

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

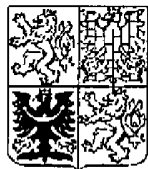
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2589-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **14. 08. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **19.08.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/96202309**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **18. 03. 98**
(Věstník č. 3/98)

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 23 L 1/23
A 23 L 1/227

(71) Přihlášovatel:

SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A.,
Vevey, CH;

(72) Původce:

Baensch Johannes, Le Breuil-en-Auge, FR;
Gaier Walter, Le Mont-Pelerin, CH;
Khoo Hazel Geok Neo, Lausanne, CH;
Lai Howe Ling, Singapore, SG;
Lim Bee Gim, Singapore, SG;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Břehová 1, Praha
1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob výroby prostředku pro ochucová-
ní pokrmů

(57) Anotace:

Způsob výroby prostředku pro ochucování
potravin, který zahrnuje přípravu fermentové-
ho proteinu koji z materiálu obsahujícího pro-
teiny a cukry a hydrolýzu fermentovaného
proteinu koji při teplotě mezi 25°C a pH od 4,5
so 10 po dobu 6 hodin až 28 dní, při kterém se
provádí inokulace kulturou bakterií mléčného
kvašení, buď ve stupni fermentovaného pro-
teinu koji nebo při stupni hydrolýzy.

CZ 2589-97 A3

Způsob výroby prostředku pro ochucování pokrmů

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká způsobu výroby prostředku pro ochucování pokrmů, zvláště způsobu výroby prostředku pro ochucování pokrmů biologickou hydrolýzou materiálu s obsahem proteinů.

Dosavadní stav techniky

Hydrolyzované proteiny byly na dalším východě známy pro použití jako prostředek pro ochucování v potravinářství již po staletí ve formě sojové omáčky, která byla tradičně připravována enzymatickou hydrolýzou, vyžadující pro přípravu dlouhou dobu, obvykle několik měsíců. Při výrobě sojové omáčky se materiály obsahující rostlinný protein, jako například vařené sojové boby nebo odtučněná sojová mouka, spolu s uhlohydráty inokuluje plísněmi rodu *Aspergillus* a tuhá kultura se fermentuje dva dny pro vytvoření fermentované koji, přičemž se produkují enzymy, schopné hydrolyzovat proteiny a uhlohydráty ve stádiu moromi. Fermentovaná koji se smísí s roztokem běžné soli za poskytnutí moromi, která se fermentuje 4 - 8 měsíců působením aktivity mikroorganismů, jako jsou sojové bakterie mléčného kvašení a sojové kvasinky, a odstraněním pevných frakcí z fermentované moromi se získá sojová omáčka.

Přibližně před sto lety byla vyvinuta s použitím kyseliny chlorovodíkové rychlejší metoda hydrolýzy proteinů pro produkci ochucovacích prostředků, při které je potřeba čas pouze několika hodin. V posledních letech však bylo použití kysele hydrolyzovaných rostlinných proteinů (HPP) při přípravě pokrmů kritizováno kvůli přítomnosti určitých sloučenin chlóru, které při kyselém způsobu

vznikají. Proto byly činěny pokusy vyvinout náhražky HPP, kterých by mohlo být použito při přípravě pokrmů jako chuťové podstaty (body-givers). Jednou vhodnou náhražkou je sojová omáčka. Z důvodů rozdílu v surovinách a způsobech zpracování však mají tyto dva
5 produkty, HPP a sojová omáčka, určité rozdíly co se týče chemického složení a chuťového profilu. Dávka sojové omáčky, které může být použito pro náhradu HPP je omezená pro její „fermentovanou“ příchut'. Různé způsoby zpracování také vedou k podstatnému kolísání stupně hydrolyzy materiálu s obsahem proteinů na aminokyseliny. Sojová
10 omáčka má nižší obsah aminokyselin než HPP, a to vede k podstatně měkčímu chuťovému základu sojové omáčky, než je tomu u HPP.

