using exogenous enzymes and characterized the obtained yeast extracts from sensorial and chemical point of view. The bakery yeast autolysis associate with enzymatic hydrolysis using exogenous enzymes lead to a suitable release of protoplasmic constituents, the yeast extracts containing more than 60% from cellular nitrogen. The chemical characteristics of concentrated yeast extracts obtained through autolysis and enzymatic hydrolysis and its flavor profile were dependent by the nature of exogenous added enzyme, these having increased quality characteristics in comparison with the extract obtained only through autolysis.

Keywords: *yeast, autolysis, enzymatic hydrolysis, papain, β -glucanase, flavoring agent.*

INTRODUCTION

Les autolysats et les extraits de levure ont un arôme agréable, ils sont faiblement colorés et ils sont riches en aminoacides, oligopeptides, nucléotides, oligonucléotides, nucléosides, purines et pyrimidines libres. Ces propriétés justifient leur utilisation tant que aditifs d'aromatisation des produits alimentaires. Il existe des différentes technologies de fabrication des autolysats et extraits de levure présentées dans la littérature de spécialité, mais les informations sur leur obtention par voie enzymatique sont rares [1-5, 7-10].

Cette étude a eu comme objectifs:

- tester le niveau de destruction des parois cellulaires de la levure en utilisant différents enzymes cellulolytiques ou protéolytiques;
- comparer plusieurs technologies d'obtention des extraits de levure par l'addition des enzymes exogènes;
- caractériser les extraits de levure obtenue de point de vue sensoriel et chimique.

MATERIAUX ET METHODES D'ANALYSE

Pour conduire cette étude nous avons utilisé la levure de boulangerie pressée de la marque Pakmaya et plusieurs produits enzymatiques protéolytiques et β -glucanasiques (provient de Novo Nordisk A/S).

Afin d'évaluer les composants chimiques et biochimiques de la levure et des extraits de levure nous avons employé plusieurs méthodes d'analyse:

La teneur en matière sèche et en eau de la levure a été déterminée par séchage en étuve jusqu'à la masse constante, conformément le standard Roumain STAS 9065/3-1973.

La teneur en azote total a été déterminée par la méthode Kjeldahl, conformément le standard Roumain STAS 9065/4-1981. La valeur en protéines a été déterminée par la multiplication entre la teneur en azote total et le facteur protéique (6,25).

La teneur en azote non protéique a été déterminée par la précipitation des protéines par l'acide trichloracétique 12% suivie par le dosage de l'azote, conformément à la méthode Kjeldahl, décrite par Banu et al. [2].

La valeur en aminoacides a été déterminée par la méthode Sørensen, décrite par Banu et al. [3] et par le méthode colorimétrique EBC à la ninhydrine, au *pH* de 6,7.

La valeur en sucres réducteurs a été déterminée par la méthode Schoorl.

La valeur en glucides a été déterminée par la méthode colorimétrique à l'acide 3,5 dinitrosalicylique, décrite par Viță et al. [6].

La valeur en lipides a été déterminée par l'extraction aux solvants organiques en utilisant l'appareil Soxhlet, conformément le standard Roumain STAS 9065/ 2-73.

Le pH a été mesuré par une technique potentiométrique.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les caractéristiques chimiques de la levure de boulangerie analysée

Les données concernant la composition chimique de la levure de boulangerie analysée sont présentées au tableau 1.

Tableau 1. La composition chimique de la levure de boulangerie analysée

Caractéristique	Quantité	
	Par rapport à la masse totale (g%)	Par rapport à la matière sèche (g%)
Eau	68,50	-
Matière sèche	31,50	-
Azote total	2,43	7,71
Protéines totales	15,19	48,22
Lipides	1,10	3,45
Glucides	2,63	8,35
Azote non protéique	0,692	2,20
Azote aminique	0,183	0,581
% Azote non protéique / Azote total	-	28,53
% Azote aminique / Azote total	-	7,53
% Azote aminique / Azote non protéique	-	26,44

Nous apprécions que le matériel biologique analysé ait eu une composition chimique équilibrée et une grande teneur en matière sèche, à 31,5%. Rapportée à la matière sèche, la valeur en protéine brute est à 48,22%; l'azote non protéique et aminique représentent 28,53%, respectivement 7,53% de l'azote total. La levure de boulangerie a une valeur réduite en lipides, de 1,1% (3,45% par rapport à la matière sèche).

