

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102256501 A

(43) 申请公布日 2011.11.23

(21) 申请号 200980109673.8

A23L 1/23 (2006.01)

(22) 申请日 2009.03.13

A23L 1/237 (2006.01)

(30) 优先权数据

61/037,064 2008.03.17 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010.09.17

(86) PCT申请的申请数据

PCT/CH2009/000094 2009.03.13

(87) PCT申请的公布数据

W02009/114954 EN 2009.09.24

(71) 申请人 奇华顿股份有限公司

地址 瑞士韦尔涅

(72) 发明人 T·郝米克 S·I·迈阿卡

J·P·范里尔萨姆 R·W·史密斯

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专  
利商标事务所 11038

代理人 李瑛

(51) Int. Cl.

A23L 1/22 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 15 页

(54) 发明名称

酶方法

(57) 摘要

提供了水解芹菜植物材料形成盐增强成分的  
酶方法，所形成的盐增强成分，包含所述盐增强成  
分的食品和增强食品咸味的方法。

1. 形成盐增强成分的方法,其包括以下步骤:
  - (i) 形成芹菜植物材料的含水浆液,和
  - (ii) 通过使用一种或多种蛋白水解酶对其进行酶水解来形成芹菜植物材料的水解产物。
2. 权利要求 1 的方法,其中通过加热将所形成的盐增强成分灭活。
3. 权利要求 1 至 2 任一项的方法,其中一种或多种蛋白水解酶选自蛋白酶,肽酶和谷氨酰胺酶。
4. 权利要求 1 至 3 任一项的方法,其中一种或多种蛋白水解酶包括内肽酶和外肽酶两种活性。
5. 权利要求 1 至 4 任一项的方法,其中一种或多种蛋白水解酶包括来自米曲霉(*Aspergillus oryzae*) 的酶制剂(Umamizyme<sup>TM</sup>),并且在 40℃至 60℃下进行水解。
6. 权利要求 1 至 5 任一项的方法,其中与一种或多种蛋白水解酶的酶水解平行或之后,通过使用一种或多种糖酶对芹菜植物材料进行酶水解来形成水解产物。
7. 权利要求 1 至 6 任一项的方法,其中使用乳杆菌(*Lactobacillus*) 对水解产物进行发酵。
8. 权利要求 7 的方法,其中乳杆菌微生物选自植物乳杆菌(*L. plantarum*)、干酪乳杆菌(*L. casei*)、短乳杆菌(*L. brevis*) 和瑞士乳杆菌(*L. helveticus*)。
9. 通过权利要求 1 至 8 任一项的方法形成的盐增强成分。
10. 权利要求 9 的盐增强成分,通过除去水将其浓缩至少 1.5 倍。
11. 权利要求 9 至 10 任一项所述的盐增强成分,其中将盐增强成分喷雾干燥。
12. 用于食品的调味组合物,包含权利要求 9 至 11 任一项的盐增强成分和一种或多种食品级赋形剂。
13. 权利要求 12 的调味组合物,其中权利要求 9 的盐增强成分的浓度为 0.02% 至 0.3% (wt/wt),基于未浓缩的盐增强成分。
14. 一种食品,包含权利要求 9 至 11 任一项的盐增强成分。
15. 权利要求 14 的食品,其中权利要求 9 至 11 任一项的盐增强成分的浓度为 0.001% 至 0.015% (wt/wt),基于未浓缩的盐增强成分。
16. 权利要求 14 至 15 任一项的食品,其是减钠或低钠食品。
17. 权利要求 16 的食品,其中氯化钠浓度为 0.15% (wt/wt) 至 3% (wt/wt)。
18. 权利要求 16 的食品,其中氯化钠浓度为 0.15% (wt/wt) 至 1.5% (wt/wt)。
19. 权利要求 16 至 18 任一项的减钠或低钠食品,另外含有 KCl,任选地含有浓度为 0.1% 至 2% (wt/wt) KCl 的 KCl。
20. 提供咸度增强的食品的方法,其中将权利要求 9 至 11 任一项中所限定的盐增强成分与食品混合。
21. 权利要求 20 的方法,其中食品是减钠或低钠食品,任选地含有 KCl,任选地包含浓度为 0.1% 至 2% (wt/wt) KCl 的 KCl。

## 酶方法

### 技术领域

[0001] 公开了一种新的成分,以及形成所述成分的酶方法,以增强食品,特别是含有低的或降低的钠含量的食品的咸度,改善它们的口味。

### [0002] 背景

[0003] 认为大量的钠摄入对健康是有害的,因此希望能降低食品的氯化钠 (NaCl) 的量,而不降低所需的咸味。咸味对于感知的风味强度和特征非常重要,尤其是对于咸味食品。

[0004] 在食品工业中对提供能增强食品咸味以便可以减少 NaCl 的成分存在着需求。

[0005] 氯化钾 (KCl) 用于替代其他盐,特别是 NaCl。如果以所需的浓度使用 KCl 来减少 NaCl,消费者会感知到令人不快的苦味和金属味。此外,由于健康关注,某些个体希望避免 KCl。因此,寻找能够增强 NaCl 的咸味以便可以部分或完全替代 KCl 的产品是令人感兴趣的。

[0006] 已经描述了芹菜,并且特别是芹菜的挥发性部分,尤其是某些挥发性苯酞,能增强鸡汤的咸度和鲜味 (Y. Kurobayashi 等 (2007), J. Agric. Food. Chem. 56, 512-516)。然而,咸度的强度和持续时间对许多食品仍然不充足,并有待改善。此外,挥发性部分的分离 / 富集是不切实际的。

### [0007] 概述

[0008] 提供了以下的:

