



(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) 
1-0019824

(51)⁷ **A23L 1/23, 1/229**

(13) **B**

-
- | | | | | | |
|------|--|--------------|------------|---------------|------------|
| (21) | 1-2011-02862 | (22) | 23.03.2010 | | |
| (86) | PCT/EP2010/053735 | 23.03.2010 | (87) | WO2010/108901 | 30.09.2010 |
| (30) | PCT/EP2009/053530 | 25.03.2009EP | | | |
| (45) | 25.09.2018 | 366 | (43) | 25.05.2012 | 290 |
| (73) | Nestec S.A. (CH)
Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Switzerland | | | | |
| (72) | PALZER, Stephan (DE), NIKOLIC, David (HR), BERENDS, Pieter (NL), HO, Dac Thang (CH), FLEURY REY, Yvette (CH), ULMER, Helge (DE), SCHOPP, Silke (DE), APPEL, Daniel Sebastian (DE), RAAB, Thomas (DE) | | | | |
| (74) | Công ty TNHH Ban Ca (BANCA) | | | | |
-

(54) **QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ CHẤT NỀN ĐIỀU VỊ LÀM TĂNG VỊ**

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế chất nền điều vị làm tăng vị, trong đó chất nền này chứa:

- hợp chất có nguồn gốc từ nhiên được chọn từ nhóm bao gồm glutamat, inosin monophosphat (IMP) và guanosin monophosphat (GMP) với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 80%,

- hợp chất có nguồn gốc thực phẩm tự nhiên như axit hữu cơ hoặc muối, axit amin, peptit và hợp chất thơm của nó,

trong đó, chất nền nói trên thu được bằng cách lên men sinh vật có nhân nguyên thủy bằng vi khuẩn được chọn từ nhóm bao gồm *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagen*, *Brevibacterium glutamicum*, *Brevibacterium ammoniagen*, *Corynebacterium casei*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium efficiens* và *Bacillus subtilis*

và trong đó, chất nền nói trên không được tinh chế.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất nền điều vị làm tăng vị tự nhiên ổn định và quy trình để điều chế chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Patent Anh số 1107693 đã đề cập đến quy trình điều chế gia vị hoặc chất điều vị từ các vi sinh vật. Sáng chế này đề cập đến quy trình mà trong đó canh trường được gạn ra hoặc trong đó quá trình là không tự nhiên. Theo các Ví dụ 1, 2, 5, 6 và 7 của patent này, gạn canh trường lỏng ra và xử lý trên các hạt tế bào. Theo các Ví dụ 3 và 4 của patent này, không xử lý theo cách tự nhiên, mà sử dụng các chất hóa học, các tế bào và canh trường lỏng được xử lý tiếp, axit glutamic (sản phẩm lên men chính) gần như được loại bỏ và thực hiện xử lý bằng NaOH, natri bicacbonat, HCl và enzym và nhựa hấp thụ. Patent Mỹ số 6,838,100 đề cập đến quy trình điều chế chất nền điều vị được nuôi cấy, quy trình này bao gồm bước thủy phân trong thời gian thích hợp để tạo ra chất điều vị, chất có chứa protein bằng cách sử dụng hỗn hợp của ít nhất một enzym với ít nhất một chủng vi khuẩn axit lactic chịu nhiệt được chọn về khả năng của nó để tạo ra hoạt tính glutaminaza (sao cho chất nền chứa hoạt tính glutaminaza) để tạo ra axit glutamic hoặc glutamat trong chất nền với lượng đủ để làm tăng độ đặc và vị. Vị umami thu được bằng cách theo quy trình này là không đủ cao. Do đó, vẫn cần phải thêm vào các chế phẩm này MSG (Mono-Sodium-Glutamate) tinh chế, và nucleotit (IMP: Inosine Monophosphate) và GMP: Guanosine Monophosphate), hoặc dịch chiết nấm men. Vấn đề với quy trình này là ở chỗ, nó không tự nhiên hoặc khi có mặt nấm men sẽ tạo ra vị men cho sản phẩm cuối cùng.

