



## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

#### ผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากยีสต์

การใช้ผลิตภัณฑ์จากยีสต์ เพื่อวัตถุประสงค์ในการปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารนั้นมีใช้กันมาเป็นเวลานานแล้วในต่างประเทศ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีสมบัติดังกล่าวนี้จะแบ่งแยกออกเป็นประเภทต่าง ๆ กันได้ 2 ประเภท คือ

1. ผลิตภัณฑ์ยีสต์ผงผสมให้กลิ่นรส (Pepler, 1970)

เป็นผงยีสต์ที่ได้จากการทำแห้ง เมื่อใส่ในผลิตภัณฑ์อาหารจะทำหน้าที่เป็น carrier อย่างดีของกลิ่นรสในอาหาร เนื่องจากมีสมบัติในการดูดซับและสามารถกระจายตัวในอาหารได้ดี เมื่อนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาผ่านการรมควันจะให้กลิ่นรสคล้ายเบคอน นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ยีสต์ผงผสมที่ให้กลิ่นรสอื่นๆ อีก เช่น เนยแข็ง แอม มะเขือเทศ celery และ paprika เป็นต้น

2. สารสกัดจากยีสต์

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหลัก 3 กระบวนการ คือ

- 2.1 การย่อยสลายด้วยกรด (Reed และ Pepler, 1973; Pepler, 1970; Reed และ Nagodawithana, 1991)

เป็นการย่อยเซลลิวส์ด้วยกรดแก่ เช่น hydrochloric acid ร่วมกับความร้อนเพื่อย่อยสารโมเลกุลใหญ่ๆ ในเซลลิวส์ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ กรดนิวคลีอิก ให้อยู่ในรูปของสารโมเลกุลเล็กที่ละลายได้ ซึ่งมีกระบวนการโดยสังเขปดังนี้คือ นำยีสต์ที่ผ่านการทำแห้งหรือยีสต์สดที่มีน้ำหนักแห้งประมาณ 65 - 85 % มาเติม hydrochloric acid แล้วให้ความร้อนที่ 100 °C เวลาที่ใช้ขึ้นกับความเข้มข้นของกรด โดยปกติจะไฮโดรไลซ์จนกระทั่งปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนประมาณ 50 - 60 % จากนั้นทำให้เป็น

กลางด้วย sodium hydroxide กรองแยกส่วนที่ไม่ละลายออกแล้วทำให้เข้มข้น และนำไปทำแห้ง โดยวิธีลดพื้นที่ให้มีความชื้นสุดท้าย 3 - 5 % ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า ยีสต์ไฮโดรไลเสท ซึ่งประกอบด้วย เกลือ 40 % ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 13 % และ ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน 8 % (โดยน้ำหนัก) แต่เนื่องจากยีสต์ไฮโดรไลเสทมีสมบัติเหมือนกับไฮโดรไลเสทจากพืชซึ่งมีราคาถูกกว่า ยีสต์ไฮโดรไลเสทจึงไม่ได้รับความนิยมเท่าไฮโดรไลเสทจากพืช นอกจากนี้แม้การย่อยสลายด้วยกรดและความร้อนนี้จะให้ yield ในปริมาณสูง แต่ความรุนแรงของกรดจะทำให้เกิดการกัดกร่อนแก่ภาชนะที่ใช้ เป็นกระบวนการที่เสี่ยงต่ออันตราย กรดอะมิโนและวิตามินซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการถูกทำลาย และยังอาจเกิดสารพวกคลอรีเนต เช่น 3 - chloro - propanediol ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคด้วย

## 2.2 การสกัดด้วยสารเคมี (Peppler, 1970, และ Reed และ Nagodawithana, 1991)

เป็นการสกัดส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ ด้วยเกลืออนินทรีย์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ น้ำตาล อัลกอฮอล์ อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม โทลูอิน และ acetate esters เช่น ethyl acetate, amyl acetate ที่ความเข้มข้นสูง โดยไม่มีการทำงานของเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งในภาวะที่มีเกลือเข้มข้นสูงนั้น ยีสต์จะสูญเสียน้ำในเซลล์เพื่อรักษามวลของ osmotic pressure ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ไว้ เมื่อเซลล์สูญเสียน้ำมากขึ้น plasma membrane ของเซลล์จะแยกตัวออกจากผนังเซลล์และแตกออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้ เรียกว่า ยีสต์พลาสโมไลเสท แต่สารสกัดกลีเซอรอลซึ่งได้จากการพลาสโมไลส์ด้วยเกลือจะมีปริมาณเกลืออยู่สูง ทำให้เกิดข้อจำกัดเกี่ยวกับปริมาณการใช้ในสูตรอาหารที่ต้องการ

## 2.3 การย่อยสลายตัวเองของยีสต์ (Reed และ Peppler, 1973 ,Peppler, 1970, และ Johnson, 1977)

เป็นการย่อยสลายตัวเองโดยเอนไซม์ภายในเซลล์ของยีสต์เอง ซึ่งจะได้สารสกัดจากยีสต์ที่มีคุณภาพดีกว่า 2 กระบวนการแรก และการผลิตสารสกัดจากยีสต์ด้วยวิธีนี้ แม้จะควบคุมกระบวนการผลิตยากกว่า แต่เนื่องจากให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นใกล้เคียงกับสารสกัดจากเนื้อสัตว์ จึงได้รับความสนใจมากกว่าวิธีอื่นๆ

