



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201511692 A

(43) 公開日：中華民國 104 (2015) 年 04 月 01 日

(21) 申請案號：103107990

(22) 申請日：中華民國 103 (2014) 年 03 月 07 日

(51) Int. Cl. : A23L1/23 (2006.01)

(30) 優先權：2013/07/23 南韓

10-2013-0086953

(71) 申請人：C J 第一製糖股份有限公司 (南韓) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)
南韓

(72) 發明人：李省勳 LEE, SUNG HUN (KR)；嚴沼妍 EOM, SO YOUN (KR)；朴再承 PARK, JAE SEUNG (KR)；吳銀善 OH, EUN SEON (KR)；李光熙 LEE, KWANG HEE (KR)；張錫旻 JANG, SUK MIN (KR)；姜大翊 KANG, DAE IK (KR)；鄭原大 CHUNG, WON DAE (KR)

(74) 代理人：莊志強；陳家輝

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：27 項 圖式數：4 共 36 頁

(54) 名稱

天然牛肉味之備製方法

METHOD FOR PREPARING NATURAL BEEF FLAVOR

(57) 摘要

本發明係關於一種用於製備天然牛肉味之方法，且更特定而言係關於：一種使用肉甘-5'-單磷酸鹽(IMP)發酵液或麩胺酸發酵液來製備天然牛肉味之方法，該等發酵液係藉由兩步發酵方法來製備，該兩步發酵方法包含用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟；一種藉由該方法製備的天然牛肉味；以及包含該天然牛肉味之食品組成物。根據本發明之方法製備的天然牛肉味係使用天然原料製備，且因此可無害及安全地適用於人體，且可添加至食品來產生牛肉味道且改良食品之風味。

The present invention relates to a method for preparing a natural beef flavor, and more particularly to a method of preparing a natural beef flavor using an inosine-5'-monophosphate (IMP) fermented broth or a glutamic acid fermented broth prepared by a two-step fermentation process comprising a first fermentation step for fungal fermentation and a second fermentation step for bacterial fermentation, a natural beef flavor prepared by the method, and a food composition comprising the natural beef flavor. The natural beef flavors prepared according to the method of the present invention are prepared using natural raw materials, and thus are harmless and safe for use in the human body, and may be added to food to produce beef tastes and improve the flavor of the food.

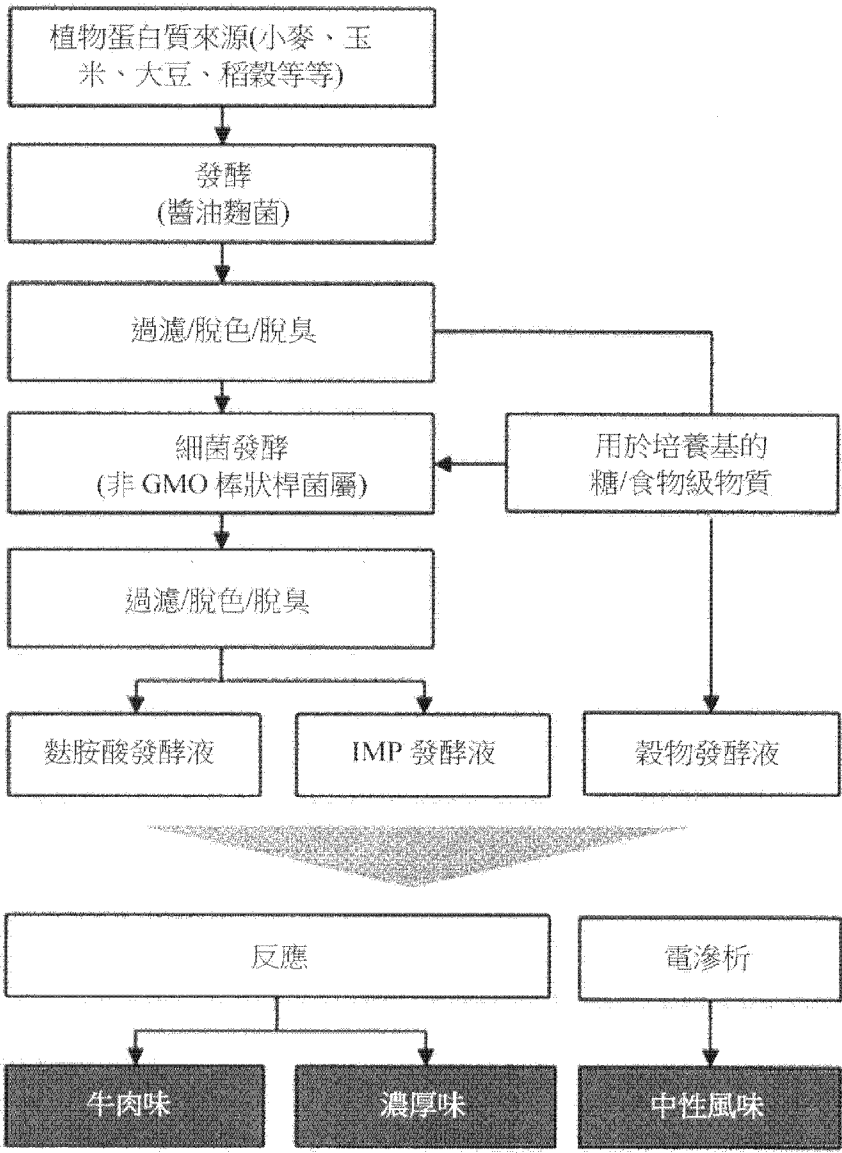


圖 1

201511692

發明摘要

※ 申請案號：103101990

※ 申請日：103.3.7

※IPC 分類：

A23L 1/23 (2006.01)

【發明名稱】

天然牛肉味之備製方法

METHOD FOR PREPARING NATURAL BEEF FLAVOR

【中文】

本發明係關於一種用於製備天然牛肉味之方法，且更特定而言係關於：一種使用肉苷-5'-單磷酸鹽(IMP)發酵液或麩胺酸發酵液來製備天然牛肉味之方法，該等發酵液係藉由兩步發酵方法來製備，該兩步發酵方法包含用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟；一種藉由該方法製備的天然牛肉味；以及包含該天然牛肉味之食品組成物。根據本發明之方法製備的天然牛肉味係使用天然原料製備，且因此可無害及安全地適用於人體，且可添加至食品來產生牛肉味道且改良食品之風味。

【英文】

The present invention relates to a method for preparing a natural beef flavor, and more particularly to a method of preparing a natural beef flavor using an inosine-5'-monophosphate (IMP) fermented broth or a glutamic acid fermented broth prepared by a two-step fermentation process comprising a first fermentation step for fungal fermentation and a second fermentation step for bacterial fermentation, a natural beef flavor prepared by the method, and a food composition comprising the natural beef flavor. The natural beef flavors prepared according to the method of

the present invention are prepared using natural raw materials, and thus are harmless and safe for use in the human body, and may be added to food to produce beef tastes and improve the flavor of the food.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖 1。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

【發明名稱】

天然牛肉味之備製方法

METHOD FOR PREPARING NATURAL BEEF FLAVOR

【技術領域】

本發明係關於一種用於製備天然牛肉味之方法，且更特定而言係關於：一種使用肉苷-5'-單磷酸鹽(IMP)發酵液或麩胺酸發酵液來製備天然牛肉味之方法，該等發酵液係藉由兩步發酵方法來製備，該兩步發酵方法包含用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟；一種藉由該方法製備的天然牛肉味；以及包含該天然牛肉味之食品組成物。

【先前技術】

胺基酸及肽係用作風味組分。近年來，已採用各種方式開發了包括胺基酸及肽之天然調味料，該等天然調味料係藉由以諸如真菌、桿菌、乳酸菌或酵母之微生物來發酵諸如大豆、小麥或玉米之植物蛋白質來源，且使該發酵產物水解而提取。

