



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0048362

(51)^{2020.01} A23L 27/26; A23L 33/145; A23L 23/00; (13) B
A23L 27/10

(21) 1-2021-02224

(22) 15/10/2019

(86) PCT/EP2019/077850 15/10/2019

(87) WO2020/083699 A1 30/04/2020

(30) 18202703.7 25/10/2018 EP

(45) 25/07/2025 448

(43) 27/09/2021 402A

(73) Unilever IP Holdings B.V. (NL)

Weena 455, 3013 AL Rotterdam, The Netherlands

(72) BATENBURG Amir Maximiliaan (NL); VAN HOEK Jacoba Carolina (NL); KOEK
Jean Hypolites (NL).

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

(54) HƯƠNG LIỆU TỰ NHIÊN VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ HƯƠNG LIỆU

(21) 1-2021-02224

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hương liệu, bao gồm các bước (i) tạo hỗn hợp phản ứng bao gồm chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất 0,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và các hợp chất chứa thiol với lượng ít nhất 1,0% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chiết xuất nấm men khô; axit với lượng ít nhất 2% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng; nước với lượng ít nhất 10% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng; (ii) đun nóng hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 90 đến 160°C; trong đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng có tính axit sao cho dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước đã khử khoáng có độ pH nằm trong khoảng 3,5 và 6 ở 20°C và (ii) làm khô sản phẩm tùy ý.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này đề cập đến quy trình điều chế hương liệu, hương liệu có thể 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 được mong đợi 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 sử dụng 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, 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 tổng hợp hóa học như vậy là vị mặn tổng hợp được không thể được mô tả là 'tự nhiên' theo quy chế của EFTA. Người tiêu dùng ngày càng mong muốn các sản phẩm thực phẩm được dán nhãn là chỉ chứa các thành phần tự nhiên. Do đó, cần phải đề xuất 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 có chiết xuất nấm men chứa 5'-nucleotit (do Kohjin sản xuất, hàm lượng 5'-nucleotit 36%) với lượng là 7 phần tính theo trọng lượng, chiết xuất nấm men chứa glutathion (Chiết xuất nấm men Aromild U, hàm lượng glutathion 8%), xyloza với lượng là 2,5 phần tính theo trọng lượng, dextrin dạng bột (do Sanwa

Starch Co., Ltd., Sandech # 70 sản xuất) với lượng là 7 phần tính theo trọng lượng và natri clorua với lượng là 14,5 phần tính theo trọng lượng được cho vào nước với lượng là 50 phần tính theo trọng lượng và đun nóng ở 105°C trong 65 phút. Sau khi kết thúc phản ứng, dung dịch phản ứng được làm khô bằng máy sấy phun để thu được gia vị. Nhược điểm của quy trình JP 2003-169627 là xyloza và dextrin tinh khiết được cho thêm vào, những chất này được tạo ra bằng phương pháp 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 nhiệt của gia vị gốc Maillard của JP 2003-169627 là có mùi hấp hoặc mùi khét không mong muốn. JP 2016-174587 muốn khắc phục nhược điểm này bằng cách đưa gốc prolin vào. Ví dụ 5 bộc lộ chế phẩm bao gồm chiết xuất nấm men glutathion với lượng là 49,0% trọng lượng, chiết xuất nấm men chứa 5'-ribonucleotit với lượng là 4,0% trọng lượng, sirup fructoglucoza với lượng là 1,4% trọng lượng, chiết xuất nấm men chứa prolin với lượng là 5,0% trọng lượng và nước với lượng là 40,6% trọng lượng, chế phẩm được đun nóng ở 110°C trong 30 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

Theo khía cạnh thứ nhất, mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp để điều chế hương liệu, bao gồm các bước:

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

a. chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất là 0,5% trọng lượng tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, hợp chất chứa thiol với lượng ít nhất là 1,0% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chiết xuất nấm men khô.

b. axit, với lượng ít nhất là 2% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,

c. nước, với lượng ít nhất là 10% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,

(ii) đun nóng hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 90 đến 160°C, trong đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng có tính axit sao cho dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước khử khoáng có độ pH nằm trong khoảng 3,5 và 6 ở 20°C,

(ii) theo tùy chọn, làm khô sản phẩm, trong đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong thời gian (t) giờ theo công thức (I):

$$t = 4096e^{-bT} \text{ (I)}$$

trong đó: $90^{\circ}\text{C} \leq T \leq 160^{\circ}\text{C}$ và $0,06 \leq b \leq 0,07$.

Các tác giả sáng chế này bất ngờ phát hiện ra rằng hương liệu có hương vị thịt được tạo ra bởi quy trình trong đó chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng là 0,5% trọng lượng và các hợp chất chứa thiol, với lượng là 1% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, được đun nóng ở nhiệt độ trong khoảng từ 90 đến 160°C với sự có mặt của axit.

Sự chuyển đổi bất ngờ của các hợp chất chứa thiol và glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó có trong (các) chiết xuất nấm men hoạt động hiệu quả ở/trên 90°C để tạo ra hương liệu mùi vị thịt, mà không tạo ra các mùi lạ can nhiễu.

Sáng chế này có lợi thế hơn so với tình trạng kỹ thuật là đường khử được xử lý hóa học, chẳng hạn như sirup glucoza-fructoza, không cần thiết trong 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.

Mô tả chi tiết sáng chế

Từ 'bao gồm' như được sử dụng trong tài liệu này được hiểu là 'bao hàm' nhưng không nhất thiết là 'hợp thành từ' 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.

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

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

Thuật ngữ “chiết xuất nấm men” như được sử dụng trong tài liệu này để chỉ chế phẩm bao gồm các thành phần hòa tan trong nước của tế bào nấm men, thành phần của chúng 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 bối cảnh của sáng chế này đồng nghĩa với sản phẩm thủy phân nấm men hoặc thể tự phân giải nấm men, tức là chất chiết xuất hòa tan từ nấm men chứa protein đã được thủy phân.