## การย่อยสลายตัวเองของยีสต์

ปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเองของยีสต์สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในไวน์ หรือ ผลิตภัณฑ์จากการหมักอื่นๆ ถ้าเซลล์ยีสต์ยังคงสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ที่เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์แล้ว (Reed และ Pepler, 1973) แต่สามารถกระตุ้นให้กระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์เกิดขึ้นได้เร็วโดยควบคุมภาวะต่างๆ ได้แก่ pH อุณหภูมิ เวลา และ สารเร่งการย่อยสลาย ให้เหมาะสม ซึ่งภายใต้ภาวะที่เหมาะสมแก่การย่อยสลายตัวของยีสต์นี้ ระบบเอนไซม์สำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมเมตาบอลิซึมของยีสต์จะทำงานผิดปกติไป ส่งผลให้เซลล์ยีสต์ตาย เอนไซม์ภายใน vacuole ซึ่งอยู่ใน cytoplasm ถูกปล่อยออกมาย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน และ กรดนิวคลีอิก ไปเป็นสารโมเลกุลเล็กที่สามารถละลายได้ ทำให้ผนังเซลล์สูญเสียสภาพที่เป็น semi-permeable membranes และปล่อยให้สารประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ออกมาภายนอกได้ (Reed และ Nagodawithana, 1991)

กระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์มีกรรมวิธีโดยสังเขปดังนี้ นำยีสต์ซึ่งยังมีชีวิตที่มีปริมาณของแข็งประมาณ 15 % มาปรับ pH ประมาณ 5.5 แล้วให้ความร้อนที่ 45 - 50 °C เป็นเวลา 24 - 36 ชั่วโมง (Reed และ Nagodawithana, 1991) หรือจนกระทั่งปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนประมาณ 50 % ทำให้เย็นลงและอาจกรองหรือเหวี่ยงแยกเอาส่วนที่เป็นผนังเซลล์ออกก่อนนำมาผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ เพื่อหยุดแอกติวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 80 - 90 °C ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการแยกเอาผนังเซลล์ออก เรียกว่า ออโตไลส์ยีสต์ ซึ่งประกอบด้วยส่วนของผนังเซลล์ประมาณ 50 % ของปริมาณของแข็งทั้งหมด ส่วนผลิตภัณฑ์ที่แยกผนังเซลล์ออกแล้ว เรียกว่า ยีสต์ออโตไลเสท (Pepler, 1970) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยส่วนประกอบภายในเซลล์ ได้แก่ กรดอะมิโน โปรตีน นิวคลีโอไทด์ โพลีเปปไทด์ ไกลโคเจน น้ำตาล วิตามินบี ทรีฮาโลส และ สารให้กลิ่นรส (Goossens, 1974)

การย่อยสลายตัวเองของยีสต์เริ่มจากการทำงานของเอนไซม์  $\beta(1-3)$ -glucanase และ protease โดยมี  $\beta(1-6)$ -glucanase และ mannanase ร่วมในการย่อยผนังเซลล์ด้วย เอนไซม์ดังกล่าวเป็นเอนไซม์ภายใน vacuole ซึ่งในภาวะปกติ glucanase และ mannanase เป็นเอนไซม์ที่ยีสต์ใช้ย่อยผนังเซลล์ในกระบวนการแตกหน่อ ส่วน protease มีหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนที่เซลล์ไม่ต้องการแล้วเป็นกรดอะมิโนเพื่อใช้สังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ต่อไป จากการศึกษาชนิดของเอนไซม์ protease ในระหว่างการย่อยสลายตัวเองของยีสต์พบว่าเอนไซม์ protease ที่เกี่ยวข้องมากกว่า 40 ชนิด แต่มีเพียง 4 ชนิดเท่านั้นที่เป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการดังกล่าวคือ

Proteinase ysc A, Proteinase ysc B, Carboxypeptidase ysc Y และ Carboxypeptidase ysc S (Reed และ Nagodawithana, 1991) ซึ่งเป็นพวก glycoprotein มี glucose และ mannose เป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนแตกต่างกัน (Maddox และ Hough, 1970) โดยมี Proteinase ysc A อยู่ในปริมาณมากที่สุดและทำหน้าที่ย่อยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5,000 ดาลตัน ที่ได้จากการย่อยโปรตีนโมเลกุลใหญ่ของเอนไซม์ชนิดอื่นๆ ไปเป็นกรดอะมิโนหรือเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ ภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดจะแตกต่างกันออกไปในยีสต์ต่างสายพันธุ์กัน หรือแม้กระทั่งยีสต์ในสายพันธุ์เดียวกันที่มีภาวะในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (Hough และ Maddox, 1970)

Lee และคณะ (1981) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์ต่อโตไลสเตทที่ได้จากการย่อยสลายเป็นเวลา 4 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง พบว่าความชื้นลดลงจาก 52.36 % เป็น 33.37 % โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 16.35 % เป็น 42.40 % น้ำตาลเพิ่มขึ้นจาก 5.85 % เป็น 7.38 % ไขมันเพิ่มขึ้นจากน้อยมากเป็น 0.7 % และเถ้าลดลงจาก 24.92 % เป็น 16.08 % จำนวนของแข็งที่สกัดได้คือ อะมิโนไนโตรเจน กรดอะมิโน โดยเฉพาะกรดกลูตามิก อะลานีนและไลซีนจะเพิ่มสูงขึ้น และกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์จะเปลี่ยนจาก beany เป็น meaty