Do đó, mục đích của sáng chế là tạo ra chế phẩm dùng cho thực phẩm tự nhiên, sản phẩm này là hữu hiệu để dễ dàng và thuận lợi tạo ra vị umami được cải thiện cho thực phẩm và không cần sử dụng chất phụ gia và sự bất tiện của vị men tạo ra sau đó. Ý tưởng cơ bản xuyên suốt sáng chế là tạo ra chất nền điều vị làm tăng vị, chất này có thể là dạng ổn định khi bảo quản và/hoặc dạng cô đặc và chúng có thể được sử dụng để làm gia vị cho bữa ăn và loại bữa ăn ngon bất kỳ.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chất nền điều vị làm tăng vị chứa:

- hợp chất có nguồn gốc tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm glutamat, IMP và GMP với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 80%,
- hợp chất có nguồn gốc thực phẩm tự nhiên như axit hữu cơ hoặc muối, axit amin, peptit và hợp chất thơm của nó,

trong đó chất nền nói trên thu được bằng cách lên men vi khuẩn từ vi khuẩn được chọn từ nhóm bao gồm *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagen*, *Brevibacterium glutamicum*, *Brevibacterium ammoniagen*, *Corynebacterium casei*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium efficiens* và *Bacillus subtilis*,

trong đó vi khuẩn được sử dụng để lên men có thể hoặc không thể bị loại bỏ ra khỏi canh trường lên men,

và trong đó chất nền nói trên không được tinh chế.

Ngoài ra, vi khuẩn được sử dụng để lên men có thể hoặc không thể loại bỏ ra khỏi canh trường lên men.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo sáng chế, tất cả các thành phần trên đây (glutamat, IMP, GMP, hợp chất có nguồn gốc thực phẩm tự nhiên) là có nguồn gốc tự nhiên do các sản phẩm thô được sử dụng trong quy trình. Trong bản mô tả sáng chế, tác giả xác định glutamat, IMP và GMP có nguồn gốc tự nhiên, là hợp chất thu được từ ít nhất một trong số các phương pháp sau đây:

- chiết từ chất thô như thực vật, động vật,
- lên men không cần tinh chế trong suốt trình tự thuận của quá trình, hoặc
- xúc tác sinh học.

Trong bản mô tả sáng chế, không tinh chế tức là không có hợp chất nào của canh trường lên men được kết tinh hoặc không có chất hóa học nào được sử dụng để tinh

chế trước khi sấy khô hoặc không có kỹ thuật tách sắc ký nào được thực hiện. Việc loại bỏ các tế bào không được cho là tinh chế.

Với glutamat, tác giả sáng chế hiểu đó là các anion glutamat trong hỗn hợp với loại cation và/hoặc axit glutamic tự do bất kỳ. Tốt hơn là, các cation này là các cation natri hoặc kali. Với hợp chất thơm, tác giả sáng chế hiểu đó là các hợp chất dễ bay hơi, ví dụ như trimethylpyrazin, axit axetic hoặc axit propionic.

Tất cả phần trăm được cho là theo trọng lượng, dựa trên chất khô.

Theo một phương án của sáng chế, chất nền chứa hợp chất có nguồn gốc từ nhiên được chọn từ nhóm bao gồm glutamat, IMP và GMP với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 80%. Cụ thể hơn, chất nền chứa IMP và/hoặc GMP có nguồn gốc tự nhiên với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 70% và glutamat với lượng nằm trong khoảng từ 7 đến 70%.

Theo sáng chế, có thể tạo ra chất nền điều vị chỉ với glutamat, hoặc IMP và/hoặc GMP hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng. Chỉ bằng cách đó, tác giả sáng chế hiểu rằng, IMP và/hoặc GMP hoặc glutamat với lượng tối đa 2% có thể lần lượt có mặt trong chất nền. Trong trường hợp thứ nhất, lượng glutamat nằm trong khoảng từ 5 đến 70%. Tốt hơn là, lượng glutamat nằm trong khoảng từ 10 đến 65%, tốt nhất là nằm trong khoảng từ 30 đến 65%. Trong trường hợp thứ hai, hàm lượng IMP và/hoặc GMP nằm trong khoảng từ 15 đến 70%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 30 đến 50%. Khi glutamat, IMP và/hoặc GMP có mặt, tổng lượng sẽ nằm trong khoảng từ 8 đến 80%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20 đến 60%, tốt nhất là nằm trong khoảng từ 30 đến 50%.