大體而言，技術已發展至藉由增加植物蛋白質來源之水解度來改良所提取的味道組分(胺基酸及肽)，或藉由增加就質量而言的產率來提高價格競爭力。然而，當僅使用植物蛋白質來源時，所存在之缺點在於所得調味料中不存在核酸組分，且因此調味料之鮮味強度微弱。另外，需要調味料含有麩胺酸連同諸如肉苷單磷酸鹽(IMP)或鳥苷單

磷酸鹽(GMP)之核酸，以便增加該調味料之商業價值。

近年來，為克服植物蛋白質水解產物之上述缺點，通常已使用含天然核酸之物質，諸如酵母萃。然而，酵母萃可能不利地影響加工食品之固有風味，此歸因於由該酵母萃之特異發酵氣味所引起的變味及敗味，且該酵母萃之核酸含量有限(最大核酸含量：20%)。另外，相較於諸如麩胺酸單鈉(MSG)、核酸 IG 或水解植物蛋白質(HVP)之習知調味料，適用於天然加工食品之植物蛋白質物質與酵母萃的混合物具有低價格競爭力。

同時，IMP 連同 GMP 為廣泛用作食品調味添加劑之物質。當 IMP 特定與麩胺酸單鈉(MSG)一起使用時，其具有改良味道之重要能力。因此，IMP 為基於核酸之調味料，其作為調味物質時受到關注。

用於發酵適於用作調味物質的 IMP 及 GMP 之方法包括：降解酵母 RNA 之方法，及在製備肉苷及鳥嘌呤核苷之後藉由兩個步驟(發酵及化學磷酸化)製備 IMP 及 GMP 之方法。然而，近年來，在包括歐洲的各個地區，適於天然風味之標準已獲強化，且法規已變得更嚴格，且因此，並非僅由天然組分製成但藉由執行化學方法或添加額外組分來製備之風味不被視為天然風味。為此，天然核酸組分應使用由細菌直接發酵糖之方法來製備。

在此等情況下，本發明人已做出大量努力來在不執行任何化學方法之情況下製備不含額外組分的天然牛肉味，且因此已發現，在使用藉由包含用於真菌發酵之第一發酵

步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟的兩步發酵方法所產生的 IMP 或麩胺酸發酵液時，即使在僅將發酵液用於後續反應時，可產生各種有效風味，進而達成本發明。

【發明內容】

[技術問題]

本發明之一目標為提供一種在不執行任何化學方法之情況下且使用肉苷-5'-單磷酸鹽(IMP)發酵液或麩胺酸發酵來製備不含額外組分的天然牛肉味之方法，該等發酵液係藉由用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟來製備。

本發明之另一目標為提供藉由上述方法製備的天然牛肉味。

本發明之又一目標為提供包含上述天然牛肉味之食品組成物。

[技術解決方案]

為達成上述目標，在一態樣中，本發明提供一種用於製備天然牛肉味之方法，該方法包含以下步驟：(a)用真菌發酵植物蛋白質來源以獲得穀物發酵液；(b)用細菌發酵該穀物發酵液以製備肉苷-5'-單磷酸鹽(IMP)發酵液；及(c)混合步驟(a)之穀物發酵液及步驟(b)之 IMP 發酵液。

另外，本發明提供一種用於製備天然牛肉味之方法，該方法包含以下步驟：於步驟(b)中用細菌進一步發酵該穀物發酵液以製備麩胺酸發酵液，且於步驟(c)中進一步與麩胺酸發酵液混合。

圖 1 示意地展示根據本發明之用於製備天然風味的方法。

具體而言，麩胺酸發酵液、IMP 發酵液及穀物發酵液係藉由用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟來製備，且使其經受其中為適合於每一風味之反應或處理的第三步驟，進而製備每一天然風味。

因此，本發明之特徵在於：用作用於製備天然風味之原料的天然 IMP 發酵液或麩胺酸發酵液係藉由兩步發酵方法來製備，該兩步發酵方法包含用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟。

用於真菌發酵之第一發酵步驟為使用蛋白質來源來產生肽及胺基酸之步驟。當僅進行用於真菌發酵之第一發酵步驟時，可產生大量的肽及胺基酸，且因此可產生可用作風味之麩胺酸。然而，存在之缺點在於：不能產生諸如 IMP 或鳥苷單磷酸鹽 (GMP) 之核酸物質，該核酸物質可產生鮮味。另外，存在之問題在於：當使用植物蛋白質來源時，其僅經受蛋白水解過程，且因此可產生的肽及胺基酸取決於蛋白質來源中蛋白質之濃度或含量。例如，當使用豆類時，所產生發酵液中之麩胺酸含量小於 10%，且當使用小麥麩質時，所產生發酵液中之麩胺酸含量小於 15%。

同時，用於細菌發酵之第二發酵步驟為製備核酸及麩胺酸發酵液之步驟。當僅進行用於細菌發酵之第二發酵步驟時，可有效地產生核酸及麩胺酸，但是存在之缺點在於：其他胺基酸及肽之含量係以小於 1% 之濃度產生，且因此使

用細菌之發酵液不能用作風味，即使其具有良好之鮮味亦如此。換言之，存在之缺點在於：為使用僅藉由細菌發酵獲得的發酵液作為風味，需要將額外組分添加至發酵液以便發酵液可適用於食品。

因此，本發明人已開發一種製備天然風味之方法，同時克服真菌發酵方法及細菌發酵方法之缺點，該方法僅使用所製備的發酵液，而不添加任何額外組分且不執行任何化學方法。

為使用兩步發酵方法製備核酸及麩胺酸發酵液，需要各種無機鹽、胺基酸及維生素連同碳源及氮源。特定而言，在先前技術中，酵母萃或水解植物蛋白質(HVP)係用作氮源，但在此狀況下，存在之缺點在於：所得發酵液具有變味及敗味，且產率稍低。另外，所得培養液中調味組分之含量以及總體風味取決於用於細菌發酵之各種物質而大有不同。因此，在本發明中，穀物發酵液(穀物蛋白質水解產物)係用作用於細菌發酵之第二發酵步驟的基質，該穀物發酵液係藉由真菌發酵(第一發酵步驟)獲得且可含有各種胺基酸及肽同時充當氮源。

在使用細菌來製備核酸或 MSG 之習知方法中，特別重要的是僅增加培養液中核酸 MSG 之濃度及其產率。此增加有效地增加鮮味，但在一些狀況下，其不利地影響所得調味物質之風味。然而，藉由使用本發明之 3 步驟來製備的各種天然風味具有之優點在於：風味可藉由控制為鮮味組分的 IMP 及麩胺酸以及各種胺基酸、醣類、有機酸及

無機離子等等之濃度來改良。

本文中，將描述用於製備天然風味之本發明方法的各步驟。

本發明之方法的步驟(a)為用真菌發酵植物蛋白質來源以獲得穀物發酵液的步驟。

在步驟(a)中，真菌發酵係使用植物蛋白質來源來執行，進而獲得含有各種胺基酸及肽且包括諸如麩醯胺之組分的穀物發酵液，該穀物發酵液可用作用於細菌發酵之第二發酵步驟中的氮源。具體而言，真菌係使用穀物料作為基質來培養，以便製備含蛋白酶之細胞培養液，其隨後添加至植物蛋白質來源，接著水解，進而製備穀物蛋白質水解產物。隨後，過濾穀物蛋白質水解產物，且自其移除細胞，進而製備穀物發酵液。穀物蛋白質水解產物可具有 2% (w/v) 或 2% (w/v) 以上之總氮含量，以便提供用於細菌發酵之第二發酵步驟的氮源。

作為植物蛋白質來源，此項技術中已知的任何材料可用於本發明，只要其可用真菌發酵即可。植物蛋白質來源之實施例包括但不限於大豆、玉米、稻穀、小麥麩質等等。同時，當使用小麥麩質時，其可有利地增加細菌發酵之產率，因為其含有大量麩醯胺。因此，小麥麩質可較佳地用作植物蛋白質來源。

作為真菌，任何真菌可用於本發明，只要其可發酵植物蛋白質來源來製備本發明之穀物發酵液即可。用於本發明之真菌可較佳為麴黴屬(*Aspergillus*)微生物，且更佳為米