แต่อย่างไรก็ตามการย่อยสลายตัวเองของยีสต์เนื่องจากเอนไซม์ภายในเซลล์ของยีสต์เอง ต้องใช้เวลานาน จึงมีผู้พยายามเร่งการย่อยสลายนี้ด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งพอสรุปได้ 3 วิธีดังนี้

- การใช้แรงกล ได้แก่ high pressure homogenization และ การบดด้วย colloid mill (Maltz, 1981)
- การใช้สารเคมีที่มีสมบัติเป็น plasmolyzing agents (Peppler, 1970, และ Reed และ Nagodawithana, 1991) หรือเอนไซม์ (Knorr และคณะ, 1979, และ Chao และคณะ, 1980)
- การใช้วิธีอื่นๆ ได้แก่ sonic disintegration, repeated freeze-thaw cycle (Maltz, 1981) และ thermal shock (Cardini และ Zotti, 1976)

วิธีการที่กล่าวมานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผนังเซลล์ของยีสต์สูญเสียสภาพปกติไป ปล่องให้องค์ประกอบในเซลล์ออกมาออกเซลล์ได้ การย่อยสลายจึงเกิดได้เร็วขึ้น และวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดคือ การใช้สารเคมีที่มีสมบัติเป็น plasmolyzing agents หรือเอนไซม์ เนื่องจากสะดวกและประหยัดกว่าวิธีอื่นๆ ซึ่งจำเป็นต้องมีเครื่องมือเฉพาะและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูงกว่า

## กระบวนการผลิตยีสต์อโตไลเอส

ความพยายามในการปรับปรุงกระบวนการผลิตเพื่อให้ใช้เวลาสั้นลง และได้ผลิตภัณฑ์ยีสต์อโตไลเอสที่มีคุณภาพดีนั้น ได้มีการศึกษามานานแล้ว โดยในปี ค.ศ. 1948 บริษัท Abel & Imray จดลิขสิทธิ์วิธีการผลิตสารสกัดจากยีสต์ที่มีคุณภาพดี ให้ผลผลิตสูงและประกอบด้วยเอนไซม์และวิตามินในปริมาณสูง โดยนำยีสต์ขมปังมาทำให้เกิดการย่อยสลายตัวเองโดยผลผลิตเกลือแกง 2 - 4 % ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 57 - 67 °C เป็นเวลาอย่างน้อย 40 ชั่วโมง นำของผลผลิตที่ได้มาแยกผนังเซลล์ของยีสต์ออกโดยการแยกเหวี่ยงหรือการกรอง นำของเหลวใสที่ได้มาระเหยจนได้ความเข้มข้นตามต้องการ กระบวนการนี้จะไม่ทำลายเอนไซม์ วิตามิน และ กรดอะมิโน และช่วยให้เอนไซม์สามารถย่อยสลายโปรตีนได้อย่างรวดเร็วทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นรสดี

Pepler (1970) รายงานถึงกรรมวิธีการผลิตยีสต์อโตไลเอส โดยนำยีสต์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณ 15 - 18 % มาทำให้พลาสโมไลซ์ด้วยเกลือ คลอโรฟอร์ม หรือ ethyl acetate ประมาณ 3 - 5 % แล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเป็น 45 - 50 °C ควบคุมให้คงที่ เป็นเวลา 12 - 24 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้ปริมาณแอลกอฮอล์ในไนโตรเจนตามต้องการ จากนั้นนำของผลผลิตที่ได้มาพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 - 90 °C ทำให้เย็นแล้วกรอง นำไประเหยให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศจนกระทั่งได้สารละลายเข้มข้นที่มีปริมาณของแข็ง 70 - 80 % หรือนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งชนิดลูกกลิ้งหรือชนิดฉีดย่น ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความชื้น 3 - 5 %

Robbins และคณะ (1975) ผลิตสารสกัดจากยีสต์โดยใช้วิธีการสกัดด้วยค่างร่วมกับการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ยีสต์ดังนี้ นำยีสต์ที่ผ่านการทำให้เซลล์แตกโดยการโอโมจิไนซ์ มาปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 8 - 11 จากนั้นปรับอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 0 - 60 °C เป็นเวลา 5 - 60 นาที เหวี่ยงแยกหรือกรองเพื่อเอาส่วนของผนังเซลล์ออก ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5 - 8 อุณหภูมิ 40 - 60 °C เพื่อกระตุ้นการทำงานของ nuclease ทิ้งไว้ 15 - 20 นาที เหวี่ยงแยกเอาส่วนที่ไม่ละลายออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็น Natural-flavoured yeast extract ซึ่งมีองค์ประกอบโดยน้ำหนักแห้ง ดังนี้ โปรตีน 40 - 45 % กรดนิวคลีอิก 7 - 14 % ไขมัน 0.5 - 1.5 % คาร์โบไฮเดรต 10 - 35 % และเถ้า 17 - 25 % เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 - 95 °C pH ประมาณ 5 และกวนเป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วทำให้เข้มข้นขึ้นจนมีปริมาณของแข็งประมาณ 60 % จะให้กลิ่นเนื้อมัน