Chất nền điều vị được nuôi cấy làm tăng vị còn chứa:

- đường và
- đại phân tử.

Với đại phân tử, tác giả sáng chế hiểu đó là polysacarit, protein hoặc chất béo.

Loại đường được sử dụng theo sáng chế là không quan trọng. Các loại đường này là loại bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một phương án của sáng chế, lượng glutamat, IMP và/hoặc GMP tự nhiên nằm trong khoảng từ 10 đến 80%. Tốt hơn là, lượng này nằm trong khoảng từ 10 đến 60%.

Dấu hiệu quan trọng của sáng chế là ở chỗ, chất nền điều vị được tạo ra theo cách tự nhiên. Hoạt chất vị của chất nền điều vị như axit glutamic, IMP và GMP là có nguồn gốc tự nhiên, chúng không được tinh chế từ canh trường lên men trong suốt quá trình chế biến. Để tinh chế, tác giả sáng chế xem xét các phương pháp kết tinh và phương pháp sắc ký như sắc ký trao đổi ion, sắc ký tương tác kỵ nước, sắc ký loại trừ theo cỡ, sắc ký ái lực, sắc ký hấp thụ v.v.. Để xác định nguồn gốc tự nhiên của các thành phần khác nhau của chế phẩm, các kỹ thuật khác nhau có thể được sử dụng.

Lượng vết của các đoạn ARN và ADN của sinh vật có nhân nguyên thủy được sử dụng trong quá trình lên men có thể có mặt trong chất nền điều vị cuối cùng. Các phân tử này có thể được tách ra bằng cách sử dụng kỹ thuật PCR, kỹ thuật này cho phép xác định loại vi sinh vật được sử dụng để lên men. Ngược lại, sự có mặt của các phân tử ARN hoặc ADN sau khi đưa canh trường lên men vào kỹ thuật tinh chế như kết tinh hoặc tách sắc ký là chắc chắn không xảy ra.

Kỹ thuật thứ hai để chứng minh nguồn gốc tự nhiên của hoạt chất mang vị là xác định peptit và/hoặc protein có mặt trong chất nền điều vị, bắt nguồn từ vi sinh vật được sử dụng để lên men. Việc xác định có thể được thực hiện bằng kỹ thuật phổ khối như LC-MS/MS hoặc MALDI-TOF/TOF. So sánh với dữ liệu protein cho phép kết luận về loại vi sinh vật được sử dụng để lên men. Tuy nhiên, các kỹ thuật tinh chế như kết tinh sẽ dẫn đến tách các peptit và protein ra khỏi phân tử hoạt chất mang vị như axit glutamic hoặc IMP và GMP.

Chất nền điều vị như thế là rất phức tạp về thành phần của nó. Nó chứa các hợp chất khác như axit hữu cơ, muối, axit amin, peptit, polysacarit ngoài glutamat và/hoặc IMP và/hoặc GMP. Các hợp chất này sẽ mất đi trong quá trình tinh chế bằng cách kết tinh cũng như trong quá trình tinh chế sắc ký.

Chất nền điều vị sẽ tạo ra các đặc tính cảm quan umami được cải thiện theo cách tự nhiên.

Tất cả phần trăm trong bản mô tả được tính theo khối lượng.

Các axit hữu cơ chủ yếu là axit lactic, axit xitric, axit axetic và axit malic. Lượng lactat nằm trong khoảng từ 0,01 đến 8%, lượng axetat nằm trong khoảng từ 0,01 đến 6% và lượng xitrat nằm trong khoảng từ 0,01 đến 8%.

Axit amin chủ yếu là alanin, axit aspartic, glutamin, axit glutamic, glyxin, leuxin, lysin, metionin, tryptophan hoặc valin.

Peptit là dipeptit, tripeptit hoặc polypeptit.

Ngoài ra, glutamat không phải là MSG được thêm vào, mà là glutamat tự nhiên, có mặt trong chất nền theo cách thu được chất phụ gia nấu nướng. Lượng glutamat chứa trong đó nằm trong khoảng từ 0,01 đến 70%. Lượng IMP và/hoặc GMP nằm trong khoảng từ 0,01 đến 70%.