麴黴(*Aspergillus orizae*)或醬油麴菌(*Aspergillus sojae*)微生物，但不限於此。

在本發明之一實施例中，用於真菌發酵之第一發酵步驟係使用如韓國專利登記第 10-1191010 號(相應於 PCT 國際公開案第 WO2011-046249 號)所述的醬油麴菌 CJCC_080124P (KCCM11026P)來進行。

如本文所使用，術語「穀物發酵液」係指藉由用真菌發酵植物蛋白質來源(穀物)來獲得之產物。穀物發酵液可用作用於細菌發酵之第二發酵步驟的基質，且亦可用於藉由使穀物發酵液在發酵後經受過濾及細胞移除方法來製備風味之最終步驟。因此，穀物發酵液可如上所述用於兩個目的。

步驟(b)為用細菌發酵步驟(a)中獲得的穀物發酵液來製備 IMP 發酵液之步驟。步驟(b)可進一步包含用細菌發酵穀物發酵液以製備麩胺酸發酵液之步驟。具體而言，用於真菌發酵之第一發酵步驟中獲得的穀物發酵液係用作用於細菌發酵之基質，且 IMP 發酵液及/或麩胺酸發酵液可藉由使穀物發酵液在補充有碳源之培養基中細菌發酵來製備。

細菌發酵可藉由此項技術中已知的一般細菌培養方法來執行，且該細菌發酵較佳可由三個步驟組成：角瓶培養、加大規模培養及主培養。具體而言，角瓶培養及擴展培養係使用一級培養基及二級培養基來執行以便達成規模擴大，之後使用步驟(a)之穀物發酵液作為主培養基中的基質

同時連續地供應額外的糖來執行細菌發酵，進而獲得 IMP 發酵液及麩胺酸發酵液。

用於細菌發酵之培養基可包含碳源，諸如葡萄糖、果糖或類似物。特定而言，用於製備麩胺酸發酵液之培養基可包含作為碳源之粗糖。培養基可包含各種無機鹽、維生素、胺基酸及類似物，且培養基之組成可取決於為 IMP 發酵液或麩胺酸發酵液之所要發酵產物而變化。

例如，當欲製備 IMP 發酵液時，主培養基可包含、果糖、硫酸鎂、磷酸、氫氧化鉀及穀物發酵液。較佳地，主培養基可包含以培養基之總體積計 4.4-5.2 wt% 之葡萄糖、3.7-4.3 wt% 之果糖、1.3-1.7 wt% 之硫酸鎂、2.0-2.4 wt% 之磷酸、1.4-1.8 wt% 之氫氧化鉀及 0.5-0.9 wt% 之穀物發酵液。另外，當欲製備麩胺酸發酵液時，主培養基可包含葡萄糖、果糖、粗糖、甜菜鹼、硫酸鎂、磷酸鉀及磷酸，且較佳地其可包含以培養基之總重量計 0.5-0.7 wt% 之葡萄糖、0.9-1.1 wt% 之果糖 4.5-5.5 wt% 之粗糖、0.005-0.015 wt% 之甜菜鹼、0.3-0.5 wt% 之硫酸鎂、0.8-1.0 wt% 之磷酸鉀及 0.2-0.4 wt% 之磷酸。

另外，培養基可必要時包含少量其他組分，例如硫酸鐵、硫酸錳、硫酸銅、硫酸鋅、CAPA、NCA (菸鹼醯胺)、生物素、氯化鈣、硫胺素、維生素 C 及類似物。包含此等組分之每一培養基之典型實施例展示於表 5 至 8 及 9 至 12 中。

由於步驟(a)之真菌發酵，植物蛋白質來源分解成胺基

酸及肽以及無機離子，諸如鈣、鎂及磷酸根離子，且維生素自蛋白質的來源溶離。藉由真菌發酵產生的胺基酸包括麩醯胺酸、半胱胺酸、甲硫胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸及類似物，且可在步驟(b)之細菌發酵中用作氮源。特定而言，高濃度之麩醯胺酸為用於嘌呤生物合成的必需組分，且可充當用於產生高含量之 IMP 及麩胺酸的主促進劑。另外，經溶離無機離子及維生素可在細菌發酵中有助於細菌細胞之生長。在本發明之一實施例中，已證實：當藉由真菌發酵獲得的產物用作營養物來源時，細菌細胞之增殖及生長變得較快(圖 4)。此進一步證明本發明之兩步方法之優點。

如本文所使用，術語「細菌」係指可發酵步驟(a)中獲得之穀物發酵液以產生 IMP 發酵液及麩胺酸發酵液的任何細菌。為製備根據本發明之天然風味，可使用非 GMO 菌株。用於本發明之細菌可為此項技術中已知的具有藉由發酵來產生 IMP 及麩胺酸之能力的任何細菌。例如，當欲製備 IMP 發酵液時，可使用桿菌屬(*Bacillus* sp.)、棒狀桿菌屬或大腸桿菌屬(*Escherichia* sp.)微生物，且當欲製備麩胺酸發酵液時，可使用棒狀桿菌屬、微桿菌屬(*Microbacterium* sp.)、桿菌屬、鏈黴菌屬(*Streptomyces* sp.)、青黴菌屬(*Penicillium* sp.)、假單胞菌屬(*Pseudomonas* sp.)、關節桿菌屬(*Arthrobacter* sp.)、鋸桿菌屬(*Serratia* sp.)、念珠菌屬(*Candida* sp.)、克留氏菌屬(*Klebsiella* sp.)、伊文氏桿菌屬(*Erwinia* sp.)、泛菌屬(*Pantoea* sp.)或腸內桿菌屬

(*Enterobacter* sp.)微生物。更佳地，用於本發明之細菌可為棒狀桿菌屬微生物。最佳地，產氨棒狀桿菌(*Corynebacterium ammoniagenes*)可用於製備IMP發酵液，且麩胺酸棒狀桿菌(*Corynebacterium glutamicum*)可用於製備麩胺酸發酵液。另外，作為細菌，可使用前述專利文件中所揭示的且已知具有產生IMP及麩胺酸之能力的各種細菌。例如，IMP發酵液可使用韓國專利特許公開案第10-2007-000507號(相應於PCT國際專利公開案第WO 2005-095627號)中揭示之桿菌屬或大腸桿菌屬細菌來製備，且麩胺酸發酵液可使用韓國專利特許公開案第10-2000-0029174(相應於美國專利第7247459號)中揭示之腸內桿菌屬或克留氏菌屬來製備，但並不限於此。

在本發明之一實施例中，為製備IMP發酵液，使用韓國專利登記第10-0397321號(相應於WO國際專利公開案第W02002-051984號)中描述之產氨棒狀桿菌CJIP009(KCCM-10226)，且為製備麩胺酸發酵液，使用韓國專利登記第10-0264740號中描述之麩胺酸棒狀桿菌(乳酸發酵短桿菌(*Brevibacterium lactofermentum*)) CJ971010 (KFCC 11039)。

藉由步驟(b)中之細菌發酵獲得的發酵液具有約150 g/L之固體含量。本發明之特徵在於：將藉由細菌發酵獲得之IMP及/或麩胺酸發酵液用於天然風味製備方法，而不向其添加任何額外組分，該發酵液應含有大量為所要組分之IMP及麩胺酸。

因此，藉由用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟製備的 IMP 發酵液可較佳地具有 30% 或 30% 以上，且更佳 50% 或 50% 以上的 IMP 含量，但不限於此。因此，IMP 發酵液中的 IMP 之濃度可較佳為 50 g/L 至 150 g/L，且更佳為 70 g/L 至 130 g/L。

此外，因為用於真菌發酵之第一發酵步驟產生的產物含有胺基酸，所以相較於 IMP 之濃度及產率而言，麩胺酸可以高濃度及高產率獲得。所製備麩胺酸發酵液中的固體可較佳具有 50% 或 50% 以上及更佳 60% 或 60% 以上之麩胺酸含量，但不限於此。因此，麩胺酸發酵液的麩胺酸之濃度可較佳為 75 g/L 至 150 g/L，且更佳為 90 g/L 至 130 g/L。