V naší související přihlášce EP-A-93113388.8 popisujeme způsob výroby prostředku pro ochucování potravin, založený na modifikované technologii standardní sojové omáčky, při které se
15 vystavuje fermentovaná koji před vytvářením moromi hydrolyze při nízké teplotě, čímž má výsledný prostředek pro ochucování silnější chuťový základ, než standardní sojová omáčka. Při tomto způsobu se na fermentovaný protein koji, připravený z materiálu obsahujícího proteiny a uhlohydráty, působí hydrolyzou při teplotě od 2 °C do 25 °C
20 a pH od 4,5 do 10 po dobu 6 hodin až 28 dnů. Aby se zlepšila organoleptická a barevná stabilita ochucovacího prostředku, přidává se k hydrolyzované fermentované koji pro vytvoření moromi sůl a kvasinky, a moromi se s výhodou fermentuje za aerobních nebo anaerobních podmínek po dobu 1 až 6 týdnů, výhodněji od 2 do 4
25 týdnů.

V naší související patentové přihlášce (NO5115/00) se popisuje způsob, který je podobný způsobu popsanému v EP-A-93113388.8, při kterém se v průběhu hydrolyzy fermentovaného proteinu koji přidávají
30 kvasinky, probíhá kohydrolyza fermentovaného proteinu koji a kvasinek a je nezbytný následný stupeň moromi. To má výhodu zkrácení celého výrobního postupu alespoň o jeden týden. Navíc může

být podle potřeby měněno množství soli v ochucovacím prostředí, například od 0 do 100 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost fermentovaného proteinu koji. V průběhu hydrolýzy za studena při teplotách od 2 do 25 °C se počty většiny mikroorganismů udržují na stejné hodnotě nebo se sníží. Když se hydrolýza za chladu provádí v nepřítomnosti soli, je výtěžek kyseliny glutamové maximální. Zatímco teploty vyšší než 25 °C rychlost hydrolýzy urychlují, je zvláště při provádění hydrolýzy za nepřítomnosti solí riziko růstu nežádoucích organismů. Autory předkládaného vynálezu bylo zjištěno, že inokulace fermentovaného proteinu koji kulturou bakterií mléčného kvašení v průběhu hydrolýzy s hustotou od 10^3 do 10^7 životaschopných bakterií na gram (cfu/g) chrání fermentovaný protein koji proti růstu nežádoucích mikroorganismů.

15 Podstata vynálezu

Předkládaný vynález tedy poskytuje způsob výroby prostředku pro ochucování potravin, který zahrnuje výrobu fermentovaného proteinu koji z materiálu obsahujícího proteiny a uhlohydráty, hydrolýzu fermentovaného proteinu koji při teplotě mezi 15 a 60 °C a pH od 4,5 do 10 po dobu 6 hodin až 28 dní, vyznačující se tím, že se provádí inokulace kulturou bakterií mléčného kvašení s inokulační hustotou 10^3 až 10^7 cfu/g buď ve stupni fermentovaného proteinu koji nebo ve stupni hydrolýzy.

Neomezujícími příklady bakterií mléčného kvašení, kterých je možno použít, jsou *Lactobacillus sake* (L. sake), *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. alimentarius*, *L. brevis*, *L. delbrueckii*, *L. farciminis*, *L. acidophilus* a jiné druhy *Lactobacillus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus*

faecalis, Enterococcus faecium a Tetragenococcus halophilus apod. Tyto organismy je možno použít také jako směsi různých kmenů, které mohou obsahovat rozdílné druhy (dva nebo více).

Fermentovaný protein koji se připravuje běžným způsobem výroby sojové omáčky, který zahrnuje například inokulaci materiálu s obsahem proteinu a uhlohydrátu kulturou *Aspergillus oryzae* a/nebo *Aspergillus soyae* na kultivačním loži za vytvoření fermentované koji. Materiálem obsahujícím proteiny je s výhodou materiál složený z rostlinných proteinů, například sojové boby, obilný gluten nebo rýžový gluten, ale s výhodou pšeničný gluten. Rostlinný materiál obsahující proteiny se s výhodou vaří a s výhodou se používá ve formě pevných částic pro umožnění růstu plísně *Aspergillus oryzae* a/nebo *Aspergillus soyae* na povrchu částic a případnou penetraci do částic. Koji se s výhodou fermentuje v pevném stavu. Pokud se provádí ve stupni fermentovaného proteinu koji inokulace kulturou bakterií mléčného kvašení, inokulace může probíhat před, na počátku nebo kdykoliv v průběhu fermentačního postupu.

