



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1909800 B

(45) 授权公告日 2014. 05. 14

(21) 申请号 200580002162. 8

代理人 肖善强

(22) 申请日 2005. 01. 06

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

C12P 19/30 (2006. 01)

04075072. 1 2004. 01. 09 EP

A23L 1/229 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

审查员 叶青

2006. 07. 10

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2005/000120 2005. 01. 06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02005/067734 EN 2005. 07. 28

(73) 专利权人 帝斯曼知识产权资产管理有限公司
司

地址 荷兰海尔伦

(72) 发明人 伯图斯·诺丹姆

珍·格瑞特·科图特斯

(74) 专利代理机构 北京东方亿思知识产权代理
有限责任公司 11258

权利要求书1页 说明书15页

(54) 发明名称

生产含有核糖核苷酸的组合物的方法以及它们作为调味剂的用途

(57) 摘要

本发明描述了一种方法,用于生产含有5'-核糖核苷酸的组合物,其中,微生物在下述条件下经历自溶,所述条件下,RNA的相当大部分都保持为可降解成5'-核糖核苷酸的形式,并且,RNA的相当大部分都保持与细胞壁部分相联结的形式。通过固/液分离方法回收所述细胞壁部分,与所述细胞壁部分相联结的RNA被转化为5'-核糖核苷酸。本发明还描述了含有5'-核糖核苷酸的组合物以及它们在食品或饲料中的用途。

1. 生产含有 5'-核糖核苷酸的组合物的方法,所述组合物包含的 5'-核糖核苷酸的基于无氯化钠的组合物干物质的量为至少 15% w/w 且小于 55% w/w,所述方法包括:

(a) 在下述条件下使微生物自溶,所述条件下, RNA 的至少 50% 都保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式,并且, RNA 的至少 20% 都保持为与细胞壁部分相联结的形式,其中所述微生物是 *Saccharomyces cerevisiae*,其中自溶第一阶段中 pH 在 4.5-9 之间和/或温度在 50-65°C 之间;

(b) 对自溶产物进行固液分离,回收含有 RNA 的细胞壁部分;

(c) 将回收的含有 RNA 的细胞壁部分中的所述 RNA 转化为 5'-核糖核苷酸。

2. 如权利要求 1 所述的方法,包括:

(d) 将含有 5'-核糖核苷酸的部分与所述细胞壁部分分离。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中, a) 中的自溶通过破坏和/或部分破碎所述微生物细胞壁来初始化。

4. 如权利要求 3 所述的方法,其中,破坏和/或部分破碎所述微生物细胞壁是用酶来进行的。

5. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,至少 60% 的 RNA 保持为能降解成 5'-核糖核苷酸的形式。

6. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,至少 70% 的 RNA 保持为能降解成 5'-核糖核苷酸的形式。

7. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,至少 30% 的 RNA 保持为与所述细胞壁部分相联结的形式。

8. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,至少 40% 的 RNA 保持为与所述细胞壁部分相联结的形式。

9. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,在 b) 中,通过离心或过滤来回收所述含有 RNA 的细胞壁部分。

10. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,在 b) 中,对所述自溶产物进行超滤,由此回收含有 RNA 的细胞壁部分与从微生物可溶部分获得的 RNA 的混合物。

11. 如权利要求 10 所述的方法,其中,在 c) 中,回收的含 RNA 的细胞壁部分中的 RNA 和回收的从微生物可溶部分获得的 RNA 被转化为 5'-核糖核苷酸。

12. 如权利要求 1 或 2 所述的方法,其中,在 c) 中,通过酶将所述 RNA 转化为 5'-核糖核苷酸。

13. 如权利要求 12 所述的方法,其中所述酶是 5'-Fdase 或 5'-Fdase 和脱氨酶的组合。

生产含有核糖核苷酸的组合物的方法以及它们作为调味剂的用途

发明领域

[0001] 本发明涉及生产含有 5'-核糖核苷酸的组合物的方法。本发明还涉及含有 5'-核糖核苷酸的组合物以及所述组合物在食品或饲料中的用途。

[0002] 发明背景

[0003] 自溶酵母提取物是对细胞进行破碎以及对聚合的酵母物质进行消化(裂解)之后从酵母获得的可溶物质的浓缩物。细胞破碎之后培养基中释放出的活性酵母酶参与裂解。这些类型的酵母提取物富含氨基酸,通常不包含 5'-核糖核苷酸,因为在自溶期间,天然 RNA 被分解或修饰为不能降解成 5'-核糖核苷酸的形式。它们作为基本的味道提供者用于食品工业。酵母提取物中存在的氨基酸给食品添加了肉汤类型的肉汤味。

[0004] 另一方面,水解的酵母提取物是对细胞进行破碎、消化(裂解)以及在裂解期间向酵母悬浮液中加入蛋白酶和/或肽酶以及尤其是核酸酶之后,从酵母中获得的可溶物质的浓缩物。天然的酵母酶在裂解前被失活。在该过程中,形成鸟嘌呤(5'-鸟嘌呤单磷酸酯;5'-GMP)、尿嘧啶(5'-尿嘧啶单磷酸酯;5'-UMP)、胞嘧啶(5'-胞嘧啶单磷酸酯;5'-CMP)和腺嘌呤(5'-腺嘌呤单磷酸酯;5'-AMP)的 5'-核糖核苷酸。当将腺苷脱氨酶加入到混合物中时,5'-AMP 就转化为 5'-次黄嘌呤单磷酸酯(5'-IMP)。通过此方法获得的水解酵母提取物由此富含 5'-核糖核苷酸,尤其是富含 5'-GMP 和 5'-IMP。通常,酵母提取物还富含谷氨酸单钠(MSG)。5'-IMP、5'-GMP 和 MSG 已知具有增强味道的性质。它们能使某些类型食品增加香味和美妙的味道。该现象被描述为“口感(mouthfeel)”或鲜味(umami)。

[0005] 富含 5'-核糖核苷酸以及,可选地,富含 MSG 的酵母提取物通常被加入到汤、酱汁、腌泡汁和调味品中。

[0006] 富含 5'-核糖核苷酸的酵母提取物目前是用具有高 RNA 含量的酵母菌株和/或通过对细胞内容物的部分提取来制造的。

[0007] 该类增味用水解酵母提取物的缺点在于,由于存在有氨基酸和短肽以及别的酵母组分,它们不太适合于需要纯净味道的应用。

[0008] US Patent No. 4, 303, 680 描述了一种生产含有 5'-核糖核苷酸的酵母提取物的方法,其中,在细胞内 RNA 仅部分分解并保持与自溶细胞结合的条件下用自溶方法来来进行。细胞的蛋白质内容物水解成寡肽和氨基酸。仅在 RNA 已通过热处理从自溶细胞释放到溶液中之后,通过酶将 RNA 转化为 5'-核糖核苷酸。用该方法,可以获得富含氨基酸、寡肽和其它组分(例如碳水化合物、矿物质、脂类和维生素)的酵母提取物。这些组分的存在给酵母提取物赋予了类似肉汤的、肉汤样的味道,这是一些食品应用中所不希望发生的。另一个缺点在于,酵母提取物包含的 5'-核糖核苷酸含量相对较低。