Thuật ngữ “glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó” 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 monosacarit, ví dụ như riboza 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 trong tài liệu này 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” trong tài liệu này được dùng để chỉ các 5'-ribonucleotit tự do hoặc muối của chúng. Phần trăm trọng lượng của 5'-ribonucleotit trong chiết xuất nấm

men (% trọng lượng) dựa trên trọng lượng của chất khô không muối của chế phẩm và được tính như muối dinatri heptahydrat ($2\text{Na} \cdot 7\text{Aq}$) của 5'-ribonucleotit. Không muối không có nghĩa là chế phẩm theo sáng chế không thể chứa muối, nhưng có nghĩa là muối bị loại trừ khỏi chế phẩm để tính % trọng lượng. Ribonucleotit và nucleotit được sử dụng thay thế cho nhau trong phạm vi ứng dụng hiện tại.

Thuật ngữ "ribonucleosit" như 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 vừa chứa "tổng chất khô" và lại vừa chứa "nước". Tổng trọng lượng của tổng chất khô và nước theo định nghĩa là 100%. Ví dụ, chiết xuất nấm men có thể chứa nước với lượng là 15% trọng lượng và tổng chất khô với lượng là 85%.

"Tổng chất khô" trong chiết xuất nấm men vừa chứa "chất khô từ nấm men" hoặc "chất khô không chứa muối", vừa chứa "chất khô không men" như muối (được thêm vào). "Chất khô nấm men" hoặc "chất khô không muối" trong chiết xuất nấm men có thể bao gồm các axit amin, peptit, lipid, polysacarit, 5'-ribonucleotit, v.v.

Do đó, chiết xuất nấm men có thể có thành phần sau:

nước với lượng là 60%;

tổng chất khô với lượng là 40%, trong đó muối (natri clorua) với lượng là 8% = tổng chất khô với lượng là 20% trọng lượng;

chất khô nấm men với lượng là 32% trong đó = tổng chất khô với lượng là 80%;

5'-ribonucleotit với lượng là 6% = chất khô của nấm men với lượng là 18,75% ($6/32$);

các chất khác như axit amin, peptit, lipid, polysacarit với lượng là 26%.

Thuật ngữ "axit" như được sử dụng trong tài liệu này đề cập đến hợp chất là axit Bronsted.

Thuật ngữ “hợp chất chứa thiol” như được sử dụng trong tài liệu này có nghĩa là hợp chất có nhóm –SH, chẳng hạn như cystein, cũng như các hợp chất –SH được chẵn như hợp chất chứa disulfua (–S–S–), chẳng hạn như cystin. Tổng lượng –SH có thể được xác định theo phương pháp trong Proteins and Proteomics của Richard J. Simpson. CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, Hoa Kỳ, 2003.

Theo sáng chế, hỗn hợp phản ứng chứa chiết xuất nấm men, axit và nước. Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng chứa, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, chiết xuất nấm men với lượng ít nhất là 30% trọng lượng, tốt hơn là chiết xuất nấm men với lượng ít nhất là 40% trọng lượng, tốt hơn nữa là chiết xuất nấm men với lượng ít nhất là 50% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là chiết xuất nấm men với lượng ít nhất là 60% trọng lượng, nhưng tốt hơn nữa là chiết xuất nấm men với lượng ít nhất là 70% trọng lượng, tốt nhất là ít nhất 80% trọng lượng. Nói cách khác, hỗn hợp phản ứng chứa chiết xuất nấm men với lượng 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 chứa chiết xuất nấm men với lượng nằm trong khoảng từ 40 đến 75% trọng lượng, tốt hơn nữa là hỗn hợp phản ứng chứa chiết xuất nấm men với lượng nằm 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 phương án cụ thể, nấm men thuộc chi Saccharomyces, ví dụ: *Saccharomyces cerevisiae* hoặc *Saccharomyces uvarum*. Theo phương án khác, nấm men thuộc chi *Kluyveromyces*., Ví dụ: *Kluyveromyces fragilis*. Theo phương án khác, nấm men là *Candida*, ví dụ: nấm *Candida*, còn được gọi là nấm men *Torula*.

Hỗn hợp phản ứng theo định nghĩa trong tài liệu này chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất là 0,5% trọng lượng, theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và các hợp chất chứa thiol, với lượng ít nhất là 1% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men. Glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó và các hợp chất chứa thiol có thể được cung cấp bởi các chiết xuất nấm men giống nhau hoặc khác nhau. Nói cách khác, glycosylamin và/hoặc dẫn xuất của nó 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 các phương án nhất định, chiết xuất nấm men thứ nhất và thứ hai có thể giống nhau.

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

Theo phương án được ưu tiên khác, bước i) bao gồm việc cung cấp chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó, với lượng ít nhất là 0,5% trọng lượng, theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, đun nóng chiết xuất nấm men với sự có mặt của axit, và sau đó thêm chiết xuất nấm men chứa thiol với lượng ít nhất là 1% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men. Hỗn hợp phản ứng thu được sau đó được đun nóng với sự có mặt của axit ở nhiệt độ trong khoảng từ 90 đến 160°C.

Tốt hơn là, chiết xuất nấm men được thêm vào ở bước i) bao gồm glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất là 1% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất 2% 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 ít nhất 20% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

Thông thường, hỗn hợp phản ứng chứa chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc dẫn xuất của nó, với lượng nằm trong khoảng từ 20 đến 75% trọng lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 30 đến 60% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng từ 40 đến 50 % trọng lượng tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Hỗn hợp phản ứng thường chứa chiết xuất nấm men chứa các hợp chất có chứa thiol, nằm trong khoảng từ 20 đến 75% trọng lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 30 đến 60% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng từ 40 đến 50% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng chứa chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó và các hợp chất chứa thiol, với lượng nằm trong khoảng từ 20 đến 75% trọng lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 30 đến 60% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng từ 40 đến 50% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Theo phương án được ưu tiên, glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó chứa gốc riboza. Người ta 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-(methylthio)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 nhất định, glycosylamin và/hoặc dẫn xuất của nó là ribonucleotit và/hoặc ribonucleosit. Tốt hơn là chiết xuất nấm men chứa ribonucleotit với lượng ít nhất là 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 ít nhất 20% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

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

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 chứa glutathion hoặc cystein, tốt hơn là glutathion.