由於如上所述的發酵液中 IMP 及麩胺酸之高含量，當藉由諸如乾燥之方法使發酵液粉末化時，該發酵液可適合地添加至食品中。

如本文所使用，術語「風味」係指添加來改良食品風味之物質。風味可根據其組分來分類成各種風味。風味之特定實施例包括中性風味、牛肉味、雞肉味、豬肉味及濃厚味。每一風味可使用藉由本發明之兩步發酵方法製備的 IMP 發酵液及麩胺酸發酵液來製備。該等術語中，術語「牛肉味」係指即使其不含動物原料而仍賦予烤牛肉味道/風味之風味。本發明人證實：當應用藉由本發明之方法製備的牛肉味時，可增加牛肉蘿蔔湯及番茄肉醬的牛肉味及喜好 (preference)。

因為本發明之發酵液的特徵在於：其用於天然風味製

備方法而無需添加任何額外組分且不經受諸如純化之額外化學方法，所以所有培養基組分應為食品級材料，以便直接將發酵液包括於食品中，例如加工食品中。因此，在發酵期間添加的所有培養基組分較佳為食品級材料。在本發明之一實施例中，為將食品級材料用作培養基組分，將 β -丙胺酸以泛酸鈣(CAPA)替換，且儘管如此，已證實，可製備具有 70 g/L 或 70 g/L 以上的 IMP 濃度的 IMP 發酵液。因此，用於根據本發明之細菌發酵的培養基可較佳含有 CAPA。

IMP 發酵液及麩胺酸發酵液中之每一者可藉由兩步發酵方法來製備，該兩步發酵方法包含步驟(a)及步驟(b)，且所製備發酵液可最終經受用於反應的第三步驟，且可用於製備各種風味之方法中。基於 IMP 發酵液及麩胺酸發酵液，例如中性風味及針對牛肉、雞肉、豬肉、濃厚及類似者之風味的各種天然風味可藉由使用不同原料，或輕微變化培養基組成，或在混合發酵液或反應或電滲析方法之過程中控制製程條件來製備，該等製程條件包括溫度、壓力及時間。在所製備天然風味之中，可將適合於各食品目的之風味添加至食品以賦予最佳味道。

步驟(c)為將自先前步驟獲得之穀物發酵液及 IMP 發酵液混合來製備天然牛肉味之步驟。另外，步驟(c)可進一步包含與麩胺酸發酵液混合之步驟。

在步驟(c)中，不向發酵液添加額外組分，發酵液不經受額外化學方法，且發酵液彼此混合，並隨後根據所要風

味之所欲用途在適合條件(包括溫度、壓力及時間)下反應，進而製備天然牛肉味。

在步驟(c)中，天然牛肉味可最終藉由經由本發明之製備方法混合穀物發酵液及 IMP 發酵液來製備。本文中，穀物發酵液及 IMP 發酵液之混合比率可較佳為 1:1 至 1:10，更佳 1:2 至 1:8，且最佳 1:4，但不限於此。此外，混合發酵液可進一步與麩胺酸發酵液混合。

在如上混合每一發酵液之後，最佳牛肉味可藉由在 80°C 至 120°C 下、較佳 90°C 至 110°C 下；及在 0.8 至 1.5 巴下、較佳 0.9 至 1.3 巴下；反應 0.5 至 24 小時、較佳地 0.5 至 5 小時且更佳 1 至 3 小時來製備。於以上條件下，梅納反應可藉由高溫來產生諸如 2,6 -二甲基吡嗪、2,3 -二甲基吡嗪及二甲基吡嗪之化合物，且牛肉味可由於此等化合物而形成。

同時，發酵液可在過濾方法之後使用。因此，本發明方法可包含在步驟(c)之前用活性碳處理發酵液之步驟。另外，本發明方法可包含在用活性碳處理發酵液之步驟之後的離心或過濾發酵液之步驟。在用活性碳處理發酵液之後，該發酵液可進一步用作為助濾劑的矽藻土來處理。此外，在用活性碳處理發酵液之前，該發酵液可經受加熱發酵液之預處理方法以便誘導細胞溶解，以便增加隨後進行的過濾方法之產率。加熱方法可較佳在 70-90°C 下進行，且加熱時間可較佳為 15 分鐘或更長，且更佳為 15 分至 60 分鐘。

本發明之混合步驟可進一步包含濃縮發酵液且乾燥濃縮物以製備粉末之步驟。將發酵液製備成粉末之步驟可在混合發酵液之前或之後執行，且可較佳地在混合發酵液之前執行。乾燥可較佳藉由噴霧乾燥或真空乾燥來達成。發酵液可最終製備成適合於添加至食品的或醬。

在另一態樣中，本發明提供藉由本發明之製備方法製備的天然牛肉味。在又一態樣中，本發明亦提供包含天然牛肉味之食品組成物。

藉由本發明之製備方法製備的天然牛肉味具有牛肉味道及風味，且因此可添加至適合食品來最大化該食品之味道，且亦可應用於動物飼料。例如，天然牛肉味可添加至火腿、香腸及類似物來產生牛肉味。

[有利效應]

根據本發明之方法製備的天然牛肉味係使用天然原料製備，且因此可無害及安全地適用於人體，且可添加至食品來產生牛肉味道且改良食品之風味。

【圖式簡單說明】

圖 1 為展示用於製備天然風味之總體方法之示意視圖。

圖 2 展示根據本發明的酸水解 AMP 以便以天然食品級材料替換腺嘌呤的方法。

圖 3 展示用於衍生 CAPA 來以天然食品級材料替換 β -丙胺酸之代謝路徑。

圖 4 展示在其中藉由根據本發明之真菌發酵降級的植

物蛋白質作為營養物來源來添加之狀況下及在其中不添加植物蛋白質之狀況下細菌細胞增殖之程度。

【實施方式】

下文中，本發明將進一步參照實施例來詳細描述。然而，對熟習此項技術者明顯的是，此等實施例僅係出於說明性目的，且不意欲限制本發明之範疇。

實施例 1：植物蛋白質來源之真菌發酵

對於一級真菌發酵而言，使用麩黴屬微生物作為真菌菌株在 20°C 至 35°C 之溫度下培養包括諸如大豆、玉米、稻穀或小麥之穀物材料的基質 24-72 小時，進而製備含有高濃度蛋白酶之真菌培養液。隨後，將諸如大豆、玉米、稻穀或小麥之植物蛋白質來源與水混合至 25-35% 的高濃度並且滅菌，且將以上製備的含有高濃度蛋白酶之真菌培養液添加至呈不含鹽狀態之滅菌植物蛋白質來源以便使植物蛋白質來源水解。在本文中，真菌培養液係以滅菌基質溶液計，以 10-100% 之量來添加，且基質係於 40°C 至 50°C 下降解 48 至 96 小時以便製備穀物蛋白質水解產物。

具體而言，使用如韓國專利登記第 10-1191010 號(相應於 PCT 國際公開案第 WO 2011-046249 號)中所述的醬油麴菌 CJCC_080124P (KCCM11026P) 來執行角瓶培養及擴展培養，且隨後使用脫脂大豆來製備真菌培養液，且水解作為基質的小麥麩質，進而製備穀物蛋白質水解產物。更具體而言，將 200 ml 一級培養物分配於 1 L 角瓶中且滅菌，且將 200 ml 真菌細胞以 1.7×10^{10} 真菌細胞/400 ml 之