[0009] (1) 形成盐增强成分的方法,其包括步骤

[0010] (i) 形成芹菜植物材料的含水浆液,和

[0011] (ii) 通过使用一种或多种蛋白水解酶对其进行酶水解,形成芹菜植物材料的水解产物。

[0012] (2) 依据项 (1) 所述的方法,其中通过加热将形成的盐增强成分灭活。

[0013] (3) 依据项 (1) 至 (2) 任一项所述的方法,其中一种或多种蛋白水解酶选自蛋白酶、肽酶和谷氨酰胺酶。

[0014] (4) 依据项 (1) 至 (3) 任一项所述的方法,其中一种或多种蛋白水解酶包括蛋白酶和肽酶两种酶。

[0015] (5) 依据项 (1) 至 (4) 任一项所述的方法,其中一种或多种蛋白水解酶包括来自米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 的酶制剂 (Umamizyme<sup>TM</sup>),并且在 40°C 至 60°C 下进行水解。

[0016] (6) 依据项 (1) 至 (5) 任一项所述的方法,其中与一种或多种蛋白水解酶的酶水解平行或之后,通过使用一种或多种糖酶对芹菜植物材料进行酶水解来形成水解产物。

[0017] (7) 依据项 (1) 至 (6) 任一项所述的方法,其中将水解产物接受使用乳杆菌 (*Lactobacillus*) 的发酵。

[0018] (8) 依据项 (7) 所述的方法,其中乳杆菌微生物选自植物乳杆菌 (*L. plantarum*)、干酪乳杆菌 (*L. casei*)、短乳杆菌 (*L. brevis*) 和瑞士乳杆菌 (*L. helveticus*)。

[0019] (9) 通过依据项 (1) 至 (8) 任一项所述的方法形成的盐增强成分。

[0020] (10) 依据项 (9) 所述的盐增强成分,通过除去水将其浓缩至少 1.5 倍。

- [0021] (11) 依据项(9)至(10)任一项所述的盐增强成分,其中将盐增强成分喷雾干燥。
- [0022] (12) 用于食品的调味组合物,包含依据项(9)至(11)任一项所述盐增强成分和一种或多种食品级赋形剂。
- [0023] (13) 依据项(12)所述的调味组合物,其中项9的盐增强成分的浓度为0.02%至0.3% (wt/wt),基于未浓缩的盐增强成分。
- [0024] (14) 食品,包含依据项(9)至(11)任一项所述的盐增强成分。
- [0025] (15) 依据项目(14)所述的食品,其中依据项(9)至(11)所述的盐增强成分的浓度为0.001%至0.015% (wt/wt),基于未浓缩的盐增强成分。
- [0026] (16) 依据项(14)至(15)任一项所述的食品,其是减钠或低钠食品。
- [0027] (17) 依据项(16)所述的食品,其中氯化钠浓度为0.15% (wt/wt)至3% (wt/wt)。
- [0028] (18) 依据项(16)所述的食品,其中氯化钠浓度为0.15% (wt/wt)至1.5% (wt/wt)。
- [0029] (19) 依据项(16)至(18)任一项所述的减钠或低钠食品,另外含有KC1,任选地浓度为0.1%至2% (wt/wt) KC1。
- [0030] (20) 提供咸度增强的食品的方法,其中将依据项(9)至(11)任一项中所限定的盐增强成分与食品混合。
- [0031] (21) 依据项(16)所述的方法,其中食品是减钠或低钠食品,任选含有KC1,任选地浓度为0.1%至2% (wt/wt) KC1。
- [0032] 详述
- [0033] 令人惊讶地,现在已经发现了当用一种或多种蛋白水解酶来酶处理芹菜时,可以形成对食品的咸味感知具有增强作用并呈现较高强度、稍后开始和较长持续时间的咸味的成分,该蛋白水解酶包括,但不限于,蛋白酶、肽酶和谷氨酰胺酶的酶类别。
- [0034] 盐增强意思是当将包含具有盐增强作用的成分的食品与未添加盐增强成分的食品相比时,成分对食品咸味的作用,发现其味道强度更明显(更强烈,增强了)和/或其持续时间更长,如通过受过训练的对咸味敏感的专家小组所分析的。
- [0035] 可以在盐增强成分形成过程中通过平行或连续地另外使用糖酶来提高由盐增强成分增强的咸味强度和感知持续时间。
- [0036] 可以通过任选的使用乳杆菌细菌(例如,植物乳杆菌)的发酵步骤来进一步提高增强的咸味强度和感知持续时间。
- [0037] 有用的植物材料(“芹菜(celery)”/芹菜(*Apium graveolens*))
- [0038] 如在此所用的“芹菜(celery)”,意思是芹菜(*Apium graveolens*)。芹菜是伞状花科的植物物种,并产生旱芹和块根芹。来自芹菜dulce的茎对于在此所述的方法和成分是有用的,但可以使用来自任何芹菜植物的任何材料。植物材料可以是新鲜的或再水合的干燥的完整芹菜,或其非挥发性的部分。通常使用植物鲜嫩的茎部(叶柄)或新鲜的主根,但也可以使用叶子。
- [0039] 有用的芹菜变种/栽培品种组包括*Apium graveolens graveolens*(野生型),*Apium graveolens secalinum*(Alef.) Mansf(叶芹),*Apium graveolens dulce*(Mill.) Pers.(茎芹)和*Apium graveolens rapaceum*(Mill.) Gaudin(块根芹,具有圆的块茎,结合了胚轴以及主根和茎干的一部分)。

[0040] 存在很多有用的栽培品种,例如,但不限于,块根芹栽培品种包括“Balder”和“Giant Prague”;茎芹栽培品种包括“Pascal”,“Utah”,“Golden Self-Blanching”和“Tendercrisp”,“Plein Blanc Pascal”,“Tall Utah”和“Elne”;叶芹栽培品种包括“Juji”,“Duka”和“Safiya”。

[0041] 酶

[0042] 有用的酶类别包括水解蛋白质中的键的蛋白水解酶,并任选地是糖酶。

[0043] 蛋白水解酶制剂通常含有蛋白酶,其水解蛋白质形成小肽,和肽酶,其水解小蛋白质或肽,通常从其末端释放氨基酸。通常将具有内肽酶和外肽酶活性的蛋白酶和肽酶包括在这样的制剂中,以有效地从每个蛋白质和所得到的肽内或从每个蛋白质和所得到的肽的末端分解蛋白质。

