



(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)



1-0044625

(51)^{2021.01} **A23L 27/20; A23L 27/23; A23L 27/26;** (13) **B**
A23L 27/21

(21) 1-2022-06949

(22) 23/04/2021

(86) PCT/EP2021/060685 23/04/2021

(87) WO2021/219512 A1 04/11/2021

(30) 20172187.5 29/04/2020 EP

(45) 25/04/2025 445

(43) 27/01/2023 418A

(71) UNILEVER IP HOLDINGS B.V. (NL)

Weena 455, 3013 AL Rotterdam, The Netherlands

(72) KOEK Jean Hypolites (NL).

(74) Công ty TNHH Trần Hữu Nam và Đồng sự (TRAN H.N & ASS.)

(54) PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ HƯƠNG LIỆU VÀ HƯƠNG LIỆU THU ĐƯỢC TỪ
PHƯƠNG PHÁP NÀY

(21) 1-2022-06949

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hương liệu, bao gồm các bước (i) tạo hỗn hợp phản ứng bao gồm (a) chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng của các hợp chất chứa thiol, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, (b) ít nhất 1% trọng lượng của axit khoáng hoặc axit hữu cơ, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, và (c) từ 0 đến 20% trọng lượng của nước tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng; và (iii) ủ hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 150°C đến 220°C, trong đó tác động trộn cắt lên hỗn hợp phản ứng. Phương pháp tốt hơn là tự nhiên. Sáng chế cũng đề cập đến hương liệu có thể thu được bằng phương pháp này. Hương liệu tốt hơn là hương liệu tự nhiên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hương liệu, hương liệu thu được từ quy trình nói trên và sản phẩm thực phẩm chứa hương liệu nói trên.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiều sản phẩm thực phẩm tiêu dùng, chẳng hạn như súp, bữa ăn sẵn, viên bột canh có chứa hương liệu để đảm bảo sản phẩm đáp ứng mong muốn về hương vị của người tiêu dùng. Việc cung cấp hương liệu mùi vị thịt cho các sản phẩm thực phẩm đó được chú ý đặc biệt.

Thông thường, hương liệu mùi vị thịt có nguồn gốc tổng hợp, được điều chế thông qua phản ứng Maillard và Strecker có liên quan đến các axit amin có chứa lưu huỳnh và đường. Các axit amin chứa lưu huỳnh có thể được cung cấp bởi các axit amin tự do, ví dụ như cystein, hoặc axit amin lưu huỳnh có chứa peptit, chẳng hạn như glutathion. Đường được dùng thường là glucoza, riboza, arabinoza hoặc xyloza. Mottram et al., J.Braz. Chem.Soc. 9, 261 (1998) mô tả việc kết hợp cystein và inositol monophosphat tinh khiết (IMP, một ribonucleotit) bằng cách đun nóng trong 1 giờ ở 140°C dưới áp suất 0,28 MPa (2,7 bar), ở độ pH 3,0, 4,5 và 6. Nhược điểm của chất liệu tổng hợp hóa học như vậy là hương vị có được không thể được coi là 'tự nhiên' theo quy định của EFTA. Người tiêu dùng ngày càng muốn có các sản phẩm thực phẩm được dán nhãn chỉ chứa các thành phần tự nhiên. Do đó, cần phải cung cấp một quy trình để điều chế hương liệu có hương vị tự nhiên.

JP 2003-169627, ví dụ 1, bộc lộ quy trình sản xuất hương liệu mùi vị thịt trong đó 7 phần tính theo trọng lượng của chiết xuất nấm men chứa 5'-nucleotit (do Kohjin sản xuất, hàm lượng 5'-nucleotit 36%), chiết xuất nấm men có chứa glutathion (Chiết xuất nấm men Aromild U, hàm lượng glutathion 8%), 2,5 phần tính theo trọng lượng xyloza, 7 phần tính theo trọng lượng dextrin dạng bột (do Sanwa Starch Co., Ltd., Sandech # 70 sản xuất) và 14,5 phần tính theo trọng lượng natri clorua là thêm 50 phần tính theo trọng lượng nước vào và đun nóng ở 105°C

trong 65 phút. Sau khi hoàn tất phản ứng, dung dịch phản ứng được làm khô bằng máy sấy phun để thu được gia vị nêm. Nhược điểm của quy trình theo JP 2003-169627 là xyloza và dextrin tinh khiết được thêm vào, những chất này có nguồn gốc hóa học và do đó hương liệu tạo ra không đủ tiêu chuẩn để được coi là tự nhiên.

Nhược điểm khác do xử lý qua nhiệt gia vị gốc Maillard của JP 2003-169627 có mùi hấp hoặc mùi khét không mong muốn. JP 2016-174587 muốn khắc phục nhược điểm này bằng cách đưa vào một gốc prolin. Ví dụ 5 bộ chế phẩm chứa 49,0% trọng lượng chiết xuất nấm men glutathion, 4,0% trọng lượng chiết xuất nấm men chứa 5'-ribonucleotit, 1,4% trọng lượng xi-rô fructoglucoza, 5,0% trọng lượng chiết xuất nấm men chứa prolin và 40,6% trọng lượng nước, chế phẩm được đun nóng ở 110°C trong 30 phút.

WO 2010/037783 mô tả quy trình sản xuất hương liệu thực phẩm hoặc thức ăn chăn nuôi. Ví dụ 1 mô tả quy trình này trong đó hỗn hợp bao gồm chiết xuất từ nấm men chứa 15% trọng lượng glutathion, 78% trọng lượng bột Gistex LS, 1,0% trọng lượng nước và 1,0% trọng lượng dầu hoa hướng dương hydro hóa, dầu được đưa vào máy đun trực vít đôi ở nhiệt độ 175°C và với thời gian lưu trú là 1 phút.

Vẫn cần phải cung cấp quy trình để điều chế hương liệu mùi vị thịt đáp ứng nhu cầu của người tiêu dùng và quy định.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hương liệu có hương liệu mùi vị thịt được tạo ra bởi một quy trình trong đó chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, với tỷ lệ phần trăm trọng lượng được tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, được đun nóng ở nhiệt độ trong khoảng 150 đến 220°C với sự có mặt của axit và tác động trộn cắt để khuấy trộn hỗn hợp phản ứng.

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, đã đề cập đến phương pháp điều chế hương liệu, bao gồm các bước:

(i) cung cấp hỗn hợp phản ứng gồm có:

a. chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, với tỷ lệ phần trăm trọng lượng được tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men,

b. ít nhất 1% trọng lượng axit khoáng hoặc axit hữu cơ, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, và

c. từ 0 đến 20% trọng lượng nước tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng;

(ii) ủ hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 150°C đến 220°C, trong đó tác động trộn cắt lên hỗn hợp phản ứng;

và trong đó hỗn hợp phản ứng được khuấy trộn ở bước (ii).

Thật không ngờ, việc chuyển đổi các hợp chất chứa thiol và glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng có trong (các) chiết xuất nấm men tiến hành một cách hiệu quả để tạo ra hương liệu mùi vị thịt, mà không tạo ra các hương vị khác biệt. Quá trình này rất nhanh chóng. Do lượng nước để dùng trong quá trình này là hạn chế, nên hương liệu thu được thường không yêu cầu thêm bước làm khô.

Các tác giả sáng chế nhận thấy rằng hương liệu có đặc tính cảm quan tuyệt vời và thời hạn sử dụng kéo dài do tính ổn định của hương liệu.

Trong bước ủ, máy trộn cắt tác động thuận lợi lên hỗn hợp phản ứng bằng cách khuấy trộn. Do đó, ưu tiên khuấy trộn hỗn hợp phản ứng ở bước (ii) của phương pháp. Điều thuận lợi là người ta thấy rằng hỗn hợp phản ứng ở bước (i) có thể dễ dàng được điều chế theo công thức sao cho nó dẻo hoá ở nhiệt độ hoạt động của bước (ii), điều này tạo điều kiện thuận lợi cho tác động trộn cắt, đặc biệt là khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trộn.

Sáng chế này có lợi thế hơn so với các phương pháp theo tình trạng kỹ thuật là việc xử lý hóa học để khử đường, chẳng hạn như xi-rô glucoza-fructoza, không cần thiết đối với hỗn hợp phản ứng, để tạo ra hương liệu mùi vị thịt. Do đó, quy

trình theo sáng chế đáp ứng nhu cầu cần thiết của người tiêu dùng về hương liệu tự nhiên.

Một ưu điểm khác, phương pháp này không yêu cầu phải có dầu (chẳng hạn như dầu thực vật) trong bước ủ. Do đó, có thể tránh được các nhược điểm liên quan đến cách dùng chúng (chẳng hạn như mùi dầu cháy, sự ôi thiu và/hoặc tạo ra các hợp chất có hại tại hoặc trên điểm bốc khói của dầu) một cách thích hợp.