L'étude comparative des différentes technologies d'obtention des extraits de levure de boulangerie par voie enzymatique, par l'addition des enzymes exogènes

La destruction de la paroi cellulaire de la levure de boulangerie est précédée par l'hydrolyse enzymatique des β -glucans ou/et des manoprotéines présents au niveau de

l'enveloppe cellulaire, processus réalisé soit par les enzymes propres soit par des enzymes exogènes possédant une activité β -glucanasique ou protéolytique. Afin d'accélérer la lyse des parois cellulaires nous avons testé différents produits enzymatiques cellulolytiques ou protéolytiques.

Les variantes technologiques choisies sont inscrites dans le tableau 2 et le schéma technologique suivi est présenté dans la figure 1. La plasmolyse (le processus osmotique, provoqué généralement par NaCl, de diminution de la résistance des parois cellulaires et d'augmentation de leur perméabilité afin d'obtenir des extraits de levure à une concentration diminuée de NaCl) a été éliminé de nos expériences.

Tableau 2. Variantes technologiques

Test	Conditions expérimentales
Test 1: Témoin, sans enzyme rajoutée	I. Autolyse 24 h à 45 °C; II. Ajustement du pH la 3,5 utilisant HCl 1N, autolyse 24 h à 50 °C.
Test 2: au papaïne - 0,220 g %	I. Autolyse et hydrolyse enzymatique en présence de papaïne à $pH = 5,0$, 24 h à 45 °C; II. Autolyse et hydrolyse enzymatique en présence de papaïne à $pH = 3,5$, 50 °C, 24 h.
Test 3: au β -glucanase - 2,0 g %	I. Autolyse et hydrolyse enzymatique en présence de β -glucanase à $pH = 5,0$, 24 h à 45 °C; II. Autolyse et hydrolyse enzymatique en présence de β -glucanase, à $pH = 3,5$, 24 h à 45 °C.

Tableau 3. La dynamique des composés azotés durant l'autolyse et l'hydrolyse enzymatique par l'addition des enzymes exogènes à la levure de boulangerie

Caractéristique g/100 mL	Test 1			Test 2			Test 3		
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
Eau	99,48	92,44	91,44	99,12	92,22	91,43	99,47	92,27	91,08
Matière sèche	0,52	7,56	8,56	0,88	7,78	8,57	0,53	7,73	8,92
Azote total	0,046	1,054	1,090	0,083	1,114	1,155	0,048	1,078	1,148
Protéines totales	0,290	6,590	6,810	0,520	6,960	7,220	0,300	6,400	7,175
$N_{np}^{(1)}$	0,045	1,030	0,980	0,065	1,085	1,100	0,047	1,064	1,000
$N_a^{(2)}$	0,029	0,392	0,403	0,048	0,448	0,442	0,027	0,420	0,448
$N_{np}/N_t^{(3)} [\%]$	97,83	97,80	92,10	78,31	97,40	95,24	97,92	98,70	93,20
$N_a/N_{np} [\%]$	64,40	38,06	41,12	73,85	41,29	40,18	54,45	39,47	41,87
$N_a/N_t [\%]$	63,04	37,19	36,97	57,83	40,22	38,27	56,25	38,96	39,00

⁽¹⁾ - azote non protéique; ⁽²⁾ - azote aminique; ⁽³⁾ - azote total.

L'effet constaté après avoir rajouter une enzyme exogène (selon l'enzyme rajoutée et les conditions d'autolyse et hydrolyse enzymatique) a été apprécié en fonction du degré de solubilisation des composants cellulaires (la teneur en azote soluble dans l'acide trichloracétique, la valeur en aminoacides libres, en protéines solubles, en sucres réducteurs).

Les résultats présentés dans le tableau 3 et la figure 2 montrent que les enzymes utilisées ont été efficaces contre les composants cellulaires (protéines, glucides), mais leurs activités ont été différentes, selon l'enzyme rajoutée.

Tous les tests ont eu en commun une diminution de la capacité de rétention d'eau des composants de la levure, au fur et à mesure l'autolyse et l'hydrolyse; la quantité de l'extrait a augmenté nettement 24 h après le début de l'autolyse et discrètement dans l'étape d'autolyse et hydrolyse enzymatique par enzymes exogènes rajoutées.