Cardini และ Zotti (1976) ทดลองทำ thermal shock ยีสต์ที่มีปริมาณของแข็ง ทั้งหมด 5 - 15 % ด้วยการใช้เครื่องทำแห้งชนิดฉีดยิ่ง ซึ่งมีอากาศหรือก๊าซเฉื่อยเป็นตัวกลางนำ ความร้อน (อุณหภูมิของอากาศหรือก๊าซเฉื่อยที่เข้าเครื่องทำแห้งเท่ากับ 200 - 250 °C) ระยะ เวลาที่ยีสต์สัมผัสกับตัวกลาง 5 - 20 นาที ได้ผงยีสต์แห้งอุณหภูมิ 30 - 90 °C ความชื้น 5 - 8 % เมื่อนำมาช่ย่อยสลายจะได้ yield ปริมาณมากกว่าและมีปริมาณไนโตรเจนสูงกว่า เนื่องจากใน ระหว่างการทำแห้ง น้ำภายในเซลล์ยีสต์จะถูกดึงออกไป ทำให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหาย เซลล์ยีสต์ จึงมีความไวต่อการย่อยสลายมากขึ้น

Sugimoto และคณะ (1976) พัฒนาระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เพื่อให้ได้ ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสดี ได้ yield สูงและใช้เวลาสั้น ด้วยการเติม sodium hydroxide 2 - 10 % (w/v) และ ethanol 1 - 9 % (v/v) โดยอาจจะเติมตัวใดตัวหนึ่งก่อนแล้วจึงเติมตัวที่เหลือหรือ เติมพร้อมกัน เพื่อให้เกิดการพลาสโมไลส แล้วจึงปรับอุณหภูมิเป็น 30 - 70 °C pH 3 - 8 เพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นกวนเบาๆ เป็นเวลา 4 ชั่วโมงขึ้นไป เมื่อต้องการหยุด การย่อยสลายนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ขึ้นไป จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสของเนื้อที่ดี

Belikov และคณะ (1977) ผลิตภัณฑ์อโตไลเสทโดยการให้ความร้อนแก่ยีสต์ในภาวะ ที่มี การเติมส่วนผสมของ ethyl acetate และ กรดคาร์บอกซิลิก ในอัตราส่วน 0.1 - 1.5 : 0.1 - 1.0 ได้ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย กรดอะมิโน (L-form) และ เปปไทด์ปริมาณสูง ต่อมา Belikov และคณะ (1979) เสนอวิธีการผลิตยีสต์อโตไลเสทเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร โดยนำยีสต์ที่มีปริมาณของแข็งประมาณ 20 % มาเติมเอทานอล 0.6 - 2.75 % แล้วให้ความร้อน ที่ 60 °C ได้ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย กรดอะมิโน และ เปปไทด์ปริมาณสูงเช่นกัน

บริษัท Ajinomoto (1982) พบว่า การใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดมาลิก กรดออกซาลิก และกรดซิตริก สามารถช่วยเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ได้

Knorr และคณะ (1979) ทดลองผลิตยีสต์อโตไลเสทโดยใช้เอนไซม์จากภายนอกช่วย เร่งการย่อยสลายดังนี้ ละลายยีสต์ในสารละลาย phosphate buffer ที่ pH 7.5 (2.5 % w/v) เติม lysozyme และ zymolase ลงไปเพื่อย่อยผนังเซลล์แล้วจึงปล่อยให้เกิดการย่อยสลาย ที่ pH 9.0 ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 80 % ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในเซลล์ยีสต์ ภายในเวลา 90 นาที นอกจากนี้ยังได้ทดลองเติม pancreatin หรือ pronase ซึ่งเป็นเอนไซม์ ย่อยโปรตีนลงไป หลังจากเติม lysozyme และ zymolase แล้วเป็นเวลา 30 นาที เพื่อ

เร่งการย่อยสลายให้สูงขึ้นอีก พบว่าภายในเวลา 60 นาที มีการย่อยสลายโปรตีนในยีสต์เกิดขึ้นมากกว่า 80 % ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าเมื่อไม่มีการเติมเอนไซม์ย่อยโปรตีน

Chao และคณะ (1980) ทดลองใช้เอนไซม์จากภายนอกช่วยในการผลิตยีสต์อโตไลสเทจาก *Candida utilis* ซึ่งเป็นยีสต์ที่เกิดการย่อยสลายตัวเองยากกว่ายีสต์ชนิดอื่น โดยนำยีสต์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 15 % มาเติมเอนไซม์ต่างๆ และเติม ethyl acetate เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรียที่ปนเปื้อน ผสมให้เข้ากัน แล้วปล่อยให้เกิดการย่อยสลาย ที่ 55 °C pH 6 นาน 24 ชั่วโมง พบว่า เอนไซม์ในกลุ่ม sulphhydryl proteases ซึ่งได้แก่ papain, ficin และ bromelain ช่วยเร่งการย่อยสลายมากที่สุด โดย papain มีประสิทธิภาพสูงสุดในกลุ่ม ส่วน pancreatin และ aspergillus protease ซึ่งเป็นเอนไซม์ผสมให้ผลในการเร่งการย่อยสลายอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ rennin, pepsin และ trypsin ไม่มีผลในการเร่งการย่อยสลาย ทั้งนี้เพราะ optimum pH ของเอนไซม์ทั้งสาม คือ 2.0, 3.5 และ 8.0 ตามลำดับ และภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลาย คือ ปริมาณเอนไซม์ 0.1 - 1.0 % โดยน้ำหนัก อุณหภูมิ 40 - 60 °C pH 5.0 - 7.5 และเวลา 2 - 24 ชั่วโมง

Birch และคณะ (1981) รายงานถึงการใช้ Alcalase<sup>®</sup> 0.6 L ในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ โดยใช้ยีสต์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณ 15 - 18 % และเอนไซม์ 0.2 % โดยน้ำหนักของโปรตีน ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 50 °C pH 8.0 เป็นเวลา 12 - 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ yield (ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด) ได้อีก 10 % สำหรับ baker's yeast และ 5.2 - 17.9 % สำหรับ brewer's spent yeast