密度接種於角瓶中，且在 30°C 及 100 rpm 下培養 7 小時。隨後，將二級培養物添加至 250 L 發酵罐且滅菌，且將 600 ml 一級培養液接種於其中且在 30°C 及 70 rpm 下培養 24 小時。接著，將主培養基添加至 5 噸製備槽，且在 90°C 下加熱 30 分鐘，之後將其轉移至 8 噸發酵罐中，且向其添加 100 L 水及 2 L 消泡劑。隨後，將 144 L 二級培養液接種於主培養基中，且隨後在 30°C 及 700 rpm 下培養 48 小時，進而製備真菌培養液。最終，將用於基質水解的原料添加至 5 噸製備槽，且在 55°C 下加熱 1 小時，之後將其轉移至 20 噸發酵罐中，且向其添加 100 L 水及 2 L 消泡劑，接著滅菌。隨後，將 5760 L 真菌培養液接種於基質中且在 45°C 及 30 rpm 下培養 96 小時，進而製備穀物蛋白質水解產物。用於製備穀物蛋白質水解產物之培養基的組成展示於以下表 1 至 4 中。

[表 1]

用於真菌發酵之一級培養物

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	6	3
KH ₂ PO ₄	g	6	3
酵母萃	g	6	3
水	ml	182	

[表 2]

用於真菌發酵之二級培養物

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	kg	1.44	1
KH ₂ PO ₄	kg	1.44	1
酵母萃	kg	1.44	1
水	kg	138.6	

[表 3]

用於真菌發酵之主培養基

培養基組分	單位	量	%
脫脂大豆	kg	103.68	1.9
KH ₂ PO ₄	kg	57.6	1
水	kg	5352	

[表 4]

用於基質水解之原料

原料	單位	量
小麥麩質	kg	2650
水	L	7500

如上所述製備的穀物蛋白質水解產物經由壓濾機過濾來移除真菌細胞，進而製備具有 2% (w/v) 或 2% (w/v) 以上的總氮含量及 50% 或 50% 以上的水解度的穀物發酵液。同時，穀物發酵液製備為用於二級細菌發酵之培養基。

實施例 2：細菌發酵

為使用穀物發酵液製備 IMP 發酵液及麩胺酸發酵液，將諸如葡萄糖或果糖之碳源，諸如 Fe、Mg、Mn 及 Zn 之無機鹽以及維生素添加至實施例 1 中製備的穀物發酵液，接著滅菌，進而製備用於細菌發酵之培養基。製備用於製備 IMP 發酵液及麩胺酸發酵液之培養基，且對每一發酵液而言，製備用於角瓶培養(一級培養)、擴展培養(二級培養)及主培養之培養基。

2-1：IMP 發酵液之製備

使用韓國專利登記第 10-0397321 號(相應於 WO 國際專利公開案第 W02002-051984 號)中描述的產氨棒狀桿菌 CJIP009 (KCCM-10226)製備具有 70 g/L 之 IMP 濃度的 IMP

發酵液。

具體而言，將使用 NaOH 調整至 pH 7.2 的 50 ml 一級培養物分配於 500 ml 角瓶中，且在 121°C 下滅菌 15 分鐘，之後將細菌菌株接種於培養基中且在 32°C 及 200 rpm 下培養 22 至 28 小時。隨後，將 2.1 L 二級培養物分配於 5 L 罐中，滅菌且冷卻，之後將 300 ml 一級培養液接種於其中，且在 2 L 空氣中於 32°C 及 900 rpm 下培養 27 至 30 小時同時調整 pH 至 7.2。接著，將 8.5 L 主培養基分配於 30 L 罐中，滅菌且冷卻，之後將 1500 ml 二級培養液接種於其中，且在 5 L 空氣中於 32°C 及 400 rpm 下歷時 5 至 6 天同時調整 pH 至 7.2，且在任何時間供應包含葡萄糖及果糖之混合物的額外的糖。在供應最終額外的糖之後，執行培養 7 小時或更長時間，以便糖可完全消耗。用於製備 IMP 發酵液之培養基的組成展示於以下表 5 至 8 中。

[表 5]

用於製備 IMP 發酵液之一級培養物

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	10	1
穀物發酵液	g	35	3.5
NaCl	g	2.5	0.25
培養基體積	ml	1000	

[表 6]

用於製備 IMP 發酵液之二級培養物

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	78.93	8
穀物發酵液	g	21.43	2
H ₃ PO ₄ (85%)	g	2.14	0.21
KOH (85%)	g	1.77	0.18

MgSO ₄ 7H ₂ O	g	1.43	0.14
(NH ₄) ₂ SO ₄	g	7.14	0.71
L-半胱胺酸 HCl	mg	28.6	
CAPA	mg	21.4	
生物素	mg	0.09	
硫胺素	mg	7.1	
FeSO ₄ 7H ₂ O	mg	28.6	
MnSO ₄ 7H ₂ O	mg	14.3	
ZnSO ₄ 7H ₂ O	mg	14.3	
培養基體積	ml	1000	

[表 7]

用於製備 IMP 發酵液之主培養基

培養基組分	單位	量	%
H ₃ PO ₄ (85%)	g	22.21	2.2
KOH (85%)	g	15.86	1.6
穀物發酵液	g	7	0.7
CuSO ₄ 5H ₂ O	mg	12.2	
FeSO ₄ 7H ₂ O	mg	36.5	
ZnSO ₄ 7H ₂ O	mg	36.5	
MnSO ₄ 7H ₂ O	mg	109.6	
L-半胱胺酸 HCl	mg	40.4	
CAPA	mg	34.7	
NCA	mg	34.9	
生物素	mg	0.15	
CaCl ₂ 2H ₂ O	mg	182.6	
硫胺素	mg	23.5	
MgSO ₄ 7H ₂ O	g	14.61	1.5
葡萄糖	g	48.21	4.8
果糖	g	40.22	4
培養基體積	ml	1000	

[表 8]

用於製備 IMP 發酵液之額外的糖

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	358.97	35.9
果糖	g	299.58	30
NCA	mg	772	0.08
CAPA	mg	936.6	0.09

H ₃ PO ₄ (85%)	g	55.68	5.6
NaOH (100%)	g	13.5	1.4
培養基體積	ml	1000	

2-2：製備麩胺酸發酵液

使用韓國專利登記第 10-0264740 號中描述的麩胺酸棒狀桿菌(乳酸發酵短桿菌) CJ971010 (KFCC 11039)製備具有 90 g/L 之麩胺酸濃度的麩胺酸發酵液。

具體而言，將 30 ml 一級培養物分配於 250 ml 角瓶中且滅菌，且將細菌菌株接種於培養基中且培養 5 至 8 小時。隨後，將 1.4 L 二級培養物分配於 5 L 罐中，滅菌且冷卻，且隨後將 20 ml 一級培養液接種於其中且培養 20 至 28 小時。隨後，將 9.2 L 主培養基分配於 30 L 罐中，滅菌且冷卻，之後將 800 ml 二級培養液接種於其中，且培養 36 至 45 小時同時在任何時間供應額外的糖。

在供應最終額外的糖之後，執行培養 7 小時或更長時間，以便糖可完全消耗。用於製備麩胺酸發酵液之培養基的組成展示於以下表 9 至 12 中。

[表 9]

用於製備麩胺酸發酵液之一級培養物

培養基組分	單位	量	%
粗糖(98.5%)	g	20.3	2
穀物發酵液	g	13	1.3
(NH ₄) ₂ SO ₄	g	13.72	1.4
KH ₂ PO ₄	g	5.2	0.5
K ₂ HPO ₄	g	10.7	1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	g	0.5	0.05
d-生物素	mg	1.8	
硫胺素-HCl	mg	9	
CAPA	mg	9	
煙醯胺(菸鹼醯胺)	mg	60	

培養基體積	ml	1000	
-------	----	------	--

[表 10]

用於製備麩胺酸發酵液之二級培養物

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	81.79	8.2
果糖	g	23.14	2.3
H ₃ PO ₄ (85%)	g	2.73	0.27
MgSO ₄ 7H ₂ O	g	1.03	0.1
甜菜鹼	g	0.14	0.01
DL-Meth	g	0.15	0.01
FeSO ₄ 7H ₂ O	mg	18.6	
MnSO ₄ 7H ₂ O	mg	18.6	
CuSO ₄ 5H ₂ O	mg	3.6	
ZnSO ₄ 7H ₂ O	mg	3.6	
硫胺素-HCl	mg	7.1	
維生素 C(抗壞血酸)	mg	7.1	
琥珀酸	mg	1.1	
d-生物素	mg	17.4	
維生素 B12 (氰鈷胺)	mg	0.057	
穀物發酵液	g	42.86	4.3
培養基體積	ml	1000	