[0009] 本发明的一个目的是提供生产含有 5'-核糖核苷酸的组合物的方法,所述方法基于对微生物的自溶,其中,获得的所述组合物包含至少 15% w/w 的 5'-核糖核苷酸,并且,其中,所述组合物味道纯净。该方法非常简单,而且经济,因此在商业上很有吸引力。本发明的另一目的是提供具有上述特征的含有 5'-核糖核苷酸的组合物,所述组合物包含至少

15% w/w 且少于 55% w/w (基于无氯化钠的干重) 的 5'-核糖核苷酸。本发明的另一个方面提供了本发明的组合物在食品、饮料和饲料中的用途。

[0010] 发明详述

[0011] 在第一个方面,本发明提供了一种方法,用于生产含有 5'-核糖核苷酸的组合物,所述方法包括:

[0012] (a) 在下述条件下使微生物自溶,所述条件下, RNA 的相当大部分都被保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式,并且, RNA 的相当大部分都保持为与细胞壁部分相联结的形式;

[0013] (b) 对自溶产物进行固液分离,回收含有 RNA 的细胞壁部分;

[0014] (c) 将回收的含有 RNA 的细胞壁部分中的 RNA 转化为 5'-核糖核苷酸。

[0015] 在此用术语“5'-核糖核苷酸”来指 5'-GMP、5'-CMP、5'-UMP 以及 5'-AMP 和 / 或 5'-IMP 的混合物,其中所述 5'-AMP 可被部分或完全转化成 5'-IMP。

[0016] 术语“5'-核糖核苷酸”在本文中包括游离的 5'-核糖核苷酸或其盐。

[0017] 本发明上下文中,微生物的自溶被定义为下述过程:其中,微生物细胞和聚合的微生物物质的降解至少部分受到在(部分)破坏和 / 或破碎微生物细胞壁之后释放到培养基中的活性天然微生物酶的影响。

[0018] 任何微生物都可被用作本发明方法中 RNA 的来源。细菌和真菌微生物是优选的,例如适于食品和饲料应用的那些。优选的微生物是那些食品级的并可以安全用于人类食品消耗的。具有高 RNA 含量(即,具有典型地为 6-15% 的 RNA 含量)的细菌或真菌菌株能用于生产高含量 5'-核糖核苷酸的组合物。但是,本发明方法的优点在于, RNA 含量相对较低的细菌或真菌菌株也可以使用。这些菌株可有利地用于制备如下组合物,所述组合物含有的 5'-核糖核苷酸的含量高于基于该起始菌株的 RNA 含量所推测出来的含量。

[0019] 优选的微生物的例子包括丝状真菌,例如 *Trichoderma* 或 *Aspergillus*, 以及酵母,例如 *Saccharomyces*、*Kluyveromyces* 和 *Candida*。属于 *Saccharomyces* 属,特别是属于 *Saccharomyces cerevisiae* 种的菌株是最优选的。

[0020] 合适的细菌微生物的例子是乳酸细菌,例如, *Lactobacillus*。

[0021] 用于本发明方法中的微生物可以通过本领域已知的任何合适的发酵方法来制备。本方法中,微生物物质可在使用之前被浓缩,例如通过离心或过滤来进行。例如,膏状酵母(已被浓缩成 15-27% w/w 的面包酵母)可被使用。可选地,包含 Brewer's 酵母或来自酿酒工业的剩余酵母(用过的 Brewer's 酵母)的发酵培养液可以使用。

[0022] 本发明提供了一种特别适用于大规模生产含 5'-核糖核苷酸组合物的方法。大规模意味着发酵可以在大于 10m³ 的发酵罐中进行。

[0023] 自溶过程可通过破坏和 / 或部分破碎微生物细胞壁来初始化。通过这种方式,细胞被部分打开,并且至少释放出一些细胞内容物。为破坏和 / 或部分破碎微生物细胞壁,可以使用本领域技术人员已知的方法,通过化学、机械或酶的方式来处理细胞。

[0024] 机械处理包括均质(homogenisation)技术。为此目的,使用高压均质机是可行的。其它的均质技术可以包括用颗粒(例如沙和 / 或玻璃珠)来混合,或者使用研磨装置(例如玻璃珠研磨机)。

[0025] 化学处理包括使用盐、碱和 / 或一种或多种表面活性剂或去垢剂(detergent)。化

学处理是较不优选的,因为它们可能导致 RNA 的部分降解,尤其是用到碱的时候,其导致随后 2' - 核糖核苷酸和 3' - 核糖核苷酸的形成。

[0026] 优选地,用酶来破坏和 / 或部分破碎微生物细胞壁,因为就此可以获得对该过程的更好的控制,此外还因为该方法特别适合于大规模的应用。若干种酶制剂都可以使用,例如纤维素酶、葡聚糖酶、半纤维素酶、几丁质酶、蛋白酶或果胶酶。优选使用蛋白酶,更优选使用内切蛋白酶。用于初始化自溶反应的条件取决于所使用的酶的类型,其是本领域技术人员可以容易确定的。通常,用于用酶破坏和 / 或破碎微生物细胞壁的条件将与微生物自溶期间所用的条件相对应。

[0027] 微生物的自溶至少部分受到溶液中释放的活性天然微生物酶的影响,所述释放是在(部分)破坏和 / 或破碎微生物细胞壁之后发生的,其中,被加入以破坏和 / 或破碎微生物细胞壁的化学物质(或更优选地,是酶)有助于微生物细胞和聚合的微生物物质的降解。

[0028] 在本发明的方法中,自溶过程中所使用的条件是如下所述的:它们能使得 RNA 的相当大部分保持为能降解成 5' - 核糖核苷酸的形式。在上下文中,“RNA 的相当大部分”指,优选至少 50%,更优选至少 60%,最优选至少 70%。因此,自溶期间 RNA 无须保持为全部完整,但是,至少相当大部分的 RNA 应保持为可降解成 5' - 核糖核苷酸的形式。通常,多达 100%的 RNA 可以保持为可降解成 5' - 核糖核苷酸的形式。可降解成 5' - 核糖核苷酸的形式指 RNA 应当以下述形式存在,所述形式可以允许通过合适的酶来进行向 5' - 核糖核苷酸的转化。优选地,合适的酶是 5' - 磷酸二酯酶(5' - Fdase)。

[0029] 可降解成 5' - 核糖核苷酸的 RNA 形式包含:含有至少两个核糖核苷酸单元的寡核苷酸。因此,可降解成 5' - 核糖核苷酸的形式 RNA 可以由混合物构成,所述混合物包含完整的 RNA 和不同长度的寡核苷酸或多核苷酸。在本发明的上下文中,寡核苷酸包含 2-10 个核糖核苷酸单元,而多核苷酸包含多于 10 个核糖核苷酸单元。