Hill (1981) ทดลองเติมกรดไขมันและกลีเซอไรด์เพื่อเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ พบว่า การเติมกรดไขมันและกลีเซอไรด์ ให้ผลดีกว่า ethyl acetate, toluene, carbon tetrachloride และ trichloroethylene และเมื่อศึกษาชนิดของกรดไขมันพบว่าควรรใช้กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอยู่ในช่วง 4 - 14 อะตอม ภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายของ Hill คือ ใช้ยีสต์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 10 - 20 % เกลือ 0.1 - 1.0 % กรดไขมัน และ/หรือ กลีเซอไรด์ 0.3 - 15 % อุณหภูมิ 20 - 60 °C เวลา 6 - 36 ชั่วโมง และ ถ้าทำ thermal shock ยีสต์ด้วยอุณหภูมิ 60 - 90 °C เวลา 1 - 120 นาที ก่อนการย่อยสลายจะสามารถลดปริมาณกรดไขมันที่ใช้ลงเหลือเพียง 0.03 % สำหรับกรดไขมันที่ให้ผลดีได้แก่ capric acid, caprylic acid หรือกลีเซอไรด์ของมันหรืออาจจะใช้กรดไขมันทั้ง 2 ตัวร่วมกันก็ได้

Akin และ Murphy (1981) พบว่าการเติม thiamine และ pyridoxine สามารถเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ได้ ปริมาณที่แนะนำให้ใช้คือ thiamine 0.05 - 0.8 % และ pyridoxine 0.05 - 0.2 %

Godfrey และ Reichelt (1983) รายงานถึงกระบวนการผลิตสารสกัดจากยีสต์โดยอาศัยเอนไซม์จากภายนอกช่วย เอนไซม์ที่แนะนำให้ใช้ ได้แก่ papain และ protease จากจุลินทรีย์โดยมีกระบวนการโดยสังเขป ดังนี้ นำยีสต์ที่มีปริมาณของแข็ง 28 % ประมาณ 600 กรัม เกลือ 35 กรัม และ papain 0.4 กรัม โดยให้มีปริมาตรรวม 1 ลิตร ปรับส่วนผสมให้มี pH 5.0 ค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิถึง 55 °C ภายในเวลา 5 - 8 ชั่วโมง และควบคุมไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดการพลาสโมไลส และการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เพิ่มอุณหภูมิขึ้นไปถึง 70 °C และควบคุมไว้เป็นเวลา 15 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ นำส่วนผสมไปเหวี่ยงแยกผนังเซลล์ทิ้งไป นำส่วนใสไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 - 75 °C เป็นเวลา 2 - 5 ชั่วโมง แล้วนำไปประเหยให้เข้มข้นภายใต้สุญญากาศจนได้ปริมาณของแข็ง 30 % กรองและระเหยต่อไปจนได้ความเข้มข้นตามต้องการ

Basappa และคณะ (1986) ทดลองผลิตสารสกัดจากยีสต์ โดยการใช้ sodium chloride, sodium hydroxide, hydrochloric acid, sulphuric acid และเอนไซม์ ( xylanase, papain และ glucanase ) เป็นตัวไฮโดรไลสหรือเร่งการย่อยสลายตัวเองของเซลล์ยีสต์ จากนั้นนำ yeast extract ที่ได้มา reflux กับ hydrochloric acid 0.1 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 87 °C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำมาเหวี่ยงแยกส่วนที่เป็นผนังเซลล์ออก และปรับให้เป็นกลางด้วย sodium hydroxide 10 นอร์มัล ผ่าน cation exchanger เพื่อกำจัด hydrochloric acid ที่เหลืออยู่ กรองและทำแห้งด้วยระบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 °C พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณค่าทางโภชนาการเป็นที่น่าพอใจ แต่กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ยังไม่ดีเท่าที่ควร

ชินจิตต์ (2528) ทดลองผลิตสารสกัดจากยีสต์ โดยบ่มที่อุณหภูมิ 40 - 50 °C นาน 48 ชั่วโมง และใช้ papain ที่ระดับ 0.1 % (โดยน้ำหนักโปรตีน) เพื่อเร่งการย่อยสลาย พบว่า yeast extract ที่ผลิตได้มีปริมาณไนโตรเจน 10.86 % (โดยน้ำหนักแห้ง) และมีปริมาณวิตามิน บีสอง 11.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม



จตุพร (2531) ทดลองผลิตอีสต์ออโตไลสเทท โดยใช้ bromelain และ papain เพื่อเร่งการย่อยสลาย พบว่าการใช้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด ที่ระดับ 0.1 % เวลา 12 ชั่วโมง ให้ผลดีกว่าไม่ใช้เอนไซม์ หรือ ใช้ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ และเมื่อทดลองใช้ thiamine และ pyridoxine หรือ การใช้ร่วมกันเพื่อเร่งการย่อยสลาย พบว่า ไม่แตกต่างจากการไม่ใช้วิตามินดังกล่าว เนื่องจากในการทดลองมีการเติมสารอื่นๆ ได้แก่ sodium chloride, glucose และ อัลกอฮอล์ ซึ่งมีผลให้การย่อยสลายเกิดเร็วอยู่แล้ว