[0044] 有用的蛋白水解酶包括,但不限于,具有一种或多种以下活性的酶:

[0045] 蛋白酶,肽酶,谷氨酰胺酶(包括,但不限于,L-谷氨酰胺-氨基-水解酶(EC 3.5.1.2)),内蛋白酶,丝氨酸内肽酶,枯草杆菌肽酶(EC 3.4.21.62)。

[0046] 其他蛋白水解酶也是有用的,并且很多是已知的并且是可获得的;以下给出了一些其他的类型和实例。

[0047] 蛋白水解酶(也称为胰酶,蛋白酶或肽酶)目前归于六个组中,包括丝氨酸蛋白酶,苏氨酸蛋白酶,半胱氨酸蛋白酶,天冬氨酸蛋白酶,金属蛋白酶和谷氨酸蛋白酶。蛋白水解酶可以在蛋白质的末端切割(外肽酶)或攻击蛋白质的内部肽键(内肽酶)。外肽酶包括,但不限于,氨基肽酶,羧基肽酶和羧基肽酶A。内肽酶包括,但不限于,胰蛋白酶,胰凝乳蛋白酶,胃蛋白酶,木瓜蛋白酶和弹性蛋白酶。

[0048] 通过EC编号(酶委员会编号)将蛋白水解酶归类(EC 3.4 和 EC3.5),每个类别包括特定反应类型的各种已知酶。

[0049] EC 3.4 包括作用于肽键的酶(肽酶 / 蛋白酶),EC 3.5 包括作用于碳 - 氮键而非肽键的酶。

[0050] EC 3.4 的实例包括,但不限于,以下的:氨基肽酶(EC 3.4.11),二肽酶(3.4.13),二肽酰-肽酶(3.4.14),肽酰-二肽酶(3.4.15),丝氨酸-羧基肽酶(3.4.16),金属羧基肽酶(3.4.17),半胱氨酸-羧基肽酶(3.4.18),u肽酶(3.4.19),丝氨酸-内肽酶(3.4.21),半胱氨酸-内肽酶(3.4.22),天冬氨酸-内肽酶(3.4.23),金属内肽酶(3.4.24),苏氨酸-内肽酶(3.4.25)。

[0051] EC 3.5 的实例包括,但不限于,切割线性酰胺的蛋白水解酶(3.5.1),例如,但不限于,谷氨酰胺酶(EC 3.5.1.2)。

[0052] 各种蛋白水解酶是可购得的;以下的蛋白水解酶可从 Sigma-Aldrich 获得:

[0053] 消色肽酶,氨基肽酶,安克洛酶,血管紧张素转化酶,菠萝蛋白酶,钙激活中性蛋白酶,钙激活中性蛋白酶 I,钙激活中性蛋白酶 II,羧基肽酶 A,羧基肽酶 B,羧基肽酶 G,羧基肽酶 P,羧基肽酶 W,羧基肽酶 Y,半胱天冬酶,半胱天冬酶 1,半胱天冬酶 2,半胱天冬酶 3,半胱天冬酶 4,半胱天冬酶 5,半胱天冬酶 6,半胱天冬酶 7,半胱天冬酶 8,半胱天冬酶 9,半胱天冬酶 10,半胱天冬酶 13,组织蛋白酶 B,组织蛋白酶 C,组织蛋白酶 D,组织蛋白酶 G,组织蛋白酶 H,组织蛋白酶 L,木瓜凝乳蛋白酶,凝乳酶,胰凝乳蛋白酶,a-梭菌蛋白酶,胶原酶,补体 C1r,补体 C1s,补体因子 D,补体因子 I,黄瓜素,二肽酰-肽酶 IV,弹性蛋白酶,白细胞,

弹性蛋白酶,胰腺的,内蛋白酶 Arg-C,内蛋白酶 Asp-N,内蛋白酶 Glu-C,内蛋白酶 Lys-C,肠激酶,因子 Xa,无花果蛋白酶,弗林蛋白酶,颗粒酶 A,颗粒酶 B,HIV 蛋白酶,IG 酶,激肽释放酶组织,亮氨酸氨基肽酶 (General),亮氨酸氨基肽酶,细胞溶质,亮氨酸氨基肽酶,微粒体,基质金属蛋白酶,甲硫氨酸氨基肽酶,Neutrase,木瓜蛋白酶,胃蛋白酶,血纤维蛋白溶酶,脯肽酶,链霉蛋白酶 E,前列腺特异性抗原,蛋白酶,来自灰色链霉菌的嗜碱的酶,来自曲霉属的蛋白酶,来自斋藤曲霉 (Aspergillus saitoi) 的蛋白酶,来自酱油曲霉 (Aspergillus sojae) 的蛋白酶,蛋白酶 (地衣芽孢杆菌 (B. licheniformis)) (碱性),蛋白酶 (地衣芽孢杆菌) (Alcalase),来自多粘芽孢杆菌 (多粘芽孢杆菌) (Bacillus polymyxa) 的蛋白酶,来自芽孢杆菌的蛋白酶,来自芽孢杆菌的蛋白酶 (Esperase),来自根霉的蛋白酶,蛋白酶 S,蛋白酶体,来自米曲霉的蛋白酶,蛋白酶 3,蛋白酶 A,蛋白酶 K,蛋白 C,焦谷氨酸氨基肽酶,血管紧张肽原酶,凝乳酶,链激酶,枯草杆菌蛋白酶,嗜热菌蛋白酶,凝血酶,组织纤溶酶原激活子,胰蛋白酶,类胰蛋白酶,尿激酶。