[0030] 在本发明的方法中,用于自溶过程的条件是下述这些:自溶期间使得 RNA 的相当大部分保持为与细胞壁部分相联结的形式,即保持在破碎的细胞内部和 / 或被束缚于细胞壁或其片段。在上下文中,“RNA 的相当大部分”指优选至少 20%,更优选至少 30%,最优选至少 40%。通常,多达 90%的 RNA 保持与细胞壁部分相联结。

[0031] 在自溶期间保持为可降解成 5' - 核糖核苷酸的形式 RNA 的百分比被定义为:a) 参与自溶的酶被失活以及 RNA 转化为 5' - 核糖核苷酸之后在自溶产物中测量到的 5' -GMP 的重量百分比(被计算为其七水合物二钠,并且基于无氯化钠的干物质)和 b) 完成对 RNA 的碱性水解之后起始物质中测量到的 GMP 的重量百分比(被计算为其七水合物二钠,并且基于无氯化钠的干物质)的比例(x 100)。完成对 RNA 的碱性水解之后起始物质中测量到的 GMP 的重量百分比(被计算为其七水合物二钠,并且基于无氯化钠的干物质)可通过将游离 GMP(基于无氯化钠的干物质)的相应重量百分比乘以 1.47 的因子来确定。测量碱性水解后自溶物中 5' -GMP 和 GMP 的量的方法在实施例 1 中有所描述。用于测定 5' -GMP 的量的方法还可用于测定 5' -IMP、5' -AMP、5' -CMP 和 5' -UMP 的量,如果必要的话,可进行本领域技术人员已知范围内的一些修改。

[0032] 保持为与细胞壁部分相联结的 RNA 的百分比被定义为:a) 来自固定量的起始物质的自溶物的细胞壁部分中以克计的 RNA 的量与 b) 存在于同样的固定量的起始物质中的以克计的 RNA 的量的比例(x100)。用于测定细胞壁部分中和起始物质中的 RNA 的量的方法在

实施例 1 中有所描述。

[0033] 用于自溶过程中以确保 RNA 的相当大部分都被保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式以及 RNA 的相当大部分都保持与细胞壁部分相联结所使用的条件通常取决于所用的微生物。本领域技术人员通过改变工艺参数,例如温度和 / 或 pH 和 / 或自溶期间特定温度和 / 或 pH 所保持的时间,以及通过随后确定这些工艺参数对于保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式和 / 或保持与细胞壁部分相联结的 RNA 的量的影响,可以很容易地确定所用的条件。

[0034] 具体而言,自溶的第一阶段在与特定温度相组合的特定 pH 范围内进行。

[0035] 例如,用于对 *Saccharomyces cerevisiae* 的自溶以确保 RNA 的相当大部分都被保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式以及 RNA 的相当大部分都保持与细胞壁部分相联结所用的条件是:自溶第一阶段中 pH 在 4.5-9 之间和 / 或温度在 50-65°C 之间。优选地,自溶的前 8 个小时,更优选地,自溶的前 4 个小时,进行于 4.5-5.5 之间的 pH 以及 57-65°C 的温度下,或者 5.5-9 的 pH 和 50-65°C 的温度下。

[0036] 在自溶第一阶段后要保持的条件不是非常重要的。第一阶段后, pH 通常保持在 4 至 10 之间,温度通常保持在 40°C 至 70°C 之间。通常,包括第一阶段在内的自溶过程持续最多 24 小时。

[0037] 本发明可以还包括一种方法,其中,在步骤 a) 中,微生物经历水解,水解条件使得 RNA 的相当大部分都保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式,并且, RNA 的相当大部分都保持为与细胞壁部分相联结的形式。在本发明的范畴内,对微生物的水解被定义为下述过程,其中,天然的微生物酶已被失活,并且,其中向微生物物质中加入了合适的外源的酶,以对微生物细胞和聚合的微生物物质的降解产生影响。

[0038] 自溶之后,获得悬浮液(自溶产物),其中包含微生物细胞壁部分,相当大部分以可降解成 5'-核糖核苷酸的形式存在并且相当大部分与细胞壁部分相联结的 RNA,以及可溶的细胞组分(例如,蛋白质、碳水化合物等)。细胞壁部分包含不可溶的细胞残余物,特别是细胞壁或其片段。

[0039] 在自溶反应的末尾但在步骤 b) 之前,用于破坏和 / 或部分破碎微生物细胞壁的化学物质和 / 或参与自溶过程的酶优选应被中和和 / 或失活。参与自溶的酶是天然的微生物酶,以及可选地,任何加入的用于初始化自溶过程的外源的酶。对化学物质和 / 或酶的中和和 / 或失活应当发生于下述条件下,所述条件使得 RNA 的相当大部分都保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式,并且, RNA 的相当大部分都保持为与细胞壁部分相联结的形式。对参与自溶的酶的失活可以通过 pH 处理,或者优选通过热处理来进行,其中,酶被失活,而 RNA 的相当大部分都保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式,并且, RNA 的相当大部分都保持为与细胞壁部分相联结的形式。可通过热处理对酶进行失活,例如,通过在 65°C 至 95°C 的温度下对混合物加热 5 分钟至 1 小时来进行,更优选地,在 65°C 至 75°C 的温度下加热 30 分钟至 1 小时,其中,典型地,较短的反应时间可在较高的反应温度下使用。例如,在 65°C 加热混合物 1 小时,或者在 75°C 加热 30 分钟就足以使酶失活,其中, RNA 的相当大部分都保持为可降解成 5'-核糖核苷酸的形式,并且, RNA 的相当大部分都保持为与细胞壁部分相联结的形式。

[0040] 在本发明方法的步骤 b) 中,对自溶产物进行固 / 液分离,回收含有 RNA 的细胞壁

部分。

[0041] 优选地,通过常用的固液分离方法,优选通过离心或过滤来回收含有 RNA 的细胞壁部分。使用离心或过滤在经济上是有利的,尤其是大规模进行反应时。

[0042] 为增加以可降解成 5'-核糖核苷酸的形式存在的回收 RNA 的量,对自溶产物进行超滤(UF),以代替常用的固液分离方法,例如,离心或过滤。以这种方式,含 RNA 的细胞壁部分和从微生物可溶部分获得的 RNA 的混合物被回收。因此,不仅仅将与细胞壁部分联结的 RNA 与微生物可溶部分分开,还分离出了在自溶期间被释放到溶液中的 RNA。在这些情况下,当用 UF 来回收 RNA 时,优选地,可以使用具有 10-50kD 分子量分离点的膜,优选是 20-50kD。通常,较大的分子量分离点允许通过膜的较高流速,但也可能导致较大的损失和/或较为不纯净的产品。除其它因素之外,所用的固液分离方法的类型和所述固液分离的效率也可以影响到本发明组合中含有的 5'-核糖核苷酸的量。