NaCl cũng có mặt trong chất phụ gia nấu nướng theo sáng chế. Muối có thể có mặt một cách tự nhiên hoặc có thể được thêm vào, tùy thuộc vào loại quá trình và vào thể loại liên quan. Lượng muối có thể thay đổi trong khoảng rộng.

Chất phụ gia nấu nướng còn chứa từ 0 đến 20% polysacarit. Các polysacarit này được chọn từ nhóm bao gồm chất có nguồn gốc từ xenluloza, pectin, gôm đậu locust, tinh bột, một mình hoặc ở dạng hỗn hợp.

Chất phụ gia nấu nướng ổn định chứa protein với lượng nằm trong khoảng từ 0 đến 70%. Các protein được chọn từ nhóm bao gồm collagen, gelatin, myosin, actin, protein sữa, protein thực vật, thịt hoặc protein cá, một mình hoặc ở dạng hỗn hợp. Các loại protein khác cũng có thể kể đến.

Cuối cùng, chất nền điều vị làm tăng vị còn chứa ít nhất một hydrat cacbon được chọn từ nhóm bao gồm glucoza, fructoza, rhamnoza, mannoza, trehaloza, sorbitol, glyxerol, maltodextrin, một mình hoặc ở dạng hỗn hợp. Các hydrat cacbon khác cũng có thể được kể đến.

Dấu hiệu khác của sáng chế là lượng chất béo thấp, lượng này nằm trong khoảng từ 0 đến 15%. Cụ thể hơn, chất phụ gia nấu nướng có hàm lượng axit béo tự do nằm trong khoảng từ 0 đến 3,2%.

Các dạng trình bày khác có thể được coi là sản phẩm theo sáng chế. Có thể có chế phẩm ở dạng vật lý bất kỳ, ví dụ, dạng viên hình khối, bột, bột nhão, cô đặc, viên cứng hoặc chất lỏng.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng chất nền điều vị làm tăng vị như được mô tả trên đây, trong đó chất nền chứa trong sản phẩm thực phẩm được chọn từ nhóm bao gồm:

- sản phẩm nấu nướng, như nước canh, nước xốt, xúp loại nước,
- thực phẩm khô bao gồm thức ăn nhẹ, ngũ cốc và bánh quy,
- các sản phẩm được làm mát và làm lạnh, như bữa ăn chế biến sẵn,
- sản phẩm dinh dưỡng,
- sản phẩm cho dịch vụ thực phẩm,
- chất điều vị và thành phần điều vị,
- thực phẩm bổ sung dùng qua đường miệng,
- thức ăn cho vật nuôi,
- đồ uống và
- sản phẩm bất kỳ khác trong đó glutamat là một phần của chế phẩm.

Lượng chất nền điều vị này nằm trong khoảng từ 0,01 đến 50% dựa trên tổng trọng lượng của sản phẩm nêu trên.

Dấu hiệu nhận cảm vị umami thông thường về mùi thơm theo ô huẩn luyện được xác định và liệt kê như dưới đây:

- Khuếch tán nhanh: tương ứng với cảm giác đầu tiên là người dùng cảm thấy tất cả qua miệng,
- Độ đặc toàn phần: tương ứng với mức độ thích hợp, cân bằng tốt của tất cả dấu hiệu về vị dẫn đến cảm giác ở miệng thuận lợi và hoàn toàn,
- Độ mịn: Tương ứng với lớp bao mịn trên lưỡi,
- Sự tiết nước bọt: tương ứng với cường độ tiết nước bọt mà sản phẩm tạo ra ngay khi vừa dùng;

- Sự giữ lại: điều này là cảm giác còn lại sau khi dùng mà sản phẩm để lại trong miệng.

Năm dấu hiệu này đã được xác định và được sử dụng để mô tả đặc điểm và để phân loại các sản phẩm khác nhau được làm bằng các thành phần khác nhau được sử dụng ở nồng độ khác nhau.