[0054] 可以将在此所述的一种或多种蛋白水解酶与糖酶结合。

[0055] 有用的酶组合包括,但不限于,其中将至少一种蛋白水解酶与至少一种糖酶结合的组合。

[0056] 用于分解碳水化合物植物材料的有用的糖酶包括,但不限于,具有一种或多种以下活性的糖酶:

[0057]  $\beta$ -葡聚糖酶 (包括,但不限于,1,3- $\beta$ -葡聚糖 - 葡糖 - 水解酶 (EC3.2.1.58)),  $\beta$ -淀粉酶,纤维素酶,半纤维素酶,木聚糖酶。

[0058] 例如,以下组合是有用的:

[0059]

蛋白酶 / 肽酶 / 谷氨酰胺酶	糖酶
蛋白酶	$\beta$ -葡聚糖酶
蛋白酶	$\beta$ -淀粉酶
蛋白酶	纤维素酶
蛋白酶	半纤维素酶
蛋白酶	木聚糖酶
内蛋白酶	$\beta$ -葡聚糖酶
内蛋白酶	$\beta$ -淀粉酶
内蛋白酶	纤维素酶
内蛋白酶	半纤维素酶

内蛋白酶	木聚糖酶
肽酶	$\beta$ - 葡聚糖酶
肽酶	$\beta$ - 淀粉酶
肽酶	纤维素酶
肽酶	半纤维素酶
肽酶	木聚糖酶
丝氨酸内肽酶	$\beta$ - 葡聚糖酶
丝氨酸内肽酶	$\beta$ - 淀粉酶
丝氨酸内肽酶	纤维素酶
丝氨酸内肽酶	半纤维素酶
丝氨酸内肽酶	木聚糖酶
L- 谷氨酰胺 - 氨基 - 水解酶	$\beta$ - 葡聚糖酶
L- 谷氨酰胺 - 氨基 - 水解酶	$\beta$ - 淀粉酶
L- 谷氨酰胺 - 氨基 - 水解酶	纤维素酶
L- 谷氨酰胺 - 氨基 - 水解酶	半纤维素酶
L- 谷氨酰胺 - 氨基 - 水解酶	木聚糖酶
枯草杆菌肽酶	$\beta$ - 葡聚糖酶
枯草杆菌肽酶	$\beta$ - 淀粉酶
枯草杆菌肽酶	纤维素酶
枯草杆菌肽酶	半纤维素酶
枯草杆菌肽酶	木聚糖酶

[0060]

[0061] 有用的组合是 1,3- $\beta$ - 葡聚糖 - 葡糖 - 水解酶 (EC 3.2.1.58) 与选自丝氨酸内肽

酶、肽酶 / 蛋白酶或枯草杆菌肽酶 (EC 3.4.21.62) 的蛋白酶。

[0062] 作为  $1,3-\beta$ -葡聚糖 - 葡糖 - 水解酶, 例如, 但不限于, 可以使用 Ceremix<sup>TM</sup> (Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦), 或 Viscozyme<sup>TM</sup> (Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦) 中的一种或多种。

[0063] 作为蛋白酶 / 肽酶 / 谷氨酰胺酶, 例如, 但不限于, 可以使用 Alcalase<sup>TM</sup>, 一种丝氨酸内肽酶 (Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦), Umamizyme<sup>TM</sup>, 一种蛋白酶 / 肽酶 (Amano, Nagoya, 日本), 或 Flavorpro373<sup>TM</sup>, 一种枯草杆菌肽酶 (Biocatalysts, Cardiff, UK) 中的一种或多种。

[0064] 所用的所有酶都应当是食品级的。

#### [0065] 酶水解

[0066] 在适于所用的所有酶的条件下进行酶水解。如本领域技术人员所知的, 温度和 pH 应当在合适的范围内, 使得水解进行至所需的程度。因此培养时间的长短将改变, 当条件更接近最佳条件时, 培养时间较短。通常 1 至 48 小时, 例如, 10 至 24 小时就足够了。如果需要或对于选定的酶有益, 如本领域技术人员所知, 应当存在必需的离子。搅拌培养混合物, 例如, 50 至 500 rpm, 或 100 至 200 rpm, 通常能改善水解。一些酶比其它酶能更好地耐受搅拌。对一种因素的耐受性通常依赖于其他因素。对于许多酶, 这些关于合适条件的信息是容易获得的, 不然可以容易地测定。

[0067] 许多酶制剂, 包括 Ceramix<sup>TM</sup>、Alcalase<sup>TM</sup>、Viscozyme<sup>TM</sup> 和 Umamizyme<sup>TM</sup>, 将在 40°C 至 55°C, 例如约 45°C 至约 55°C 的温度下, 在水中的液化芹菜浆液中充分起作用, 没有 pH 调节或任何添加的辅因子。其他酶可能需要或将得益于 pH 或温度调节, 或添加剂。Umamizyme<sup>TM</sup> 耐受约 40°C 至约 60°C 的温度, 最佳为约 55°C。Umamizyme<sup>TM</sup> 源自米曲霉, 并且富含内肽酶和外肽酶活性。

[0068] 应当使用足够单位的酶, 以获得实质性的水解, 直至获得所需程度的咸味。

[0069] 选择酶的量, 以确保足够的活性, 并避免产生苦味。所用的含量取决于酶的活性, 该信息通常是已知的, 否则是容易测试的。酶的量还取决于蛋白质的量, 并且应当是 0.5 : 20 至 3 : 20 的酶 : 蛋白质的比例 (对于 20 份的蛋白质为 0.5 至 3 份酶), 例如, 1 : 20 的酶 : 蛋白质 (Ceremix<sup>TM</sup>, Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦, 具有 300  $\beta$ -葡聚糖酶单位 (BGU) / 克酶的活性; Viscozyme<sup>TM</sup>, Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦, 具有 100 真菌  $\beta$ -葡聚糖酶单位 FBG / 克酶的活性; Alcalase<sup>TM</sup>, Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦, 具有 2.4 Anson 单位 (AU) / 克酶的活性; Umamizyme<sup>TM</sup>, Amano, Nagoya, 日本, 具有 70U (由 LGG 方法表示的单位, LGG = L-亮氨酸 - 甘氨酸 - 甘氨酸) 的活性; Flavorpro373<sup>TM</sup>, 谷氨酰胺酶, Biocatalysts, Cardiff, UK, 具有 30 谷氨酰胺酶单位 (GU) 的活性)。