สำหรับอีสต์ออโตไลสเททที่ผลิตจากยีสต์ที่ใช้ผลิตเบียร์พบว่าจะมีรสขม เนื่องจาก hops ที่ใช้ในกระบวนการผลิตเบียร์ (Cogman และ Sarant, 1977) สารให้รสขมดังกล่าวนี้คือ humulones หรือ isohumulones โดยในภาวะที่เป็นด่าง (pH ประมาณ 9) จะอยู่ในรูป isohumulones ซึ่งละลายน้ำได้ แต่ในภาวะที่เป็นกรดหรือกลาง (pH ต่ำกว่า 7) จะอยู่ในรูป humulones ซึ่งไม่ละลายน้ำ (Reed และ Nagodawithana, 1991) ดังนั้นเพื่อให้ได้ยีสต์ออโตไลสเททที่มีคุณภาพดี จึงต้องมีการกำจัดรสขมนี้ออกไปซึ่งอาจทำได้โดยใช้วิธีต่างๆ เช่น การล้างเซลล์ยีสต์ด้วยด่างที่ pH 9 ก่อนการย่อยสลาย, ion exchange chromatography และ exclusion chromatography เป็นต้น (Godfrey และ Reichelt, 1983) นอกจากนี้ในปี ค.ศ. 1978 West ได้เสนอวิธีการกำจัดรสขม โดยให้ยีสต์ออโตไลสเททได้สัมผัสกับ adsorbent material ซึ่งประกอบด้วย adsorbent และ magnetic particle ที่ฝังอยู่ใน porous matrix of organic polymeric material ซึ่งมีขนาด pore อยู่ในช่วง 2-3 นาโนเมตร adsorbent particle ที่ใช้ได้แก่ carbon, alumina, silica gel, activated magnesium silicate, clays และ mineral powder เป็นต้น

การนำอีสต์ออโตไลสเททไปใช้ในสูตรอาหาร เพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสนั้นสามารถปรับปรุงรสชาติให้ดีขึ้นได้โดยการเติม disodium guanosine-5'-monophosphate (GMP) หรือ disodium inosine-5'-monophosphate (IMP) ซึ่งทั้ง GMP และ IMP นั้นสามารถเกิดขึ้นได้จากการย่อยสลาย RNA ของยีสต์เองอยู่แล้ว แต่ในกระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์โดยทั่วไป RNA จะไม่ถูกเปลี่ยนแปลงไปมากนัก GMP และ IMP จึงมีอยู่ในปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถส่งผลกระทบต่อคุณภาพของอีสต์ออโตไลสเททได้ Tanekawa และคณะ (1981) พบว่าประมาณ 50 - 80 % ของ RNA ภายในเซลล์ยีสต์ยังไม่ถูกเปลี่ยนแปลงในกระบวนการย่อยสลาย ในขณะที่โปรตีนถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์จนเกือบหมด และในภาวะของการย่อยสลายซึ่งมี pH อยู่ในช่วง

6.2 - 6.4 นั้น RNA ภายในเซลล์จะสามารถสกัดออกมาได้โดยการให้ความร้อน และเมื่อนำยีสต์อโตไลสที่ผ่านการสกัด RNA แล้วมาย่อยสลายด้วย 5' phosphodiesterase และ AMP deaminase จะได้ยีสต์อโตไลสที่ประกอบด้วย GMP และ IMP ซึ่งมีคุณภาพดีขึ้น จึงได้เสนอกรรมวิธีการผลิต ยีสต์อโตไลสชนิดขึ้นใหม่ โดยเริ่มจากย่อยสลายยีสต์ที่ pH 6.2 - 6.4 อุณหภูมิ 30 - 60 °C เป็นเวลา 10 - 30 ชั่วโมง นำยีสต์อโตไลสที่ได้มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 - 100 °C นาน 1 - 3 ชั่วโมงเพื่อสกัด RNA ทำให้เย็นลง แล้วเติม 5' phosphodiesterase และ AMP deaminase ลงไปเพื่อย่อย RNA เมื่อได้ GMP และ IMP ตามต้องการแล้วนำมาแยกส่วนที่ไม่ละลายออก

#### การเกิดกลิ่นรสในยีสต์อโตไลส

เมื่อนำสารสกัดจากยีสต์หรือยีสต์อโตไลสมาให้ความร้อน เพื่อทำให้เข้มข้นและทำแห้งต่อไปนั้น ในระหว่างการให้ความร้อน องค์ประกอบตามธรรมชาติของเซลล์ เช่น thiamine, ไขมัน และองค์ประกอบต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายตัวเอง เนื่องจากการย่อยโปรตีนคาร์โบไฮเดรตและกรดนิวคลีอิก เช่น กรดอะมิโน glucose ribose-5-phosphate และ ribose จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อน หรือปฏิกิริยาต่างๆ ภายในอิทธิพลของความร้อนทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้เป็นจำนวนมาก (Ames และ MacLeod, 1985) ยีสต์อโตไลสจึงมีสมบัติเป็นสารให้กลิ่นรส cheesy, meaty หรือ savory แก่อาหาร ซึ่งกลิ่นรสที่ได้นี้จะแตกต่างกันออกไปตามภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย (Dziezak, 1987) ระดับการย่อยสลายโปรตีน และชนิดของยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิต ยีสต์อโตไลสที่จัดว่ามีคุณภาพและกลิ่นรสดีนั้นได้จากยีสต์ขมปังหรือยีสต์ที่ใช้หมักเครื่องดื่ม ส่วน *Candida utilis* ซึ่งเป็นยีสต์ที่นิยมใช้ในการผลิต single cell proteins นั้น สามารถใช้ผลิตยีสต์อโตไลสได้แต่ไม่นิยมเพราะผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นรสด้อยกว่า (จตุพร, 2531)