Cần lưu ý rằng, nhiều dấu hiệu dùng để chỉ các đặc điểm nhận cảm mà không chỉ liên quan đến vị mà còn liên quan đến ảnh hưởng của cấu trúc. Ví dụ, mức giữ lại dùng để chỉ tương tác kéo dài có thể có của các thành phần của nguồn với nước nhầy của miệng và biểu mô trên lưỡi, nơi mà gai vị giác được định vị. Do đó, người ta có thể nhận biết rằng, trong sáng chế, dễ chịu về cảm giác được hiểu là để chỉ cảm giác nhạy với vị của nó. Sự dễ chịu có thể được mô tả là tương tác của vị với những gì xảy ra bên trong miệng nhờ ảnh hưởng về mặt cấu trúc quan trọng hoặc ít nhất là có tác dụng đáng kể.

Có nhiều cách khác nhau để sử dụng chất phụ gia nấu nướng theo sáng chế. Trong trường hợp về viên, bột nhào hoặc bột, có thể thêm chất phụ gia nấu nướng vào bữa ăn hoặc trong bữa ăn, với lượng tùy thuộc vào vị mong muốn của người dùng. Thông thường, chất phụ gia nấu nướng được thêm vào hoặc được trộn vào bữa ăn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10% dựa trên tổng khối lượng của bữa ăn.

Theo dấu hiệu khác, sáng chế đề cập đến phương pháp đưa vào và/hoặc làm tăng vị trong bữa ăn bằng cách thêm chất nền điều vị tự nhiên theo sáng chế vào bữa ăn nêu trên với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 50% dựa trên tổng khối lượng của bữa ăn.

Theo dấu hiệu khác, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế chất nền điều vị làm tăng vị như được mô tả trên đây, quy trình này bao gồm một hoặc nhiều bước xử lý được mô tả dưới đây:

- Lên men cơ chất bằng cách sử dụng các chủng *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium casei*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium efficiens* và *Bacillus subtilis*,

- Phá vỡ tế bào, sẽ tạo ra dịch chiết thô chứa các mảnh vỡ tế bào.

Theo một phương án về quy trình của sáng chế, việc loại bỏ các tế bào hoặc mảnh vỡ tế bào bằng cách lọc và/hoặc ly tâm có thể được thực hiện, quá trình này sẽ tạo ra canh trường không có tế bào. Còn có thể trộn canh trường với dịch thủy phân tự nhiên với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0 đến 99%.

Bước lên men được thực hiện để thu được lượng glutamat cần thiết, tiếp đó lượng này được trộn với sản phẩm thu được theo quy trình của patent Mỹ số 6,838,100 nhắc đến trong phần đầu của bản mô tả: tức là sản phẩm thu được bằng cách thủy phân chất chứa protein bằng cách sử dụng hỗn hợp gồm ít nhất một enzym với ít nhất một chủng vi khuẩn axit lactic chịu nhiệt được chọn về khả năng của nó để tạo ra hoạt tính glutaminaza. Trong quy trình này, enzym là exo- hoặc endo-proteaza, deaminaza, carbohydraza hoặc amyloglucosidaza.

Theo cách tiến hành này, bước lên men được thực hiện trong thời gian từ 20 giờ đến 72 giờ, ở độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 9 và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 40°C.

Theo dấu hiệu khác của sáng chế, quy trình này được thực hiện để làm tăng hàm lượng IMP và GMP. Trong trường hợp này, quy trình là giống như ở trên, nhưng với các thông số khác liên quan đến quy trình phản ứng.

Như nêu trên, dịch thủy phân tự nhiên là sản phẩm thu được theo patent Mỹ số 6,838,100.

Trong trường hợp làm tăng hàm lượng IMP và GMP, bước lên men được thực hiện trong thời gian từ 3 đến 9 ngày, ở độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 9 và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 40°C.

Rõ ràng rằng, bằng quy trình theo sáng chế để thu được thêm glutamat, còn có sự có mặt của nucleotit và ngược lại đối với quy trình làm tăng hàm lượng nucleotit.

Trong cả hai quy trình nêu trên, có thể trộn trước với dịch thủy phân tự nhiên để sấy phun hoặc sấy chân không/dây đai canh trường và chuyển hóa nó thành dạng vật lý bất kỳ, như bột, bột nhão, viên hình khối.