Theo phương án được ưu tiên, chiết xuất nấm men chứa các hợp chất có chứa thiol với lượng ít nhất là 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.

Hỗn hợp phản ứng như được xác định ở đây chứa axit. Tốt hơn là axit là axit khoáng hoặc axit hữu cơ, tốt hơn là axit hữu cơ. Tốt hơn là axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit axetic, axit ascorbic, axit lactic, axit malic, axit xitric, axit succinic, axit tartaric, axit oxalic, axit tartronic, axit glycolic, axit glyxeric, axit succinic, axit fumaric; 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 axit xitric, axit tartaric, và sự kết hợp của chúng, tốt nhất là axit hữu cơ là axit lactic.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng chứa axit, với lượng ít nhất 5% trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của hỗn hợp phản ứng, tốt hơn là ít nhất 10% trọng lượng, dựa trên tổng trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Theo 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 axit nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2 phần trọng lượng, axit được thêm vào chiết xuất nấm men với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10 phần trọng lượng, chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất là 0,5% trọng lượng, theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men.

Hỗn hợp phản ứng như được xác định ở đây chứa nước với lượng ít nhất 10% trọng lượng, theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng. Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng chứa nước với lượng ít nhất là 20% trọng lượng, tốt hơn là nước với lượng ít nhất 30% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là nước với lượng ít nhất 40% trọng lượng.

Thông thường, hỗn hợp phản ứng có độ axit sao cho dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước đã khử khoáng có độ pH trong khoảng 2,0 và 7,0, tốt hơn là trong khoảng từ 3,0 đến 6,5, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng từ 4,0 đến 5,5.

Như được định nghĩa trong tài liệu này, quy trình này chứa nước với lượng ít nhất là 10% trọng lượng, theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng. Nước được cung cấp bởi chiết xuất nấm men hoặc được thêm riêng. Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng bao gồm ít nhất 15% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 20% trọng lượng, tốt nhất là ít nhất 25% trọng lượng của hỗn hợp phản ứng. Nước có thể được cung cấp bởi chiết xuất nấm men hoặc được thêm riêng.

Theo phương án được ưu tiên khác, hỗn hợp phản ứng được đun nóng có tính axit sao cho dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước đã khử khoáng có độ pH nằm trong khoảng 3,5 và 6,0, tốt hơn là nằm trong khoảng 4,0 đến 5,5, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng từ 4,0 đến 5,0. Người ta đã phát hiện ra rằng khi độ pH trên 6, mùi lạ lấn át hương thơm.

Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng bao gồm:

- a. chiết xuất nấm men với lượng nằm trong khoảng từ 20 đến 75% trọng lượng chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất là 1% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và hợp chất có chứa thiol với lượng ít nhất là 2% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men,
- b. axit với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 20% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,
- c. nước với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 80% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.

Theo một số phương án được ưu tiên, quy trình này được thực hiện khi có mặt chất béo hoặc dầu. Trong trường hợp sử dụng chất béo, chất béo tốt hơn là chất béo thực vật, chẳng hạn như, ví dụ stearin dầu cọ, và còn cả chất béo từ động vật như thịt lợn, thịt gà và/hoặc thịt bò nằm trong phạm vi của sáng chế. Chất béo tốt hơn là bao gồm chất béo trung tính. Chất béo cũng có nghĩa là dầu, chẳng hạn như, ví dụ: dầu ô liu hoặc dầu cọ.

Theo 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 ngoài chiết xuất nấm men. Đường khử là sacarit chứa nhóm hemiacetal hoặc hemiketal. Ví

dự về đường khử là fructoza, glucoza, riboza, xyloza, maltodextrin, dextrin, sirup glucoza.

Tốt hơn là, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong thời gian (t) giờ theo công thức (I):

$$t = 4096e^{-bT} \text{ (I)}$$

trong đó: $90^{\circ}\text{C} \leq T \leq 160^{\circ}\text{C}$ và $0,06 \leq b \leq 0,07$.

Tốt hơn là đun nóng hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 160°C trong khoảng thời gian từ 0,05 đến 20 giờ, tốt hơn là từ 0,1 đến 15 giờ, tốt hơn nữa là từ 0,2 đến 12 giờ, thậm chí tốt hơn nữa trong khoảng từ 0,5 đến 10 giờ, tốt nhất là trong khoảng từ 1 đến 8 giờ.

Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được đun nóng ít nhất 7,5 giờ ở 90°C , tốt hơn là ít nhất 11 giờ ở 90°C và tốt hơn là nhiều nhất 18 giờ ở 90°C .

Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong ít nhất 3,5 giờ ở 100°C , tốt hơn là ít nhất 6 giờ ở 100°C , và tốt hơn là nhiều nhất 11 giờ ở 100°C .

Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong ít nhất 0,75 giờ ở 120°C , tốt hơn là ít nhất 1,5 giờ ở 120°C , và tốt hơn là nhiều nhất 3,5 giờ ở 120°C .

Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong ít nhất 0,15 giờ ở 140°C , tốt hơn là ít nhất 0,25 giờ ở 140°C , và tốt hơn là nhiều nhất 0,9 giờ ở 140°C .

Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong ít nhất 0,04 giờ ở 160°C , tốt hơn là ít nhất 0,06 giờ ở 160°C , và tốt hơn là nhiều nhất 0,2 giờ ở 160°C .

Hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở áp suất đủ để đạt được nhiệt độ mong muốn bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình đã biết. Theo một số phương án khi hỗn hợp phản ứng được làm nóng trên 100°C , thì hỗn hợp phản ứng, tốt hơn là được đun nóng trong bình tiếp xúc với bề dầu, trong nồi hấp, trong nồi áp suất hoặc trong quy trình nhiệt độ cao liên tục. Theo một số phương án được ưu tiên, hỗn hợp phản ứng được làm nóng ở áp suất lên đến 4 bar. Thông

thường, hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 120°C ở 2 bar và tốt hơn là hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 140°C ở 3,6 bar.

Theo tùy chọn, tiếp theo bước đun nóng, bước làm khô c), được thực hiện bằng cách làm khô chân không, sấy phun hoặc sấy đai hỗn hợp phản ứng thu được, tùy ý với sự có mặt của phụ gia làm khô, tốt hơn là trong đó phụ gia làm khô là thành phần chất béo, thành phần tinh bột và/hoặc muối. Thuận lợi là chế phẩm hương liệu thu được sau khi sấy khô có thể dễ dàng bảo quản, vận chuyển và sử dụng trong chế biến các sản phẩm thực phẩm. Thông thường, sấy chân không được thực hiện ở áp suất xuống đến 10 mBar và ở nhiệt độ lên đến 80°C.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến hương liệu có thể thu được bằng phương pháp như được xác định ở đây, trong đó độ pH của dung dịch hương liệu 1% trong nước khử khoáng ở 20°C nằm trong khoảng từ 3,5 đến 6, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 4 đến 5.

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

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

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

Tốt hơn là dung dịch 1% trọng lượng của chế phẩm nói trên có độ pH nằm trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề cập đến phương pháp chế biến sản phẩm thực phẩm có hương vị chứa kết hợp chế phẩm hương liệu được điều chế theo quy trình được xác định ở đây, với lượng từ 0,001 đến 1% trọng lượng, với một hoặc nhiều thành phần thực phẩm.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề cập đến việc sử dụng chế phẩm bao gồm chiết xuất nấm men chứa, dựa trên chiết xuất nấm men khô:

- i. ribonucleotit, với lượng ít nhất là 20 mg/g,
- ii. axit hữu cơ, với lượng ít nhất là 20 mg/g,
- iii. glutathion, với lượng ít nhất là 0,1 mg/g
- iv. pyroglutamat, tốt hơn là với lượng ít nhất là 1 mg/g
- v. xyclo-cysteinyl-glyxin, tốt hơn là với lượng ít nhất là 1 mg/g
- 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 có hương vị.

Trong bối cảnh của ứng dụng hiện tại “về cơ bản không chứa thiamin” có nghĩa là ít hơn 1 mg/g, tốt hơn là ít hơn 0,1 mg/g, tốt hơn là ít hơn 0,01 mg/g.

Trong bối cảnh của ứng dụng hiện tại “về cơ bản không chứa sulfurol” nghĩa là ít hơn 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 đã định nghĩa trong tài liệu này 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 có hương vị như được sử dụng trong tài liệu này đề cập đến các sản phẩm thực phẩm như súp, nước sốt, nước dùng, viên bột canh, đồ ăn sơ chế sẵn, nước xốt sa lát và nước xốt ướp.

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

Ví dụ thực hiện sáng chế

Chất & phương pháp

Thành phần được sử dụng:

Nuc-YEP: Bột chiết xuất nấm men ribonucleotit 12%, muối 18% từ Biospringer.

Sốt chiết xuất nấm men Maxarome từ DSM được sử dụng làm sốt đặc Nuc-YE.

GSH-YEP: Bột chiết xuất nấm men glutathion 4%, muối <1% từ Biospringer.

Axit lactic 80% (Corbion, NL),

HCl (Merck, DE)

Axit ascorbic (BASF, DE)

Axit malic (BASF, DE)

Phép đo Định lượng NMR

Phân tích qNMR sử dụng định dạng mục tiêu (Chenomx) được thực hiện theo SOP 890 V1 (Định lượng NMR trong hệ thống thực phẩm). Phổ 1D ^1H NMR được ghi lại bằng chuỗi xung NOESYGPPR1D trên máy quang phổ Bruker Avance III 600 NMR, được trang bị đầu dò cryo 5 mm. Đầu dò được điều chỉnh để phát hiện cộng hưởng ^1H ở 600,25 MHz. Nhiệt độ bên trong đầu dò được đặt thành 298 K. 64 lần quét được thu thập trong 57k điểm dữ liệu với độ trễ thư giãn là 10 giây, thời gian thu thập là 4 giây và thời gian trộn là 100 ms. Mức nén nước công suất thấp (16 Hz) được áp dụng trong 0,99 giây. Dữ liệu được xử lý trong phần mềm TOPSPIN phiên bản 3.5 pl 1 (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Đức). Một hàm cửa sổ hàm mũ đã được áp dụng cho phân rã cảm ứng độc lập (FID) với hệ số mở rộng dòng là 0,15 Hz trước khi biến đổi Fourier. Hiệu chỉnh pha thủ công và hiệu chỉnh đường nền được áp dụng cho tất cả các phổ. Quang phổ là đối chứng của tín hiệu metyl của TSP (δ 0,0 ppm).

Phổ 1D ^1H NMR được nhập vào phần mềm Chenomx (Chenomx NMR suite Professional phiên bản 8.13, Edmonton, Alberta, Canada). Các mô hình Chenomx có liên quan đã được lắp vào tín hiệu NMR của các hợp chất mục tiêu, giảm thiểu dòng dư. Mô-đun báo cáo nội bộ (dựa trên Matlab) tính toán nồng độ

hợp chất trong mẫu theo ba đơn vị khác nhau, tức là % trọng lượng/trọng lượng, mg/g và mg.