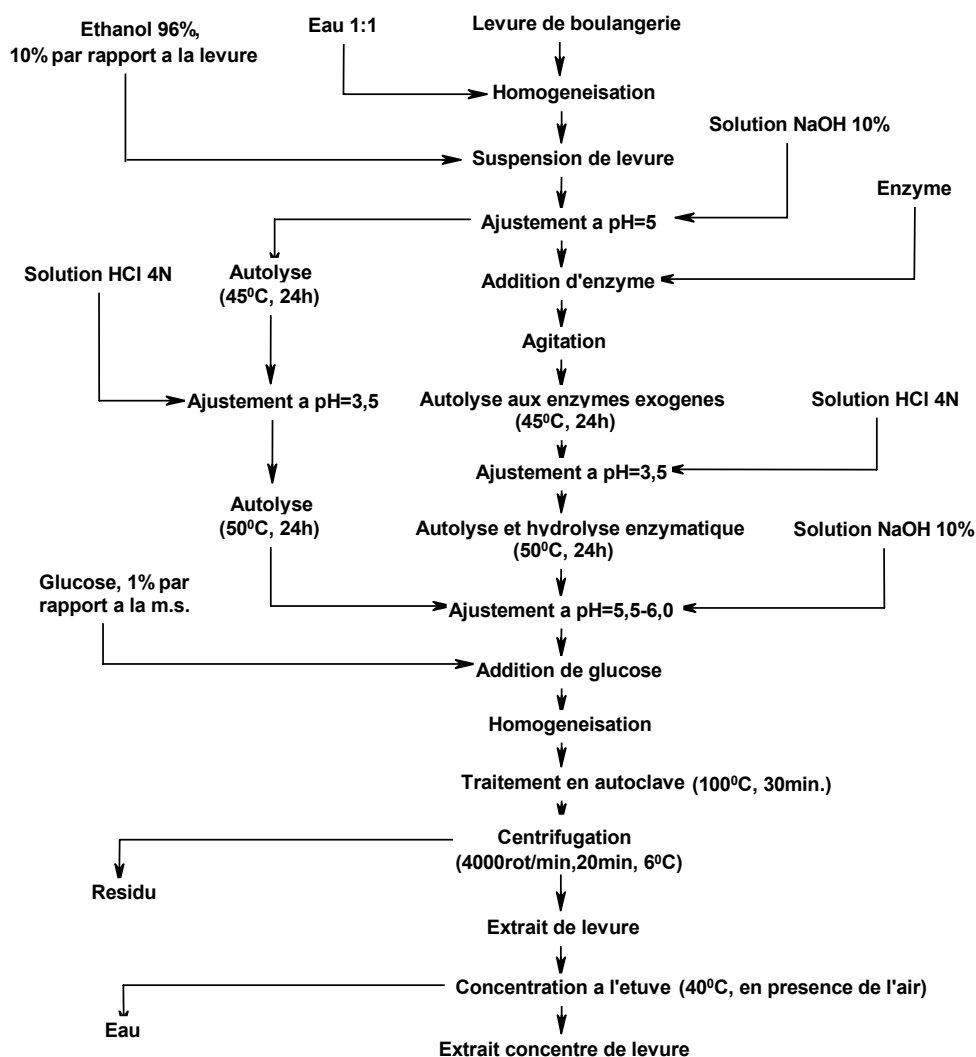


Figure 1. Le schéma technologique d'obtention de l'extrait de levure par autolyse et hydrolyse enzymatique par addition des enzymes exogènes

Les résultats présentés dans le tableau 3 concernant la variabilité des fractions de l'azote soluble nous permettent d'apprécier la levure de boulangerie utilisée ayant un équipement enzymatique complexe, extrêmement actif dans le processus d'autodestruction cellulaire. Les enzymes exogènes ont provoqué la désorganisation de la structure cellulaire, l'augmentation de la perméabilité membranaire, même la déchirure des parois cellulaires, permettant la diffusion des composants cellulaires à l'extérieur de la cellule. Elles ont déterminé également l'intensification des processus de l'hydrolyse, car la quantité des composés azotés et non azotés extraits ont dépassé ceux résultés par l'autolyse uniquement. Les augmentations ont été en rapport avec l'enzyme