[0043] 回收部分中的 RNA 被转化为 5'-核糖核苷酸。这是通过用酶处理含 RNA 的细胞壁部分来进行的,可选地,其中还混合有从通过 UF 获得的微生物可溶部分获得的 RNA。

[0044] 优选用 5'-磷酸二酯酶(5'-Fdase)来将 RNA 转化为 5'-核糖核苷酸。可从微生物或植物来源(例如,麦芽根提取物)获得 5'-磷酸二酯酶。可通过商业途径获得的 5'-Fdase 的例子是 Amano(日本)生产的 RP-1 酶。

[0045] 可选地,5'-AMP 通过脱氨酶,例如腺苷脱氨酶,转化为 5'-IMP。可从商业途径获得的脱氨酶的例子是 Amano(日本)生产的 Deaminase500。

[0046] 用 5'-Fdase 和脱氨酶对 RNA 进行的处理可以以两步法或一步法来进行。

[0047] RNA 转化为 5'-核糖核苷酸之后,优选将含有 5'-核糖核苷酸的部分与细胞壁部分分离。所述分离可以通过离心或过滤或任何其它适于达成固/液分离的方法来进行。

[0048] 在一种实施方式中,通过超滤从具有比 5'-核糖核苷酸更高的分子量的组分中出含有 5'-核糖核苷酸的部分。纯化程度取决于所用的超滤膜的分子量分离点。可以使用例如如上所述的超滤膜。

[0049] 应当理解,在本发明的上下文中,“回收 RNA”或“转化 RNA”之类的措辞并不一定指所有 RNA 都分别被回收或转化。对于本领域的技术人员而言显而易见,回收的 RNA 的量取决于所用的分离方法的种类。还显而易见的是,被转化的 RNA 的量将取决于多种因素,其中之一是与细胞壁不可溶部分相联结的 RNA 对该步骤中所用的酶的敏感性。

[0050] 本发明提供了一种特别适用于大规模分离 RNA 的方法,其允许以具有商业吸引力的大规模生产出用于食品和饲料应用的含有 5'-核糖核苷酸的组合物。本发明提供了一种方法,其能获得良好纯度的含有 5'-核糖核苷酸的组合物,并且损失较低。

[0051] 在第二个方面,本发明提供了一种含有 5'-核糖核苷酸的组合物,所述组合物可通过第一方面的方法获得,其包含的 5'-核糖核苷酸的量基于无氯化钠的组合物干物质为至少 15% w/w 且小于 55% w/w,优选为至少 30% w/w 且小于 55% w/w,更优选为至少 40% 且小于 55% w/w。该组合物具有高 5'-核糖核苷酸含量,其味道纯净,在食品或饲料方面具有多种应用。

[0052] 本发明组合中,5'-核糖核苷酸,例如 5'-GMP、5'-AMP 和 5'-IMP 的量以基于无氯化钠的组合物干物质的重量百分比(% w/w)的形式给出。如无另行指明,5'-核糖核苷酸的重量百分比是基于其七水合二钠盐来计算的。无氯化钠并不意味着本发明的组合物就

不能含有氯化钠,而是在计算重量百分比时将氯化钠从所述组合物中排除出去。对组合物中氯化钠的测量和上述计算可以通过本领域技术人员已知的方法来进行。

[0053] 优选地,本发明的组合物包含的 5'-GMP 的量比 5'-IMP 和 5'-AMP 的量之和更多。这是有好处的,因为 5'-GMP 在增加香味的方面比 5'-IMP 更为有用,而 5'-AMP 对增加香味没有作用 (T.Nagodawithana,“Savoury Flavours”,(1995)edited by Esteekay associates, Inc, Wisconsin, USA, page302)。

[0054] 可从商业途径获得的包含 5'-核糖核苷酸的酵母提取物含有的 5'-GMP 的量都比 5'-IMP 和 5'-AMP 的量之和要少。因此,本发明的组合物比目前可从商业获得的酵母提取物具有更强的增味作用。

[0055] 本发明的组合物优选包含谷氨酸盐,其中,谷氨酸盐与 5'-核糖核苷酸的比例优选为至多 0.1,更优选为至多 0.05,最优选至多 0.01。典型地,谷氨酸盐/5'-核糖核苷酸的比例的下限为 0.001。本发明的组合物中谷氨酸盐的含量可在 0.01%至 10% w/w 之间变动,优选 0.05%至 5% w/w,更优选地,0.1%至 2% w/w 的谷氨酸盐,所述含量基于所述组合物的无氯化钠干物质来计算。

[0056] 组合物种谷氨酸盐的含量以基于所述组合物的无氯化钠干物质计算的游离谷氨酸的重量百分比 (% w/w) 形式给出。

[0057] 本发明的第二方面的组合物通常包含小于 10% w/w 的氯化钠(基于组合物的干物质),优选为至多 5% w/w,更优选为至多 2% w/w,进一步更优选为至多 1% w/w。

[0058] 根据本发明的含有 5'-核糖核苷酸的组合物具有高 5'-核糖核苷酸含量,味道纯净并且在食品或饲料方面具有多种应用。说明书中,“味道纯净”这一措辞指:当以合适的量将本发明的组合物加到食品或饲料中时,在所述食品和/或饲料中,极少有或不存在任何作为所述组合物来源的微生物所典型具有的特殊的味道和/或气味,或者任何来自所述组合物的肉汤或类似肉汤的味道和/或气味。优选地,在本发明组合物中极少有或不存在微生物所典型具有的任何特殊的味道和/或气息和/或气味。例如,当用 *Saccharomyces* 作为起始材料的情况下,所述组合物可以不具有“酵母”味道或气味,或者,当 *Candida* 用作起始材料的情况下,不具有甜味。

[0059] 根据本发明的含有 5'-核糖核苷酸的组合物可以用于任何食品或饲料产品。在本发明的上下文中,“食品”指固体形式的营养品或饮料。

[0060] 根据本发明的一种实施方式,根据本发明的含有 5'-核糖核苷酸的组合物可以以任何需要的量被加入到任何传统的酵母提取物中。这允许制备具有任何需要量的 5'-核糖核苷酸的酵母提取物。本发明的组合物来自天然的来源,即,优选食品级的微生物。后者使得它们非常适合添加到食品或饲料中。

[0061] 本发明第二个方面的组合物可被用于提高和/或增强若干种食品的味道和/或香气。可加入所述组合物的典型食品类型包括:乳制品、烘焙制品、蔬菜、水果、肉类、糖果、饮料或任何由此获得的加工食品。

[0062] 本发明的第二个方面的组合物在减脂食品或低脂食品中有着合适的用途。在本发明的上下文中,减脂食品或低脂食品通常是从相应的全脂食品获得的,这通过任何能导致其中包含的脂肪降低的加工、改变、配方或再配方来进行,和/或通过用脂肪代替物代替脂肪来进行。所述方法和所述脂肪代替物是本领域已知的。本发明的上下文中,脂肪表示“总