Độ pH

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

Phương pháp SPME-GC/MS

Tất cả các phân tích GC-MS được thực hiện bằng cách sử dụng Agilent 6890 GC kết hợp với hệ thống MSD 5973 được trang bị Bộ lấy mẫu đa năng Gerstel (MPS2). Vi chiết pha rắn (SPME), với lớp phủ sợi hấp thụ Polydimethylsiloxan (PDMS), được sử dụng để chiết xuất các hợp chất tạo mùi thơm từ các mẫu. Cột là DB-WAX (20mx180µmx0,3µm) của J&W Scientific.

Điều kiện chi tiết:

Phương pháp GC MS SPME được sử dụng để phân tích các chất bay hơi. Sợi là sợi SPME PDMS 100 µm

LÒ: Nhiệt độ ban đầu: 35°C (Bật) Nhiệt độ tối đa: 250°C; Thời gian ban đầu: 4,00 phút; Thời gian cân bằng: 0,10 phút; Độ biến đổi: #Mức 1; Nhiệt độ cuối cùng/Thời gian cuối cùng 5,00°C/phút 230°C 7,00 phút. Thời gian chạy: 50,00 phút; ĐẦU RA TRƯỚC (CIS3): Chế độ: Không chia cắt; Nhiệt độ ban đầu: 250°C (Tắt); Áp suất: 132,4 kPa (Bật); Lưu lượng lọc: 50,0 mL/phút; Thời gian lọc: 1,00 phút; Tổng lưu lượng: 53,2 mL/phút; Tiết kiệm khí: Tắt; Loại khí: Heli.

CỘT: Cột mao quản; Mẫu số: J&W 121-7023 DB-WAX;

Nhiệt độ tối đa: 250°C; Chiều dài danh nghĩa: 20,0 m; Đường kính danh nghĩa: 180,00 µm

Độ dày màng danh nghĩa: 0,30 µm; Chế độ: dòng chảy không đổi; Lưu lượng ban đầu: 1,0 mL/phút

Áp suất ban đầu danh nghĩa: 132,5 kPa; Vận tốc trung bình: 44 cm/giây; Đầu vào: Đầu vào phía trước

Áp suất đầu ra: chân không.

THIẾT BỊ NHIỆT 2: Sử dụng: Bộ sưởi dòng chuyển MSD; Mô tả: MS-Transfer; Nhiệt độ ban đầu: 250°C (Bật); GERSTEL CIS Nhiệt độ: 250°C; Thuốc tiêm GERSTEL MPS SPME.

ĐIỀU CHẾ MẪU: Nhiệt độ ủ: 60°C; Thời gian ủ: 1,00 phút; Tốc độ khuấy: 500 vòng/phút; Thời gian bật máy khuấy: 10 giây; Thời gian tắt máy khuấy: 1 giây.

THÔNG SỐ MẪU: Độ thâm nhập vào lọ: 22,00 mm: Thời gian chiết: 30,00 phút

Độ thâm nhập khi tiêm: 54,00 mm: Thời gian giải hấp: 600 giây; CÀI ĐẶT CHU KỲ: Thời gian chu kỳ: 65,0 phút.

THÔNG SỐ ĐIỀU CHỈNH MS: Độ trễ của dung môi: 3,00 phút; Chênh lệch EM: 0

Kết quả Điện áp EM: 1100; [Thông số quét] Khối lượng thấp: 29.0; Khối lượng cao: 250,0

Ngưỡng: 0; [MSZones] Mạch bốn cực MS: 150°C tối đa 200°C.

Cảm quan

Từ dung dịch 1% của hỗn hợp phản ứng trong các dung dịch nước loãng 5 g muối/L được điều chế với nước muối đến mức 0,2 g/L, 0,1 g/L, 0,05 g/L và/hoặc các dung dịch loãng khác như được chỉ ra trong các thí nghiệm. Hội đồng gồm ba người đã nếm thử các dung dịch và đánh giá độ đậm đà của thịt và mùi lạ nếu có. Trong ví dụ 2 cũng được đánh giá khi có MSG (1 g/L). Kết quả được ghi nhận như sau:

+++ = hương vị thịt đậm đà; ++ = hương vị thịt; + = hương vị thịt yếu; - = không có hương vị thịt

Ví dụ 1

10 g Nuc-YEP, 1 g axit lactic (80%) và 10 g nước được trộn và đun nóng ở 100°C trong 1 giờ. Sau đó, 1 g GSH-YEP được thêm vào, trộn đều và tiếp tục đun nóng 100°C. Các mẫu 2 g được lấy ở 1 giờ, 2 giờ, 3,5 giờ, 5 giờ và 7 giờ (phần còn lại). Bảo quản ở -18°C

Các dung dịch 1% được điều chế để đo độ pH, để đánh giá hương vị của thịt, các dung dịch pha loãng tiếp theo được điều chế. Mẫu được điều chế với nồng độ 0,1% trọng lượng,

Bảng 1.1 Kết quả phản ứng theo thời gian của Ví dụ 1.

Mẫu	Độ pH	0,100% trọng lượng
1 tiếng	4,95	-
7 tiếng	4,8	+

Ví dụ 2

Quy trình tương tự như Ví dụ 1, chỉ đun nóng ở nhiệt độ 100°C trong 7 giờ.

Bảng 2.1 Các chế phẩm được sử dụng

Mẫu	Nucl YEP 12%	GSH-YEP- 8%	Axit lactic (80%)	Nước
2.1	15g	1,5g	1,5g	15g
2.2	15g	7,5g	1,5g	15g

Bảng 2.2: Kết quả phân tích NMR của hỗn hợp trước và sau khi đun nóng

Hợp chất (mg/g)	2.1 trước	2.1 sau	2.2 trước	2.2 sau
CMP	12,35	11,34	10,73	10,00
Glutathion	0,27	<0,01	0,96	0,26
GMP	16,44	15,48	15,15	13,40
IMP	16,37	15,55	14,76	13,29
UMP	15,55	15,64	14,35	13,85

Đánh giá cảm quan về vị thịt và mùi thơm thịt của chế phẩm thu được trong ví dụ 2.1 và 2.2 được thực hiện trong các mẫu sau:

A = chế phẩm với lượng là 0,1% trọng lượng trong nước.