การเปลี่ยนแปลงหรือปฏิกิริยาสำคัญที่เกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อนแก่ยีสต์อโตไลส ซึ่งส่งผลให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้ เป็นสาเหตุให้เกิดกลิ่นต่างๆ ได้แก่

1. Maillard reaction (Wong, 1989; Fennema, 1985; Zapsalis และ Beck, 1985)

เป็นปฏิกิริยาที่เริ่มจากปฏิกิริยาการควบแน่นของน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือโปรตีน ในภาวะที่เป็นกรดและมีความชื้นต่ำ โดยเกิด Schiff base ระหว่าง carbonyl group ของน้ำตาลรีดิวซ์กับ amino group ของโปรตีนเป็น glycosylamine จากนั้นผ่าน Amadori rearrangement เกิดเป็น 1-Amino-1-deoxy-2-ketose ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อไป ได้ 2 กรณี คือ

1.1 เกิด 2,3 enolization ได้เป็น methyl- $\alpha$ -dicarbonyl intermediate จากนั้นเกิด enolization อีกครั้ง ได้เป็น  $\alpha$ - $\beta$  unsaturated dicarbonyl แล้วจึงเกิด hydrolytic fission ได้เป็น dicarbonyl product และ reductones หรือ เกิด cyclization ได้เป็น o-heterocyclic compound พวก furanone ซึ่งให้กลิ่นหอมของคาราเมล

1.2 เกิด enolization, dehydration และ hydrolysis เกิดเป็น 3-deoxyglycosulose จากนั้นเกิด dehydration และ cyclodehydration ได้เป็น hydroxymethyl furfural ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยากับ amines เกิดเป็น melanoidin ต่อไป

นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์หลายชนิดที่เกิดขึ้นจาก Maillard reaction ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาซึ่งจะให้ผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นต่างๆ ได้อีก ดังจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

2. Strecker degradation (Wong, 1989; Fennema, 1985; Zapsalis และ Beck, 1985)

เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyl compound ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับ  $\alpha$ -amino group ของกรดอะมิโนเกิด Schiff base, enolization ได้เป็น enaminal ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ 2 กรณี คือ

2.1 เกิด self condensation ได้เป็น browning polymer

2.2 เกิด hydrolysis ได้เป็นอัลดีไฮด์ของกรดอะมิโน และ amine ซึ่งจะเกิด cyclization หรือ condensation ได้เป็น pyrrole หรือ pyrazine ต่อไป

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยานี้จะทำให้เกิดกลิ่นต่างๆ ในอาหารที่ได้รับความร้อนทั่วไป



3. Thermal degradation (Ames และ Mac Leoad, 1985; Wong, 1989; และ Fennema, 1985)

เป็นปฏิกิริยาการสลายตัวเนื่องจากความร้อนขององค์ประกอบต่างๆ ใน yeast autolysate ที่สำคัญได้แก่ thiamine และ กรดอะมิโน ซึ่ง thiamine จะสลายตัวเกิดเป็น สารประกอบที่ระเหยได้ต่างๆ เช่น 2-methylfuran, formic acid, 2-methylfuran-3-thiol, 2-methyltetrahydrothiophen-3-one, 2-methylthiophen, 2-methyl-4-amino-5-hydroxymethyl pyrimidine และ 4-methyl-5-(*p*-hydroxyethyl) thiazole เป็นต้น ส่วนกรดอะมิโนเช่น cystine จะสลายตัวเป็น อัลดีไฮด์ แอมโมเนีย และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น

นอกจากปฏิกิริยาที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาดังกล่าวยังเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นเฉพาะตัวอื่นๆ อีก เช่น

ปฏิกิริยาระหว่าง อัลดีไฮด์ แอมโมเนีย และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (จากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของ cystine) กับ acetoin (จาก Maillard reaction) เกิดเป็น thiazoline ซึ่งให้กลิ่นเนื้อ (Fennema, 1985)

ปฏิกิริยาระหว่าง 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)furanone กับ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เกิดเป็น mercapto-substituted furans และ thiophenes ซึ่งให้กลิ่นเนื้อ เช่น 4-mercapto-2-methylfuran, 3-mercapto-2-methyl-4,5-dihydrofuran, 4-mercapto-3-oxo-tetrahydrofuran, 3-mercapto-2-methyl-thiophene, 4-mercapto-2-methyl-2,3-dihydrothiophene, 3-mercapto-4-hydroxy-2-methyl-2,3-dihydrothiophene เป็นต้น (Ames และ Mac Leoad, 1985, และ Wong, 1989)

ประเภทของสารให้กลิ่นรสที่พบในฮีสต์อโตไลเสทอาจสรุปได้ดังนี้ (Schmidt, 1987)

- สารอินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ โซเดียม โปตัสเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ ฟอสเฟต และ ซัลเฟต
- สารอินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ และ เปปไทด์
- สารอินทรีย์ที่ให้กลิ่น ได้แก่ aliphatic acids, aromatic acids, esters, carbonyl compounds, heterocyclic compound (N,O,S), phenolics, pyrazines และ hydroxyl compounds

นอกจากนี้ Ames และ MacLeod (1985) พบว่า ในอีสต์อโตไลเลทมีสารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นเนื้อเช่นเดียวกับที่พบในเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหุงต้มแล้วอยู่ 4 ชนิด คือ dimethyl disulfide, pentane 2,3 dione, 2 methylfuran และ 5 methyl-1-furaldehyde