utilisée. Les pourcentages concernant l'azote non protéique par rapport à l'azote total sont supérieurs à 90% ; dans les extraits de levure, l'azote est retrouvé donc comme azote soluble dans l'acide trichloracétique. La valeur la plus basse de l'azote non protéique par rapport à l'azote totale a été enregistrée dans le test témoin (l'autolyse). L'azote aminique a été évalué à plus de 40% de l'azote non protéique et à plus de 36,97% de l'azote totale. L'hydrolyse enzymatique à la papaine permet l'obtention des plus hauts niveaux d'acides aminés libres et sucres réducteurs.

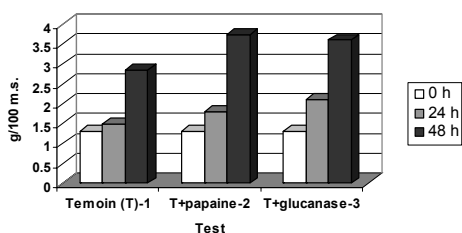


Figure 2. La dynamique des sucres directement réducteurs durant l'autolyse et l'hydrolyse

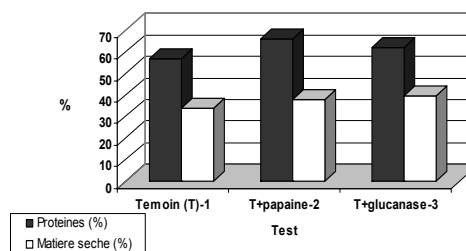


Figure 3. Les rendements de récupération des protéines et de la matière sèche

48 h après le début de l'autolyse et l'hydrolyse enzymatique, dans nos expériences, il existe plus de 58% de l'azote total de la levure au niveau du milieu externe (figure 3). Les extraits dilués des tests comportant autolyse et hydrolyse enzymatique ont été limpides, sans sédiment, colorés en jaune (différentes teintes); ceux provenant des tests comportant une autolyse uniquement ont présenté une discrète opalescence, une odeur spécifique de levure, ont été colorés en jaune clair.

A l'examen microscopique, la levure résiduelle résultant après l'autolyse et l'hydrolyse enzymatique aux enzymes exogènes, a présenté des modifications importantes de la configuration cellulaire. Les cellules de levure soumises en plus à l'hydrolyse enzymatique apparaissent nettement modifiées, ayant des parois irrégulières, une concentration du contenu cellulaire au centre de la cellule, parfois tout étant réduit aux corpuscules réfringents colorés faiblement en bleu clair. Toutes les cellules de levures ont été mortes.

Les caractéristiques organoleptiques et chimiques des extraits de levure sont présentées dans les tableaux 4 et 5.

Les produits analysés ont été des pâtes visqueuses, homogènes, colorés en marron, de différentes nuances selon le test, les teintes plus claires étant caractéristiques aux tests comprenant une addition des enzymes exogènes. Mises dans l'eau froide, les pâtes ont présenté une bonne solubilité, les solutions étant limpides (une discrète opalescence a été observée au témoin – l'autolyse). L'odeur ressentie des toutes les pâtes a été celui du caramel, une odeur discrète, agréable, mais les nuances d'odeur et de saveur ont été différentes, selon le test et la capacité d'analyse du dégustateur. Les extraits concentrés de levure aux propriétés d'aromatisation ont présenté une composition chimique complexe, une valeur augmentée en protéines, une valeur réduite en lipides et en sucres réducteurs et en NaCl résultant après la réaction chimique entre NaOH et HCl, substances rajoutées afin d'ajuster le pH. La majorité de l'azote présent au niveau des extraits

concentré de levure est non protéique. Les aminoacides libres offrent aux extraits concentrés de levure une grande valeur nutritive.