Hydrolýza fermentovaného proteinu koji v přítomnosti vody může být prováděna v nepřítomnosti nebo v přítomnosti soli a s výhodou za konstantního míchání. Pokud je přítomna sůl, její množství může být až do 100 % hmotnostních vztaženo na hmotnost fermentovaného proteinu koji. Množství přítomné soli je možno podle potřeby měnit, například v závislosti na druhu použitých bakterií mléčného kvašení. Například některé bakterie mléčného kvašení snesou pouze nízkou koncentraci soli nebo nesnášejí sůl vůbec a v takových případech je výhodné přidat pouze malé množství soli nebo pracovat zcela bez soli. Pokud se inokulace kulturou bakterií mléčného kvašení provádí v kroku hydrolýzy, může inokulace probíhat před, na počátku nebo kdykoliv v průběhu hydrolýzy. Teplota, při které probíhá hydrolýza směsi vody a fermentovaného proteinu koji, je s výhodou od 20 °C do 55 °C a výhodněji od 30 do 45 °C.

S výhodou může po hydrolýze fermentovaného proteinu koji následovat druhý krok hydrolýzy, buď v nepřítomnosti nebo v přítomnosti soli. Druhá hydrolýza se s výhodou provádí při nižší teplotě než první krok hydrolýzy, s výhodou při teplotě od 2 do 20 °C, po dobu od 12 hod do 25 dnů, lépe od 3 °C do 15 °C po dobu od 18 hod do 22 dnů, a zvláště výhodně od 4 °C do 10 °C po dobu 24 hodin až 20 dnů.

V případě potřeby mohou být přítomny v průběhu hydrolýzy kvasinky. Jestliže se provádí druhá hydrolýza, kvasinky mohou být přidány buď na začátku, v průběhu nebo po prvním kroku hydrolýzy nebo na začátku nebo v průběhu druhého kroku hydrolýzy.

Množství přítomných kvasinek může být od 1 do 50 %, s výhodou od 2,5 do 40 % a zvláště výhodně od 5 do 30 % hmotnostních, vztaženo na hmotnost fermentovaného proteinu koji. Kvasinkami může například být instantní sušené droždí, například *Saccharomyces cerevisiae*. Pokud je přítomna sůl, použitá kvasinka je s výhodou tolerantní k soli, například *Candida versatilis* nebo *Debaromyces hansenii*.

S výhodou může být přidána ke směsi fermentovaného proteinu koji a kvasinek glukózoxydáza pro snížení obsahu glukózy (obvykle od 2,0 až 2,5 %), například na hodnotu nižší než 1,0 %, s výhodou nižší než 0,75 % a zvláště výhodně nižší než 0,5%. Snížení obsahu glukózy umožní výrobu stabilnějšího konečného produktu, který má delší dobu skladování a lépe si zachovává barvu a chuť. Glukózoxydáza může být přidána před, v průběhu nebo po hydrolýze fermentovaného proteinu koji.

Po hydrolýze může být hydrolyzovaná fermentovaná koji spolu s kulturou bakterií mléčného kvašení a kvasinkami, pokud jsou přítomny, vylisována pro oddělení kapalné omáčky od pevného zbytku. Kapalná omáčka se s výhodou pasterizuje, například při teplotě od 60 do 120 °C po dobu od 1 do 60 min a potom se filtruje za

poskytnutí kapalného prostředku pro ochucování potravin. V případě potřeby může být převedena kapalná omáčka na prášek, například koncentrací a následujícím sušením, například vakuovým sušením na nízký obsah vlhkosti, a potom rozemleta na prášek za poskytnutí
5 pevného ochucovacího prostředku.

Způsobem podle předkládaného vynálezu se dosahuje vyšší úrovně nebo stupně uvolnění aminokyselin, než je obvykle možné pomocí běžných způsobů výroby sojové omáčky. Prostředek pro ochucování potravin buď v kapalně nebo v práškové formě má vyšší
10 obsah aminokyselin, než sojová omáčka připravená běžnými způsoby. Pro vyšší obsah aminokyselin má ochucovací prostředek podle předkládaného vynálezu silnější chuťový základ, než sojová omáčka připravená běžnými způsoby. Prostředek pro ochucování vyrobený způsobem podle předkládaného vynálezu, má vynikající
15 organoleptickou stabilitu. Navíc, protože stupeň moromi se odstraní, celková doba výroby může být zkrácena o 1 až 6 týdnů.