Theo khía cạnh thứ hai, mục đích của sáng chế cũng cung cấp hương liệu có thể thu được bằng phương pháp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế.

Hương liệu tốt hơn là ở trạng thái thủy tinh và tốt hơn là hương liệu tự nhiên.

Mô tả chi tiết sáng chế

Từ 'bao gồm' như được sử dụng ở đây có nghĩa là 'bao gồm' nhưng không nhất thiết phải 'bao hàm' hoặc 'cấu thành từ'. Nói cách khác, các bước hoặc tùy chọn được liệt kê không cần phải đầy đủ.

Trừ khi được chỉ định khác, phạm vi số được biểu thị ở định dạng 'từ x đến y' hoặc 'x-y' được hiểu là bao gồm x và y. Khi đối với đặc điểm cụ thể, nhiều phạm vi ưu tiên được mô tả ở định dạng 'từ x đến y' hoặc 'x-y', điều này được hiểu rằng tất cả các phạm vi kết hợp các điểm cuối khác nhau cũng được dự tính. Theo mục đích của sáng chế, nhiệt độ môi trường xung quanh được định nghĩa là nhiệt độ khoảng 20°C. Ngoài trừ trong các ví dụ và thí nghiệm so sánh hoặc khi được chỉ định rõ ràng, tất cả các con số phải được hiểu là sửa đổi bởi từ "khoảng".

Trừ khi có chỉ định khác, tỷ lệ phần trăm trọng lượng (% trọng lượng) được dựa trên toàn bộ trọng lượng của chế phẩm.

Thuật ngữ "nấm men" như được sử dụng ở đây, có nghĩa là sinh vật thuộc họ Saccharomycetaceae, tốt hơn là chi Saccharomyces. Nấm men theo sáng chế có thể là bất kỳ loại nấm men nào.

Thuật ngữ "chiết xuất từ nấm men" như được sử dụng ở đây để chỉ chế phẩm bao gồm các chế phẩm hòa tan trong nước của tế bào nấm men, chế phẩm chủ yếu là axit amin, peptit, cacbohydrat và muối. Chiết xuất nấm men được tạo

ra thông qua quá trình thủy phân các liên kết peptit bởi các enzym xuất hiện tự nhiên có trong nấm men ăn được và/hoặc bằng cách bổ sung các enzym cấp thực phẩm (Food Chemical Codex), tức là bằng cách tự phân hoặc thủy phân. Chiết xuất nấm men, trong phạm vi của sáng chế đồng nghĩa với sản phẩm thủy phân nấm men hoặc thể tự phân giải nấm men, tức là chiết xuất hòa tan từ nấm men chứa protein đã được thủy phân.

Thuật ngữ “glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng” dùng để chỉ nhóm glycosyl được liên kết cộng hóa trị với nhóm amin. Nhóm glycosyl được hình thành bằng cách loại bỏ nhóm hydroxy khỏi chức năng hemiacetal của monosaccharit, ví dụ như ribosa hoặc glucoza. Ví dụ, nhóm amin có thể được cung cấp bởi nhóm purin, pyrimidin hoặc pyridin. Các dẫn xuất có thể bao gồm các nhóm hydroxy được phosphoryl hóa như trong 5'-ribonucleotit.

Thuật ngữ “ribonucleotit” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ hỗn hợp của guanosin monophosphat (5'-GMP), cytidin monophosphat (5'-CMP), uridin monophosphat (5'-UMP) và adenosin monophosphat (5'-AMP) và/hoặc inosin monophosphat (5'-IMP), trong đó 5'-IMP trong hỗn hợp thu được bằng cách chuyển đổi một phần hoặc hoàn toàn 5'-AMP thành 5'-IMP. Thuật ngữ “ribonucleotit” ở đây được dùng để chỉ 5'-ribonucleotit tự do hoặc muối của chúng, của chế phẩm và được tính dưới dạng muối dinatri heptahydrat ($2\text{Na} \cdot 7\text{Aq}$) của 5'-ribonucleotit. Không có muối không có nghĩa là chế phẩm theo sáng chế không thể chứa muối, mà có nghĩa là muối bị loại trừ khỏi chế phẩm để tính phần trăm trọng lượng. Ribonucleotit và nucleotit được sử dụng thay thế cho nhau trong phạm vi sáng chế này.

Thuật ngữ “ribonucleosit” được sử dụng ở đây dùng để chỉ hỗn hợp của guanosin, cytidin monophosphat, uridin, adenosin và/hoặc inosin.

Lượng ribonucleotit và/hoặc ribonucleosit có trong hỗn hợp phản ứng có thể được xác định bằng ^1H NMR.

Chiết xuất nấm men theo sáng chế bao gồm một mặt chứa “toàn bộ chất khô” và mặt khác chứa “nước”. Theo định nghĩa, tổng trọng lượng của toàn bộ

chất khô và nước là 100%. Ví dụ, chiết xuất nấm men có thể bao gồm 15% trọng lượng nước và 85% toàn bộ chất khô.

"Toàn bộ chất khô" trong chiết xuất nấm men một mặt chứa "chất khô từ nấm men" hoặc "chất khô không chứa muối", mặt khác chứa "chất khô không phải nấm men" như muối (được thêm vào). "Chất khô nấm men" hoặc "chất khô không có muối" trong chiết xuất nấm men có thể bao gồm các axit amin, peptit, lipid, polysaccharit, 5'-ribonucleotit, v.v.

Do đó, chiết xuất nấm men có thể có chế phẩm sau:

95% toàn bộ chất khô, trong đó 18% muối (natri clorua) = 19% trọng lượng toàn bộ chất khô; 65% chất khô nấm men trong đó = 68% toàn bộ chất khô;

12% 5'-ribonucleotit = 18,5% chất khô của nấm men (12/65);

53% khác như axit amin, peptit, lipid, polysaccharit.

Thuật ngữ "axit" như được sử dụng ở đây đề cập đến hợp chất là axit Bronsted.

Thuật ngữ "hợp chất chứa thiol" như được sử dụng ở đây có nghĩa là hợp chất có ít nhất một nhóm -SH, chẳng hạn như cystein, cũng như hợp chất -SH được che đậy như hợp chất chứa disulfua (-S - S-), chẳng hạn như cystin. Tổng lượng -SH có thể được xác định theo phương pháp trong Proteins và Proteomics của Richard J. Simpson. CSHL Press, Cold Spring Harbour, NY, USA, 2003.

Theo sáng chế, hỗn hợp phản ứng chứa chiết xuất nấm men, axit và nước. Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng bao gồm, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, ít nhất 30% trọng lượng chiết xuất nấm men, tốt hơn là ít nhất 40% trọng lượng chiết xuất nấm men, tốt hơn nữa là ít nhất 50% trọng lượng chiết xuất nấm men, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 60% trọng lượng, nhưng tốt hơn nữa là ít nhất 70% trọng lượng chiết xuất nấm men, tốt nhất là ít nhất 80% trọng lượng. Nói cách khác, hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men nằm trong khoảng từ 30 đến 80% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, tốt hơn là hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men trong khoảng từ 40 đến 75% trọng lượng, tốt hơn nữa là hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men trong khoảng từ 45 đến 65% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Chiết xuất nấm men có thể thuộc họ Saccharomycetaceae. Theo một phương án cụ thể, nấm men là *Saccharomyces*, ví dụ: *Saccharomyces cerevisiae* hoặc *Saccharomyces uvarum*. Theo một phương án khác, nấm men là *Kluyveromyces*., Ví dụ: *Kluyveromyces fragilis*. Theo một phương án khác, nấm men là *Candida*, ví dụ: Nấm *Candida*, còn được gọi là nấm men *Torula*.

Đối với phương pháp hiện tại, chiết xuất nấm men được cung cấp thích hợp ở dạng nguyên liệu khô, ví dụ như bột khô. Do đó, ưu tiên là chiết xuất nấm men chứa tối đa 5% trọng lượng nước.

Hỗn hợp phản ứng như được xác định ở đây chứa ít nhất 0,5% trọng lượng, của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng, của các hợp chất chứa thiol, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men. Glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol có thể được cung cấp bởi các chiết xuất từ nấm men giống nhau hoặc khác nhau. Nói cách khác, glycosylamin và/hoặc dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol có thể được cung cấp bởi chiết xuất nấm men thứ nhất và chiết xuất nấm men thứ hai, trong đó theo một số phương án, chiết xuất nấm men thứ nhất và thứ hai có thể giống nhau.

Theo một phương án được ưu tiên, bước (i) bao gồm việc cung cấp chiết xuất nấm men thứ nhất chứa ít nhất 0,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ nhất, của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và chiết xuất nấm men thứ hai chứa ít nhất 1,0 % trọng lượng của các hợp chất chứa thiol, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ hai.

Tốt hơn là, chiết xuất nấm men được thêm vào trong bước i) bao gồm ít nhất 1% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 2% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 3% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 5% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 10% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất là 15% trọng lượng, và tuy tốt hơn nữa là ít nhất 20% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng.