Tableau 4. Les caractéristiques organoleptiques des extraits concentrés de levure

Caractéristique	Les extraits de levure		
	1	2	3
Aspect général	Pâte visqueuse, fine, homogène	Pâte visqueuse, fine, homogène	Pâte visqueuse, fine, homogène
Couleur de la pâte	Marron clair	Marron foncé	Marron
Odeur de la pâte	Discrète, de levure et caramel	Discrète, de caramel et friture	Discrète, de caramel
Solubilité dans l'eau	Bonne, dans l'eau froide	Bonne, dans l'eau froide	Bonne, dans l'eau froide
Solution obtenue après la dilution	Discrètement opalescente, sans sédiment, coloré en marron - jaunâtre	Limpide, sans sédiment, coloré en marron	Limpide, sans sédiment, coloré en marron - jaunâtre
Flaveur	Spécifique à l'extrait de levure	Discrète de caramel, herbes, viande blanche bouillie	Odeur de l'extrait de viande, discrète odeur de champignons. Goût agréable de viande, discrètement doux

Tableau 5. La composition chimique des extraits concentrés de levure

Caractéristique	Extraits de levure					
	1		2		3	
	g %	g % m.s.	g %	g % m.s.	g %	g % m.s.
Eau	47,09	-	52,96	-	51,80	-
Matière sèche	52,91	100	47,04	100	48,20	100
Azote total	6,27	11,85	6,14	13,05	6,13	12,72
Protéines totales	39,19	74,06	38,37	81,58	38,31	79,50
Azote non protéique	5,44	10,28	5,39	11,46	5,46	11,33
Azote aminique	2,54	4,80	2,79	5,93	2,56	5,31
Glucides	0,56	1,06	0,68	1,46	0,53	1,14
NaCl	6,30	11,91	4,51	9,59	4,54	9,42
% Azote non protéique /Azote total	86,76	-	87,79	-	89,07	-
% Azote aminique /Azote total	40,50	-	45,44	-	41,76	-
% Azote aminique /Azote non protéique	46,69	-	51,76	-	46,89	-

CONCLUSIONS

1. La levure boulangère est une importante source de protéines aux fortes activités protéasiques et poliglucosidasiques qui favorisent l'autodestruction de la paroi cellulaire.

2. L'autolyse de levure associée à une hydrolyse enzymatique réalisée par des enzymes exogènes permet une meilleure disponibilité des constituants protoplasmiques, le contenu en azote cellulaire de l'extrait de levure étant de 60%.
3. Les enzymes utilisés (papaïne et β -glucanase) ont réagit sur la cellule de levure mais l'amplitude des modifications biochimiques a varié en fonction de l'enzyme utilisée.
4. Les caractéristiques chimiques des extraits de levure obtenues par autolyse et hydrolyse enzymatique et leur profile de goût et flaveur ont dépassé ceux obtenues par autolyse uniquement, mais elles ont varié selon l'enzyme exogène ajoutée.
5. Les différentes méthodes technologiques utilisées afin de réaliser l'autolyse et l'hydrolyse enzymatique par l'addition des enzymes exogènes (papaïne et β -glucanase) ont présenté une efficacité similaire en ce qui concerne la libération des constituants cellulaires. L'épreuves aux la β -glucanase ont permis l'obtention d'une arôme de viande plus puissante.
6. Les extraits de levure concentrés représentent une source riche en aminoacides, qui pourraient être utilisés avec succès tant que additifs permettant la fortification protéique des différents produits alimentaires et l'amélioration de l'arôme de viande.

RÉFÉRENCES

1. Anghel, I. et al.: *Yeasts Technology and Biotechnology* (in Romanian), Ed. Tehnică, București, **1991**;
2. Banu, C. et al.: *Biotechnologies in Food Industry* (in Romanian), Ed. Tehnică, București, **2000**;
3. Banu, C. et al.: *Additives and Ingredients for Food Industry* (in Romanian), Ed. Tehnică, București, **2000**;
4. Galzy, P., et al.: *Ind. Alim. Agric.*, **1996**, 656-662;
5. Izzo, V.H., et al.: *Journal Agric. Food Chem.*, **1991**, 39, 2245-2248;
6. Viță, C., Muscă, L., Segal, R.: *Laboratory Manual for Food Biochemistry* (in Romanian), "Dunărea de Jos" University, Galați, **1993**;
7. Werkhoff, P., et al.: *Journal Agric. Food Chem.*, **1990**, 38, 777-791;
8. Zhang Yuangang, et al.: *Journal Agric. Food Chem.*, **1988**, 36, 992-996;
9. Zhang Yuangang, et al.: *Journal Agric. Food Chem.*, **1989**, 37, 1016-1020;
10. * * * : *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition*, Academic Press, London, **1993**.