Kultura bakterií mléčného kvašení propůjčuje mírně kyselou chuť, zatímco kvasinky dodávají vyjádřenou masovou chuť. Použití kombinace bakterií mléčného kvašení a kvasinek propůjčuje výrobku
20 méně kyselou a masovou příchut. Jak bakterie mléčného kvašení, tak i kvasinky mohou snížit obsah redukujících cukrů. Dvoustupňová hydrolýza poskytuje vysoký celkový výtěžek složek dodávajících chuť a může poskytnout lehčí produkt, který může být bez soli nebo může mít snížený obsah soli.

25 Předkládaný vynález bude nyní dále ilustrován příklady, ve kterých díly a procenta jsou udávány jako hmotnostní.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Pšeničný gluten byl extrudován extrudérem Clextral na kousky
s průměrným průměrem 5 mm porézní struktury.

65 kg extrudátů bylo namočeno 5 min při 75 °C v 65 kg vody.
Namočené extrudáty pak byly zahřáty na 100 °C a při této teplotě byly
udržovány 10 min a potom ochlazeny pomocí vakua na teplotu nižší
než 40 °C. Byl proveden krok pasterizace pro odstranění druhotné
kontaminace po extruzním kroku. Nakonec byly uvařené extrudáty
smíchány se směsí 28 kg pražené pšenice a 20 g TKJ (očkovací
inokulum *Aspergillus oryzae*) za vytvoření koji z pšeničného glutenu,
která byla fermentována 42 hod podobným postupem, jako se používá
v běžném způsobu výroby sojové omáčky. Koji z pšeničného glutenu
neobsahovala žádnou přidanou sůl.

V průběhu 42 hod fermentace koji byly udržovány následující
teplotní profily kultivačního lože:

0 - 25 hodin 30 °C

25 - 42 hodin 27 °C

Podobně jako při běžném způsobu výroby sojové omáčky byla
v 18. a 25. hodině koji promíchána pro zajištění dostatečného přístupu
vzduchu do kultivačního lože a dobré ventilace.

55 kg fermentované koji z pšeničného glutenu bylo smícháno se
150 kg vody při 37 °C, která byla předem sterilizována varem a potom
ochlazená. Do fermentoru s koji pšeničného glutenu bylo přidáno
11 kg kultury *Lactobacillus sake* v živné půdě a směs byla
hydrolyzována 24 hod v uzavřené nádobě s dvojitým pláštěm, kterým
obíhala chlazená voda pro udržení požadované teploty. Směs byla

v průběhu hydrolýzy trvale míchána. Potom byla hydrolyzovaná koji podruhé hydrolyzována 14 dnů při 10 °C.

Nakonec byla hydrolyzovaná směs vylisována pro oddělení omáčky z pšeničného glutenu od pevného zbytku. Omáčka
5 z pšeničného glutenu byla vystavena 20 min teplotě 90 °C. Tekutá omáčka byla koncentrována odpařením. Získaný koncentrát byl sušen ve vakuové peci a potom umlet na prášek.

Pro organoleptické vyhodnocení bylo 10 g kapalně omáčky nebo 3,5 g prášku zředěno 250 ml vařící vody. V obou případech bylo
10 zjištěno, že ochucovací prostředek má více chuťového základu a zakulacenější chuť než běžná sojová omáčka.

Bylo zjištěno, že prášek je při skladování při 30 °C v balení odolném proti vlhkosti (hliníkem laminované sáčky) stabilní více než 12 měsíců a má vynikající barevnou stabilitu. Bylo zjištěno, že
15 ochucovací prostředek je mikrobiologicky stabilní. Ve srovnání s podobným způsobem, při kterém byla hydrolýza prováděna, bez přítomnosti kultury *Lactobacillus sake* v živné půdě, byl výrazně snížen

20 Příklad 2

Bylo použito podobného postupu jak je popsáno v příkladu 1, kromě toho, že byla vynechána druhá hydrolýza fermentovaného pšeničného glutenu koji 10 °C 14 dnů.