B = chế phẩm với lượng là 0,1% trọng lượng trong 5 g NaCl/L.

C = chế phẩm với lượng là 0,1% trọng lượng trong 5 g NaCl/L + 1 g MSG/L.

Bảng 2.3: Kết quả cảm quan của Ví dụ 2.

Mẫu	A	B	C
2.1	+	+	+
2.2	++	++	++

Các phép đo đã chứng minh rõ ràng mối quan hệ giữa nồng độ glutathion ban đầu và độ đậm của hương vị thu được. Hương vị thịt được phát hiện khi có các thành phần thực phẩm khác.

Ví dụ 3

Quy trình tương tự như trong Ví dụ 2 và chế phẩm 2.2. đã được dùng.

Sau 7 giờ phản ứng ở 100°C, mẫu được lấy để nếm thử (mẫu 3.1). Phần còn lại của hỗn hợp phản ứng được làm khô trong tủ sấy chân không trong 30 phút ở 60°C, sau đó là 30 phút ở 80°C. Bột được nghiền trong cối (3.2) và một nửa bột được bảo quản ở -20°C và nửa còn lại ở nhiệt độ phòng.

Bảng 3.1 Kết quả cảm quan của Ví dụ 3.

Mẫu	NẾM 0,1% trong 5 g muối/L
3.1 (sốt đặc)	++
3.2 (bột)	+++

Trong quá trình sấy, hương vị thịt vẫn còn. Loại bỏ nước để tạo bột mang lại hương vị đậm đà hơn (nhiều thành phần hương vị hơn trên một gam sản phẩm).

Ví dụ 4

Tỷ lệ GSH-YEPv: Nuc-YEPv: Axit lactic thay đổi ở nồng độ không đổi (50%). Các điều kiện phản ứng giống như trong Ví dụ 2, tức là đun nóng 7 giờ ở 100°C.

Bảng 4.1 Chế phẩm và kết quả của các hỗn hợp phản ứng được điều chế với các tỷ lệ thành phần khác nhau.

Mẫu	GSH_YEP	Nuc_YEP	Axit lactic	Nước	Nấm 0,20%	Nấm 0,10%	Nấm 0,05%	Độ pH
4,01 (sáng chế)	6,6	7,6	0,7	15,0	+++	++	+	5,92
4,05 (sáng chế)	9,0	4,5	1,5	15,0	+++	++	+	5,04
4,08 (sáng chế)	5,8	6,7	2,5	15,0	+++	++	+	4,32
4,11 (so sánh)	10,0	5,0	0,0	15,0	-	—	—	6,7

Trong trường hợp không có axit lactic (4.11), không có mùi vị thịt nào có thể nhận thấy được phát hiện.

Ví dụ 5

Ví dụ 5, tỷ lệ được phát hiện là tối ưu trong Ví dụ 4.01 và 4.05 được sử dụng trong khi lượng nước thay đổi từ 75% lượng nước được thêm đến 200% lượng nước được thêm như được thể hiện dưới đây trong Bảng 5.1. Các điều kiện tương tự như trong Ví dụ 2, tức là 7 giờ ở 100°C. Việc thử nấm đã được hiệu chỉnh để lượng nước được thêm vào trong các thí nghiệm đến nồng độ tất cả ở mức 0,033 trọng lượng/trọng lượng dựa trên chất khô.

Bảng 5.1 Chế phẩm và kết quả của Ví dụ 5.

Mẫu	GSH_YEP	Nuc_YEP	Axit lactic	Nước	Độ pH	Kết quả nấm (0,033% chất khô)	cường độ tương đối (Stdv)
5,01	8,2	8,2	0,8	12,9	5,83	++	30,3 (17,4)
5,02	7,1	7,1	0,7	15,0	5,94	++	44,9 (13,8)
5,03	10,3	5,1	1,7	12,9	4,95	+	40,8 (25,2)
5,04	9,0	4,5	1,5	15,0	5,00	+++	100 (47,4)
5,05	7,2	3,6	1,2	18,0	5,14	+++	83,7 (80,5)
5,06	6,0	3,0	1,0	20,0	5,29	+++	50,0 (40,1)

Chiết xuất nấm men với lượng nấm trong khoảng từ 40 đến 50% trọng lượng, tính theo trọng lượng của tổng hỗn hợp phản ứng và tỷ lệ 2:1 GSH-YE so với Nuc-YE cho kết quả nấm tốt nhất (5,04, 5,05, 5,06).

Ví dụ 6

6.1. Các lượng 1g Nuc-YEP, 1 g GSH-YX, 0,1 g axit lactic, và 0,25 g nước được trộn và đun nóng ở 120°C trong 1 giờ, để nguội tạo ra chất rắn nhão màu nâu, có mùi lưu huỳnh. Dung dịch 1% hơi đục, hơi vàng và có mùi thơm của thịt đã nấu chín.

6.2. Như 6.1 nhưng bây giờ với phản ứng trước Nuc-YEP. 1g Nuc-YEP, 0,1 g Axit lactic và 0,25 g nước được trộn và đun nóng ở 120°C trong 15 phút,

Sau đó, 1 g GSH-YE được thêm vào và tiếp tục đun 120°C trong 1 giờ, để nguội.

Hỗn hợp có màu nâu sền sệt với chút mùi lưu huỳnh

6.3 Như 6.2 nhưng bây giờ cũng có 0,1 g mảnh Dầu cọ (bão hòa 49%, monounsaturat 37%, polyunsaturat. 9%) được thêm vào cùng với GSH_YEP

Mẫu	Độ pH	Kết quả nếm
6.1.	5,18	0,1% trọng lượng +++, 0,05% trọng lượng ++, 0,025% trọng lượng +
6.2.	5,42	0,1% trọng lượng +++, 0,05% trọng lượng ++, 0,025% trọng lượng +
6.3.	5,35	0,1% trọng lượng +++, 0,05% trọng lượng ++, 0,025% trọng lượng +

Ví dụ 6.1 cho thấy phản ứng ở 120°C trong 1 giờ cho chế phẩm có vị tương tự như phản ứng ở 100°C trong 7 giờ. Việc bổ sung dầu cọ cho phép tạo ra hương vị thịt và không ảnh hưởng đến các đặc tính cảm quan của hỗn hợp phản ứng.

Phản ứng ở 120°C trong 1 giờ tương tự như phản ứng ở 100°C trong 7 giờ. Phản ứng trước của Nuc-YEP không tạo ra sự khác biệt về mặt cảm quan, mặc dù giá trị độ pH khác nhau thu được. Việc bổ sung dầu cọ cho phép tạo ra hương vị thịt và không ảnh hưởng đến các đặc tính cảm quan của hỗn hợp phản ứng.

Ví dụ 7

Các lượng nhỏ được trộn và đun nóng trong ống Hungat, đậy chặt bằng màng ngăn cao su butyl, trong bể dầu ở 120°C trong 1,5 giờ, đổ lên đĩa Petri để làm nguội và bay hơi trong chân không ở 80°C đến khô. Phần còn lại được nghiền và xay bằng chày và cối (nóng để tránh ngưng nước) thành bột và được bảo quản dưới nitơ trong lọ thủy tinh.

7.1. 3 g GSH-YEP Biospringer + 1,5 g Nuc-YEP + 0,5 g axit lactic 80% + 5 g nước - trộn

7.2. 5 g GSH-YEP Biospringer + 0,7 g axit lactic 80% + 5 g nước - trộn

Bảng 7.1. Độ pH và Kết quả cảm quan của hỗn hợp phản ứng của Ví dụ 7.

Mẫu	Độ pH	Kết quả nếm thử
7.1.	4,64	0,05% +++
7.2.	4,54	0,05% -

Việc thiếu hương vị thịt trong mẫu 7.2 cho thấy cả hợp chất glycosylamin và thiol đều cần thiết để cung cấp hương vị mong muốn.

Ví dụ 8

Ví dụ 5 của JP2016-174587 được thực hiện như ví dụ so sánh. Các hỗn hợp sau được đun nóng trong 30 phút ở 110°C theo JP2016-174587.

Bảng 8.1 Chế phẩm và kết quả

Mẫu	GSH- YE	Nuc- YE	Axit lactic	Prolin	FruGlu*	Nước	Cảm quan 0,1%	Cảm quan 0,2%
8.1	49	4	0	0,5	1,4	45,1	-	-
8.2	49	4%	0	0	0	47%	-	-
8.3	3	15%	0	0	0	55%	-	-
8.4	49	4	4	0	0	43%	+	+
8.5	30	15%	5	0	0	50%	++	+++

* FruGlu - fructoza/glucosa thu được bằng cách trộn glucosa và fructoza 1:1 dưới dạng dung dịch 50% trong nước.

Các mẫu 8.1, 8.2 và 8.3 có vị umami chiếm ưu thế. Các mẫu 9.4 và 9.5 đều có hương vị thịt.

Ví dụ 9

Chế phẩm với các axit khác và không có axit được đun nóng trong 7 giờ ở 100°C (tất cả các loại bột được hòa tan trong vòng 1 giờ) GSH-YE với lượng 30% (Biospringer), Nuc-YE với lượng 15% (Biospringer), Axit với lượng 5%, nước với lượng 50% như trong ví dụ 5.06. Nếm thử được thực hiện trên các mẫu 0,1% và 0,2% trong 5 g NaCl/L, n = 3.

Bảng 9.1

Mẫu	Axit	Độ pH 1% trong nước muối	Cảm quan 0,1% tất cả	Cảm quan 0,2%
9.1	Lactic	4,92	++	+++
9.2	Ascorbic	5,60	++	+++
9.3	Malic	4,57	++	++
9.4	Clohidric (6 M)	5,56	++	++

Ví dụ 10

Các hỗn hợp sau đây được đun nóng trong thời gian quy định và ở nhiệt độ bằng cách sử dụng một ống thép không gỉ được bịt chặt bằng nắp thép có lót vít, nhúng trong bể dầu.

Bảng 10.1

Mẫu	GSH- YE (g)	Nuc- YE (g)	Axit Lactic (g)	Nước (g)	Thời gian (phút)	Nhiệt độ °C	Cảm quan 0,1%	Cảm quan 0,2%
10,1	12	6	2	20	15	140	+	++
10,2	12	6	2	20	6,5	150	+	++
10,3	12	6	2	20	3,45	160	+	++

Ví dụ so sánh A

Ví dụ 1 của JP 2007 259744 A đã được thực hiện. chiết xuất nấm men 5'-nucleotit với lượng 25 phần trọng lượng (Sản phẩm được điều chế từ chiết xuất nấm men Biospringer, hàm lượng 5'-nucleotit 36%), chiết xuất nấm men chứa glutathion với lượng 10 phần trọng lượng (Sản phẩm được điều chế từ chiết xuất nấm men Aromild U-15 của Kojin, hàm lượng glutathion 15%), axit ascorbic với lượng là 0,2 phần trọng lượng được trộn với nước với lượng 64,8 phần trọng

lượng. Hỗn hợp được đun nóng trong 40 phút ở 105°C trong lò phản ứng điều áp. Sản phẩm được để nguội trước khi nếm và kết quả được thể hiện trong Bảng 11.

Ví dụ so sánh B

Ví dụ 1 của JP 2003 169627 A đã được thực hiện. Chiết xuất nấm men 5'-nucleotit với lượng 7 phần trọng lượng (Sản phẩm được điều chế từ chiết xuất nấm men Biospringer, hàm lượng 5'-nucleotit 36%), chiết xuất nấm men chứa glutathion với lượng 19 phần trọng lượng (Sản phẩm được làm từ chiết xuất nấm men Aromild U-15 của Kojin, hàm lượng glutathion 15%), với nước với lượng là 65 phần trọng lượng. Hỗn hợp được đun nóng trong 65 phút ở 105°C trong ống kín (có điều áp) và sau đó để nguội trước khi nếm (Bảng 11).

Ví dụ so sánh C

Ví dụ 5 của EP 2 103 225 A1 đã được thực hiện. Phản ứng chứa nucleotit (nhưng không phải chiết xuất nấm men chứa nucleotit), được phản ứng với axit (HCl) và đun nóng. Sau đó, chiết xuất nấm men có chứa cystein được thêm vào, điều chỉnh độ pH đến 4,5 và đun nóng trong 5 giờ ở 95°C. Tổng thời gian làm nóng là 22 giờ.

Ví dụ 5:

- (1) 1,8 g IMP, 2,6 g H₂O, 0,4 g HCl đặc (4 mmol) 10 giờ, ở 95°C
- (2) Thêm 7,5 g GSH-YE 4% BS + 0,6 g glucoza + 11,7 g H₂O
- (3) pH 4,5 với NaOH cô đặc, mẫu phụ vào NMR cho % nucleotit nguyên vẹn (Yêu cầu bảo hộ 1a)
- (4) Đun nóng 5 giờ ở 95°C
- (5) Độ pH 7,5 với NaOH cô đặc
- (6) Làm nóng 7 giờ ở 95°C

Nếm thử:

Dung dịch gồm 0,2 g A, B và C và 0,5 g muối được pha trong nước ấm và có vị. Điều này được so sánh bởi 3 người ($n = 3$) với 0,2 g hỗn hợp được chuẩn bị theo sáng chế như trong ví dụ 7.1 và 0,5 g muối trong 100 ml nước ấm.

Mẫu	Vị thịt/gà (0,2% trong 5g NaCl/L)	Sulfury, mùi lạ (0,2% trên 5g NaCl/L)	Vị rang	Độ pH
7.1	+++	-	-	4,64
A	+-	++	nd	6,1
B	+-	++	nd	6,4
C	-	nd	+	7,1

* Dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước khử khoáng ở 20°C

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. 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 glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất 0,5% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và các hợp chất chứa thiol với lượng ít nhất 1,0% trọng lượng, tính theo trọng lượng của chiết xuất nấm men khô,

b. axit khoáng hoặc axit hữu cơ, với lượng ít nhất 2% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,

c. nước, ít nhất 10% trọng lượng, tính theo trọng lượng của hỗn hợp phản ứng,

(ii) đun nóng hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong khoảng từ 90 đến 160°C, trong đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng có tính axit sao cho dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước khử khoáng có độ pH trong khoảng 3,5 và 6 ở 20°C,

(iii) theo tùy chọn, làm khô sản phẩm,

trong đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong thời gian (t) giờ theo công thức:

$t = 4096e^{-bT}$ trong đó: $90^{\circ}\text{C} \leq T \leq 160^{\circ}\text{C}$ và $0,06 \leq b \leq 0,07$ (công thức I).

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

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước i) bao gồm việc cung cấp chiết xuất nấm men chứa glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó với lượng ít nhất 1,0% trọng lượng, tính theo trọng lượng chất khô của chiết xuất nấm men, và các hợp chất chứa thiol với lượng ít nhất 1% trọng lượng, 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 nó chứa gốc riboza, tốt hơn là trong đó glycosylamin và/hoặc các dẫn xuất của nó 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 hoặc 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 axit hữu cơ với lượng ít nhất 2% trọng lượng, tốt hơn là axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit lactic, axit malic và axit xitric, axit tartaric.
7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng chứa axit khoáng hoặc axit hữu cơ với lượng ít nhất 5% trọng lượng, dựa trên tổng trọng lượng của hỗn hợp phản ứng.
8. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng chứa nước với lượng ít nhất là 20% trọng lượng, tốt hơn là nước với lượng ít nhất 30% trọng lượng, thậm chí tốt hơn nữa là nước với lượng ít nhất 40% trọng lượng.
9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng ở bước ii) có tính axit sao cho dung dịch loãng 1% trọng lượng trong nước đã khử khoáng có độ pH trong khoảng từ 4 đến 5.
10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở nhiệt độ trong khoảng từ 90°C đến 160°C trong khoảng thời gian từ 0,05 đến 20 giờ, tốt hơn là trong khoảng từ 0,1 đến 15 giờ, tốt hơn nữa là 0,2 đến 12 giờ, thậm chí tốt hơn nữa là trong khoảng 0,5 đến 10 giờ, tốt nhất là trong khoảng từ 1 đến 8 giờ.

11. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó bước c) được thực hiện bằng cách làm khô chân không, sấy phun hoặc sấy đai tùy ý với sự có mặt của phụ gia làm khô, tốt hơn là trong đó phụ gia làm khô là thành phần chất béo, thành phần tinh bột hoặc muối.

12. Chế phẩm hương liệu tự nhiên có thể thu được bằng phương pháp theo một hoặc nhiều điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11.

13. Chế phẩm hương liệu tự nhiên theo điểm 12 chứa chiết xuất nấm men chứa:

- i. ribonucleotit với lượng ít nhất là 20 mg/g,
 - ii. axit hữu cơ với lượng ít nhất là 20 mg/g,
 - iii. glutathion với lượng ít nhất là 0,1 mg/g (tổng số bị khử và oxy hóa),
 - iv. tốt hơn là pyroglutamat với lượng ít nhất là 1 mg/g,
 - v. tốt hơn là xyclo-cysteinyl-glyxin với lượng ít nhất là 1 mg/g,
- và trong đó dung dịch 1% trọng lượng của chế phẩm nói trên có độ pH trong khoảng từ 3,5 đến 6 ở 20°C.

14. Chế phẩm hương liệu tự nhiên theo điểm 12 hoặc 13, trong đó chế phẩm về cơ bản không chứa thiamin và sulfurol.