[表 11]

用於製備麩胺酸發酵液之主培養基

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	5.86	0.6
果糖	g	10.48	1
粗糖	g	50	5
甜菜鹼	g	0.97	0.1
MgSO ₄ 7H ₂ O	g	3.69	0.4
K ₂ HPO ₄	g	9	0.9
H ₃ PO ₄ (85%)	g	3.1	0.3
FeSO ₄ 7H ₂ O	mg	22.9	
MnSO ₄ 7H ₂ O	mg	22.9	
CuSO ₄ 5H ₂ O	mg	2.3	
ZnSO ₄ 7H ₂ O	mg	2.3	
CAPA	mg	2.9	
NCA	mg	2.9	

生物素	mg	0.29	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	mg	71.4	
硫胺素-HCl	mg	0.4	
維生素 C(抗壞血酸)	mg	1.7	
培養基體積	ml	1000	

[表 12]

用於製備麩胺酸發酵液之額外的糖

培養基組分	單位	量	%
葡萄糖	g	192.3	19.2
果糖	g	54.33	5.4
粗糖	g	147.33	14.7
甜菜鹼	g	0.67	0.07
穀物發酵液	g	4	0.4
CAPA	mg	15.87	
NCA	mg	15.87	
培養基體積	ml	1000	

為使用用於製備 IMP 發酵液之培養基製備 IMP 發酵液並且使用該 IMP 發酵液作為用於添加至食品之風味，應將若干培養基組分替換為食品級材料以便滿足食品添加劑之要求。因此，將細胞生長所必需的腺嘌呤及 β-丙胺酸替換為食品級材料。

首先，藉由酸-水解 AMP 以用核糖分解 β-N -糖苷鍵進而釋放腺嘌呤來製備腺嘌呤。已證實，當使用如上所述製備之腺嘌呤來執行培養時，可製備具有 70 g/L 或更高之 IMP 濃度的 IMP 發酵液(圖 2)。

隨後，根據對產氨棒狀桿菌之代謝路徑的檢驗，預期 β-丙胺酸將替換為泛酸鈣(CAPA)。因此，使用 CAPA 代替 β-丙胺酸來執行培養，且因此，已證實可製備具有 70 g/L 或更高之 IMP 濃度的 IMP 發酵液(圖 3)。

實施例 3：檢驗在將真菌發酵產物用於細菌發酵之狀況下的細胞生長率

為確認其中連續地執行用於真菌發酵之第一發酵步驟及用於細菌發酵之第二發酵步驟之狀況的優點，調查在將藉由第一真菌發酵步驟降解的植物蛋白質作為營養物來源添加之狀況下及在不添加植物蛋白質之狀況下細菌細胞之生長率及增殖程度。

因此，如圖 4 可見，在將藉由第一真菌發酵步驟降解的植物蛋白質作為營養物來源添加之狀況下，細菌細胞以相較於在不添加植物蛋白質之狀況而言高速率及大量來增殖(圖 4)。

實施例 4：根據碳源種類檢驗麩胺酸發酵液之風味特徵變化

可用於麩胺酸發酵之碳源包括葡萄糖、果糖、蔗糖蜜、粗糖等等。儘管某些其他培養基組分取決於碳源之種類而改變，但是所得發酵液之麩胺酸濃度不顯著取決於碳源之種類。然而，發酵液之風味顯著取決於碳源之種類，且為研製天然風味，所得發酵液較佳具有較清新風味。蔗糖蜜由於其中所含有的各種無機離子而為就微生物發酵而言的極佳培養基組分，但其具有之缺點在於：其作為天然風味來使用之價值較低，因為培養基自身之顏色太暗，且藉由焦糖化引起的風味保留於所得培養液中。

因此，在用於製備天然風味之麩胺酸發酵液的製備中使用粗糖來替代蔗糖蜜，且檢驗所得的培養液風味特徵變

化。在本文中，雖然蔗糖蜜替換為粗糖，但將蔗糖蜜中含有的主要無機離子及維生素額外地添加至培養基。因此可見，當蔗糖蜜替換為粗糖時，移除變味且因此風味特徵適合於製備所呈現之天然風味(表 13)。另外，使用粗糖製備之麩胺酸發酵液亦含有高濃度(96 g/L 或 96 g/L 以上)之麩胺酸，其為適合於製備天然風味之麩胺酸濃度。

[表 13]

培養液之風味特徵隨蔗糖蜜與粗糖之比率的變化

	蔗糖蜜(100%)	蔗糖蜜+粗糖 (5:5)	粗糖 (100%)
中性	-	+	++
變味	+	-	--

實施例 5：牛肉味之製備

使用實施例 1 中製備的穀物發酵液及實施例 2 中製備的麩胺酸發酵液製備牛肉味。

具體而言，為增加隨後執行之過濾方法之產率，將每一發酵液在 70°C 至 90°C 下加熱 15 分鐘或 15 分鐘以上來誘導細胞溶解。此預處理方法可增加過濾產量至 85% 或更高。隨後，為自麩胺酸發酵液及 IMP 發酵液移除變味及敗味，添加以發酵液之體積計 1-3% (w/v) 之量的活性碳，隨後將其在 50°C 至 70°C 下用活性碳處理 2 至 24 小時。在用活性碳處理之後，將 1-3% (w/v) 之矽藻土作為助濾劑添加至發酵液，隨後經由壓濾機過濾。隨後，使用藉由以上方法過濾的發酵液。

同時，藉由植物蛋白質之真菌發酵及細菌發酵獲得的發酵液含有諸如半胱胺酸及甲硫胺酸之含硫胺基酸、有機

酸、糖及類似物，其皆衍生自植物蛋白質且藉由細菌之代謝路徑來產生。

將穀物發酵液及 IMP 發酵液以 1:4 之比率彼此混合，且使其在 80°C 至 120°C 及 0.8-1.5 巴下經受梅納反應 0.5 至 24 小時。在本文中，在 10% 的藉由細菌發酵產生之 IMP 中，磷酸基與戊糖之間的鍵藉由高溫分解以產生戊糖，且所產生之戊糖可用作用於梅納反應之前驅體，且因此甚至在添加額外的糖時可製備牛肉味。梅納反應產生安瑪多立重排化合物，即 2,6 -二甲基吡嗪、2,3 -二甲基吡嗪及二甲基吡嗪，且由於此等化合物而形成牛肉味。

在另一反應路線中，在完成細菌發酵之後，在反應後期不供應氨以便調整 pH 至 5-7，且藉由培養液中之組分的高溫/高壓反應來產生 3,4-雙去氧糖(glycosulos)-3 -烯，接著產生呋喃化合物，進而形成牛肉味。

將藉由上述反應製備之反應溶液噴霧乾燥或真空乾燥，進而製備牛肉味。具體而言，將精鹽及糊精添加至反應溶液以達 35-50% 之固體含量，且將混合物噴霧乾燥或真空乾燥以形成粉末，或濃縮至 70% 之固體含量來形成醬。該牛肉味可藉由微生物引發酵液之反應來呈現如同添加牛肉之效果，即使其不含動物原料。

實施例 6：評估由牛肉味之應用產生的感覺屬性

為檢驗本發明之牛肉味的應用是否相較於使用具有牛肉味之習知調味料增加牛肉之風味，執行感覺屬性之評估。

6-1：牛肉蘿蔔湯

製備添加習知牛肉味之牛肉蘿蔔湯，且向其另外添加本發明之牛肉味。評估添加本發明之牛肉味之前及之後牛肉味之感覺屬性。藉由 84 位使用過調味料的家庭主婦執行感覺評估。