Bylo zjištěno, že prostředek pro ochucování má silnější chuťový
25 základ a zakulacenější chuť než běžná sojová omáčka. Ochucovací prostředek v práškové formě byl mikrobiologicky stabilní jako prostředek podle příkladu 1 a měl vynikající barevnou stabilitu. Ve srovnání s podobným postupem, kde byla hydrolýza prováděna bez přítomnosti kultury *Lactobacillus sake* v živné půdě byl výrazně snížen
30 počet koliformních bakterií.

Příklad 3

Bylo použito podobného postupu jako byl popsán v příkladu 1, kromě toho, že hydrolýza fermentovaného pšeničného glutenu koji
5 byla prováděna v přítomnosti 11 kg inokula rehydratované suspenze instantního sušeného droždí navíc ke kultuře *Lactobacillus sake* v živné půdě.

Bylo zjištěno, že prostředek pro ochucování má silnější chuťový základ a zakulacenější chuť než běžná sojová omáčka. Ochucovací
10 prostředek v práškové formě byl mikrobiologicky stabilní jako prostředek podle příkladu 1 a měl vynikající barevnou stabilitu. Ve srovnání s podobným postupem, kde byla hydrolýza prováděna bez přítomnosti kultury *Lactobacillus sake* v živné půdě a inokula rehydratované suspenze instantního sušeného droždí byl výrazně
15 snížen počet koliformních bakterií.

Příklad 4

Bylo použito podobného postupu jako bylo popsáno v příkladu 1, kromě toho, že hydrolýza fermentovaného pšeničného glutenu koji
20 byla prováděna v přítomnosti 10 kg soli. Ochucovací prostředek v práškové formě byl mikrobiologicky stabilní jako prostředek podle příkladu 1 a měl vynikající barevnou stabilitu. Ve srovnání s podobným postupem, kde byla hydrolýza prováděna bez přítomnosti kultury *Lactobacillus sake* v živné půdě byl výrazně snížen počet koliformních
25 bakterií.

Zastupuje:

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Způsob výroby prostředku pro ochucování pokrmů, zahrnující přípravu fermentovaného proteinu koji z materiálu obsahujícího proteiny a uhlohydráty, hydrolýzu fermentovaného proteinu koji při teplotě mezi 15 °C a 60 °C a pH od 4,5 do 10 po dobu 6 hodin až 28 dnů, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e s e provádí inokulace kulturou bakterií mléčného kvašení při
10 inokulační hustotě od 10^3 do 10^7 cfu/g fermentovaného proteinu koji, buď ve stupni fermentovaného proteinu koji nebo při stupni hydrolýzy.
- 15 2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e jestliže se provádí inokulace kulturou bakterií mléčného kvašení ve stádiu fermentovaného proteinu koji, může se provádět inokulace před, na začátku nebo kdykoliv v průběhu fermentačního postupu.
- 20 3. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e hydrolýza fermentované koji se provádí v přítomnosti nebo v nepřítomnosti soli.
- 25 4. Způsob podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e pokud je sůl přítomna, její množství je až do 100 % hmotnostních vztaženo na hmotnost fermentované koji.
5. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e po hydrolýze fermentovaného proteinu koji následuje

druhá hydrolýza při teplotě od 2 °C do 20 °C po dobu 12 hodin až 25 dnů.

- 5 6. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e v průběhu kroku hydrolýzy jsou přítomny kvasinky.
- 10 7. Způsob podle nároku 6, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e jestliže se provádí druhá hydrolýza, kvasinky se přidají
buď na začátku, v průběhu nebo po prvním kroku hydrolýzy
nebo na začátku nebo v průběhu druhého kroku hydrolýzy.
- 15 8. Způsob podle nároku 6, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e množství kvasinek přítomných ve směsi je od 1 do 50 %
hmotnostních, vztaženo na hmotnost fermentovaného proteinu
koji.
- 20 9. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e po hydrolýze se hydrolyzovaná fermentovaná koji spolu s
kulturou bakterií mléčného kvašení a kvasinek, pokud jsou
přítomny, vylisují pro oddělení kapalné omáčky od pevného
zbytku za poskytnutí kapalného prostředí pro ochucování
potravin.
- 25 10. Způsob podle nároku 9, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e kapalný prostředek pro ochucování potravin se převede
na prášek zakoncentrováním, potom se suší na nízký obsah
vlhkosti a nakonec se mele na prášek za poskytnutí pevného
prostředku pro ochucování potravin.

Zastupuje: