



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0043721

(51)^{2021.01} A23F 3/16

(13) B

(21) 1-2022-04166

(22) 18/12/2020

(86) PCT/JP2020/047328 18/12/2020

(87) WO 2021/132054 01/07/2021

(30) 2019-238883 27/12/2019 JP

(45) 25/03/2025 444

(43) 26/09/2022 414A

(73) SUNTORY HOLDINGS LIMITED (JP)

1-40, Dojimahama 2-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-8203, Japan

(72) MUTOH, Mari (JP); YANAGIDA, Akinobu (JP); IBUSUKI, Daigo (JP).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP TĂNG CƯỜNG VỊ CỦA ĐỒ UỐNG TỪ TRÀ XANH, VÀ ĐỒ
UỐNG TỪ TRÀ XANH

(21) 1-2022-04166

(57) Sáng chế đề xuất đồ uống từ trà xanh có vị sâu và vị đậm được tăng cường bằng cách bổ sung axit malic và fagomin. Đồ uống từ trà xanh này được kết hợp từ 2,7 đến 13 mg/100 mL axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg/100 mL fagomin vào đồ uống.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến phương pháp tăng cường vị đậm đà và sâu lắng giống như trà *Gyokuro* ở đồ uống từ trà xanh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Do sở thích đa dạng của người tiêu dùng, đã có nhu cầu về đồ uống từ trà có hương thơm được phân biệt hoặc có chất lượng cao. Cụ thể, người tiêu dùng có nhu cầu không chỉ với đồ uống từ trà xanh nhằm mục đích bổ sung nước (tức là, giải khát), có vị sạch và dễ uống để mọi người có thể nuốt ngum lớn nhanh chóng, mà cả với đồ uống từ trà xanh có vị ngon cho cảm giác về độ đậm (còn được gọi là “vị mạnh”) sau khi uống, như đồ uống từ trà xanh có vị đắng và vị se mạnh hoặc có vị *umami* đậm. Do đó, nhiều loại lá trà xanh có vị ngon đặc trưng bởi vị ngọt, vị *umami* của chúng, v.v. đã được phân phối và bán trên thị trường.

Trong những năm gần đây, đồ uống từ trà xanh đóng gói có thể uống ngay đang được thịnh hành trên thị trường. Một số nguyên liệu trà xanh, như *Gyokuro* chất lượng cao, có vị *umami* mạnh. Tuy nhiên, từ quan điểm lượng sản xuất và giá thành, khó có thể sử dụng lá trà chất lượng cao như vậy nhằm mục đích công nghiệp để làm nguyên liệu nguồn cho đồ uống từ trà xanh đóng gói. Ngoài ra, ngay cả khi lá trà chất lượng cao này được sử dụng, việc bị hỏng vị là không thể tránh khỏi do nhiều yếu tố khác nhau, như sự tạo thành mùi hỏng do nhiệt gây ra bởi việc xử lý (ví dụ, tiệt trùng bằng nhiệt) là công đoạn đặc trưng để sản xuất đồ uống từ trà xanh đóng gói, và sự ảnh hưởng đến hương thơm gây ra bởi việc bổ sung thành phần kiềm (ví dụ, natri bicacbonat) nhằm mục đích tăng cường độ ổn định bảo quản. Do vậy, đã có nhiều báo cáo về các phương pháp tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh đóng gói. Ví dụ về các phương pháp đã được báo cáo này bao gồm: phương pháp đem lại cảm nhận về vị mạnh cho đồ uống từ trà xanh bằng cách bổ sung lượng vết của (Z)-3-hexen-1-ol hoặc indol (PTL 1); phương pháp tăng cường cảm giác cơ thể và hương thơm bằng cách bổ sung, vào chất chiết trà dạng lỏng, chất chiết trà đã được điều chỉnh sao cho phần trăm của lượng chất rắn khô, tổng lượng chất lỏng, lượng phospholipit, và nồng độ etanol có thể nằm trong khoảng

cụ thể (PTL 2); phương pháp đem lại và tăng cường vị *umami* và *kokumi* bằng cách sử dụng phân đoạn cụ thể của chất chiết trà với nước và/hoặc dung môi hữu cơ tan trong nước (PTL 3); và phương pháp tăng cường vị, như vị sâu và cảm giác cơ thể, bằng cách tăng cảm giác về lá trà của đồ uống từ trà sử dụng chất chiết trà xanh dạng lỏng được xử lý nhiệt (PTL 4).

PTL 5 bộc lộ rằng khi 2-mercapto-3-methyl-1-butanol được bổ sung vào đồ uống từ trà đen chứa đường, có thể thu được đồ uống từ trà đen có đặc điểm hương vị mạnh như độ đậm, cảm giác cơ thể, cảm giác về lá trà và cảm nhận về sự lên men, và cho người uống cảm nhận rõ về độ đậm đà. Ngoài ra, PTL 6 bộc lộ rằng khi axit malic và axit tartaric được bổ sung vào đồ uống từ trà, có thể thu được đồ uống từ trà mới có hương vị trà được tăng cường, và bộc lộ cụ thể hơn rằng việc sử dụng kết hợp axit malic và axit tartaric tạo ra vị gắt, tăng cường cảm nhận về trà đen của đồ uống từ trà, và rằng khi các thành phần này được bổ sung vào đồ uống từ trà đen chứa đường, có thể thu được đồ uống từ trà đen có cảm nhận về trà đen rõ ràng và vị se.

Tài liệu viện dẫn

Tài liệu patent

PTL 1: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản số JP 2008-148605

PTL 2: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản số JP 2019-140930

PTL 3: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản số JP 2005-137286

PTL 4: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản số JP 2013-252111

PTL 5: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản số JP 2018-201348

PTL 6: Công bố đơn sáng chế Nhật Bản số JP 2015-159796

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh. Mục đích khác của sáng chế là đề xuất đồ uống từ trà xanh (cụ thể, đồ uống từ trà xanh đóng gói) có vị được tăng cường.

Giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã tiến hành các nghiên cứu chuyên sâu để đạt được mục

đích nêu trên, và kết quả là, đã nhận thấy rằng vị của đồ uống từ trà xanh có thể được tăng cường bằng cách bổ sung lượng vết của axit malic và fagomin vào đồ uống từ trà xanh. Do vậy, các tác giả sáng chế đã hoàn thành sáng chế.

Sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phương án sau đây.

[1] Phương pháp tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh, phương pháp này bao gồm bước kết hợp vào đồ uống từ trà xanh từ 2,7 đến 13 mg axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin với mỗi 100 mL đồ uống.

[2] Đồ uống từ trà xanh có từ 2,7 đến 13 mg axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin với mỗi 100 mL đồ uống được kết hợp vào đồ uống từ trà xanh này.

[3] Phương pháp sản xuất đồ uống từ trà xanh, phương pháp này bao gồm bước bổ sung vào đồ uống từ trà xanh từ 2,7 đến 13 mg axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin với mỗi 100 mL đồ uống.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Theo sáng chế, đồ uống từ trà xanh có vị được tăng cường có thể được tạo ra bằng phương pháp đơn giản là bổ sung lượng vết của axit malic và fagomin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Đồ uống từ trà xanh

Sáng chế nhắm đến đồ uống từ trà xanh. Như được đề cập đến trong bản mô tả, “đồ uống từ trà xanh” chỉ đồ uống thu được bằng cách bổ sung chất chiết lá trà xanh, và cụ thể hơn, là tên chung cho các đồ uống chứa chất chiết lá trà xanh thu được từ lá trà – tức là, lá trà được chọn từ cây thuộc chi *Camellia* (ví dụ, loài *Camellia sinensis*, như *C. sinensis* var. *sinensis* (bao gồm cả giống *Yabukita*), *C. sinensis* var. *assamica*) và giống lai của chúng, và được phân loại là lá trà không lên men (ví dụ, *Sencha* (trà xanh được ủ), *Bancha* (trà xanh thô), *Tencha* (lá trà không nghiền dùng cho *Matcha*), *Kamairi-cha* (trà xanh được rang trong lọ), *Kukicha* (trà ở dạng cành), *Bocha* (trà ở dạng cành được rang), *Mecha* (trà ở dạng búp)) – sử dụng nước, nước nóng, hoặc dung dịch nước chứa chất trợ chiết. Bước chiết có thể được tiến hành bằng cách sử dụng phương pháp đã biết, như chiết nhào trộn, chiết khuấy (chiết theo mẻ), chiết đôi dòng (chiết nhỏ giọt) hoặc chiết bằng cột. Điều kiện chiết không bị giới hạn cụ thể và có thể được chọn khi thích hợp tùy thuộc vào phương pháp chiết.

Một phương án được ưu tiên của đồ uống từ trà xanh theo sáng chế là đồ uống chứa chất chiết trà xanh làm thành phần chính. Như được đề cập ở trên, “đồ uống chứa chất chiết trà xanh làm thành phần chính” chỉ đồ uống trong đó sự chỉ định của trà xanh, như “trà xanh”, “chất chiết trà xanh” hoặc tương tự, được liệt kê phía trên danh sách các thành phần theo Đạo luật ghi nhãn thực phẩm của Nhật Bản (Food Labeling Act of Japan) (có hiệu lực tháng 4 năm 2015). Đồ uống đã nêu tốt hơn là đồ uống trong đó chỉ định của trà xanh được liệt kê đầu tiên hoặc thứ hai trong danh sách các thành phần, tốt hơn nữa là đồ uống trong đó chỉ định của trà xanh được liệt kê đầu tiên trong danh sách các thành phần.

Đồ uống từ trà đã sao, được chuẩn bị với lá trà đã sao thu được bằng cách sao lá trà được phân loại là lá trà không lên men nêu trên bằng nhiệt cao, có hương sao đặc trưng, và vị êm thanh trong vòm họng do hàm lượng thấp của các catechin và các axit amin. Ngược lại, đồ uống từ trà xanh theo sáng chế là đồ uống từ trà xanh đặc trưng bởi có vị đậm đà và sâu lắng giống như *Gyokuro* đem lại cho nó. Tuy nhiên, có rất ít nhu cầu tạo ra vị đậm đà và sâu lắng cho đồ uống từ trà đã sao, vì đồ uống từ trà đã sao đặc trưng bởi vị thanh của nó. Do vậy, theo phương án ưu tiên, đồ uống từ trà theo sáng chế không phải là đồ uống từ trà đã sao. Ví dụ về đồ uống từ trà đã sao bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất lỏng chỉ gồm chất chiết từ lá trà đã sao, chất lỏng thu được bằng cách trộn chất chiết từ lá trà đã sao làm thành phần chính với chất chiết từ lá trà xanh chưa sao, hoặc chất lỏng thu được bằng cách bổ sung chất phụ gia vào chất lỏng như được nêu ở trên. Như được đề cập ở trên, “chất chiết từ lá trà đã sao làm thành phần chính” nghĩa là nồng độ chất rắn thu được từ chất chiết trà đã sao không thấp hơn 80% khối lượng, tốt hơn là không thấp hơn 90% khối lượng, tính theo nồng độ chất rắn của toàn bộ chất chiết.

Đồ uống từ trà xanh theo sáng chế là đồ uống từ trà xanh đặc trưng bởi có vị đậm (vị sâu) được tăng cường giống như *Gyokuro*. Nhìn chung, vị được phân loại rộng thành năm nhóm: vị ngọt, vị chua, vị đắng, vị mặn và vị *umami*. Được biết rằng vị của đồ uống từ trà xanh ảnh hưởng nhiều bởi vị *umami* và vị đắng. Như được đề cập đến trong sáng chế, “vị được tăng cường” chỉ sự tăng cường vị sâu (còn được gọi là “vị đậm”) của đồ uống từ trà xanh, là tổng hòa của vị *umami* và vị đắng. “Đồ uống từ trà xanh có vị được tăng cường” chỉ đồ uống từ trà xanh có vị *umami* và vị đắng đặc trưng giống như trà *Gyokuro* – nghĩa là, đồ uống từ trà xanh có “vị đậm đà và sâu lắng”. Bằng

cách sử dụng phương pháp tăng cường vị theo sáng chế, vị sâu của đồ uống từ trà xanh mà được tạo ra, ví dụ, ngay cả khi sử dụng lá trà chất lượng kém có thể được tăng cường để tạo ra vị đồ uống từ trà xanh gần với vị đậm đà và sâu lắng giống như trà *Gyokuro*.

Axit malic

Một trong số các thành phần hoạt tính cơ bản được sử dụng trong phương pháp tăng cường vị theo sáng chế là axit malic. Axit malic, còn được gọi là axit 2-hydroxybutandioic), là một trong số các hợp chất hữu cơ được phân loại là axit hydroxy (số đăng ký CAS 6915-15-7), và thường được sử dụng làm chất tạo chua cho thực phẩm và đồ uống do vị chua tươi mới của nó.

Trong phương pháp tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh theo sáng chế, axit malic được bổ sung làm chất tăng cường vị vào đồ uống từ trà xanh. Nguồn gốc của axit malic không bị giới hạn cụ thể miễn là nó thường được sử dụng trong lĩnh vực thực phẩm và đồ uống -- ví dụ, cả sản phẩm axit malic được tổng hợp hóa học và sản phẩm axit malic có trong tự nhiên đều có thể được sử dụng. Sản phẩm axit malic có trong tự nhiên có thể ở dạng bất kỳ, bao gồm sản phẩm tinh sạch, sản phẩm được tinh sạch thô, hoặc tinh chất được chiết. Ví dụ về thực vật chứa axit malic bao gồm: các loại quả như táo, nho, lê, chuối, cherry, ổi, dâu tây và lựu; rau như cà chua và mơ Nhật; và các loại lá trà khác nhau. Trong số các sản phẩm axit malic có trong tự nhiên, chiết xuất lá trà tốt hơn là được sử dụng từ quan điểm hương thơm của chúng. Ví dụ về lá trà chứa axit malic bao gồm lá trà xanh và lá dâu tằm. Tốt hơn nữa là chiết xuất lá dâu tằm được sử dụng vì chiết xuất này có hàm lượng axit malic cao trong số các axit hữu cơ khác nhau, và vị chua của chất chiết này có rất ít tác động đến vị của đồ uống từ trà xanh.

Theo phương pháp tăng cường vị của sáng chế, axit malic được kết hợp vào đồ uống từ trà xanh ở lượng từ 2,7 đến 13 mg với mỗi 100 mL đồ uống. Được biết rằng dịch hãm trà xanh (còn được gọi là chất chiết trà xanh dạng lỏng) với hàm lượng axit malic cao vừa phải cho vị ngọt, và rằng hàm lượng axit malic ngưỡng của dịch hãm trà xanh là 400 mg/L (= 40 mg/100 mL) (*Tea Research Journal*, No.93, 2002, p.26-33). Theo sáng chế, bằng cách sử dụng axit malic ở lượng nhỏ nhưng kết hợp với fagomin như được mô tả sau đây, sự tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh có thể đạt được. Khi hàm lượng axit malic trong đồ uống từ trà xanh nhỏ hơn 2,7 mg với mỗi 100 mL đồ uống, tác dụng tăng cường vị là rất nhỏ. Mặt khác, khi hàm lượng axit malic trong đồ

uống từ trà xanh lớn hơn 13 mg/100 mL, nhiều khả năng hơn là vị chua của axit malic có thể làm cho đồ uống từ trà xanh thu được có hương thơm khác thường. Giới hạn dưới của hàm lượng axit malic trong đồ uống từ trà xanh tốt hơn là không thấp hơn 2,8 mg, tốt hơn nữa là không thấp hơn 3 mg, với mỗi 100 mL đồ uống. Giới hạn trên của hàm lượng axit malic trong đồ uống từ trà xanh tốt hơn là không lớn hơn 12 mg, tốt hơn nữa là không lớn hơn 10 mg, với mỗi 100 mL đồ uống. Hàm lượng axit malic trong đồ uống từ trà xanh có thể được đo sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Fagomin

Theo phương pháp tăng cường vị của sáng chế, fagomin cũng được bổ sung dưới dạng một thành phần hoạt tính khác, ngoài axit malic như được mô tả ở trên làm thành phần hoạt tính cơ bản. Fagomin là alkaloit được tách từ kiều mạch (*Fagopyrum esculentum*) và các loại khác, và còn được gọi là “1,2,5-trideoxy-1,5-epimino-D-xylohexitol” (số đăng ký CAS 53185-12-9). Nguồn gốc của fagomin như được sử dụng trong sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là nó thường được sử dụng trong lĩnh vực thực phẩm và đồ uống -- ví dụ, cả sản phẩm fagomin được tổng hợp hóa học và sản phẩm fagomin có trong tự nhiên đều có thể được sử dụng. Sản phẩm fagomin có trong tự nhiên có thể ở dạng bất kỳ, bao gồm sản phẩm được tinh sạch, sản phẩm được tinh sạch thô, hoặc tinh chất được chiết.