以 5 分量表來評估諸如喜好及強度之感覺屬性。因此，如以下表 15 中所示，在應用牛肉味之群組中，總體味道之喜好比應用牛肉味之前的高 0.2 分，且特定而言，應用牛肉味之後的牛肉味強度及喜好顯著高於應用牛肉味之前的強度及喜好。

[表 14]

屬性	習知	應用牛肉味之後	差異(應用之後與應用之前之間)
總體味道喜好	3.4	3.6	0.2
外觀喜好	3.5	3.7	0.2
牛肉味喜好	3.3	3.5	0.2
濃味喜好	3.0	3.4	0.4
牛肉味強度	3.0	3.6	0.6
鮮味強度	3.2	3.5	0.3
濃味口感	2.9	3.3	0.4

6-2：番茄肉醬

向包含相同量之番茄及肉的番茄肉醬添加粉末牛肉味，且藉由 80 位家庭主婦評估牛肉味添加之前及之後的番茄肉醬之感覺屬性。以 5 分量表來評估諸如喜好及強度之感覺屬性。

因此，如以下表 16 中所示，在應用牛肉味之群組中，總體味道之喜好比應用牛肉味之前的高 0.2 分，且應用牛肉味之後的肉味強度及喜好顯著高於應用牛肉味之前的肉

味強度及偏愛。此等結果暗示，即使當牛肉味應用於以肉味為主的產品中時，其可增加該產品之肉味以便增加該產品之總體味道品質。

[表 15]

屬性	習知	應用牛肉味之後	差異(應用之後與應用之前之間)
總體味道喜好	3.6	3.8	0.2
鮮味喜好	3.5	3.7	0.2
鮮味強度	3.7	3.7	0
番茄味喜好	3.8	3.8	0
番茄味強度	3.5	3.7	0.2
產品肉味喜好	3.7	3.9	0.2
產品肉味強度	3.5	3.8	0.3

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種用於製備天然牛肉味之方法，該方法包含：
 - (a) 用真菌發酵植物蛋白質來源以獲得穀物發酵液；
 - (b) 用細菌發酵該穀物發酵液以製備肉苷-5'-單磷酸鹽(IMP)發酵液；及
 - (c) 混合物步驟(a)之該穀物發酵液及步驟(b)之該IMP發酵液。
2. 如請求項 1 所記載之方法，其進一步包含於步驟(b)中用細菌發酵該穀物發酵液以製備麩胺酸發酵液，且於步驟(c)中與該麩胺酸發酵液混合。
3. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其中該天然風味僅使用該發酵液來製備而不添加任何額外組分。
4. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其中該天然風味使用該發酵液來製備而不使該發酵液經受額外化學方法。
5. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其中該植物蛋白質來源係選自由大豆、玉米、稻穀、小麥及小麥麩質組成之群。
6. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其中該真菌為麴黴屬微生物。
7. 如請求項 6 所記載之方法，其中該麴黴屬微生物為醬油麴菌。
8. 如請求項 1 所記載之方法，其中該細菌為棒狀桿菌屬微生物。
9. 如請求項 8 所記載之方法，其中該棒狀桿菌屬微生物

- 為產氨棒狀桿菌。
10. 如請求項 8 所記載之方法，其中該棒狀桿菌屬微生物為麩胺酸棒狀桿菌。
 11. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其中該穀物發酵液及該 IMP 發酵液係以 1:1 至 1:10 之一比率來混合。
 12. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其包含在步驟(c)中混合之後，於 80 至 120°C 之溫度下反應 0.5 至 24 小時。
 13. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其中用於製備該 IMP 發酵液或該麩胺酸發酵液之細菌發酵之培養基組成物包含食品級材料。
 14. 如請求項 13 所記載之方法，其中用於該細菌發酵之該培養基組成物包含泛酸鈣(CAPA)。
 15. 如請求項 1 所記載之方法，其中用於製備該 IMP 發酵液之細菌發酵的培養基包含葡萄糖、果糖、硫酸鎂、磷酸、氫氧化鉀及穀物發酵液。
 16. 如請求項 2 所記載之方法，其中用於製備該麩胺酸發酵液之細菌發酵的培養基包含葡萄糖、果糖、粗糖、甜菜鹼、硫酸鎂、磷酸鉀及磷酸。
 17. 如請求項 2 所記載之方法，其中用於製備該麩胺酸發酵液之細菌發酵的培養基中的碳源為粗糖。
 18. 如請求項 1 所記載之方法，其中步驟(b)之所製備 IMP 發酵液中的 IMP 之濃度為 50 g/L 至 150 g/L。
 19. 如請求項 1 所記載之方法，其中步驟(b)之所製備 IMP 發酵液中固體中的 IMP 之含量為 30 wt%或 30 wt%以

- 上。
20. 如請求項 2 所記載之方法，其中步驟(b)之所製備麩胺酸發酵液中的麩胺酸之濃度為 75 g/L 至 150 g/L。
 21. 如請求項 2 所記載之方法，其中步驟(b)之所製備麩胺酸發酵液中固體中的麩胺酸之含量為 50 wt%或 50 wt%以上。
 22. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其進一步包含在步驟(c)之前用活性碳處理該 IMP 發酵液及該麩胺酸發酵液。
 23. 如請求項 22 所記載之方法，其進一步包含在用活性碳處理該發酵液之後離心或過濾所處理發酵液。
 24. 如請求項 22 所記載之方法，其進一步包含在用活性碳處理該發酵液之前，在 70 至 90°C 之溫度下加熱該發酵液 15 至 60 分鐘以誘導細胞溶解。
 25. 如請求項 1 或 2 所記載之方法，其進一步包含於步驟(c)中濃縮該發酵液且乾燥該濃縮物以製備粉末。
 26. 一種天然牛肉味，其藉由如請求項 1 或 2 所記載之方法製備。
 27. 一種食品組成物，其包含如請求項 26 所記載之天然牛肉味。