Cơ chất tốt hơn là cơ chất tự nhiên. Cơ chất tự nhiên này được sử dụng từ nguồn cacbon hoặc nitơ thuộc loại bất kỳ, với điều kiện là chúng có thể được sử dụng cho

chúng được dùng. Đối với nguồn cacbon, monosacarit hoặc oligosacarit, như glucoza, fructoza, mannoza, trehaloza, sucroza, maltoza, dịch thủy phân enzym của tinh bột, mật đường có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều chất. Đối với nguồn nitơ, amoniac, ure, muối amoni như amoni sulphat, axit amin, peptit, protein, dịch chiết nấm men, nước ngâm ngô, các sản phẩm từ thịt hoặc cá có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp hai hoặc nhiều chất. Các chất dinh dưỡng có thể được thêm vào: các chất dinh dưỡng này ví dụ là phosphat, chất khoáng hoặc vitamin.

Chất có nguồn gốc thực vật được chọn từ nhóm bao gồm bột mỳ, ngô, bột sắn lúa mạch đen.

Tinh bột đã được xử lý bằng enzym là tinh bột của một trong số các loại thực vật nêu trên.

Cuối cùng, sáng chế đề cập đến sản phẩm phụ gia thực phẩm chứa chất nền làm tăng vị như nêu trên đây với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 50%.

Về các sản phẩm thực phẩm, tác giả sáng chế hiểu đó là:

- sản phẩm nấu nướng, như nước canh, nước xốt, xúp loại nước,
- thực phẩm khô bao gồm thức ăn nhẹ, ngũ cốc và bánh quy,
- các sản phẩm được làm mát và làm lạnh, như bữa ăn chế biến sẵn,
- sản phẩm dinh dưỡng,
- sản phẩm cho dịch vụ thực phẩm,
- chất điều vị và thành phần điều vị,
- thực phẩm bổ sung dùng qua đường miệng,
- thức ăn cho vật nuôi,
- đồ uống, và
- sản phẩm bất kỳ khác trong đó glutamat là một phần của chế phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phần ví dụ sau đây sẽ minh họa sáng chế chi tiết hơn.

Ví dụ 1

Glutamat

Glucosa có nguồn gốc từ enzym được trộn với cơ chất khác cần thiết cho sự phát triển của vi sinh vật. Hỗn hợp này được nuôi cấy bằng nồng độ khá cao của vi sinh vật thuộc giống *Corynebacterium glutamicum*.

Bước lên men được thực hiện trong 24 giờ, ở độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 7 và ở nhiệt độ là 40°C. Trong quá trình lên men bằng các thông số này, axit được thải ra dưới dạng sản phẩm phụ tự nhiên của quá trình lên men.

Các tế bào được làm bất hoạt bằng cách xử lý nhiệt và tiếp đó được tách ra bằng các phương pháp vật lý ra khỏi môi trường lên men, các axit có nguồn gốc tự nhiên vẫn ở lại trong canh trường. Các tế bào được loại bỏ bằng cách tách và dịch lọc thu được được cô đặc và sấy phun.

Bột thu được có hàm lượng MSG là 11%, hàm lượng lactat là 0,90%, hàm lượng axetat là 0,20% và hàm lượng xitrat là 9,0%.

Ví dụ 2

Ribonucleotit

Cơ chất được điều chế như trong Ví dụ 1 và quá trình lên men được bắt đầu bằng cách cấy theo Ví dụ 1 bằng *Corynebacterium amoniagen*.

Bước lên men được thực hiện trong 6 ngày, ở độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 8 và ở nhiệt độ là 30°C. Trong quá trình lên men bằng các thông số này, nucleotit như IMP và/hoặc GMP được thải ra dưới dạng sản phẩm phụ tự nhiên của quá trình lên men.

Canh trường lên men được xử lý tiếp theo cách giống như trong Ví dụ 1.

Bột thu được có hàm lượng MSG là 0,5%, hàm lượng IMP là 6,2%, hàm lượng GMP là 0,3% và hàm lượng axetat là 3,70%.