Theo phương pháp tăng cường vị của sáng chế, fagomin được kết hợp vào đồ uống từ trà xanh ở lượng từ 0,01 đến 0,8 mg với mỗi 100 mL đồ uống. Việc sử dụng kết hợp axit malic và fagomin có thể đạt được tác dụng tăng cường vị cao hơn tác dụng này khi sử dụng riêng mỗi trong số các thành phần này. Giới hạn dưới của hàm lượng fagomin trong đồ uống từ trà xanh tốt hơn là không thấp hơn 0,02 mg, tốt hơn nữa là không thấp hơn 0,03 mg, với mỗi 100 mL đồ uống. Vì hương thơm của fagomin có thể tác động đến hương thơm của đồ uống từ trà xanh, giới hạn trên của hàm lượng fagomin trong đồ uống từ trà xanh tốt hơn là không lớn hơn 0,6 mg, tốt hơn nữa là không lớn hơn 0,5 mg, với mỗi 100 mL đồ uống. Hàm lượng fagomin trong đồ uống từ trà xanh có thể được đo bằng cách sử dụng sắc ký lỏng/khối phổ song song (LC-MS/MS).

Theo sáng chế, bằng cách bổ sung axit malic và fagomin vào đồ uống từ trà xanh, vị sâu của đồ uống từ trà xanh, là tổng của vị *umami* và vị đắng, có thể được tăng cường hiệu quả. Từ quan điểm về tác dụng tăng cường vị theo sáng chế có thể được thể

hiện đáng kể, ưu tiên là đồ uống từ trà xanh cần chứa lượng quy định của thành phần vị *umami* và thành phần vị đắng. Cụ thể, khi thành phần vị *umami* và vị đắng thu được từ lá trà xanh được bao gồm trong đồ uống từ trà xanh, vị hỗn hợp điển hình của trà xanh được tăng cường trong đồ uống từ trà xanh. Tỷ lệ của hàm lượng axit malic với hàm lượng fagomin không bị giới hạn cụ thể -- ví dụ, tỷ lệ trọng lượng của axit malic/fagomin có thể nằm trong khoảng từ 5 đến 210, hoặc từ 10 đến 100.

Ví dụ về thành phần vị *umami* thu được từ lá trà xanh bao gồm theanin, là thành phần axit amin. Ví dụ về thành phần vị đắng thu được từ lá trà xanh bao gồm cafein và catechin. Mặc dù các catechin thường được biết là thành phần vị se, chúng được phân loại trong bản mô tả này là một trong số các thành phần vị đắng tạo nên vị sâu của đồ uống từ trà xanh. Theanin, cafein và catechin thường được tìm thấy trong chất chiết lá trà xanh, nhưng có thể được bổ sung thêm vào đồ uống từ trà xanh tùy vào tác dụng mong muốn.

Trong trường hợp bổ sung theanin, bất kỳ trong số L-theanin, D-theanin, và DL-theanin đều có thể được sử dụng. Cụ thể, trong số chúng, tốt hơn là L-theanin được sử dụng, vì nó được chấp nhận để sử dụng làm chất phụ gia thực phẩm trong lĩnh vực thực phẩm và tương tự, và dễ có được từ quan điểm giá thành. Tương tự, theanin có thể ở dạng bất kỳ, bao gồm sản phẩm được tinh sạch, sản phẩm được tinh sạch thô, hoặc tinh chất được chiết. Ví dụ, tinh chất trà xanh có thể được sử dụng. Ví dụ về các sản phẩm theanin có bán trên thị trường bao gồm Suntheanine® được sản xuất bởi Taiyo Kagaku Co., Ltd. Trong trường hợp bổ sung theanin, lượng theanin được bổ sung có thể được xác định dựa trên hàm lượng theanin trong đồ uống.

Hàm lượng theanin trong đồ uống từ trà xanh tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,2 đến 15 mg với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Từ quan điểm tác dụng của sáng chế có thể được thể hiện đáng kể, được ưu tiên là giới hạn dưới của hàm lượng theanin không thấp hơn 0,5 mg, tốt hơn nữa là không thấp hơn 1 mg với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Trong trường hợp bổ sung theanin vào đồ uống từ trà xanh đóng gói thu được thông qua việc tiệt trùng bằng nhiệt, khi hàm lượng theanin lớn hơn 15 mg với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh, mùi vị hỏng do nhiệt dễ có khả năng xuất hiện hơn, ảnh hưởng đến tác dụng của sáng chế. Giới hạn trên của hàm lượng theanin tốt hơn là không lớn hơn 13 mg, tốt hơn nữa là không lớn hơn 10 mg, với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Hàm lượng theanin trong đồ uống có thể được đo sử dụng phương pháp phân tích

axit amin tự động.

Dạng của cafein không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có chất lượng mà có thể được sử dụng trong đồ uống. Cafein có thể ở dạng bất kỳ mà có thể được sử dụng làm chất phụ gia thực phẩm, bao gồm sản phẩm được tinh sạch, sản phẩm được tinh sạch thô, hoặc tinh chất được chiết (tinh chất trà xanh). Lượng cafein được bổ sung có thể được xác định dựa vào hàm lượng cafein trong đồ uống. Từ quan điểm tác dụng của sáng chế có thể được thể hiện đáng kể, ưu tiên là giới hạn dưới của hàm lượng cafein không thấp hơn 0,1 mg, tốt hơn nữa là không thấp hơn 0,5 mg, còn tốt hơn nữa là không thấp hơn 1 mg, với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Giới hạn trên của hàm lượng cafein tốt hơn là không lớn hơn 30 mg, tốt hơn nữa là không lớn hơn 25 mg, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 20 mg, với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Hàm lượng cafein trong đồ uống có thể được đo sử dụng HPLC.