[0070] 对于以下一些类型的酶, 显示了有用量的酶单位 / 克起始材料。

[0071]  $\beta$ -葡聚糖酶单位 (BGU) / 克起始材料 (液化芹菜浆液) 0.03 至 15BGU, 例如, 0.1 至 3BGU。

[0072] 真菌  $\beta$ -葡聚糖酶单位 FBG / 克起始材料, 0.002 至 3FBG, 例如, 0.01 至 1FBG。

[0073] Anson 单位 (AU) / 克起始材料, 0.0002 至 0.02AU, 例如, 0.0005 至 0.01。

[0074] U (由 LGG 方法表示的单位, LGG = L-亮氨酸 - 甘氨酸 - 甘氨酸) / 克起始材料, 使用 0.007 至 0.7U, 例如, 0.01 至 0.1U。

[0075] 谷氨酰胺酶单位 (GU) / 克起始材料, 使用 0.00075 至 0.075GU, 例如, 0.001 至 0.02GU。

[0076] 酶的量将根据酶及其使用条件而改变。如在此所述的, 可以通过试验不同的量和测试所得到的产物在感官评价中的作用来容易地确定必需量。

[0077] 通过一种或多种蛋白水解酶和任选的一种或多种糖酶水解芹菜浆液的水解产物可以直接用作盐增强成分。

[0078] 通常使用前, 通过足够高和长的最终热处理 (灭菌或巴氏杀菌) 来灭活酶和任选地微生物将其热灭活, 如下文中详述的。

[0079] 或者, 对水解产物进行发酵。

[0080] 发酵

[0081] 使用乳杆菌属的细菌 (例如, 植物乳杆菌) 进行发酵。其他乳杆菌属的物种, 例如, 干酪乳杆菌、短乳杆菌和瑞士乳杆菌也是有用的。

[0082] 可以使用乳杆菌的过夜培养物, 或可以从乳杆菌克隆直接接种水解产物, 并且因此发酵将进行略长的时间。

[0083] 可以通过本领域公知的方法来制备用于以下发酵的种子培养物 / 过夜培养物。可以在微生物合适的温度下生长过夜, 例如 12 小时。对于植物乳杆菌, 37°C 是合适的温度。可以选择任何合适的培养基, 例如, MRS 肉汤 (Difco, 美国)。

[0084] 将接种的材料发酵几个小时, 例如, 5 小时至 48 小时, 10 小时至 30 小时, 或 15 小时至 25 小时。

[0085] 使用水解产物作为发酵肉汤并添加足够体积的过夜种子培养物, 在至少 6 或更高的 pH 下, 例如 6 至 7 的 pH 下, 开始使用乳杆菌的发酵。使发酵进行到 pH 降至至少 pH5.5 或更低, 例如 pH 5.5 至 pH4.5。

[0086] 选择发酵温度来适应微生物。对于乳杆菌 (特别是植物乳杆菌) 的有用温度范围包括, 例如, 约 20°C 至约 40°C, 约 30°C 至约 40°C, 或约 35°C 至约 40°C, 最佳为约 36°C 至约 38°C。在低温下, 生长速率将较低, 在高温下, 微生物将被杀灭或数量减少。

[0087] 发酵容器应被最低限度地搅拌, 以确保适当的混合, 但同时确保细菌可以厌氧生长 (乳杆菌是兼性厌氧, 但通常在厌氧条件下生长更快, 耐氧性是锰依赖性的)。

[0088] 发酵的产物可以直接用作盐增强成分, 但通常在最终的热处理 (灭菌或巴氏杀菌) 之后, 该热处理足够高和长来灭活酶和微生物。

[0089] 通常, 在使用前将水解的或发酵的产物热灭活, 例如, 通过从约 60°C 加热至 121°C 或更高, 持续足够长时间, 以灭活酶和细菌 (例如, 但不限于, 任何巴氏杀菌或灭菌方法, 这是本领域公知的, 例如, 但不限于, 约 70°C, 约 90°C 或更高, 持续 30 分钟。当加热超过 100°C 时, 例如, 约 121°C, 30 分钟, 必须在压力, 通常约 12-15psi 下进行加热)。

[0090] 发酵过程中的 pH 应当为约 pH 6 至约 pH 7。如果 pH 低于 6, 植物乳杆菌生长将非常缓慢, 并且通常生长不充分。在发酵过程中, pH 将降至约 pH 4 或更低, 例如, 约 pH 5.5 至约 pH 3.5。

[0091] 此后, 可以将巴氏杀菌的发酵肉汤过滤, 以除去任何较大的颗粒, 并可以浓缩, 例如, 通过蒸发, 包括煮沸, 例如, 高达约 100°C。

[0092] 使用形式

[0093] 盐增强成分可以按原样或以过滤和 / 或浓缩过来的形式来使用。或者，浓缩的盐增强成分可以作为糊状物或粉末来使用或通过本领域公知的方法来喷雾干燥。对于喷雾干燥的盐增强成分，可以添加公知的载体和抗结块剂。

[0094] 可以通过任何合适的过滤方法，如本领域公知的方法，例如，通过压过滤离心机中的毡滤袋，来进行任选的过滤。可以将滤过的培养物（含有剩余较小固体的上清液，除去了包括较大未消化蛋白质的生物质）浓缩，例如，通过 100°C 下的蒸发 / 煮沸浓缩 2×。可以使用湿度分析仪测定所得到浓缩物的固体含量，并可以喷雾干燥，例如，在合适的载体上。许多载体是本领域公知的，例如，但不限于，马铃薯麦芽糖糊精载体（例如，约 1 : 12× 浓缩物固体与载体的比例可能是合适的）。任选地，可以加入抗结块剂，这样的试剂是公知的。例如，合适的抗结块剂是磷酸三钙 (TPC)；基于 2× 浓缩物的总重，约 0.5% (w/w) 将是合适的量。