Thông thường, hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men thứ nhất chứa ít nhất 3% trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ nhất là

glycosylamin và/hoặc dẫn xuất của chúng, trong khoảng 20-80% trọng lượng, tốt hơn là trong khoảng nằm trong khoảng 30-60% trọng lượng, thậm chí tốt hơn trong khoảng 40-50% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Chiết xuất nấm men thứ nhất tốt hơn là chứa ít nhất 10% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ nhất của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng.

Hỗn hợp phản ứng thường bao gồm chiết xuất nấm men thứ hai chứa ít nhất 1% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ hai của các hợp chất có chứa thiol, trong khoảng 20-80% trọng lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng 30-60% trọng lượng, thậm chí tốt hơn trong khoảng 40-50% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Chiết xuất nấm men thứ hai tốt hơn là chứa ít nhất 3% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ hai của các hợp chất chứa thiol.

Tốt hơn là hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men thứ nhất và chiết xuất nấm men thứ hai với lượng tương đối thích hợp để tạo ra tỷ lệ trọng lượng và/hoặc tỷ lệ mol mong muốn của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol như được trình bày ở đây.

Tốt hơn là hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men bao gồm glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol, trong khoảng 50-99% trọng lượng, tốt hơn nữa là trong khoảng 60-98% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng 75-95% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Đặc biệt ưu tiên sử dụng sự kết hợp thích hợp giữa glycosylamin và các hợp chất chứa thiol. Do đó, ưu tiên là bước i) bao gồm việc cung cấp chiết xuất nấm men chứa ít nhất 1,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

Ưu tiên hơn là bước i) bao gồm việc cung cấp chiết xuất nấm men chứa ít nhất 1% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 2% trọng lượng và thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 3% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 2% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 4% trọng lượng các hợp chất chứa thiol tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

Điều được ưu tiên hơn nữa là chiết xuất nấm men thứ nhất chứa ít nhất 5% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 10% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và chiết xuất nấm men thứ hai bao gồm ít nhất 2% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất là 3% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 10% trọng lượng của các hợp chất chứa thiol tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

Theo một phương án được ưu tiên, glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng chứa nhóm chức riboza. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng các quy trình theo sáng chế, trong đó riboza chứa glycosylamin được sử dụng, các hợp chất như 2-metyl-3-furanthiol, 2 metyl-3- (metylthio) furan và bis- (2-metyl-3-furyl) disulfua được hình thành, mà các hợp chất chứa furan tạo ra mùi thơm đặc trưng của thịt.

Theo một số phương án, glycosylamin và/hoặc dẫn xuất của chúng là ribonucleotit và/hoặc ribonucleosit. Tốt hơn là chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 1% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 5% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 10% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 15% trọng lượng, tốt nhất là ở ít nhất 20% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, của ribonucleotit.

Theo một phương án được ưu tiên khác, glycosylamin là ribonucleotit và/hoặc ribonucleosit. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, các nhà sáng chế giả định rằng đun nóng ribonucleotit khi có mặt axit dẫn đến ribonucleotit và/hoặc ribonucleotit phân hủy để giải phóng riboza có thể tham gia phản ứng với các hợp chất chứa thiol có mặt để tạo ra các hợp chất tạo hương vị.

Do đó, được ưu tiên là hỗn hợp phản ứng ở bước (i) bao gồm glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 15% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 3 đến 12% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là từ 5 đến 11% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Các hợp chất chứa thiol có thể là protein, peptit hoặc axit amin bao gồm các nhóm $-SH$. Nói cách khác, nhóm thiol có thể hiện diện dưới dạng “axit amin tự do” hoặc là một phần của peptit và/hoặc protein. Tốt hơn là các hợp chất chứa thiol là các peptit bao gồm glutathion hoặc cystein, tốt hơn là glutathion. Do đó, các hợp chất chứa thiol được ưu tiên là glutathion, cystein, và/hoặc các dipeptit chứa cystein, và tốt hơn nữa là glutathion.

Theo một phương án được ưu tiên, chiết xuất nấm men chứa ít nhất 2% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 5% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 10% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 15% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 20% trọng lượng, tốt nhất là ít nhất 25% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, các hợp chất chứa thiol.

Hỗn hợp phản ứng ở bước (i) được ưu tiên bao gồm các hợp chất chứa thiol với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 15% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 2 đến 12% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là từ 3 đến 10% trọng lượng và vẫn tốt hơn nữa là từ 4 đến 8% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Để tối ưu hóa các điều kiện phản ứng, nên ưu tiên hỗn hợp phản ứng ở bước (i) bao gồm glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol theo tỷ lệ trọng lượng từ 5:1 đến 1:5, tốt hơn là giữa 4:1 và 1:2, thậm chí tốt hơn là giữa 3:1 và 1:1, và vẫn tốt hơn là giữa 3:2 và 5:2.

Do đó, ưu tiên là glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol có mặt trong hỗn hợp phản ứng theo tỷ lệ trọng lượng khoảng 2:1.

Tỷ lệ của các hợp chất này cũng có thể được biểu thị dưới dạng tỷ lệ mol. Do đó, nên ưu tiên hỗn hợp phản ứng ở bước (i) bao gồm glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol theo tỷ lệ mol từ 5:1 đến 1:5, tốt hơn là từ 4:1 đến 1:2, thậm chí tốt hơn nữa là giữa 3:1 và 1:1, và tốt hơn nữa là giữa 3:2 và 5:2.

Do đó, ưu tiên là glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol có mặt trong hỗn hợp phản ứng theo tỷ lệ mol khoảng 2:1.

Tốt hơn là chiết xuất nấm men là nguồn của ít nhất 80% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất là 90% trọng lượng, thậm chí tốt hơn là ít nhất 95% và vẫn tốt hơn nữa là ít nhất 99% trọng lượng của tổng số glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol trong hỗn hợp phản ứng. Do đó, điều đặc biệt ưu tiên là về cơ bản tất cả hoặc thậm chí toàn bộ tổng số glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và các hợp chất chứa thiol trong hỗn hợp phản ứng đều có nguồn gốc từ chiết xuất nấm men.

Khoáng chất hoặc axit hữu cơ

Hỗn hợp phản ứng như được xác định ở đây bao gồm một axit. Axit có khả năng thúc đẩy các phản ứng tăng hương vị diễn ra trong quá trình ủ ở bước (ii). Tốt hơn là axit là axit khoáng hoặc axit hữu cơ, tốt hơn là axit hữu cơ.

Trong trường hợp axit là axit hữu cơ, thì ưu tiên hỗn hợp phản ứng bao gồm ít nhất 1% trọng lượng của axit hữu cơ, trong đó axit hữu cơ có hằng số phân ly thứ nhất (pK_a) ở 25°C trong nước từ 4,35 trở xuống, tốt hơn là 4,1 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 4,0 trở xuống và thậm chí tốt hơn nữa là 3,9 hoặc thấp hơn.

Các ví dụ thích hợp về các axit hữu cơ có giá trị pK_a thứ nhất tương ứng trong nước ở 25°C được liệt kê trong Bảng 1, đại diện cho dữ liệu từ *CÁC TỔNG HỢP XỬ LÝ CÁC CHẤT VÀ CƠ SỞ HỮU CƠ, Sổ tay Hóa học & Vật lý 88ed.*

Bảng 1

Axit	pK_a
Axit Lactic	3,86
Axit Succinic	4,21
Axit Malic	3,40
Axit DL-Tartaric	3,03
Axit meso-Tartaric	3,17
Axit L-Ascorbic	4,04
Axit Xitric	3,13

Axit Glycolic	3,83
Axit Pyruvic	2,39
Axit Formic	3,75
Axit Glyoxylic	3,18
Axit Oxalic	1,25
Axit Propanoic	4,87
Axit Glyxeric	3,52
Axit Maleic	1,92
Axit Fumaric	3,02
Axit Glutaric	4,32
Axit Benzoic	4,204

Tốt hơn là, axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit ascorbic, axit lactic, axit malic, axit xitric, axit succinic, axit tartaric, axit oxalic, axit glyxeric, axit succinic; axit đường như: axit gluconic, axit glucuronic, axit glucaric, axit mannuronic, axit thơm như axit benzoic, axit para-hydroxybenzoic, axit catechuic, axit gallic, axit ferulic, axit quinic và hỗn hợp của chúng. Axit hữu cơ, tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm axit ascorbic, axit lactic, axit malic và axit xitric, axit succinic, axit tartaric, tốt hơn nữa, axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit lactic, axit malic và xitric axit, axit tartaric, axit succinic và axit ascorbic, và sự kết hợp của chúng. Tốt hơn nữa, axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit lactic, axit ascorbic và axit malic và sự kết hợp của chúng. Thậm chí tốt hơn nữa là axit hữu cơ là axit lactic.