Theo phương án ưu tiên, đồ uống từ trà xanh theo sáng chế chứa catechin, hoặc cụ thể hơn là chứa catechin galat hóa và/hoặc catechin không galat hóa. Chỉ cần là đồ uống từ trà xanh theo sáng chế chứa ít nhất một trong số tám loại catechin. Như được đề cập đến trong bản mô tả, “(các) catechin” là thuật ngữ chung bao gồm các catechin không galat hóa như catechin, galocatechin, epicatechin và epigallocatechin, và catechin galat hóa như catechin galat, galocatechin galat, epicatechin galat và epigallocatechin galat. Khi catechin được bổ sung vào đồ uống từ trà xanh, dạng của catechin không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có chất lượng mà có thể được sử dụng trong đồ uống. Catechin có thể ở dạng bất kỳ mà có thể được sử dụng làm chất phụ gia thực phẩm, bao gồm sản phẩm được tinh sạch, sản phẩm được tinh sạch thô, hoặc tinh chất được chiết (tinh chất trà xanh). Trong trường hợp bổ sung catechin, lượng catechin được bổ sung có thể được xác định dựa vào hàm lượng catechin trong đồ uống. Theo sáng chế, giới hạn dưới của hàm lượng catechin tốt hơn là không thấp hơn 5 mg, tốt hơn nữa là không thấp hơn 7 mg, còn tốt hơn nữa là không thấp hơn 10 mg, với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Giới hạn trên của hàm lượng catechin tốt hơn là không lớn hơn 60 mg, tốt hơn nữa là không lớn hơn 55 mg, còn tốt hơn nữa là không lớn hơn 49 mg, với mỗi 100 mL đồ uống từ trà xanh. Hàm lượng catechin trong đồ uống có thể được đo sử dụng HPLC.

Như được mô tả ở trên, đồ uống từ trà xanh chứa lượng quy định của axit malic và fagomin, theanin dưới dạng thành phần vị *umami*, và cafein và catechin dưới dạng thành phần vị đắng là một trong các phương án được ưu tiên của đồ uống từ trà xanh

theo sáng chế có vị được tăng cường. Cụ thể, đồ uống từ trà xanh theo sáng chế là đồ uống từ trà xanh chứa từ 2,7 đến 13 mg axit malic, từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin, từ 0,2 đến 15 mg theanin, từ 0,1 đến 30 mg cafein, và từ 5 đến 60 mg catechin, với mỗi 100 mL đồ uống.

Ngoài các thành phần nêu trên, đồ uống từ trà xanh theo sáng chế có thể có các chất phụ gia khác nhau tùy ý được bổ sung vào đó, ở mức độ không gây ra sự xa rời mục đích dự định của sáng chế. Ví dụ về các chất phụ gia khác nhau bao gồm chất chống oxy hóa, chất màu, chất nhũ hóa, chất bảo quản, vitamin, tinh chất, và hương liệu. Các chất phụ gia này có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng kết hợp.

Ngoài ra, đồ uống từ trà xanh theo sáng chế có độ pH tốt hơn là từ 5,0 đến 7,0, tốt hơn nữa là từ 5,5 đến 6,5. Khi đồ uống có độ pH axit, cụ thể là pH nhỏ hơn 5, vị chua làm cho đồ uống tương đối yếu về vị điển hình của trà xanh, dẫn đến tác dụng tăng cường vị của sáng chế trở nên được cảm nhận kém hơn. Độ pH của đồ uống có thể được điều chỉnh, khi thích hợp, sử dụng chất điều chỉnh độ pH như natri hydro cacbonat hoặc natri hydroxit. pH của đồ uống có thể được đo ở 20°C sử dụng máy đo pH có bán trên thị trường.

Đồ uống từ trà xanh theo sáng chế có thể ở dạng đồ uống từ trà xanh đóng gói. Nhìn chung, vị của đồ uống từ trà xanh ít cảm nhận được hơn khi đồ uống được uống ở nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ thấp hơn so với khi uống nóng. Tuy nhiên, vì đồ uống từ trà xanh theo sáng chế được bổ sung axit malic và fagomin có vị được tăng cường, vị của đồ uống từ trà xanh có thể nhận thấy rõ rệt ngay cả khi đồ uống từ trà xanh đóng gói được uống ở các vùng nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ thấp hơn. Ngoài ra, vị của đồ uống từ trà xanh đóng gói bị làm hỏng bởi việc xử lý đặc trưng (ví dụ, tiệt trùng bằng nhiệt hoặc điều chỉnh độ pH bằng muối kiềm) trong quá trình sản xuất nó. Tuy nhiên, vì đồ uống từ trà xanh theo sáng chế có vị được tăng cường, đồ uống từ trà xanh thuận lợi ở chỗ là ngay cả khi đồ uống được sản xuất ở dạng được đóng gói, vị của đồ uống có thể được cảm nhận rõ. Do đó, từ quan điểm tác dụng của sáng chế có thể được thể hiện đáng kể, đồ uống từ trà xanh đóng gói là một trong số các phương án được ưu tiên theo sáng chế.

Bao bì được dùng cho đồ uống từ trà xanh đóng gói theo sáng chế có thể là bao bì đã biết bất kỳ dùng cho các đồ uống thông thường. Ví dụ, bao bì nhựa, bao bì kim

loại, bao bì giấy, bao bì thủy tinh, hoặc tương tự có thể được sử dụng thuận lợi. Theo một phương án, đồ uống từ trà xanh đóng gói có thể được cung cấp ở dạng được đóng gói và làm kín trong, ví dụ, bao bì đúc chủ yếu được làm từ polyetylen terephthalat (được gọi là chai PET), hộp kim loại, bao bì giấy được kết hợp với màng kim loại hoặc màng nhựa, hoặc chai thủy tinh. Thể tích của đồ uống từ trà xanh theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, và ví dụ nằm trong khoảng từ 100 mL đến 3000 mL, tốt hơn là từ 350 mL đến 2000 mL, tốt hơn nữa là từ 500 đến 1000 mL.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể chi tiết bằng các ví dụ thử nghiệm, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ này. Trừ khi được quy định khác, tất cả các khoảng số đều bao gồm các điểm đầu mút của khoảng đó.

Định lượng các thành phần khác nhau

(1) Axit malic

Dung dịch mẫu được pha loãng thích hợp bằng nước cất dùng cho HPLC (được sản xuất bởi FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation). 2 mL dịch pha loãng được lọc bằng ly tâm sử dụng bộ lọc ly tâm (Ultrafree-CL GV, kích thước lỗ: 0,22 μ m, được sản xuất bởi Merck), và sản phẩm lọc thu được được dùng làm mẫu phân tích. Việc định lượng được tiến hành bằng phương pháp đường cong chuẩn tuyệt đối hoặc phương pháp chuẩn nội sử dụng các vùng pic được phát hiện trong sắc ký đồ được tổ chức lại cho tập hợp khoảng MS dựa trên các kết quả phân tích LC/MS. Các dụng cụ và điều kiện sử dụng được nêu chi tiết dưới đây.

- Hệ HPLC: 1290 Infinity II (được sản xuất bởi Agilent Technologies)
- Cột: ACQUITY UPLC HSS PFP 1,8 μ m, 2,1 $\times$ 150 mm (được sản xuất bởi Waters), hai cột mắc nối tiếp
- Nhiệt độ cột: 40°C
- Pha động: (A) dung dịch nước chứa axit formic 0,1% (dùng cho LC/MS, được sản xuất bởi Thermo Fisher Scientific), (B) axetonitril (dùng cho LC/MS, được sản xuất bởi FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation)
- Điều kiện gradien pha động: 0% B (0-4 phút) $\rightarrow$ 35% B (14,5 phút) $\rightarrow$ 95% B (17,5-19,5 phút), thời gian chờ đến trạng thái cân bằng: 3,5 phút

- Tốc độ chảy: 0,3 mL/phút
- Thể tích bơm: 2 μ L
- Xử lý sau cột: Sau khi rửa giải cột, axetonitril (dùng cho LC/MS, được sản xuất bởi FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation) được bơm ở tốc độ 0,1 mL/phút và được đưa vào máy đo khối phổ.
- Máy đo khối phổ: hệ Q Exactive Focus LC-MS/MS (được sản xuất bởi Thermo Fisher Scientific)
- Chế độ ion hóa: HESI (ion hóa phun điện tử gia nhiệt)
- Điều kiện bộ ion hóa: tốc dòng khí bao: 50, tốc độ dòng khí phụ trợ: 10, tốc độ dòng khí quét: 0, pos điện áp phun: 3,50/neg 2,50[kV], nhiệt độ mao quản: 200°C, mức RF S-Lens: 50,0, nhiệt độ bộ gia nhiệt khí phụ trợ: 300°C
- Điều kiện bộ đo khối phổ: Đo quét trên Orbitrap, khoảng thời gian: 18,0 phút, độ phân giải, dịch chuyển cực: 35000, đích AGC: 3e6, khoảng quét: m/z 70 đến 850
- Van chuyển hướng: Đường thải (0-1 phút), đường MS (1-17,99 phút)
- Ion bộ định lượng được sử dụng là: m/z 133,01425 (âm) cho axit malic. Thời gian lưu được xác định bằng cách phân tích chuẩn tham chiếu. Khoảng MS được đặt là 5 đến 10 ppm. Nếu có sự khác nhau về khối lượng, giá trị m/z của ion bộ định lượng nêu trên có thể được dịch chuyển khi thích hợp.

Nếu không có hình dạng pic hoặc độ nhạy tốt nào thu được khi sử dụng ion nêu trên, đích AGC có thể được thay đổi hoặc chế độ SIM có thể được sử dụng.

(2) Fagomin

Phân tích fagomin trong mẫu đồ uống từ trà xanh được thực hiện sử dụng sắc ký lỏng/khối phổ song song (LC-MS/MS). Mẫu đồ uống từ trà xanh được cô chân không, nếu cần, trước khi phân tích.

Điều kiện đo LC-MS/MS:

- Cột: TSKgel Amide-80, ϕ 4,6 mm $\times$ 250 mm, cỡ hạt 5 μ m
- Pha động: Dung dịch hỗn hợp của nước, axetonitril và axit axetic
- Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút

- Nhiệt độ cột: 40°C
- Phương pháp ion hóa: Ion hóa phun điện tử (chế độ phát hiện ion dương)
- Tỷ lệ khối lượng: điện tích (m/z): 147,9 → 85,9

(3) Theanin

Theanin được đo sử dụng phương pháp phân tích axit amin tự động.

- Bộ phân tích: JCL-500/V2 (được sản xuất bởi JEOL Ltd.)
- Cột: LCR-6, $\phi 4 \text{ mm} \times 120 \text{ mm}$ (được sản xuất bởi JEOL Ltd.)
- Pha động: đệm lithi xitrat (P-12 đến P-15, P-21) (được sản xuất bởi JEOL Ltd.)
- Dung dịch chất phản ứng: dung dịch tạo màu Ninhydrin Kit II dùng cho JEOL (được sản xuất bởi FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation)
- Tốc độ dòng: pha động: 0,50 mL/phút, dung dịch chất phản ứng: 0,30 mL/phút
- Bước sóng đo: 570 nm

(4) Catechin

Đồ uống từ trà xanh được lọc bởi bộ lọc (0,45 μm) và được định lượng sử dụng chất chuẩn tham chiếu (mẫu chuẩn) bằng HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao). Việc định lượng catechin được tiến hành sử dụng chất chuẩn tham chiếu gồm catechin, epicatechin, galocatechin, epigallocatechin, catechin galat, epicatechin galat, galocatechin galat, và epigallocatechin galat (chất phản ứng độ tinh khiết cao Kurita).

Điều kiện phân tích HPLC:

- Hệ HPLC: Tosoh HPLC system LC8020 model II
- Cột: TSKgel ODS80T sQA (4,6 mm $\times$ 150 mm)
- Nhiệt độ cột: 40°C
- Pha động A: Nước/axetonitril/axit trifloaxetic (90:10:0,05)
- Pha động B: Nước/axetonitril/axit trifloaxetic (20:80:0,05)
- Phát hiện: UV 275 nm
- Thể tích bơm: 20 μL
- Tốc độ dòng: 1 mL/phút

- Chương trình gradien:

Thời gian (phút)	%A	%B
0	100	0
5	92	8
11	90	10
21	90	10
22	0	100
29	0	100
30	100	0

Thử nghiệm 1: Sản xuất và đánh giá đồ uống từ trà xanh (ví dụ tham chiếu)

Các đồ uống từ trà xanh khác nhau chứa axit malic ở các lượng khác nhau như được chỉ ra trong bảng 1 được tạo ra bằng cách bổ sung axit malic (được sản xuất bởi Iwaki & Co., Ltd., độ tinh khiết: 99%) vào đồ uống từ trà xanh (Mẫu 1-1) thu được từ nguyên liệu lá trà chủ yếu gồm lá trà *Sencha* được sấy qua. Các đồ uống từ trà xanh khác nhau được tạo ra trong thử nghiệm này chứa 5 mg theanin, 10 mg cafein, và 33 mg catechin với mỗi 100 mL đồ uống. Đồ uống từ trà xanh được điều chỉnh đến độ pH khoảng 6 bằng cách bổ sung natri hydro cacbonat.

Đồ uống từ trà xanh được tạo ra được đưa đi đánh giá cảm quan đối với vị sâu (vị đậm đà và sâu lắng) bởi năm chuyên viên thẩm định. Với Mẫu 1-1 đang được sử dụng làm đối chứng, điểm đánh giá được đưa ra bởi mỗi chuyên viên thẩm định dựa trên các tiêu chuẩn sau đây được thảo luận lần nữa theo cách thức tự do trong số toàn bộ thẩm định viên, và điểm đánh giá cuối cùng được gán cho giá trị số nguyên với sự nhất trí của các thẩm định viên. Vị sâu của đồ uống từ trà xanh, được cảm nhận như là tổng hòa của vị *umami* và vị đắng, được đánh giá chủ yếu theo quan điểm “vị đậm đà và sâu lắng” giống vị của trà *Gyokuro*.

4 điểm: cảm nhận rõ vị sâu tăng cường.

3 điểm: cảm nhận được vị sâu tăng cường.

2 điểm: cảm nhận được hơi có vị sâu tăng cường.

1 điểm: không cảm nhận được vị sâu tăng cường (vị sâu tương đương với vị sâu cảm nhận được ở Mẫu 1-1).

Kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện trong bảng 1. Được xác nhận rằng khi axit malic được bổ sung vào đồ uống từ trà xanh, đồ uống có vị sâu yêu thích trở nên mạnh hơn và có vị rõ và đậm – tức là, vị của đồ uống từ trà xanh được tăng cường. Ngoài ra, đối với Mẫu 1-15, có hàm lượng axit malic là 15 mg/100 mL, sự tăng cường vị được quan sát thấy, nhưng vị chua giống hoa quả của axit malic được cảm nhận rõ dẫn đến vị ngon của đồ uống từ trà xanh bị giảm. Ngoài ra, mặc dù điểm đánh giá vị sâu đối với các Mẫu 1-13 và 1-14 là giống nhau, một vài thẩm định viên đã báo cáo rằng vị chua của axit malic được cảm nhận thấy một chút ở Mẫu 1-14.

Bảng 1

Mẫu	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	1-7	1-8
Hàm lượng axit malic (mg/100 mL)	2,1	2,5	2,7	2,85	3	3,5	4	4,5
Điểm cảm quan (vị sâu)	1	2	3	3	3	3	3	3

Mẫu	1-9	1-10	1-11	1-12	1-13	1-14	1-15
Hàm lượng axit malic (mg/100 mL)	5	5,5	6	6,5	8	13	15
Điểm cảm quan (vị sâu)	3	3	3	3	3	3	3

Thử nghiệm 2: Sản xuất và đánh giá đồ uống từ trà xanh

Các đồ uống từ trà xanh khác nhau chứa axit malic và fagomin ở các lượng khác nhau như được chỉ ra trong bảng dưới đây được tạo ra bằng cách bổ sung fagomin (được sản xuất bởi Funakoshi Co., Ltd., độ tinh khiết: 98%) vào Mẫu 1-3 với hàm lượng axit malic bằng 2,7 mg/100 mL như được sử dụng trong Thử nghiệm 1.

Kết quả đánh giá cảm quan được thực hiện theo cùng quy trình như trong Thử nghiệm 1 được thể hiện trong bảng 2. Khi fagomin được bổ sung vào đồ uống từ trà xanh, dư vị đáng thích hợp được tạo ra ở đồ uống từ trà xanh, do đó vị sâu của đồ uống

từ trà xanh được tăng cường mạnh hơn so với trong trường hợp bổ sung một mình axit malic. Ngoài ra, đối với Mẫu 2-6, có hàm lượng fagomin bằng 1 mg/100 mL, sự tăng cường vị được quan sát thấy, nhưng vị gắt của fagomin cũng cảm nhận thấy dẫn đến vị ngon của đồ uống từ trà xanh bị giảm. Ngoài ra, mặc dù điểm đánh giá cho các Mẫu 2-4 và 2-5 là giống nhau, một vài thẩm định viên đã báo cáo rằng vị gắt của fagomin được cảm nhận thấy một chút ở Mẫu 2-5.

Bảng 2

Mẫu	1-3	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6
Hàm lượng fagomin (mg/100 mL)	0	0,01	0,1	0,2	0,3	0,8	1
Hàm lượng axit malic (mg/100 mL)	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
Điểm cảm quan (vị sâu)	3	4	4	4	4	4	4

Thử nghiệm 3: Sản xuất và đánh giá đồ uống từ trà xanh (ví dụ tham chiếu)

Các đồ uống từ trà xanh khác nhau chứa axit malic ở các lượng khác nhau như được chỉ ra trong bảng dưới đây được tạo ra bằng cách bổ sung axit malic (được sản xuất bởi Iwaki & Co., Ltd., độ tinh khiết: 99%) vào đồ uống từ trà xanh (Mẫu 3-1) thu được chủ yếu là bằng cách sử dụng lá trà *Sencha* sấy kỹ. Các đồ uống từ trà xanh khác nhau được tạo ra trong thử nghiệm này chứa 1,1 mg theanin, 18 mg cafein, và 46 mg catechin với mỗi 100 mL đồ uống. Đồ uống từ trà xanh được điều chỉnh đến độ pH khoảng 6 bằng cách bổ sung natri hydro cacbonat.

Đồ uống từ trà xanh được tạo ra được đưa đi đánh giá cảm quan bởi quy trình giống như trong Thử nghiệm 1, với Mẫu 3-1 được sử dụng làm đối chứng.

Kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện trong bảng 3. Giống như trong thử nghiệm 1, khi axit malic được bổ sung vào đồ uống từ trà xanh, đồ uống có vị sâu yêu thích trở nên mạnh hơn và có vị rõ và đậm – tức là, vị của đồ uống từ trà xanh được tăng cường. Ngoài ra, đối với Mẫu 3-9, có hàm lượng axit malic bằng 15 mg/100 mL, sự tăng cường vị được quan sát thấy, nhưng vị chua giống hoa quả của axit malic được cảm nhận thấy dẫn đến vị ngon của đồ uống từ trà xanh bị giảm.

Bảng 3

Mẫu	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8	3-9
Hàm lượng axit malic (mg/100 mL)	1,8	2,5	2,7	3	5	7	10	13	15
Điểm cảm quan (vị sâu)	1	2	3	3	3	3	3	3	3

Thử nghiệm 4: Sản xuất và đánh giá đồ uống từ trà xanh (ví dụ tham chiếu)

Các đồ uống từ trà xanh khác nhau chứa axit malic ở các lượng khác nhau như được chỉ ra trong bảng 4 được tạo ra bằng cách bổ sung axit malic (được sản xuất bởi Iwaki & Co., Ltd., độ tinh khiết: 99%) vào đồ uống từ trà xanh (Mẫu 4-1) thu được sử dụng lá trà *Gyokuro* làm nguyên liệu nguồn. Các đồ uống từ trà xanh khác nhau được tạo ra trong thử nghiệm này chứa 13,2 mg theanin, 18 mg cafein, và 34 mg catechin với mỗi 100 mL đồ uống. Đồ uống từ trà xanh được điều chỉnh đến độ pH khoảng 6 bằng cách bổ sung natri hydro cacbonat.

Đồ uống từ trà xanh được tạo ra được đưa đi đánh giá cảm quan bởi quy trình giống như trong Thử nghiệm 1, với Mẫu 4-1 được sử dụng làm đối chứng. Kết quả đánh giá cảm quan được thể hiện trong bảng 4. Khi axit malic được bổ sung vào đồ uống từ trà xanh, vị của đồ uống từ trà xanh được tăng cường.

Bảng 4

Mẫu	4-1	4-2	4-3	4-4
Hàm lượng axit malic (mg/100 mL)	2	2,85	4	13
Điểm cảm quan (vị sâu)	1	3	3	3

Thử nghiệm 5: Sản xuất và đánh giá đồ uống từ trà xanh

Các đồ uống từ trà xanh khác nhau (Mẫu 5-1, 5-2) chứa axit malic và fagomin được tạo ra bằng cách bổ sung 0,01 mg/100 mL fagomin (được sản xuất bởi Funakoshi Co., Ltd., độ tinh khiết: 98%) vào mỗi trong số Mẫu 3-8 được tạo ra trong Thử nghiệm

3 và Mẫu 4-4 được tạo ra trong Thử nghiệm 4.

Đồ uống từ trà xanh được tạo ra được đưa đi đánh giá cảm quan. Với những đồ uống từ trà xanh được tạo ra mà không bổ sung axit malic hoặc fagomin được sử dụng làm đối chứng, các mẫu được cảm nhận là có vị sâu tương tự với đối chứng được đánh giá là “±”, các mẫu được cảm nhận là có vị sâu tăng cường được đánh giá là “+”, và các mẫu được cảm nhận là có vị sâu tăng cường đáng kể được đánh giá là “++”. Điểm đánh giá được đưa ra bởi năm chuyên viên thẩm định được thảo luận lần nữa theo cách tự do trong số toàn bộ các thẩm định viên, và điểm đánh giá cuối cùng được chỉ định với sự nhất trí của các thẩm định viên.

Như được thấy rõ từ các kết quả được thể hiện trong bảng đưa ra dưới đây, được chứng minh rằng vị sâu của đồ uống từ trà xanh được tăng cường đáng kể bằng cách bổ sung axit malic và fagomin kết hợp.

Bảng 5

Mẫu	3-1	3-8	5-1	4-1	4-4	5-2
Hàm lượng axit malic (mg/100 mL)	1,8	13	13	2	13	13
Hàm lượng fagomin (mg/100 mL)	0	0	0,01	0	0	0,01
Điểm cảm quan (vị sâu)	Đối chứng	+	++	Đối chứng	+	++

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp tăng cường vị của đồ uống từ trà xanh, phương pháp này bao gồm bước kết hợp vào đồ uống từ trà xanh từ 2,7 đến 13 mg axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin với mỗi 100 mL đồ uống.
2. Đồ uống từ trà xanh được kết hợp vào đó từ 2,7 đến 13 mg axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin với mỗi 100 mL đồ uống.
3. Phương pháp sản xuất đồ uống từ trà xanh, phương pháp này bao gồm bước bổ sung vào đồ uống từ trà xanh từ 2,7 đến 13 mg axit malic và từ 0,01 đến 0,8 mg fagomin với mỗi 100 mL đồ uống.