[0095] 可以根据本领域公知的方法来选择盐增强成分的最终形式，并且这将取决于特定的食品应用。对于液体食品，例如，汤，可以使用液体形式的盐增强成分，而不需要进一步的加工。对于干的应用，如饼干，可以使用喷雾干燥的浓缩盐增强成分。

[0096] 可以将盐增强成分直接加入到食品中，或可以作为给食品调味的调味组合物的一部分来提供。

[0097] 调味组合物含有盐增强成分和任选的一种或多种食品级赋形剂。用于调味组合物的合适赋形剂是本领域公知的，并包括，例如，但不限于，溶剂（包括水、醇、乙醇、油、脂肪、植物油和 miglyol），粘合剂，稀释剂，崩解剂，润滑剂，芳香剂，着色剂，防腐剂，抗氧化剂，乳化剂，稳定剂，风味增强剂，甜味剂，抗结块剂等。这些用于调料的载体或稀释剂的实例可以在如以下的文献中找到：“Perfume and Flavor Materials of Natural Origin”（天然来源的香料和调味料），S. Arctander 编辑，Elizabeth, N. J., 1960；“Perfume and Flavor Chemicals”（香料和调味料化学物质），S. Arctander 编辑，Vol. I & II, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA, 1994；“Flavourings”（调味料），E. Ziegler 和 H. Ziegler（编 辑），Wiley-VCH Weinheim, 1998，和“CTFA Cosmetic Ingredient Handbook”（CFTA 化妆品成分手册），J. M. Ni kitakis（编辑），第 1 版，The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, Inc., Washington, 1988。

[0098] 调味组合物可以含有其他调味成分，包括调味化合物，来自天然来源的调味剂，包括植物来源和包括由发酵制得的成分。

[0099] 调味组合物可以具有任何合适的形式，例如，液体或固体，湿的或干的，或是结合到或覆盖于载体 / 颗粒上的包胶形式，或作为粉末。

[0100] 如果作为未浓缩液体来添加盐增强成分，在减钠或低钠应用中，例如，但不限于，在汤和局部食品应用，如薯片，薄脆和点心中，约 0.005 至约 0.5% (wt/wt) 通常就足够了。根据食品，可能需要更多。对于大部分局部应用，约 0.1% 至约 0.5% (wt/wt) 就足够了。使用浓缩物（例如，通过蒸馏）或喷雾干燥的盐增强成分，所示浓度需要以合适的倍数调节，以考虑盐增强成分的浓度变化。

[0101] 食品

[0102] 术语食品以宽泛的意思来使用，以包括放入口腔中但不一定吞咽的任何产品，包括，但不限于，食物，饮料，保健药品和牙齿护理产品，包括漱口水。

[0103] 食品包括谷物制品,米制品,面制品,馄饨,木薯制品,西米制品,焙烤制品,点心制品,糕点制品,面包制品,糖食制品,甜点制品,树胶,口香糖,巧克力,冰冻食品,蜂蜜制品,糖蜜制品,酵母制品,盐和香辛料,咸味制品,芥末制品,醋制品,沙司(调味品),加工过的食物,煮熟的水果和蔬菜制品,肉和肉制品,肉类似物/替代品,果冻,果酱,水果沙司,蛋制品,奶和乳制品,干酪制品,黄油和黄油替代制品,奶替代制品,大豆制品,食用油和脂肪制品,药物,饮料,汁液,果汁,蔬菜汁,食物提取物,植物提取物,肉提取物,调味品,保健药品,明胶,片剂,锭剂,滴液,乳液,酏剂,糖浆及其组合。

[0104] 特别值得关注的是,但不限于,具有降低的钠盐浓度的传统上高钠盐的食品,包括调味品和调味汁(冷的,温热的,即食的,保存的,沙爹(sate),马铃薯,BBQ调味汁,番茄酱,蛋黄酱和类似物,贝夏美沙司),肉汁,酸辣酱,色拉调料(耐储存的,冷藏的),面糊混合物,醋,披萨,意大利面,方便面,薯片,烤面包片,咸味点心(薯片,薄脆饼,坚果,玉米粉圆饼-炸玉米粉圆饼,椒盐卷饼,干酪点心,玉米点心,马铃薯点心,即食爆米花,可微薄爆米花,焦糖玉米,猪肉皮,坚果),薄脆饼干(苏打饼干,“Ritz”型),“夹心型”薄脆饼干点心,早餐谷物,干酪和干酪制品,包括干酪类似物(减钠干酪,巴氏杀菌加工的干酪(食物,点心&涂抹料),开胃涂抹料,冷包装干酪制品,干酪酱制品),肉,花色肉冻,腌肉(火腿,培根),午餐/早餐肉(热狗,冷荤,香肠),基于大豆的制品,番茄制品,马铃薯制品,干香辛料或调味组合物,液体香辛料或调味组合物,包括香蒜沙司,腌泡汁和汤-型/膳食-可替换饮料,和蔬菜汁,包括番茄汁,胡萝卜汁,混合蔬菜汁和其他蔬菜汁。加工过的食品包括人造黄油,花生酱,汤(清澈的,罐装的,奶油的,即食的,UHT),肉汁,罐装汁液,罐装蔬菜汁,罐装番茄汁,罐装果汁,罐装果汁饮料,罐装蔬菜,意大利面酱,冷冻主菜,冷冻客饭,冷冻手持主菜,干包装客饭(通心粉&干酪,干客饭-加肉,干色拉/配菜混合物,干客饭-含肉)。汤可以是不同的形式,包括浓缩的湿的,即食的,拉面的,干的和肉汤,加工过的和预先制备的低钠食品。

[0105] 根据食品,对于比相当的食品少含约10至100%,例如,25至50%钠的食品(例如,具有25%降低的“减钠”产品,或具有50%降低的“低钠”产品),可以如下使用盐增强成分:对于大部分食品应用的有用浓度为,例如,约0.001%至约0.015%(wt/wt),基于未浓缩的盐增强成分。或者,例如,可以使用25至300ppm或0.002%至0.03%(wt/wt),基于喷雾干燥的2×浓缩物。

[0106] 盐增强剂可以以未浓缩的或浓缩的形式来使用,或可以通过本领域已知的方法将浓缩物配制成糊状或粉末。在这种情况下,所用的量必须相应地进行调节。调味组合物,如香辛料,通常是更浓缩的,例如,10×浓缩物,并且因此将更高地调节浓度(250ppm至3000ppm)。

[0107] 具有常规NaCl浓度的普通食品中的NaCl浓度在大部分产品中在约0.5%至约5%(wt/wt)NaCl的范围内变化。调味料或用作调味料的产品,如少量使用的烤面包片,调味汁或色拉调料(用于,例如,色拉或面条),具有例如约2%至约5%(wt/wt)NaCl浓度。汤通常含有约0.6%至约1.25%(wt/wt)NaCl。咸味薄脆饼干和肉制品(意大利香肠,火腿,培根)通常含有约2%至约4%(wt/wt)NaCl。谷物通常含有约0.6至3%(wt/wt)NaCl。需要重建(干汤)的产品通常在重建后在所示的浓度范围内。

[0108] 对于比钠含量降低的产品(353mg/份)含有更低NaCl的低钠产品,盐增强成分的

量可能不得不增加。

[0109] 对于根据食品和所述成分含有添加的 KCl 的食品, KCl 的浓度可以为约 0.1% 或约 0.2%, 直至约 1%, 直至约 1.5%, 直至约 2% (wt/wt), 或更高, 这取决于钠的浓度降低多少。对于大部分低钠产品, 约 0.25% 至约 1.5% (wt/wt) 的 KCl 浓度, 例如约 0.5% 至约 1.5% (wt/wt) KCl 将是有用的。对于大部分应用, NaCl 浓度可以有用地下降的范围例如是约 0.25% (wt/wt) 至约 2.5% (wt/wt), 或约 0.125% 至约 1.25% (wt/wt)。可以作为成分加入到食品中的盐增强成分的量将取决于所用的 KCl 浓度, 以及包括特定碱和调料的具体食品。对于大部分食品应用, 有用的浓度可以是, 例如, 约 0.001% 至约 0.015% (wt/wt), 基于未浓缩的盐增强成分。或者, 例如, 可以使用 25 至 300ppm 或 0.002% 至 0.03% (wt/wt), 基于喷雾干燥的 2× 浓缩物。

[0110] 可以以未浓缩的形式来使用盐增强成分, 或可以将浓缩物配制成糊状物或粉末, 或通过本领域已知的方法将盐增强成分喷雾干燥。在这种情况下, 所用的量必须相应地进行调节。

[0111] 可以通过感官滴定来容易地测试盐增强成分的合适浓度。该技术是感官分析领域中公知的。

## 实施例

[0112] 除非另外指出, 百分比或比例以 wt/wt 给出。

### 实施例 1

#### 芹菜的酶水解和发酵

[0115] 制备各种不同的样品并在下表中示出。

[0116] 用食品加工机将新鲜芹菜梗切细。将水以 1 : 2 比例加入切碎的芹菜中, 并在食品加工机中将浆液液化。

[0117] 通过蒸馏成挥发性和非挥发性 / 罐残留部分来分离液化芹菜浆液部分。

[0118] 平行地, 替代液化的新鲜芹菜浆液, 以水中 15% 的浓度使用液化的脱水芹菜浆液, 并获得相似的结果。

[0119] 将液化的新鲜或脱水芹菜的浆液, 或其挥发性或非挥发性部分, 加热至 50°C, 并制备了以下的样品, 每个都是蛋白水解酶和糖酶的组合 :

[0120] a) Alcalase<sup>TM</sup>(0.1%) A

[0121] b) Umamizyme<sup>TM</sup>(0.1%) U

[0122] c) Flavorpro 373<sup>TM</sup>(0.1%) G

[0123] d) Alcalase<sup>TM</sup>(0.1%) & Ceramix<sup>TM</sup>(0.1%) A&C

[0124] e) Umamizyme<sup>TM</sup>(0.1%) & Viscozyme<sup>TM</sup>(0.1%) U&V

[0125] f) A&C& 谷氨酰胺酶 (Flavorpro 373<sup>TM</sup>) A&C&G

[0126] g) U&V& 谷氨酰胺酶 (Flavorpro 373<sup>TM</sup>) U&V&G

[0127] Ceremix<sup>TM</sup>(Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦) 具有 300 β - 葡聚糖酶单位 (BGU) / 克酶的活性 ; 每克起始材料 (液化芹菜浆液), 使用了 0.3BGU。

[0128] Viscozyme<sup>TM</sup>(Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦) 具有 100 真菌 β 葡聚糖酶单位 FBG/ 克酶的活性 ; 每克起始材料, 使用 0.1FBG。

[0129] Alcalase<sup>TM</sup>(Novozymes, Bagsvaerd, 丹麦) 具有 2.4Anson 单位 (AU) / 克酶的活性 ; 每克起始材料, 使用 0.0024AU。

[0130] Umamizyme<sup>TM</sup>(Amano, Nagoya, 日本) 具有 70U(由 LGG 方法表示的单位, LGG = L-亮氨酸 - 甘氨酸 - 甘氨酸) 的活性 ; 每克起始材料, 使用 0.07U。

[0131] 谷氨酰胺酶, Flavorpro 373<sup>TM</sup>(Biocatalysts, Cardiff, UK) 可以用作蛋白水解酶。Flavorpro 373<sup>TM</sup> 具有 30 谷氨酰胺酶单位 (GU) 的活性 ; 每克起始材料, 使用 0.0075GU。

[0132] Alcalase<sup>TM</sup>, Umamizyme<sup>TM</sup> 和谷氨酰胺酶 (Flavorpro 373<sup>TM</sup>) 是蛋白水解 / 肽水解酶, 而 Ceremix<sup>TM</sup> 和 Viscozyme<sup>TM</sup> 是糖酶。

[0133] 使酶水解在 50℃下进行 18 至 22 小时, 同时在 150rpm 下搅拌, 以形成水解产物。

[0134] 然后将水解产物冷却至 37℃, 并 0.3% 过夜培养物 / 水解材料 / 发酵肉汤的浓度接种植物乳杆菌菌株的过夜培养物 (约 10<sup>6</sup> 细胞 / g 的细胞密度)。

[0135] 将接种的材料在 37℃和最小搅拌下进行发酵 24 小时 (或直至 pH 降至约 pH4)。发酵后接着最后热处理, 121, 持续 30 分钟。

[0136]

[0137]

表 1：样品和对照

No.	标签	咸度的感官评价
<b>对照</b>		
C1	挥发性部分	液化芹菜的挥发物 (30%)
C2	非挥发性部分	液化芹菜的非挥发物 (70%)
C3	完整的芹菜 (新鲜的或脱水的/再水合的)	完整的液化芹菜浆液 (100%)
<b>酶水解的非挥发性样品</b>		
S4	HA	用 A 的酶水解
S5	HU	用 U 的酶水解
S6	HG	用 G 的酶水解
S7	HAC	用 C&A 的酶水解
S8	HACG	用 C&A&G 的酶水解
S9	HUV	用 V&U 的酶水解
S10	HUVG	用 V&U&G 的酶水解
<b>发酵的酶水解的非挥发性样品</b>		
S11	FA	用 A 的酶水解产物的发酵
S12	FU	用 U 的酶水解产物的发酵
S13	FG	用 G 的酶水解产物的发酵
S14	FAC	用 A&C 的酶水解产物的发酵
S15	FACG	用 A&C&G 的酶水解产物的发酵
S16	FUV	用 U&V 的酶水解产物的发酵
S17	FUVG	用 U&V&G 的酶水解产物的发酵

[0138] 实施例 2

[0139] 感官评价

[0140] 通过受训的调味专家在无脂的减钠鸡汤（钠 480mg/份）中感官评价实施例 1 的样品 (S4-S17)，样品或对照浓度为 0.02%。鸡汤温热（约 37°C）供应，用于品尝。

[0141] 将样品相对实施例 1 的 3 个对照 (C1-C3) 来呈现，将其中的每个样品在与蒸馏相似的条件 (100°C 和 150rpm 搅拌，持续 4-5 小时) 下烹调。

[0142] 结果显示于下表中。

[0143]

表 2: 样品及其感官评价		
No.	标签	咸度的感官评价
对照		
C1	挥发性部分	与 C2 和 C3 相似强度的即时咸度。 与 S4-17 相比，强度较低和持续时间较短。 样品与 C2 和 C3 具有相似强度，但持续时间较短。
C2	非挥发性部分	延迟的咸度。 与 C1 和 C3 相似强度的后咸度感觉。 与 S4-17 相比，强度较低和持续时间较短。
C3	完整的芹菜	持续时间长于 C1 的即时咸度。 与 C1 和 C2 相似的咸度。 与 S4-17 相比，强度较低和持续时间较短。
酶水解的非挥发性样品		
S4	HA	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较

[0144]

		长。 后咸度比 C1-3 更强。
S5	HU	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 后咸度比 C1-3 更强。
S6	HG	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 后咸度比 C1-3 更强。
S7	HAC	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 后咸度比 C1-3 和 S4 更强。
S8	HACG	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 后咸度比 C1-3, S4 和 S6 更强。
S9	HUV	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 后咸度比 C1-3 和 S5 更强。 与 S7&8 相比，持续时间更长，咸度更强。 与 S10 非常相似的咸度特征(开始，强度，持续时间)
S10	HUVG	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 后咸度比 C1-3, S5 和 S6 更强。 与 S7&8 相比，持续时间更长，咸度更强。 与 S9 非常相似的咸度特征(开始，强度，持续时间)
发酵的酶水解的非挥发性样品		
S11	HA	与 C1-3 和 S4 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。
S12	HU	与 C1-3 和 S5 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。

[0145]

S13	HG	与 C1-3 和 S6 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。
S14	FAC	与 C1-3, S4 和 S11 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 与 S7 (w/o 发酵) 相比，咸度更强。
S15	FACG	与 C1-3, 和 S11 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 与 S8 (w/o 发酵) 相比，咸度更强。 与 S14 相似的强度，开始和持续时间。
S16	FUV	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 与 S9 (w/o 发酵) 相比，咸度更强。 所有样品中最高的盐强度。
S17	FUVG	与 C1-3 相比，咸度更强，较后开始，但持续时间较长。 与 S10 (w/o 发酵) 相比，咸度更强。 除了 S16，所有样品中最高的盐强度。

[0146] 替代新鲜芹菜的非挥发性部分时，使用酶水解的或酶水解的并发酵的完整新鲜芹菜或脱水芹菜制得样品，结果与样品 S4-S17 非常相似。

[0147] 尽管以上结合特定的说明性实施方案已经描述了方法，成分和食品，但应理解可以使用其他相似的实施方案，并可以对所述的实施方案进行变化和添加，用于执行相同的功能。此外，在此公开的所有实施方案不是替换方案中必需的，因为可以结合各种实施方案来提供所需的特征。可以通过本领域普通技术人来进行改变，而不脱离公开内容的精神和范围。因此，方法、成分和食品不应当限于任何单个的实施方案，而是以根据所附权利要求描述的广度和范围来解释。