Axit hữu cơ cũng được ưu tiên là axit không ion lưỡng tính.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng chứa ít nhất 2% trọng lượng axit, dựa trên tổng trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, tốt hơn nữa là ít nhất 2,5% trọng lượng, dựa trên tổng trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng bao gồm từ 1,0 đến 20% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 2 đến 15% trọng lượng, và thậm chí tốt hơn nữa là từ 5 đến 10% trọng

lượng axit khoáng hoặc axit hữu cơ, dựa trên tổng trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Theo một phương án được ưu tiên, bước i) bao gồm bước thêm axit vào chiết xuất nấm men. Tốt hơn là lượng axit được thêm vào là khoảng 0,1-2 phần tính theo trọng lượng axit được thêm vào 1-10 phần tính theo trọng lượng chiết xuất nấm men bao gồm ít nhất 0,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng.

Nước

Hỗn hợp phản ứng như được xác định ở đây chứa nước với lượng từ 0 đến 20% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng. Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,2% trọng lượng đến 18% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0,3% trọng lượng đến 15% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là từ 0,4% trọng lượng đến 12% trọng lượng, vẫn tốt hơn là từ 0,5% trọng lượng đến 6% trọng lượng và tốt hơn nữa là từ 0,8 đến 2% trọng lượng tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng. Lượng nước tương đối thấp cần thiết trong phương pháp theo sáng chế sẽ thúc đẩy sự phát triển hương liệu trong bước ủ. Hơn nữa, lượng nước thấp cũng cho phép quá trình không cần thêm bước làm khô.

Chiết xuất nấm men có thể chứa một số nước và do đó có thể là các nguồn axit thích hợp thông thường được sử dụng trong phương pháp này. Do đó, lượng nước mong muốn (nếu có) trong hỗn hợp phản ứng của bước (i) có thể được cung cấp bởi chiết xuất nấm men, bởi nguồn axit hoặc có thể được thêm vào riêng.

Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng chứa:

a. 75–95% trọng lượng chiết xuất nấm men chứa ít nhất 1% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 2% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men hợp chất chứa thiol,

b. 5–15% trọng lượng, tốt hơn nữa là 8–12% trọng lượng tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, của axit,

c. 0–10% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0 đến 2% trọng lượng tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, của nước.

Theo một phương án được ưu tiên, phương pháp theo sáng chế không bao gồm bước thêm đường khử một cách riêng biệt. Bởi "riêng biệt" có nghĩa là bổ sung cho chiết xuất nấm men. Đường khử là một saccharit bao gồm nhóm hemiacetal hoặc hemiketal. Ví dụ về đường khử là fructoza, glucoza, riboza, xyloza, maltodextrin, dextrin, xi-rô glucoza.

Chất béo hoặc dầu

Theo một số phương án được ưu tiên, quy trình này được thực hiện khi có mặt của chất béo hoặc dầu.

Thuật ngữ “chất béo” và “dầu” được sử dụng thay thế cho nhau, trừ khi có quy định khác. Nếu có thể, tiền tố “chất lỏng” hoặc “chất rắn” được thêm vào để cho biết chất béo hoặc dầu là chất lỏng hay chất rắn ở nhiệt độ môi trường như cách hiểu của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Vì vậy, hỗn hợp phản ứng tốt hơn là bao gồm dầu gốc triglyxerit như được hiểu bởi người hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các thuật ngữ 'triacylglycerols', 'TAGs' và 'triglyxerit' được dùng thay thế cho nhau; chúng đề cập đến các este của glyxerol và ba axit béo. Axit béo (các nhóm chức) của các TAG có thể khác nhau về độ dài. Chiều dài của một axit béo thường được biểu thị bằng số cacbon của chúng. Axit béo (các nhóm chức) có thể bão hòa, không bão hòa đơn hoặc không bão hòa đa.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng bao gồm 0,1 đến 5% trọng lượng, tốt hơn nữa là 0,2 đến 4% trọng lượng, thậm chí tốt hơn là 0,5 đến 2% trọng lượng và vẫn tốt hơn nữa là 0,6 đến 1,5% trọng lượng tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng gồm dầu và/hoặc chất béo.

Ví dụ về các nguồn dầu và chất béo thích hợp thông thường bao gồm dầu dừa, dầu hạt cọ, dầu cọ (và các phần nhỏ của chúng bao gồm cọ olein và cọ stearin), dầu biển (kể cả dầu cá), mỡ lợn, mỡ động vật, mỡ bơ, mỡ gà, dầu đậu nành, dầu cây rum, dầu hạt bông, dầu hạt cải dầu, dầu hạt lanh, dầu mè, dầu hạt anh túc, dầu ngô (dầu ngô), dầu hướng dương, dầu đậu phộng, dầu cám gạo, dầu

ô liu, dầu tảo, mỡ hạt mỡ, và alanblackia và hỗn hợp của chúng. Theo mục đích của sáng chế này, dầu tảo được coi là dầu thực vật.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng bao gồm dầu được chọn từ dầu đậu nành, dầu hướng dương, dầu hạt cải (canola), dầu hạt bông, dầu đậu phộng, dầu cám gạo, dầu cây rum, cọ olein, dầu hạt lanh, dầu cá, omega-3 cao dầu chiết xuất từ tảo, dầu ngô (dầu ngô), dầu mè, dầu hạt cọ, dầu dừa, dầu ô liu và kết hợp của chúng. Tốt hơn nữa là dầu được chọn từ dầu đậu nành, dầu hướng dương, dầu hạt cải, dầu ngô (dầu ngô), dầu ô liu, dầu hạt lanh, dầu cọ và kết hợp của chúng.

Bước ủ

Để tạo ra hương liệu mong muốn, hỗn hợp phản ứng ở bước (ii) được ủ ở nhiệt độ cao. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ trong khoảng 150 đến 220°C, tốt hơn nữa là ở nhiệt độ trong khoảng 160°C đến 200°C, thậm chí tốt hơn nữa là 165° đến 195°C và vẫn tốt hơn nữa là 170° đến 190°C.

Trong bước ủ (ii), máy trộn cắt được áp dụng cho hỗn hợp phản ứng. Nếu không có sự trộn cắt nhỏ, quá trình này sẽ dẫn đến mùi vị hoặc mùi khó chịu không mong muốn, chẳng hạn như hương vị hoặc mùi lưu huỳnh, hoặc các dấu hiệu cháy. Các hương liệu khác và các loại rượu mạnh như vậy sẽ làm cho hương liệu không thích hợp để sử dụng. Thuận lợi là sự kết hợp của việc dùng không hoặc chỉ một lượng nước thấp trong hỗn hợp phản ứng kết hợp với trộn cắt ở nhiệt độ cao của bước (ii), cho phép quá trình ủ diễn ra mà không cần phải kiểm soát áp suất thủy tĩnh cao như trường hợp khi ủ được thực hiện trong môi trường nước.

Máy trộn cắt được áp dụng thuận lợi cho hỗn hợp phản ứng bằng cách khuấy trộn nó. Do đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy trộn ở bước (ii). Do đó, hỗn hợp phản ứng tốt nhất nên được khuấy trộn ở bước (ii) của phương pháp. Độ nhất quán có thể khuấy trộn được dễ dàng đạt được đối với chiết xuất nấm men nhất định như đã chỉ định, ví dụ bằng cách điều chỉnh mực nước và nhiệt độ vận hành thích hợp. Do đó, hỗn hợp phản ứng ở bước (i) có thể dễ dàng được tạo thành công thức sao cho nó dẻo ở nhiệt độ hoạt động của bước (ii), điều này tạo điều kiện thuận lợi cho việc áp dụng trộn cắt, đặc biệt là khi hỗn hợp phản ứng có hoạt

động khuấy trộn. Máy trộn cắt được áp dụng cũng được cho là góp phần làm dẻo hỗn hợp phản ứng.

Việc làm dẻo hỗn hợp phản ứng được cho là góp phần vào khả năng khuấy trộn của nó. Do đó, ưu tiên là ở bước (ii) hỗn hợp phản ứng được làm dẻo. Tương tự, phản ứng được ưu tiên ở dạng nóng chảy, vì điều này cũng góp phần vào khả năng khuấy trộn.

Bước ủ có thể được thực hiện trong bất kỳ thiết bị thích hợp nào có thể cung cấp nhiệt độ và độ trộn cắt yêu cầu. Cả quy trình hàng loạt và quy trình liên tục đều được dự tính. Để thực hiện phương pháp được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng ở bước ii) được ủ trong một quy trình liên tục. Do đó, điều đặc biệt ưu tiên là hỗn hợp phản ứng ở bước ii) được ủ trong máy đùn, tốt hơn nữa là trong máy đùn trục vít đôi. Do đó, máy đùn, đặc biệt là máy đùn trục vít đôi cung cấp một cách thuận lợi để khuấy trộn hỗn hợp phản ứng ở bước (ii).