脂肪”，即含有饱和和不饱和脂肪酸的脂肪。术语“减脂”或“低脂”是通常以营养措辞来使用的食品标签。它们在 US Code of Federal Regulation, Title 21, Vol. 2, Part 101 “Food labelling”, Sec. 101.62(b) (2002 年 4 月 1 日修订) (缩写为 21 CFR 101.62(b)) 中由 Food Drug Administration 定义。

[0063] 减脂食品或低脂食品的一个缺点在于，这种类型的食品缺乏相应的全脂食品的味道。该缺点可以通过使用本发明的第二个方面的组合物来克服，以提高减脂食品或低脂食品的味道和 / 或香气和 / 或口感中的脂肪气味。后者意味着包含所述组合物的减脂食品或低脂食品较之原来的减脂食品或低脂食品而言，具有更近似于相应全脂食品的味道和 / 或香气和 / 或口感。

[0064] 本发明的组合物还在包含人工加甜剂的食物中具有合适的应用。与使用人工加甜剂相关的明显缺点是：副味或后味（例如苦味）在经过人工调味的食物中的存在或发展。单独或组合使用时存在上述问题的最常用的人工加甜剂是：安赛蜜 -K、阿力甜 (alitame)、阿斯巴甜、环己基氨基磺酸 (cyclamate)、纽甜 (neotame)、新橙皮甘 (neohesperidine)、糖精、甜叶菊甙、蔗糖素 (sucralose) 和甜蛋白 (thaumatin)。通过使用本发明的组合物来掩盖食物中人工加甜剂的副味或后味可以克服该缺点。本发明还包括包含人工加甜剂和本发明组合物的组合物。

[0065] 本发明的组合物可被用来增加饮料中更为特殊的味道和 / 或香气和 / 或口感，具体而言，在饮料的味道和 / 或香气中增加特定蔬菜的气味和 / 或水果气味和 / 或酒精气味。例如，它们可被用于在蔬果汁中增加特定的蔬菜味道和 / 或蔬菜香气，在水果汁中增加特定的水果味道和 / 或水果香气，在酒精饮料（例如葡萄酒和啤酒，尤其是那些具有低或降低的酒精含量的酒精饮料）中增加特定的酒精味道和 / 或酒精香气。

[0066] 在上述应用中加入到食物中的 5'-核糖核苷酸的量将取决于食物的类型以及取决于所述的应用。5'-核糖核苷酸组合物的量可以在例如 0.0001% w/w 至 10% w/w 中变化，所述的量是就所述食物或饮料而言的。

[0067] 现在将通过一些实施例来对本发明进行阐释，所述实施例并不欲做限制之用。

[0068] 实施例 1 用自溶方法来制备包含 5'-核糖核苷酸的组合物

[0069] 将 21 膏状酵母（来自 *Saccharomyces cerevisiae*）加热至 60°C。随后，加入 0.4ml Pescalase（可通过商业途径从荷兰 DSM N.V. 获得的丝氨酸蛋白酶），将混合物在 60°C 和 pH 6.0 孵育 4 小时。条件被调节为 pH 5.1 和 51.5°C，再向反应混合物中加入 2ml Pescalase。将混合物在 pH 5.1、51.5°C 下孵育 20 小时。然后，在 65°C 对混合物或自溶产物进行 1 小时的加热，以使全部酶活性失活。通过离心的方法，将提取物（可溶部分）与不可溶细胞壁分离开。

[0070] 用 5'-磷酸二酯酶去处理得到的细胞壁部分，以将 RNA 水解为 5'-核糖核苷酸，处理条件为 65°C 和 pH 5.3。然后，通过脱氨酶在 55°C 和 pH 5.1 下处理，将 5'-AMP 转化为 5'-IMP。最后，通过离心的方法将 5'-核糖核苷酸与不可溶细胞壁部分分离开。

[0071] 针对 RNA 含量和 / 或 5'-核糖核苷酸含量，通过 HPLC，按照下述方法对起始膏状酵母、自溶产物、第一次离心之后的上清液、细胞壁部分、第二次离心之后即 5'-Fdase 和脱氨酶处理之后的上清液的样品进行分析。通过碱处理来水解样品中的 RNA。用 5'-GMP 作为标准，用 Whatman Partisil10-SAX 柱，作为洗脱液的 pH 3.35 的磷酸缓冲液以及 UV 检测，

通过 HPLC 来对 GMP (即从 RNA 水解得到的 2' -GMP 和 3' -GMP) 进行定量。RNA 含量的基于无氯化钠干物质的重量百分比相当于游离 GMP 的基于无氯化钠干物质的重量百分比的 ~ 4 倍。

[0072] 还可将一些样品与 5' -Fdase 孵育, 以确定样品中存在的 RNA 是否能转化为 5' -核糖核苷酸 (即, RNA 是否以能通过例如 5' -Fdase 降解成 5' -核糖核苷酸的形式存在), 还可用脱氨酶来处理这些样品中的一些, 以将 5' -AMP 转化为 5' -IMP。随后同过 HPLC, 使用下述方法来测定样品中 5' -GMP、5' -AMP 和 5' -IMP 的量 (表示为其七水合二钠的重量百分比, 基于无氯化钠干物质)。用 Whatman Partisil 10-SAX 柱, 作为洗脱液的 pH3.35 的磷酸缓冲液以及 UV 检测, 通过 HPLC 来对酵母提取物中 5' -GMP、5' -AMP 和 5' -IMP 进行定量。基于 5' -GMP、5' -IMP 和 5' -AMP 标准物来计算浓度。通过用 Jenway 氯计量器 (Jenway, Essex, 英国) 来测量样品中的氯离子, 计算出相应的氯化钠的量, 从而对氯化钠进行测定。

[0073] 表 1 中列出了 RNA 和 5' -核糖核苷酸的数据。

[0074] 表 1

[0075]

部分	干物 质(g) ⁸	RNA (%) ¹	RNA (原 始的)% ³	RNA (降 解)(%) ⁴	5'-GMP (%) ²	5'-AMP (%) ²	5'-IMP (%) ²
膏状酵母	360	8.0	100	-	-	-	-
自溶产物 ⁵	360	7.6	95	72	2.12	2.33	0
上清液 ⁶	241	6.6	55	-	3.22	3.71	0
细胞壁部分	119	9.7	40	-	2.71	2.65	0
第二次上清液 ⁷	25.3	-	-	-	12.75	0	12.46

[0076] “-” 未测量

[0077] ¹ 作为基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的

[0078] ² 作为基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的, 重量表示为 2Na₂·7H₂O (作为七水合二钠盐)

[0079] ³ 相对于膏状酵母中 RNA 含量的样品中 % RNA

[0080] ⁴ 样品中以能通过 5' -Fdase 降解成 5' -核糖核苷酸的形式存在的 % RNA

[0081] ⁵ 65°C 加热之后

[0082] ⁶ 第一次离心之后

[0083] ⁷ Fdase 和脱氨酶处理以及第二次离心之后

[0084] ⁸ 干物质包含少于 1% w/w 的氯化钠

[0085] 本实施例中, 用本发明的方法获得的含有 5' -核糖核苷酸的组合物包含大约 50% w/w 的 5' -核糖核苷酸。

[0086] 从上文所述的实施例中获得的结果得到了如下结论:

[0087] ● 结果清楚显示, 膏状酵母中存在的几乎所有 RNA 在自溶期间都保持为能通过 5' -Fdase 降解成 5' -核糖核苷酸的形式。

[0088] ● RNA 的相当大部分保持与自溶酵母的细胞壁部分相联结的形式。

[0089] ●通过去除可溶部分可获得富含 RNA 的部分。

[0090] ●富含部分中 RNA 的大部分可被水解为 5'-核糖核苷酸。可以容易地通过离心或其它任何合适的固/液分离方法,将这些 5'-核糖核苷酸与不可溶细胞壁部分分开。

[0091] ●该方法使得可以生产出:较之传统的含有 5'-核糖核苷酸的酵母提取物(例如,酵母提取物 Maxarome Plus[®] (6% 5'-GMP+5'-IMP、12% 5'-核糖核苷酸)(DSM N.V., 荷兰)),具有相对高含量的 5'-核糖核苷酸,尤其是 5'-GMP 和 5'-IMP 的组合物。

[0092] 这种类型的含有 5'-核糖核苷酸的组合物一个显著特征是:组合物中 5'-GMP 的量高于组合物中 5'-AMP 和 5'-IMP 的量之和。这不同于通常含有 5'-核糖核苷酸的酵母提取物,其还含有一定量的从 ATP 获得的 5'-AMP,其也可被转化为 5'-IMP。

[0093] 用于本实施例中的小规模条件可在大规模下应用,可选地,可进行一些本领域技术人员技术和知识范围内的调整,这对本领域技术人员来说是显而易见的。

[0094] 实施例 2 自溶期间天然酵母酶的作用展示

[0095] 从来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的膏状酵母中取 2 升的部分,在 95°C 加热处理 10 分钟,以失活所有的天然酵母酶(对照部分)用于下述的提取过程,另外取第二部分的膏状酵母不经处理直接用于下述提取过程。

[0096] 将两部分 2l 来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的膏状酵母迅速加热至 60 来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的。向每部分中加入 0.4ml Pescalase(可通过商业途径从荷兰 DSM N.V. 获得的丝氨酸蛋白酶),将混合物在 60°C 和 pH 6.0 孵育 4 小时。条件被调节为 pH 5.1 和 51.5°C,向每份反应混合物中再加入 2ml Pescalase。将混合物在 pH 5.1、51.5°C 下孵育 20 小时。最后,在 65°C 对两部分都进行 1 小时的加热,以使全部酶活性失活。通过离心的方法,将两份孵育体系中的提取物(可溶部分)与不可溶细胞壁分离开。

[0097] 对得到的提取物进行分析,以测定溶解量和蛋白质部分的水解程度。溶解量被定义为:提取物干物质的量与起始物质中干物质的量的比例。

[0098] 结果显示于表 2 中。

[0099] 表 2

[0100]

实验	酶失活	溶解量 (%)	TN* (%)	AN** (%)	AN/TN 之比	游离 AA (%)
对照	是	45	11.1	4.5	0.41	22
1	否	67	12.2	5.2	0.43	41

[0101] *TN = 根据 Kjeldahl 测定的总氮

[0102] **AN = 根据 TNBS 方法测定的氨基氮

[0103] AN/TN 与蛋白质水解程度成比例

[0104] 游离 AA = 游离氨基酸

[0105] 游离氨基酸%在此被定义为游离氨基酸相对于存在的氨基酸总量(即,游离氨基酸和结合到蛋白质和肽上的氨基酸的总和)的百分比。该比例可通过 TNBS(2,4,6-三硝基苯磺酸)方法用 HPLC 来测定,这是本领域技术人员已知的。

[0106] 结果显示,通过应用实验 1 和实施例 1 中所用的自溶条件,天然酵母酶对溶解细胞内容物是有作用的。特别地,天然酵母酶有助于将酵母蛋白质部分水解为肽和游离氨基酸。

[0107] 实施例 3 水解条件对 RNA 向 5'-核糖核苷酸的转化的影响以及对可溶部分和细胞壁部分中 RNA 的比例的影响

[0108] 在 40 μ l Pescalase(可从 DSM Food Specialities 通过商业途径获得的丝氨酸蛋白酶)存在的情况下,对第一部分 200ml 来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的膏状酵母进行 4 小时孵育,在 pH 6.0 和 60.0 $^{\circ}$ C 下进行(实验 1)。在 40 μ l Pescalase 存在的情况下,对第二部分 200ml 来自 *Saccharomyces cerevisiae* 的膏状酵母进行 4 小时孵育,在 pH 5.1 和 51.5 $^{\circ}$ C 下进行(实验 2)。然后,将这两份孵育混合物的条件都调节为 pH 5.1 和 51.5 $^{\circ}$ C,再向反应混合物中加入额外的 0.2ml Pescalase。在 pH 5.1、51.5 $^{\circ}$ C 下对混合物进行 20 小时的孵育。随后,通过在 65 $^{\circ}$ C 下加热自溶产物 1 小时来使酶失活。按照实施例 1 中所述,通过 HPLC 方法,来测量自溶产物和起始的膏状酵母中的 RNA 含量。

[0109] 然后从每份反应混合物中取一半,用于与 5'-Fdase 酶一起孵育,以确定自溶产物中的 RNA 是否以能降解成 5'核糖核苷酸的形式存在。按照实施例 1 所述来分析 5'-GMP 含量。

[0110] 对反应混合物中的另一半进行离心,以确定与细胞壁部分相联结的 RNA 的量。

[0111] 将从离心获得的细胞壁部分与 5'-Fdase 一起孵育,以将 RNA 水解为 5'-核糖核苷酸。通过离心,将包含 5'-核糖核苷酸的可溶部分与细胞壁不可溶部分分离。针对 5'-核糖核苷酸含量和谷氨酸盐含量对上清液加以分析。通过用在食物和其它物质中对 L-谷氨酸进行测定的 L-谷氨酸比色方法试剂盒来测定谷氨酸的量(Boehringer Mannheim/R-Biopharm, EnzymaticBioAnalysis/Food Analysis, Catalogue No.10139092035, Catalogue year 2004, R-BIOPHARM AG, Darmstad, Germany)。谷氨酸盐的量还可以用本领域已知的方法,例如 HPLC 分析来测量。