Ví dụ 3

Sản phẩm với các thành phần có nguồn gốc tự nhiên thu được trong Ví dụ 1 và 2 được trộn với nhau trước và/hoặc sau quá trình sấy khô. Sản phẩm từ Ví dụ 1 và Ví dụ 2 được trộn với dịch thủy phân tự nhiên để thu được tỷ lệ tốt nhất đối với vị umami mạnh mà không mất vị đối với một số ứng dụng, ví dụ trong súp. Dịch thủy phân tự nhiên đóng vai trò làm chất nền và được thêm vào với lượng tối đa 50%. Dịch thủy phân này được trộn với 25% sản phẩm từ Ví dụ 1 và 25% sản phẩm từ Ví dụ 2. Sản phẩm hỗn hợp được đưa vào sản phẩm nấu nướng với lượng tùy thuộc vào loại ứng dụng. Ví dụ, trong trường hợp súp, sản phẩm nên trên được thêm vào với lượng khoảng 2% và trong trường hợp nước xốt, nó được thêm vào với lượng khoảng 20%. Vị umami tạo thành từ việc sử dụng sản phẩm được nêu trên đây là mạnh hơn ứng dụng bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và chất làm tăng vị nhân tạo.

Ví dụ 4

Sản phẩm theo Ví dụ 1 và Ví dụ 2 được trộn với nhau trước và/hoặc sau quá trình sấy khô. Bột đã được trộn được đưa vào phân tích GC-MS để xác định hoạt chất điều vị. Do đó, kỹ thuật vi chiết pha rắn (Solid-Phase-microextraction: SPME) được sử dụng, và mẫu của phân phía trên được truyền vào.

Các hợp chất sau đây có mặt: trimethylpyrazin, axit axetic, axit propionic.

Ví dụ 5

Đánh giá cảm quan trong ứng dụng sản phẩm nấu nướng của hỗn hợp bột được mô tả trong Ví dụ 1 và 2 được tổng kết trong kết luận sau đây: mức độ umami là cao hơn khi sử dụng lượng tương đương MSG tinh khiết.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình điều chế chất nền điều vị làm tăng vị bao gồm các bước:

- tiến hành lên men cơ chất bằng cách sử dụng vi sinh vật thuộc các loài được chọn từ nhóm bao gồm *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium efficiens* và *Bacillus subtilis*; và

- sử dụng hợp chất có nguồn gốc thực phẩm tự nhiên và hợp chất có nguồn gốc tự nhiên với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 80% thu được bằng cách lên men được chọn từ nhóm bao gồm glutamat, inosin monophosphat (IMP) và guanosin monophosphat (GMP) để sản xuất chất nền;

trong đó chất nền không được tinh chế bằng các phương pháp kết tinh hoặc sắc ký.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

- tiến hành phá vỡ tế bào trên tế bào vi sinh vật thu được trong canh trường từ quá trình lên men để tạo ra dịch chiết thô chứa các mảnh vỡ tế bào; và

- loại bỏ tế bào hoặc mảnh vỡ tế bào khỏi dịch chiết thô bằng cách lọc và/hoặc ly tâm để thu được các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên từ quá trình lên men.

3. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm bước trộn canh trường với dịch thủy phân tự nhiên.

4. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước lên men được tiến hành trong thời gian từ 20 giờ đến 72 giờ, ở độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 9 và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 40°C.

5. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước lên men được tiến hành trong thời gian từ 3 đến 6 ngày, ở độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 9 và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 40°C.

6. Quy trình theo điểm 3, trong đó trước khi trộn với dịch thủy phân tự nhiên, canh trường được làm khô và được chuyển hóa thành dạng vật lý.
7. Quy trình theo điểm 1, trong đó cơ chất được chọn từ nhóm bao gồm nguồn cacbon và nitơ.
8. Quy trình theo điểm 1, trong đó cơ chất thu được bằng cách thủy phân bằng enzym nguyên liệu thực vật hoặc thủy phân bằng enzym tinh bột.
9. Quy trình theo điểm 8, trong đó thực vật được chọn từ nhóm bao gồm lúa mỳ, ngô, sắn và lúa mạch đen.