Trong quá trình ủ, sự kết hợp phức tạp của các phản ứng hóa học dẫn đến sự phát triển của các hợp chất ảnh hưởng đến đặc điểm cảm quan của hỗn hợp phản ứng và theo cách đó biến nó thành một chế phẩm tạo hương liệu, với các đặc tính cảm quan tối ưu. Các đặc tính này có thể bao gồm mùi vị, hương vị, đặc điểm khứu giác, hình thức trực quan và khả năng hòa tan/phân tán khi ứng dụng trong sản phẩm thực phẩm. Do đó, hỗn hợp phản ứng ở bước ii) tốt hơn là được ủ với thời gian phản ứng đủ để hương liệu phát triển. Nếu hỗn hợp phản ứng được ủ quá ngắn, hương liệu sẽ không phát triển được đặc tính cảm quan tối ưu của nó. Nếu ủ quá lâu, hương liệu có thể bị mất mùi vị, cháy khét, và ví dụ như bị cháy, có màu nâu sẫm hoặc thâm đen.

Ví dụ, được ưu tiên là hỗn hợp phản ứng ở bước ii) được ủ với thời gian phản ứng từ 0,5 đến 15 phút, tốt hơn nữa là từ 1 đến 10 phút, và thậm chí tốt hơn nữa là từ 2 đến 5 phút.

Thời gian ủ tối ưu có thể tương quan với nhiệt độ mà hỗn hợp phản ứng được ủ. Vì vậy, hỗn hợp phản ứng tốt hơn là được ủ trong thời gian t (phút) theo công thức:

$$t = 240000 \cdot e^{-bT}$$

trong đó nhiệt độ được chọn trong phạm vi được chỉ định cho bước (ii) - ví dụ: $150^{\circ}\text{C} \leq T \leq 220^{\circ}\text{C}$ - và $0,06 \leq b \leq 0,075$. Sự phát triển hương liệu thích hợp thường được quan sát trong các giới hạn này. Tốt hơn nữa là $0,062 < b < 0,072$.

Vì vậy, hỗn hợp phản ứng tốt hơn là được ủ ở nhiệt độ trong khoảng 170 đến 190°C trong khoảng thời gian từ $0,5$ đến 15 phút, tốt hơn là trong khoảng từ 1 đến 10 phút, tốt hơn nữa là từ 2 đến 5 phút.

Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được làm nóng ít nhất 5 phút ở 160°C , tốt hơn là ít nhất 10 phút ở 160°C và tốt hơn là 20 phút ở 160°C .

Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được làm nóng ít nhất 2 phút ở 170°C , tốt hơn là ít nhất 3 phút ở 170°C và tốt hơn là 10 phút ở 170°C .

Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được làm nóng ít nhất $1,5$ phút ở 180°C , tốt hơn là ít nhất $2,5$ phút ở 180°C , và tốt hơn là ít nhất 6 phút ở 18°C .

Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được làm nóng ít nhất 1 phút ở 190°C , tốt hơn là ít nhất 2 phút ở 190°C , và tốt hơn là 4 phút ở 190°C .

Theo một phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được làm nóng ít nhất $0,5$ phút ở 200°C , tốt hơn là ít nhất 1 phút ở 200°C , và tốt hơn là ít nhất 2 phút ở 200°C .

Tốt hơn là phương pháp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế là phương pháp tự nhiên để điều chế hương liệu. Phương pháp tự nhiên thường tuân thủ các yêu cầu về tính tự nhiên như được định nghĩa trong quy chế của EU 2008-1334.

Trong một cách thực hiện đặc biệt được ưu tiên của phương pháp này, hỗn hợp phản ứng đã ủ được làm mát để tạo thành chất rắn hoặc trạng thái thủy tinh, tốt hơn nữa là ở trạng thái thủy tinh. Trạng thái như vậy thường được phát triển trong trường hợp hỗn hợp phản ứng được làm dẻo và hoặc ở dạng nóng chảy trong bước ủ (ii). Trạng thái thủy tinh hoặc rắn có lợi vì nó được cho là góp phần vào sự ổn định và thời hạn sử dụng của hương liệu.

Để dễ dàng xử lý và định lượng, hỗn hợp phản ứng đã ủ tốt hơn là phải trải qua bước giảm kích thước, tốt hơn là bước trộn lẫn, hoặc tốt hơn nữa là bước xay

và/hoặc nghiền. Bất kỳ kích thước hạt nào phù hợp để ứng dụng thêm làm hương liệu trong sản phẩm thực phẩm đều được dự tính.

Tính axit của hỗn hợp phản ứng được ử dụng đóng góp vào các đặc tính cảm quan, độ ổn định và thời hạn sử dụng của nó. Do đó, được ưu tiên là hỗn hợp phản ứng được ử dụng có độ axit sao cho dung dịch thử bao gồm 1% trọng lượng hoặc hỗn hợp phản ứng được ử dụng và 0,5% trọng lượng natri clorua trong nước có pH trong khoảng từ 3,5 đến 6,0, tốt hơn nữa là trong khoảng từ 4,0 đến 5,0 ở 20°C. Ổn định hương vị của hương liệu được cho là rất có lợi trong việc xây dựng hương liệu trong các sản phẩm thực phẩm. Ngược lại, người ta phát hiện ra rằng khi độ pH trên 6, hương vị khác có thể chiếm ưu thế trong hương thơm. Độ axit của hỗn hợp phản ứng được ử dụng có thể dễ dàng được kiểm soát bằng cách lựa chọn thích hợp số lượng và loại axit trong hỗn hợp phản ứng. Các lượng chính xác được cho là thay đổi theo bản chất và lượng của các thành phần của chiết xuất nấm men trong hỗn hợp phản ứng (như quy định trong bước (i)). Ví dụ, điều này có thể liên quan đến hoạt tính đệm của một số thành phần của nó.

Phương pháp theo sáng chế tốt hơn là tạo ra hương liệu có thời hạn sử dụng ít nhất 3 tháng, tốt hơn nữa là ít nhất 6 tháng và vẫn tốt hơn nữa là ít nhất 12 tháng, khi bảo quản trong điều kiện khô ráo.

Sự kết hợp của các tính năng ưu tiên cũng được dự tính cho phương pháp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế.

Ví dụ, điều đặc biệt được ưu tiên là phương pháp điều chế hương liệu bao gồm các bước:

(i) cung cấp hỗn hợp phản ứng bao gồm:

- a. chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng ribonucleotit và ít nhất 1,0% trọng lượng glutathion, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men,
- b. ít nhất 1% trọng lượng axit lactic, và
- c. từ 0 đến 20% trọng lượng, tốt hơn nữa là từ 0,5 đến 5% trọng lượng nước theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng;

(ii) ủ hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 150 đến 220°C, trong đó tác dụng trộn cất lên hỗn hợp phản ứng bằng cách khuấy trộn và tốt hơn là với thời gian phản ứng đủ để hương liệu phát triển hoặc với thời gian phản ứng t (phút) theo công thức:

$$t = 240000 \cdot e^{-bT} \text{ trong đó: } 150^{\circ}\text{C} \leq T \leq 220^{\circ}\text{C}, \text{ và } 0,06 \leq b \leq 0,075$$

(iii) để hỗn hợp phản ứng đã ủ nguội và tạo thành hương liệu ở trạng thái rắn hoặc thủy tinh và tùy ý trộn thêm hỗn hợp phản ứng đã ủ ở trạng thái rắn hoặc thủy tinh.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến hương liệu có thể thu được bằng phương pháp như được định nghĩa ở đây. Hương liệu tốt nhất là hương liệu tự nhiên. Hương liệu tự nhiên thường tuân thủ các yêu cầu về độ tự nhiên như được định nghĩa trong quy chế của EU 2008-1334.

Tốt hơn là, hương liệu bao gồm chiết xuất nấm men gồm có:

- i. ít nhất 20 mg/g ribonucleotit,
- ii. ít nhất 20 mg/g axit hữu cơ,
- iii. ít nhất 0,1 mg/g glutathion (tổng số bị khử và oxy hóa)
- iv. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g pyroglutamat,
- v. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g xyclo-cysteiny-glycin,

và trong đó 1% trọng lượng dung dịch của chế phẩm nói trên trong nước cũng chứa 0,5% trọng lượng natri clorua có pH trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

Thông thường, tổng lượng chất protein (axit amin, oligopeptit và polypeptit) có trong chiết xuất nấm men nằm trong khoảng từ 50 đến 75% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô.