圖式

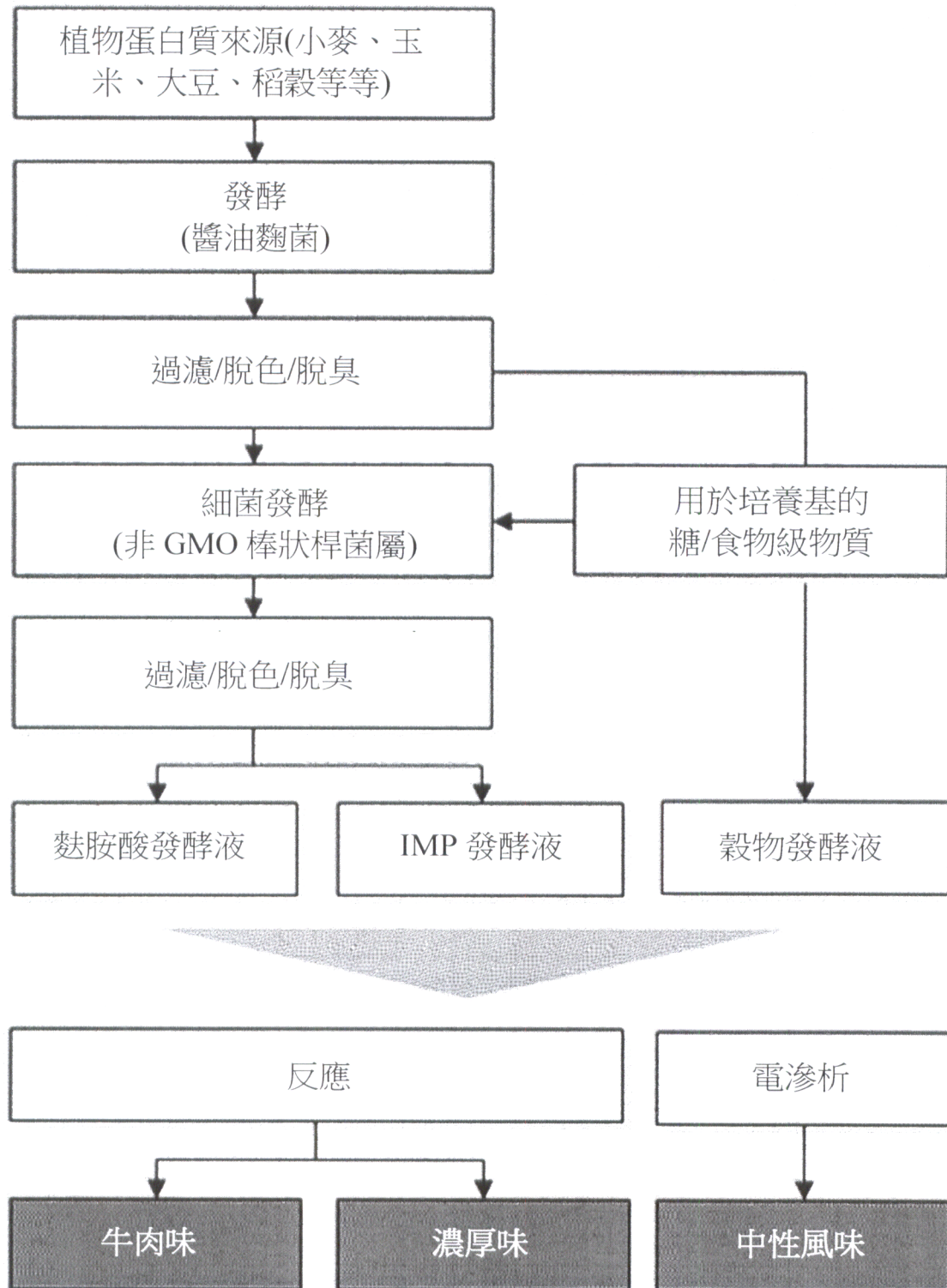


圖 1

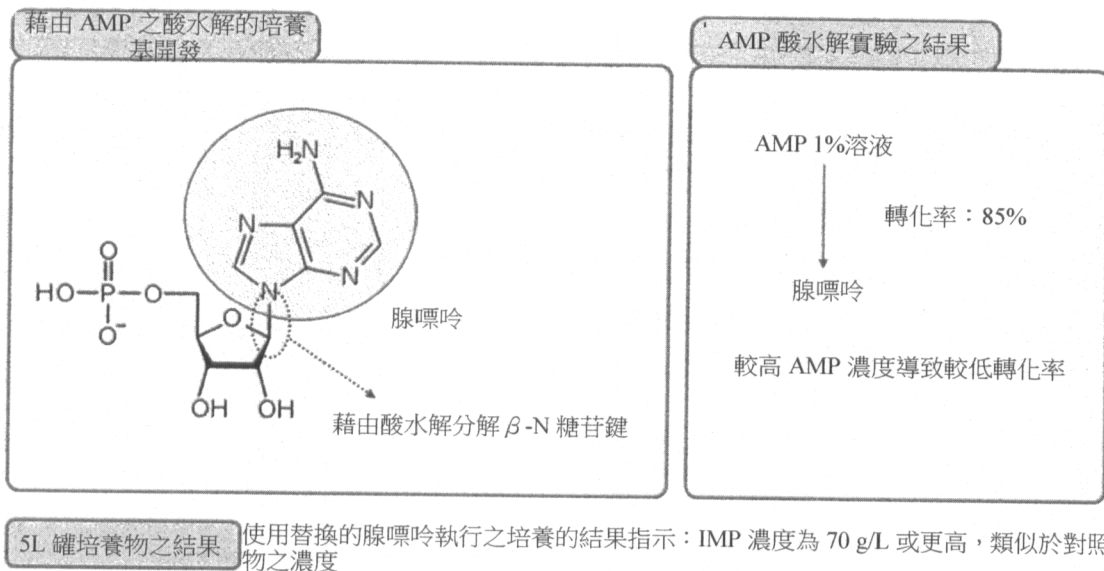


圖 2

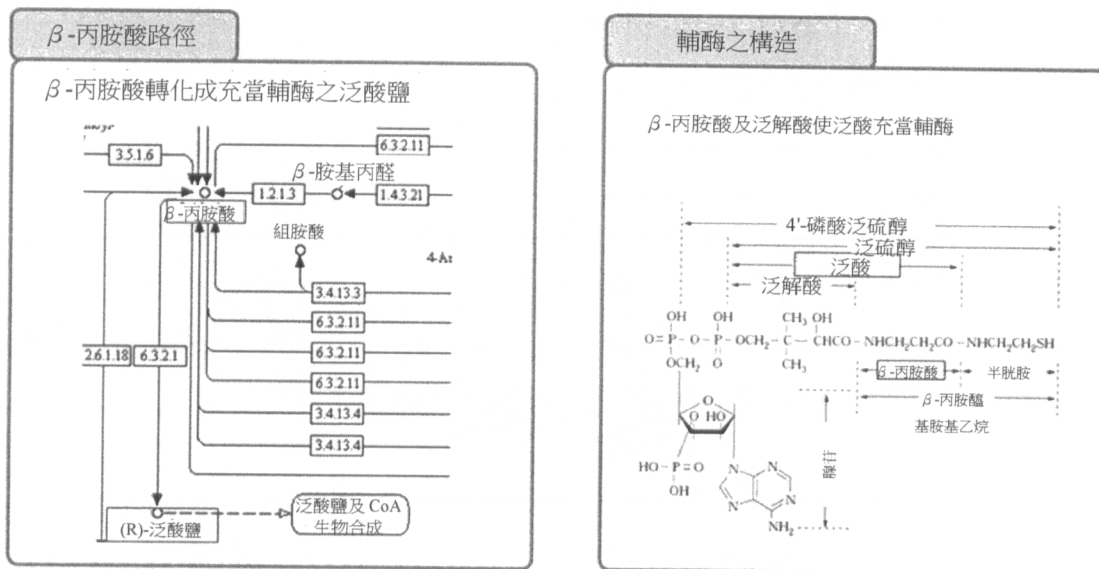


圖 3

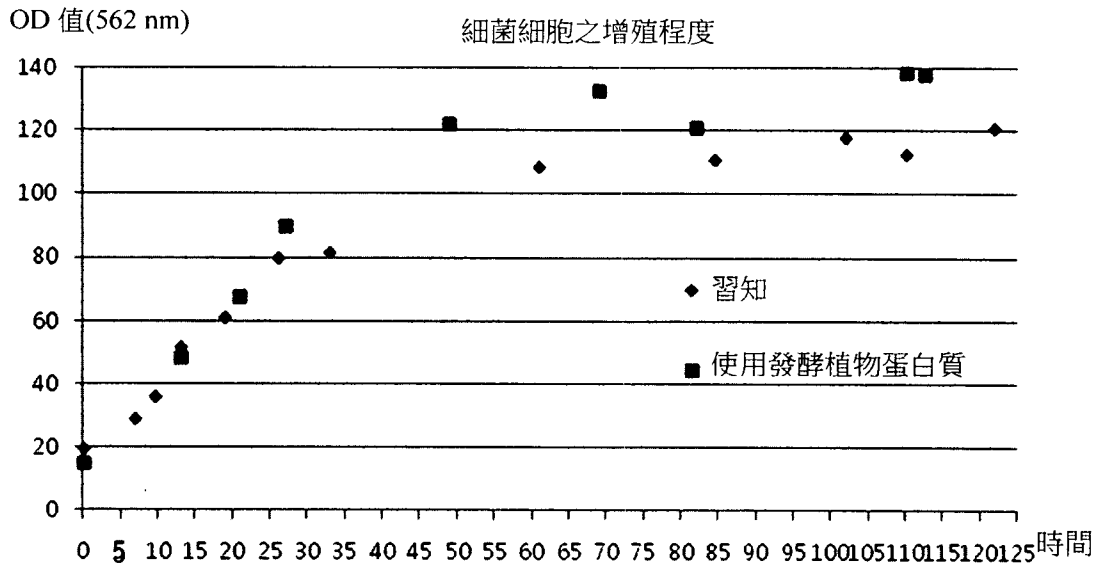


圖 4