### การใช้อีสต์อโตไลเลทเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

อีสต์อโตไลเลทเป็นวัตถุดิบสำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อในอเมริกา (Goossens, 1974) ซึ่ง precursors ของสารให้กลิ่นรสในอีสต์อโตไลเลทเกิดจากองค์ประกอบต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายหรือที่มีอยู่แล้วในเซลอีสต์ และเมื่อให้ความร้อนแก่อีสต์อโตไลเลทเพื่อทำให้เข้มข้น precursor ดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ได้เป็นสารให้กลิ่นรสออกมา การใช้อีสต์อโตไลเลทในอาหารจะเป็นการเพิ่มกลิ่นรสให้แก่อาหารเป็นอย่างมาก เนื่องจากกรดอะมิโนและน้ำตาลไรโบสในอีสต์อโตไลเลทสามารถทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบของอาหารในระหว่างการหุงต้มได้อย่างอิสระ ทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้ขึ้นเป็นจำนวนมาก (Grace, 1974)

Gasser (1972) ผลิตสารให้กลิ่นรสของเนื้อ โดยการเติมเอนไซม์จากเนื้อลงในอีสต์อโตไลเลทที่มีความเข้มข้น 25 % และ hexose 1.5 % ( ปริมาณอีสต์อโตไลเลทต้องมากกว่าน้ำตาล 15 เท่า ) ควบคุมสารละลายให้มี pH ในช่วง 4-6 อุณหภูมิต่ำกว่า 37 °C หรือ pH 6 - 7 อุณหภูมิต่ำกว่า 15 °C โดย sodium hydroxide กรดกลูตามิก กรดแอสปาทิก หรือ hydrochloric acid เป็นเวลาอย่างน้อย 48 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณของแข็งไม่น้อยกว่า 65 % ปรับ pH ให้เป็น 6 - 6.4 นำมาให้ความร้อนที่ 90 - 100 °C อย่างน้อย 15 นาที ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสคล้ายเนื้ออบ สำหรับเอนไซม์จากเนื้อดังกล่าวเตรียมได้จากเนื้อสดโดยใช้เนื้อสดที่ผ่านการฆ่าไม่เกิน 24 ชั่วโมง 3 - 5 % โดยน้ำหนัก ซึ่งยังคงมีแอกติวิตีของเอนไซม์ต่างๆ ดังนี้คือ เอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยเฉพาะอย่างยิ่ง katepsins เอนไซม์ย่อยนิวคลีโอไทด์ เช่น adenosine triphosphate และเอนไซม์ที่เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตพวก hexose ไปเป็น hexose phosphate, pentose phosphate และ lactates

Gasser และ Huster (1978) ผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อจากอีสต์อโตไลเลทในรูป paste สีนน้ำตาล นำมาเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 : 2 ปรับ pH เป็น 7 - 8 ด้วย sodium hydroxide ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 - 98 °C นาน 8 - 15 นาที ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แยกของแข็งออกโดยการตกตะกอน การกรอง หรือการเหวี่ยงแยก นำสารละลายที่เหลือมา

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 - 98 °C จากนั้นกลั่นด้วยไอน้ำแบบ countercurrent ใน column ที่บรรจุ glass elements โดยใส่สารละลายทางด้านบนของ column และไอน้ำเข้าทางด้านล่าง ในอัตราส่วนไอน้ำต่อสารละลายเป็น 1 : 1 - 2 จากนั้นทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณของแข็ง 78 - 85 % เติมไขมัน (hydrogenated vegetable fat หรือ beef fat) น้ำตาลโมลเสกุลเดี่ยว (glucose) และนิวคลีโอไทด์ (inosine หรือ guanosine monophosphate) ในปริมาณเล็กน้อย ปรับ pH เป็น 6.2 - 6.4 ด้วย hydrochloric acid และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 92 - 98 °C นาน 10 - 30 นาทีโดยกวนตลอดเวลา ทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณของแข็ง 80 - 85 % ทำแห้งจนมีความชื้นเพียง 0.5 - 4 % แล้วบดเป็นผง

Poiger และ Huster (1980) ปรับปรุงวิธีผลิตสารให้กลั่นรสเนื้อมาจิสต์อโตไลเอสที่ผ่านการกลั่นด้วยไอน้ำ และทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณของแข็ง 75 - 85 % โดยเติม vegetable protein hydrolysates, monosaccharide และสารที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบในรูปซัลไฟด์ พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 60 - 80 : 15 - 30 : 1 - 3 : 1 - 3 โดยน้ำหนัก ผสมที่อุณหภูมิ 110 - 150 °C นาน 1 - 3 นาที ในเครื่องนวดผสมแบบ heating jacket ทำแห้งจนผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความชื้น 0.5 - 4 % บดเป็นผง

จากการค้นคว้าวารสารปริทัศน์ จะเห็นว่า การผลิตยีสต์อโตไลเอสเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เป็นแนวความคิดที่สามารถทำได้ เนื่องจากมีข้อมูลทางวิชาการและรายละเอียดสนับสนุน แต่ส่วนใหญ่เป็นผลงานของชาวต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยซึ่งมีความต้องการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารในระดับสูงและมีความพร้อมในด้านวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอยู่แล้ว จึงควรมีการศึกษาวิจัยเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไป งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายยีสต์เพื่อผลิตยีสต์อโตไลเอสจากยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตเบียร์ และขั้นตอนการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากยีสต์อโตไลเอสที่ผลิตได้