Do đó, hương liệu tốt hơn là bao gồm trên mỗi gam chất protein:

- a. ít nhất 10 mg, tốt hơn là ít nhất 15 mg ribonucleotit,
- b. ít nhất 10 mg, tốt hơn là ít nhất 15 mg axit hữu cơ,
- c. ít nhất 0,05 mg, tốt hơn là ít nhất 0,075 mg glutathion (tổng của chất khử và oxy hóa),
- d. ít nhất 0,5 mg, tốt hơn là ít nhất 0,75 mg pyroglutamat,
- e. ít nhất 0,5 mg, tốt hơn là ít nhất 0,75 mg cyclo-cysteiny-glyxin;

và trong đó 1% trọng lượng dung dịch của chế phẩm nói trên trong nước cũng chứa 0,5% trọng lượng natri clorua có pH trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

Tốt hơn là, mùi thơm/hương liệu mùi vị của thịt có thể được xác định bằng cách đánh giá cảm quan của dung dịch nước chứa 0,01-0,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô, của hương liệu thu được bằng phương pháp được xác định ở đây, tốt hơn là 0,02-0,2% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của hương liệu thu được bằng phương pháp xác định ở đây.

Thuận lợi là, nguyên liệu tạo hương được làm mát (thu được từ phương pháp theo sáng chế) ở trạng thái rắn hoặc ở trạng thái thủy tinh và có thể được giữ như một thành phần ổn định, khi được bảo vệ khỏi sự hấp thụ nước và có thể được tùy chọn chế biến thêm và áp dụng trong các công thức mà không cần yêu cầu sấy khô (chân không) hoặc bất kỳ biện pháp bảo vệ nào khác để ổn định hương liệu.

Vì vậy, chế phẩm hương liệu tự nhiên tốt hơn là ở trạng thái thủy tinh.

Do đó, cũng có thể tạo ra hương liệu mà không cần chất làm khô hoặc chất mang.

Tốt hơn là chế phẩm tạo hương tự nhiên về cơ bản không chứa thiamin và sulfurol.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề cập đến chế phẩm hương liệu bao gồm chiết xuất nấm men chứa, dựa trên chiết xuất nấm men khô:

- i. ít nhất 20 mg/g, ribonucleotit,
- ii. ít nhất 20 mg/g, axit hữu cơ,
- iii. ít nhất 0,1 mg/g glutathion,
- iv. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g pyroglutamat,
- v. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g xyclo-cysteinyglyxin
- vi. và trong đó chế phẩm này tốt hơn là không chứa thiamin và sulfurol.

Tốt hơn là 1% trọng lượng dung dịch của chế phẩm nói trên trong nước cũng chứa 0,5% trọng lượng natri clorua có pH trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề cập đến hương liệu chứa trong mỗi gam chất protein:

- a. ít nhất 10 mg, tốt hơn là ít nhất 15 mg ribonucleotit,

b. ít nhất 10 mg, tốt hơn là ít nhất 15 mg axit hữu cơ,
c. ít nhất 0,05 mg, tốt hơn là ít nhất 0,075 mg glutathion (tổng của chất khử và oxy hóa),

d. ít nhất 0,5 mg, tốt hơn là ít nhất 0,75 mg pyroglutamat,

e. ít nhất 0,5 mg, tốt hơn là ít nhất 0,75 mg cyclo-cysteiny-glyxin;

và trong đó 1% trọng lượng dung dịch của chế phẩm nói trên trong nước cũng chứa 0,5% trọng lượng natri clorua có pH trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

Hương liệu tốt hơn là ở trạng thái thủy tinh. Hơn nữa, hương liệu tốt hơn là hương liệu tự nhiên.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề cập đến phương pháp chế biến sản phẩm thực phẩm mặn bao gồm kết hợp 0,001-1% trọng lượng của chế phẩm hương liệu được điều chế theo quy trình được xác định ở đây, với một hoặc nhiều thành phần thực phẩm.

Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề cập đến cách dùng chế phẩm bao gồm chiết xuất nấm men chứa, dựa trên chiết xuất nấm men khô:

i. ít nhất 20 mg/g, ribonucleotit,

ii. ít nhất 20 mg/g, axit hữu cơ,

iii. ít nhất 0,1 mg/g glutathion,

iv. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g pyroglutamat,

v. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g xyclo-cysteiny-glyxin

vi. và trong đó chế phẩm này tốt hơn là hầu như không chứa thiamin và sulfurol,

để cung cấp mùi thơm của thịt cho các sản phẩm thực phẩm mặn.

Trong phạm vi của sáng chế hiện tại “về cơ bản không chứa thiamin” có nghĩa là nhỏ hơn 1 mg/g, tốt hơn là nhỏ hơn 0,1 mg/g, tốt hơn là nhỏ hơn 0,01 mg/g.

Trong phạm vi của sáng chế hiện tại “về cơ bản không chứa sulfurol” nghĩa là dưới 0,1 mg/g và về cơ bản không chứa sulfurol, tốt hơn là ít hơn 0,01 mg/g.

Tốt hơn là, hương liệu có thể thu được bằng phương pháp như được định nghĩa ở đây bao gồm các hợp chất như 2-metyl-3-furanthiol, 2-metyl-3-(metylthio) furan và bis- (2-metyl-3-furyl) disulfua.

Các sản phẩm thực phẩm mặn được sử dụng ở đây đề cập đến các sản phẩm thực phẩm như súp, nước sốt, nước sốt, nước dùng, đồ ăn sơ chế sẵn, nước xốt salad và nước xốt ướp.

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề cập đến cách dùng khoáng chất hoặc axit hữu cơ làm chất thúc đẩy sự phát triển hương liệu trong hỗn hợp phản ứng cũng chứa

a. chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và

b. từ 0 đến 20% trọng lượng nước tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,

trong đó hỗn hợp phản ứng được làm dẻo hoặc ở dạng nóng chảy. Tốt hơn là, axit là một chất thúc đẩy sự phát triển hương liệu mùi vị thịt.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề cập đến cách dùng khoáng chất hoặc axit hữu cơ làm chất tăng thời hạn sử dụng hương liệu trong hỗn hợp phản ứng cũng bao gồm

a. chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và

b. từ 0 đến 20% trọng lượng nước tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,

trong đó hỗn hợp phản ứng được làm dẻo hoặc ở dạng nóng chảy.

Tương tự, theo khía cạnh thứ chín, sáng chế đề cập đến cách dùng khoáng chất hoặc axit hữu cơ làm chất tăng thời hạn sử dụng hương liệu trong hương liệu có được bằng phương pháp điều chế hương liệu, bao gồm các bước:

(i) cung cấp hỗn hợp phản ứng bao gồm:

a. chiết xuất nấm men bao gồm ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men,

b. ít nhất 1% trọng lượng của axit khoáng hoặc axit hữu cơ, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, và

c. từ 0 đến 20% trọng lượng của nước tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng; và

(ii) ủ hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 150 đến 220°C, trong đó tác dụng trộn cắt lên hỗn hợp phản ứng.

Tốt hơn là hỗn hợp phản ứng ở bước (ii) được làm dẻo hoặc ở dạng nóng chảy.

Tốt hơn là phương pháp này cũng bao gồm bước (iii) để nguội hỗn hợp phản ứng đã ủ, do đó tốt hơn là đưa hương liệu về dạng rắn hoặc ở trạng thái thủy tinh.

Bất kỳ ưu tiên nào được mô tả ở đây liên quan đến phương pháp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế và/hoặc hương liệu theo khía cạnh thứ hai của sáng chế đều được xem xét một cách tương tự đối với hương liệu theo khía cạnh thứ ba và thứ tư và cách dùng theo khía cạnh thứ sáu, các khía cạnh thứ bảy, thứ tám và thứ chín, tương ứng. Đặc biệt, axit ở những khía cạnh này tốt hơn là một axit hữu cơ và tốt hơn nữa là axit lactic. Cách dùng khoáng chất hoặc axit hữu cơ đồng thời cho hai hoặc ba mục đích sử dụng theo khía cạnh thứ bảy, thứ tám và thứ chín của sáng chế cũng được dự tính.

Các đặc điểm khác nhau của sáng chế được đề cập trong các phần riêng lẻ ở trên áp dụng, nếu thích hợp, cho các phần khác với những sửa đổi phù hợp. Do đó, các tính năng được chỉ định trong một phần có thể được kết hợp với các tính năng được chỉ định trong các phần khác khi thích hợp. Bất kỳ tiêu đề phần nào được thêm vào chỉ để thuận tiện, và không nhằm hạn chế sự bộc lộ dưới bất kỳ hình thức nào.

Sáng chế sẽ được minh họa bằng các ví dụ không giới hạn sau đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Chất liệu & phương pháp

NUC-YEP: Bột chiết xuất nấm men ví dụ như Biospringer, 18% muối.

Phân tích $^1\text{H-NMR}$ chỉ ra 147 mg/g ribonucleotit.

GSH-YEP: Bột chiết xuất nấm men Aromild U-15 ex Kohjin, <1% muối.

Phân tích theo đặc điểm kỹ thuật của Kohjin: 164,9 mg/g glutathion giảm, 33,6 mg/g ribonucleotit.

Axit lactic được lấy từ Corbion, Hà Lan (chứa 85% trọng lượng axit lactic và 15% trọng lượng nước).

Xác định chất khô

Ví dụ, hàm lượng chất khô có thể được đánh giá bằng cách làm khô mẫu chất liệu trong tủ sấy chân không ở 110°C trong ít nhất 8 giờ hoặc cho đến khi thu được khối lượng mẫu không đổi.

Thiết bị tế bào cắt hình nón

Một thiết bị tế bào cắt hình nón được mô tả bởi S. H. Peighamardoust, A. J. van der Goot, R.J. Hamer và R. M. Boom in *Cereal Chemistry* 81 (6): 714-721, “Một phương pháp mới để nghiên cứu chế biến trộn cắt đơn giản của hỗn hợp tinh bột gluten lúa mì” đã được dùng để áp dụng một biến dạng xác định rõ cho chất liệu ở nhiệt độ được kiểm soát.

Đo độ pH

Dung dịch 1% của hỗn hợp phản ứng được điều chế trong nước muối 5 g/L và pH được đo ở 20°C bằng máy đo pH có điện cực thủy tinh.

Đánh giá cảm quan

Ngay sau khi điều chế, một mẫu được để nguội sẽ được phân tích khứu giác bởi một nhóm chuyên gia được đào tạo gồm 3 đến 5 nhà khoa học. Kết quả được chấm như sau: + cho biết hương liệu mùi vị thịt ngon, ++ cho biết hương liệu mùi vị thịt đậm đà, - cho biết hương liệu mùi vị không có lưu huỳnh.

Ví dụ so sánh A

Hỗn hợp chiết xuất từ nấm men bao gồm 9 phần tính theo trọng lượng là Nuc-YEP, 4,5 phần tính theo trọng lượng là GSH-YEP và 1,5 phần tính theo trọng lượng là axit lactic được đặt trong một chai thủy tinh phòng thí nghiệm chịu áp lực. Đóng chặt chai và đặt trong bể dầu đã được làm nóng trước ở nhiệt độ 165°C trong 5 phút. Lấy chai ra khỏi bể dầu và để nguội đến 90°C. Hỗn hợp thu được hơi dẻo và có màu nâu ở một số phần, khó loại bỏ và ở các phần khác hoàn toàn không phản ứng. Từ hỗn hợp không đồng nhất, một hương liệu mùi vị gà được nhận thấy nhưng cũng có một số dấu hiệu là lưu huỳnh.

Ví dụ 1

Hỗn hợp chiết xuất từ nấm men bao gồm 9 phần tính theo trọng lượng Nuc-YEP, 4,5 phần tính theo trọng lượng GSH-YEP, 1,5 phần tính theo trọng lượng axit lactic và 1,5 phần tính theo trọng lượng nước thêm vào được đặt trong Tế bào cắt hình nón (CSC) bộ máy. Khi đóng CSC, hỗn hợp được làm nóng đến 170°C và sau đó tốc độ quay 30 vòng/phút được áp dụng trong 3 phút. Một mô-men xoắn trung bình đã được quan sát thấy (1,6 Nm) cho thấy khuấy trộn tốt. Quá trình quay được dừng lại và CSC được để nguội đến 90°C trước khi mở. Hỗn hợp đồng nhất, mịn có màu nâu nhạt được loại bỏ và sau khi tiếp tục làm mát đến môi trường xung quanh, hỗn hợp này trở nên rắn và có hương liệu mùi vị thịt đậm đà. Không có hương liệu mùi vị lưu huỳnh nào được quan sát thấy.

Ví dụ 2

Hỗn hợp chiết xuất từ nấm men bao gồm 9 phần tính theo trọng lượng là Nuc-YEP, 4,5 phần tính theo trọng lượng là GSH-YEP, 1,5 phần tính theo trọng lượng axit lactic và 1,5 phần tính theo trọng lượng nước được đặt trong thiết bị Tế bào cắt hình nón (CSC). Khi đóng CSC, hỗn hợp được làm nóng đến 170°C và sau đó tốc độ quay 60 vòng/phút được áp dụng trong 3 phút. Mô-men xoắn trung bình đã được quan sát thấy (1,2 Nm) cho thấy sự khuấy trộn tốt. Quá trình quay được dừng lại và CSC được để nguội đến 90°C trước khi mở. Kết quả là hỗn hợp đồng nhất, mịn có màu nâu nhạt được loại bỏ và sau khi tiếp tục làm mát đến môi trường xung quanh, hỗn hợp này trở nên rắn và có hương vị thịt đậm đà. Không có hương liệu mùi vị lưu huỳnh nào được quan sát thấy.

Ví dụ 3

Hỗn hợp chiết xuất từ nấm men bao gồm 9 phần tính theo trọng lượng là Nuc-YEP, 4,5 phần tính theo trọng lượng là GSH-YEP và 1,5 phần tính theo trọng lượng là axit lactic, được đặt trong thiết bị tế bào cắt hình nón (CSC). Sau khi đóng CSC, hỗn hợp được làm nóng đến 160°C và sau đó tốc độ quay 30 vòng/phút được áp dụng trong 3 phút. Mô-men xoắn cao đã được quan sát thấy (4,9 Nm) cho thấy sự khuấy trộn tốt. Quá trình quay được dừng lại và CSC được để nguội đến 90°C trước khi mở. Hỗn hợp thu được được loại bỏ và sau khi tiếp tục làm mát với môi trường xung quanh, hỗn hợp đồng nhất, có màu kem chuyển sang dạng bột và có hương liệu mùi vị thịt được nhận thấy. Không có hương liệu mùi vị lưu huỳnh nào được quan sát thấy.

Ví dụ 4

Hỗn hợp chất chiết xuất từ nấm men bao gồm 9 phần tính theo trọng lượng Nuc-YEP, 4,5 phần trọng lượng GSH-YEP-2 và 1,5 phần trọng lượng axit Lactic, được đặt trong thiết bị tế bào cắt hình nón (CSC). Khi đóng CSC, hỗn hợp được làm nóng đến 170°C và sau đó tốc độ quay 30 vòng/phút được áp dụng trong 3 phút. Một mô-men xoắn cao đã được quan sát thấy (4,9 Nm) cho thấy sự khuấy trộn tốt. Quá trình quay được dừng lại và CSC được để nguội đến 90°C trước khi mở. Hỗn hợp thu được được loại bỏ và sau khi tiếp tục làm mát đến môi trường xung quanh, hỗn hợp đồng nhất, có màu nâu nhạt chuyển sang dạng rắn giòn và hương liệu mùi vị thịt đậm đà được nhận thấy. Không có hương liệu mùi vị lưu huỳnh nào được quan sát thấy.

Ví dụ 5

Hỗn hợp chiết xuất từ nấm men bao gồm 9 phần tính theo trọng lượng là Nuc-YEP, 4,5 phần tính theo trọng lượng là GSH-YEP và 1,5 phần tính theo trọng lượng là axit lactic, được đặt trong thiết bị tế bào cắt hình nón (CSC). Khi đóng CSC, hỗn hợp được làm nóng đến 180°C và sau đó tốc độ quay 30 vòng/phút được áp dụng trong 3 phút. Mô-men xoắn cao đã được quan sát thấy (4,9 Nm) cho thấy sự khuấy trộn tốt. Quá trình quay được dừng lại và CSC được để nguội đến 90°C trước khi mở. Hỗn hợp thu được được loại bỏ và sau khi tiếp tục làm mát

đến môi trường xung quanh, hỗn hợp đồng nhất, có màu nâu sẫm chuyển sang dạng rắn giòn và hương liệu mùi vị thịt đậm đà được nhận thấy với một số nốt rang. Không có hương liệu mùi vị lưu huỳnh nào được quan sát thấy.

Trong tất cả các ví dụ A và 1 đến 5, chiết xuất từ nấm men được dùng theo tỷ lệ trọng lượng GSH-YEX:Nuc-YEX = 1:2. Tỷ lệ này tương ứng với tỷ lệ trọng lượng của glutathion trên ribonucleotit là 1:2 và tỷ lệ mol là 1:1,8.

Bảng 2

V í d ụ	Phương pháp	Nhiệt độ	Thời gian	GSH- YEP (%trọng lượng)	Nuc - YEP (%trọng lượng g)	Nước thêm vào	Axit lactic	Tổng lượng nước *	Hương liệu mùi vị thịt	Không có hương liệu
A	Chai	165° C	5 phút	30%	60%	0	10%	1,5%	+ –	CÓ
1	CSC	170° C	3 phút	27%	54%	10%	9%	11,35 %	++	KHÔNG
2	CSC	170° C	3 phút* *	27%	54%	10%	9%	11,35 %	++	KHÔNG
3	CSC	160° C	3 phút	30%	60%	0	10%	1,5%	+	KHÔNG
4	CSC	170° C	3 phút	30%	60%	0	10%	1,5%	++	KHÔNG
5	CSC	180° C	3 phút	30%	60%	0	10%	1,5%	++	KHÔNG

¶: Ví dụ so sánh

*: thêm nước + nước từ axit lactic

** : CSC hoạt động ở tốc độ quay gấp đôi (30 vòng/phút đến 60 vòng/phút)

Ví dụ 6 đến 9 và B đến F

Các ví dụ khác đã được điều chế như sau. Tất cả các chất liệu và phương pháp đều giống như trên, ngoại trừ những điểm được ghi chú. Đối với mỗi ví dụ, một hỗn hợp phản ứng như chi tiết trong Bảng 3 được đặt trong thiết bị Tế bào cắt hình nón (CSC). Khi đóng CSC, hỗn hợp được làm nóng đến nhiệt độ như được chỉ ra trong Bảng 3 và sau đó tốc độ quay 30 vòng/phút được áp dụng (ngoại trừ ví dụ so sánh E), trong thời gian như được chỉ ra trong Bảng 3. Mô-men xoắn trung bình đã được quan sát cho thấy khuấy trộn tốt cho tất cả các chế phẩm (ngoại trừ ví dụ so sánh E). Quá trình quay được dừng lại và CSC được để nguội đến 90°C trước khi mở. Hỗn hợp thu được đã được loại bỏ và sau khi tiếp tục làm mát đến môi trường xung quanh, hỗn hợp chuyển sang thể rắn.

Đánh giá cảm quan

Sau khi điều chế và làm nguội hỗn hợp phản ứng, nó được phân tích cảm quan bởi một hội đồng chuyên gia được đào tạo gồm 3 đến 5 nhà khoa học. Hội đồng đã ngửi và nếm một mẫu có 0,2% trọng lượng hỗn hợp và 0,5% muối trong nước ấm.

Kết quả

Kết quả được tóm tắt trong Bảng 3. Bảng 4 cung cấp thêm chi tiết về phân tích cảm quan. Các ví dụ so sánh B, C, D và E chứng minh rằng không có hương liệu mùi vị thịt mà chỉ thu được mùi vị khác nếu không có glycosylamin (B), hoặc các hợp chất chứa thiol (C), hoặc axit (D), hoặc nếu khuấy trộn không được áp dụng (E). Ví dụ so sánh F chứng tỏ rằng không có hương liệu nào được chấp nhận nếu cho dầu vào nhưng không có axit.

Ngược lại, các ví dụ 6, 7 và 8 chứng minh rằng hương liệu mùi vị thịt có thể được điều chế ở các nhiệt độ và thời gian phản ứng khác nhau, không có mùi vị khác biệt. Họ cũng chứng minh rằng hương liệu có thể được tùy chỉnh theo nhiệt độ và thời gian khác nhau. Ví dụ 9 chứng minh rằng nếu dầu được sử dụng trong hỗn hợp phản ứng theo sáng chế, thì hương liệu mùi vị thịt thậm chí còn mạnh hơn.

Bảng 3

V	Phươn g pháp	T	Thời gian (phút)	Nuc- YEP (% trọng lượn g)	GSH- YEP (% trọng lượn g)	Axit lactic (% trọng lượn g)	Dầu* (% trọng lượn g)	Tổng lượng nước* (% trọng lượn g)	Hươn g liệu mùi vị thịt	Không có hương liệu
B	CÓ	170 °C	2'	73,5	24,5	0	0	2	○	KHÔN G
C	CÓ	170 °C	2'	91	0	9	0	2	--	CÓ
D	CÓ	170 °C	2'	0	91	9	0	2	--	CÓ
E	KHÔN G***	170 °C	2'	60	30	10	0	2	--	CÓ
6	CÓ	160 °C	3'	60	30	10	0	2	+	KHÔN G
7	CÓ	170 °C	2'	60	30	10	0	2	++	KHÔN G
8	CÓ	180 °C	1,5'	60	30	10	0	2	++	KHÔN G
9	CÓ	170 °C	2'	59	30	10	1	2	+++	KHÔN G
F	CÓ	170 °C	1'	32	66	0	1	2	--	CÓ

* Dầu ở F là dầu hướng dương

** Tổng lượng nước (w/w) trong hỗn hợp do axit lactic (20% nước, 80% axit lactic) và thêm nước nếu cần đến 2%

*** Ở E, không có mô-men xoắn nào được áp dụng (tức là 0 vòng/phút)

Bảng 4

Ví dụ	Mùi vị
B	Vị thịt rất nhẹ, vị mặn ngon, không có vị khác
C	Không có vị thịt, không có vị mặn, vị khác bị cháy - vị đắng,
D	Không có vị thịt, không có vị mặn, mùi vị lưu huỳnh, có vị khác đắng mạnh,
E	Không có vị thịt, một số vị mặn, có vị khác đắng của mùi vị lưu huỳnh
6	Một số vị thịt, vị mặn, vị khác mùi vị lưu huỳnh nhẹ
7	Vị thịt ngon, vị mặn ngon, không có vị khác
8	Vị thịt ngon, vị mặn ngon, một số vị nướng, không có hương liệu khác
9	Vị thịt rất ngon, vị mặn ngon, không có vị khác
F	Không có vị thịt, ít vị mặn, vị khác đắng và lưu huỳnh

Yêu cầu bảo hộ

1. Phương pháp điều chế hương liệu, bao gồm các bước:

(i) cung cấp hỗn hợp phản ứng gồm có:

a. chiết xuất nấm men chứa ít nhất 0,5% trọng lượng glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, trong đó tỷ lệ phần trăm trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men,

b. ít nhất 1% trọng lượng axit khoáng hoặc axit hữu cơ, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, và

c. từ 0 đến 20% trọng lượng của nước tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng;

(ii) ủ hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 150°C đến 220°C, trong đó tác động trộn cắt lên hỗn hợp phản ứng;

và trong đó hỗn hợp phản ứng được khuấy trộn ở bước (ii).

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước (i) bao gồm việc cung cấp chiết xuất nấm men thứ nhất chứa ít nhất 0,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ nhất, của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và chiết xuất nấm men thứ hai chứa ít nhất 1,0% trọng lượng các hợp chất chứa thiol, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men thứ hai.

3. Phương pháp theo điểm 2, trong đó chiết xuất nấm men thứ nhất chứa ít nhất 5% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 10% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men của glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng và chiết xuất nấm men thứ hai chứa ít nhất là 2% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất 3% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 10% trọng lượng các hợp chất chứa thiol tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

4. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng chứa nhóm chức riboza, tốt hơn là trong đó glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của chúng là ribonucleotit và/hoặc ribonucleosit.

5. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hợp chất chứa thiol là glutathion, cystein, và/hoặc dipeptit chứa cystein, tốt hơn là glutathion.

6. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng bao gồm ít nhất 1% trọng lượng của một axit hữu cơ, trong đó axit hữu cơ có hằng số phân ly thứ nhất (pK_a) ở 25°C trong nước từ 4,35 trở xuống, tốt hơn là 4,1 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 4,0 trở xuống và thậm chí tốt hơn nữa là 3,9 hoặc thấp hơn.

7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng bao gồm ít nhất 1% trọng lượng của axit hữu cơ, tốt hơn là axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit lactic, axit malic, axit xitric, axit tartaric, axit succinic và axit ascorbic.

8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng được ủ có độ axit sao cho dung dịch thử nghiệm bao gồm 1% trọng lượng hoặc hỗn hợp phản ứng được ủ và 0,5% trọng lượng natri clorua trong nước có pH trong nằm trong khoảng từ 3,5 đến 6,0, tốt hơn nữa là trong khoảng từ 4,0 đến 5,0 ở 20°C.

9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng ở bước ii) được ủ với thời gian phản ứng đủ để hương liệu phát triển.

10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng được ủ trong thời gian t (phút) theo công thức:

$$t = 240000 \cdot e^{-bT} \text{ trong đó: } 150^{\circ}\text{C} \leq T \leq 220^{\circ}\text{C, and } 0,06 \leq b \leq 0,075.$$

11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng ở bước ii) được ủ trong máy đun, tốt hơn là trong máy đun trực vít đôi.

12. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng ở bước ii) được làm dẻo.

13. Hương liệu có thể thu được bằng phương pháp theo một hoặc nhiều điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12.

14. Chế phẩm tạo hương liệu tự nhiên theo điểm 13 bao gồm chiết xuất nấm men chứa

- i. ít nhất 20 mg/g ribonucleotit,
- ii. ít nhất 20 mg/g axit hữu cơ,
- iii. ít nhất 0,1 mg/g glutathion (tổng số bị khử và oxy hóa)
- iv. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g pyroglutamat,
- v. tốt hơn là ít nhất 1 mg/g xyclo-cysteiny-glyxin,

và trong đó 1% trọng lượng dung dịch của chế phẩm nói trên trong nước cũng chứa 0,5% trọng lượng natri clorua có pH trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

15. Chế phẩm tạo hương liệu tự nhiên theo điểm 13 hoặc 14, trong đó chế phẩm ở trạng thái thủy tinh.