[0112] 分析结果显示于表 3 中。

[0113] 起始材料中的 RNA 水平为 7.7% w/w,这是基于无氯化钠干物质的。RNA 的量最多可导致 5'-Fdase 处理(100%转化)之后自溶产物中 2.8% w/w 的 5'-GMP(作为七水合二钠盐进行测量的)。这意味着实验 1 中可降解成 5'-核糖核苷酸的 RNA 的百分比为 78%,而实验 2 中为 21%。

[0114] 上述实验中获得的结果可引出如下结论:

[0115] ● RNA 分析表明,实验 2 中自溶期间高数量的 RNA 被保留下来。但是,这些 RNA 的大部分都不能降解成 5'-核糖核苷酸。

[0116] ● 实验 1 中,以能降解成 5'-核糖核苷酸的形式存在的 RNA 占到大约 80%。

[0117] ● 实验 1 中,最初存在于微生物中的 RNA 的 46%保持与细胞壁部分相联结。实验 2 中,这一百分比仅为 12%。

[0118] ● 实验 1 中,谷氨酸/5'-核糖核苷酸的比例为大约 0.02。

[0119] 表 3

[0120]

部分	实验	干物质 (g) ⁸	RNA (%) ¹	RNA (原 始的%) ²	RNA (降 解)(%) ³	5'-GMP (%) ⁴	Glu (%) ⁵
膏状酵母	1	34.4	7.7	100	-	-	-
自溶产物 ⁶	1	35.0	7.5	-	78	2.2	-
细胞壁部分	1	8.75	13.9	46	-	-	-
上清液 ⁷	1	1.04	-	-	-	14.5	1.3
膏状酵母	2	34.4	7.7	100	-	-	-
自溶产物 ⁶	2	34.8	7.1	-	21	0.6	-
细胞壁部分	2	10.44	3.1	12	-	-	-
上清液 ⁷	2	2.50	-	-	-	0.8	1.6

[0121] ¹ 作为基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的

[0122] ² 相对于膏状酵母中 RNA 含量的样品中 % RNA

[0123] ³ 样品中以能通过 5'-Fdase 降解成 5'-核糖核苷酸的形式存在的 % RNA

[0124] ⁴ 作为基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的, 重量表示为 2Na₂·7H₂O (作为七水合二钠盐)

[0125] ⁵ 谷氨酸, 基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的

[0126] ⁶ 65°C 加热之后

[0127] ⁷ 用 Fdase 和脱氨酶处理细胞壁部分并离心之后

[0128] ⁸ 干物质包含少于 1% w/w 的氯化钠

[0129] “-” 未测量

[0130] 从上可以概括得出结论, 用于自溶过程的第一阶段的条件对于测定保持为能降解成 5'-核糖核苷酸的形式 RNA 的量很重要。此外, 这些条件对于测定保持为与细胞壁部分相联结的 RNA 的量也很重要。

[0131] 实施例 4 用自溶方法大规模制备包含 5'-核糖核苷酸的组合物

[0132] 通过应用实施例 1 所述的条件, 来大规模生产自溶的酵母提取物。自溶产物中, 测量出的可降解成 5'-核糖核苷酸的 RNA 的量为 83% w/w (基于无氯化钠干物质测量)。再用 5'-Fdase 和脱氨酶对通过离心获得的剩下的细胞壁部分进行处理, 以将 RNA 转化为 5'-核糖核苷酸, 以及将释放的 5'-AMP 转化为 5'-IMP, 这也是在实施例 1 所述的条件下进行。通过超滤, 使用具有 100 kDa 分子量分离点的膜, 从固体 (细胞壁) 分离 5'-核糖核苷酸, 其中组合物在渗液 (permeate) 中被回收。通过在真空下进行蒸发来浓缩渗液。

[0133] 该方法的数据展示于表 4 中。

[0134] 表 4

[0135]

部分	量(kg)	干物质 (kg) ⁷	RNA (%) ¹	RNA (原 始的%) ³	5'-GMP (%) ²	5'-AMP (%) ²	5'-IMP (%) ²
膏状酵母	102600	16926	7.5	100	-	-	-
细胞壁部分	41140	5924	9.8	46	-	-	-
细胞壁部分(酶 处理之后) ⁴	41140	5924	0.5	41 ⁶	3.23	0.03	2.80
5'-核糖核苷酸 ⁵	6900	1104	-	32 ⁶	13.35	0.13	11.57

[0136] “-”未测量

[0137] ¹ 作为基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的

[0138] ² 作为基于无氯化钠干物质的重量百分比来测量的,重量表示为 2Na₂·7H₂O(作为七水合二钠盐)

[0139] ³ 相对于膏状酵母中 RNA 含量的样品中% RNA

[0140] ⁴ 用 Fdase 和脱氨酶进行酶处理之后的细胞壁部分

[0141] ⁵ 通过超滤和离心分离细胞壁之后的 5'-核糖核苷酸部分

[0142] ⁶ RNA = 计算为游离 5'-GMP 的基于无氯化钠干物质的重量百分比的~4 倍,游离 5'-GMP 的基于无氯化钠干物质 = (5'-GMP 作为七水合二钠盐的无氯化钠干物质)/1.47。

[0143] ⁷ 干物质包含少于 1% w/w 的氯化钠

[0144] 上述结果可得出以下结论:

[0145] ● 表 4 中的数据清楚地显示,通过上述途径进行大规模的 5'-核糖核苷酸生产是可行的。

[0146] ● 最初存在于微生物中的 RNA 的 46% 保持与细胞壁部分相联结,并可通过离心与可溶部分分开。

[0147] ● 用 5'-Fdase 和脱氨酶处理细胞壁之后获得的 5'-核糖核苷酸组合物可通过超滤从固体(例如,细胞壁)回收得到。

[0148] ● 获得了含有基于无氯化钠干物质计 53% w/w 5'-核糖核苷酸的组合物。

[0149] ● 组合物中 5'-GMP/(5'-IMP+5'-AMP) 之比为 1.14(在传统的含有核苷酸的酵母提取物中,该比例大多为大约 0.9)。

[0150] 实施例 5 在人工加甜的 Coca Cola[®] 或普通 Fanta[®] 中使用含有 5'-核糖核苷酸的组合物的效果

[0151] 对根据本发明的含有 5'-核糖核苷酸的组合物添加到人工加甜的 Coca Cola[®] (Coca Cola Light[®] -Coca Cola Company-Rotterdam) 或加到普通 Fanta(Fanta Orange[®], Coca Cola Company-Rotterdam) 中的影响进行了研究。

[0152] 所述组合物含有 10.1% w/w 的 5'-GMP、8.7% w/w 的 5'-IMP(即 5'-核糖核苷酸的大约 40%) 和 0.96% w/w 的谷氨酸,上述含量基于无盐干物质。干物质中氯化钠含量 < 1%。每升饮料中使用 100mg 剂量的组合物。

[0153] 包含所述组合物的饮料的味道和 / 或香气和 / 或口感是由一组食品品尝方面的专家来分析的 (实验 1 和 2), 并与原来的饮料进行了比较。对 Coca Cola Light[®] 而言, 还将包含所述组合物的饮料的味道和 / 或香气和 / 或口感与普通的 Coca Cola[®] (Coca Cola Company-Rotterdam) 进行了比较。

[0154] 表 5 (Coca Cola Light[®]) 和表 6 (Fanta[®]) 中分别显示了所述结果。

[0155] 表 5

[0156]

实验	组合物 (mg/l)	对于味道/香气的观察
Coca Cola [®]	0.0	可乐味、酸、尖 (peaky)、刺激 (pungent)
Coca Cola Light [®]	0.0	可乐味、较不浓郁 (less body)、化学性后味
实验 1	100.0	可乐味、无化学性后味、纯净、更为浓郁、饱满 (full)、更甜、无酵母气味被探测到

[0157] 表 6

[0158]

实验	组合物 (mg/l)	对于味道/香气的观察
Fanta [®]	0.0	橙皮味、酸、轻微刺激
实验 2	100.0	橙子果肉味、更浓、更为强烈、无酵母气味被探测到

[0159] 该结果清晰地显示了本发明组合物对 Cola Cola Light[®] 或 Fanta[®] 的味道和 / 或香气和 / 或口感的正面影响。在包含所述组合物的 Cola Cola Light[®] 中, 饮料中由于存在人工加甜剂 (阿斯巴甜、环己基氨基磺酸钠和安赛蜜) 所产生的后味被掩盖了。在包含所述组合物的 Fanta[®] 中, 整体味道, 尤其是其中的水果气味得到了增强。

[0160] 此外, 没有酵母气味被引入到所述饮料中, 而使用传统的酵母提取物时, 这种气味就是正常情况了。这表示, 根据本发明的组合物味道纯净, 特别适于不期望存在有来自酵母提取物或组合物的酵母味道味的饮料应用。

[0161] 实施例 6 在经过加工的奶酪中使用含有 5' - 核糖核苷酸的组合物的作用

[0162] 将实施例 5 中的组合物加入到低脂奶酪酱 (Slimkuipje[®] 天然 15+, ERU-Woerden- 荷兰生产, 包含 5% w/w 的脂肪、14% w/w 的蛋白质、4% w/w 碳水化合物) 中, 加入剂量为每 100g 奶酪酱中 100mg。包含所述组合物的奶酪酱 (实验 1) 的味道和 / 或香气通过食品品尝方面的一组专家来分析, 并与原来的 (低脂) 奶酪酱的味道和相应的全脂产品 (全脂) (Goudkuipje 天然 48+, ERU-Woerden- 荷兰生产, 包含 21% w/w 的脂肪、12% w/w 的蛋白质、2% w/w 的碳水化合物) 的味道进行比较。

[0163] 结果显示于表 7 中。

[0164] 表 7

[0165]

实验	组合物 (mg/100 g)	对于味道/香气的观察
全脂产品	0.0	幼奶酪味、奶油感、脂肪感
低脂产品 (2)	0.0	奶酪味道较弱、无奶油感、无脂肪感
实验 1	100.0	较(2)有更强的奶酪香气、更多奶油感/脂肪感、味道更接近于全脂产品、无酵母气味被探测到

[0166] 该结果清楚地显示了本发明组合物对低脂经加工奶酪的味道和 / 或香气和 / 或口感的影响。具体而言,包含所述组合物的低脂奶酪酱的味道和 / 或香气和 / 或口感更像全脂奶酪酱的味道和 / 或香气和 / 或口感。

[0167] 此外,无来自所述组合物的酵母气味被引入食品。

[0168] 实施例 7 本发明的 5'-核糖核苷酸组合物在制备酵母提取物中的效果

[0169] 将实施例 4 中获得的 5'-核糖核苷酸组合物与传统自溶酵母提取物 (Gistex LS[®], 荷兰的 DSM N.V. 生产, 包含 65% w/w 蛋白质、基于总氨基酸含量 40% 的游离氨基酸、~0% w/w 的 5'-核糖核苷酸) 混合, 产生包含基于无氯化钠干物质 19.1% w/w 5'-GMP+5'-IMP (~40% w/w 5'-核糖核苷酸) 的酵母提取物 (YE1)。对将所述酵母提取物加入到多种类型的食物产品中导致的对味道的影响与加入包含大致等量 5'-核糖核苷酸和 5'-GMP+5'-IMP 商用酵母提取物 (YE2) (Aromild, Kohjin, Japan, 包含 21% w/w 的 5'-GMP+5'-IMP 以及 42% 的 5'-核糖核苷酸, 都基于无氯化钠干物质) 的影响进行比较。

[0170] 在下述类型的食品和水中对 YE1 和 YE2 进行测试, 在食品中浓度为 0.1% w/w, 在水中浓度为 0.05% w/w。

[0171] ● 脱脂牛奶 (0% 脂肪)

[0172] ● Optimel Vifit[®] “Framboos” (Campina, Woerden, 荷兰) (具有果味的前生命期奶饮料 (probiotic milk drink); 组分: 蛋白质: 3.0g/100ml, 糖: 4.5g/100ml, 脂肪: 0.0g/100ml, 钙: 120mg/100ml, 维生素 B2: 0.32mg/100ml, 维生素 B6: 0.40mg/100ml, 维生素 C: 12mg/100ml)

[0173] ● Slimkuipje[®] (可抹开的低脂奶酪, 见实施例 6)

[0174] ● Goudkuipje[®] (可抹开的奶酪, 见实施例 6)

[0175] ● Fanta Orange[®] (见实施例 5)

[0176] 结果显示于表 8 中。

[0177] 表 8

[0178]

食品应用	YE	关于味道/香气的观察
脱脂牛奶	1	天然牛奶感觉，无后味
	2	奶的气味不显著，有后味
Optimel [®]	1	强烈的水果气味，饱满，无后味
	2	强烈的水果气味，奇怪的（cardboard）后味
Slimkuipje [®]	1	奶油感，饱满，无尖锐后味
	2	甜，涩，尖锐后味
Goudkuipje [®]	1	奶油感，饱满，无尖锐后味
	2	涩，尖锐后味
Fanta Orange [®]	1	强烈的水果气味，饱满
	2	涩
水	1	微弱的味道，纯净
	2	黑醋栗后味，湿狗气息（wet dogs smell）

[0179] 总结，较之包含等量 5' - 核糖核苷酸的商用酵母提取物（Aromild[®]），上述由本发明的组合物制备的酵母提取物（在水中）具有更为纯净的味道，并且没有后味。在食品应用中，较之 YE2（Aromild[®]），YE1 在味道上更为纯净，并且能在不加入后味的情况下增强食品的香味。

[0180] 本实施例显示，用根据本发明的组合物制备的酵母提取物较之包含等量 5' - 核糖核苷酸的商用酵母提取物仍然更为纯净。