

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **018646**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.09.30

(21) Номер заявки
201000188

(22) Дата подачи заявки
2008.07.10

(51) Int. Cl. *A23L 1/229* (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
C12N 1/06 (2006.01)

(54) **ДРОЖЖЕВОЙ АВТОЛИЗАТ, СПОСОБ ЕГО ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ, ВКУСОАРОМАТИЧЕСКАЯ ДОБАВКА ДЛЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ**

(31) **07112167.7**

(32) **2007.07.10**

(33) **EP**

(43) **2010.06.30**

(86) **PCT/EP2008/059013**

(87) **WO 2009/007424 2009.01.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДСМ АйПи АССТЕС Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
Нордам Бертус, Кортес Ян Геррит (NL)

(74) Представитель:
Павлюченко И.В. (RU)

(56) **FR-A-2497635**

EP-A-0299078

GB-A-1561202

LIAN ZHAO ET AL.: "Degradation of RNA during the autolysis of *Saccharomyces cerevisiae* produces predominantly ribonucleotides". JOURNAL OF INDUSTRIAL MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY; OFFICIAL JOURNAL OF THE SOCIETY FOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY, SPRINGER-VERLAG, BE, vol. 32, no. 9, 1 September, 2005 (2005-09-01), pages 415-423, XP019357760, ISSN: 1476-5535, the whole document

(57) Изобретение относится к дрожжевому автолизату со свойствами усиления вкуса, который имеет высокое содержание солюбилизированных сухих веществ и который имеет соотношение сухих веществ по меньшей мере 50%. Изобретение также относится к способу приготовления автолизатов по изобретению. Способ включает подвергание дрожжей или дрожжевой фракции автолизу или гидролизу, немедленно следующее концентрирование всей реакционной смеси с образованием дрожжевого автолизата. Дрожжевые автолизаты по изобретению могут преимущественно быть использованы в источнике вкуса и аромата, в усилителе вкуса и аромата, в мясных продуктах, в улучшителе вкуса и аромата или в носителе верхней ноты. Автолизат настоящего изобретения, в частности, применим в кормовых или пищевых продуктах, которые не допускают применения дрожжевых автолизатов с высоким содержанием сухих веществ, например инъекции для мяса.

B1

018646

**018646
B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к дрожжевым автолизатам, к способу получения дрожжевых автолизатов и к применению дрожжевых автолизатов в пищевых продуктах.

Уровень техники

"Автолизированные дрожжи", или "дрожжевой автолизат", известны много лет в качестве источника белка, пептидов, аминокислот, жиров, неорганических веществ и витаминов группы В. Кодекс пищевых химикатов определяет автолизированные дрожжи следующим образом: "Автолизированные дрожжи представляют собой концентрированный, неэкстрагированный, частично растворимый гидролизат, получаемый из пищевых дрожжей. Солюбилизация осуществляется путем ферментативного гидролиза или автолиза дрожжевых клеток. Автолизированные дрожжи содержат как растворимый, так и нерастворимый компоненты, полученные из целой дрожжевой клетки".

"Дрожжевой автолизат" не является тем же самым, что "дрожжевой экстракт", как можно заключить из того же Кодекса пищевых химикатов, который определяет "дрожжевой экстракт" следующим образом: "Дрожжевой экстракт содержит водорастворимые компоненты дрожжевой клетки, в состав которых входят первичные аминокислоты, пептиды, углеводороды и соли. Дрожжевой экстракт получают путем гидролиза пептидных связей природными ферментами, присутствующими в съедобных дрожжах или путем прибавления пищевых ферментов".

Дрожжевой автолизат поэтому отличается от "дрожжевого экстракта", потому что дрожжевой автолизат, вдобавок ко всем вызывающим интерес компонентам, присутствующим в дрожжевых экстрактах, также содержит вызывающие интерес компоненты, такие как β -глюканы, маннопротеины и дрожжевая липидная фракция, присутствующие в дрожжевой клеточной стенке. Другое главное отличие состоит в том, что дрожжевой автолизат содержит множество нерастворимых компонентов, в то время как дрожжевые экстракты содержат лишь водорастворимые компоненты дрожжевой клетки. Дрожжевой экстракт содержит более чем на 95% растворимый материал и обычно вплоть до 100%. В процессе приготовления дрожжевого экстракта нерастворимые материалы удаляют с помощью подходящего разделения твердое - жидкость, в то время как при производстве дрожжевого автолизата эта стадия отсутствует. Весь автолизат подвергают стадии концентрирования/сушки.

Присутствие высокого количества нерастворимых материалов в дрожжевых автолизатах предшествующего уровня техники является крупным недостатком и ограничением для их применения в пищевой промышленности и/или в производстве кормов. Высокое количество нерастворимых сухих веществ приводит к быстрой седиментации при суспендировании в воде.

Например, было найдено, что коммерчески доступный дрожжевой автолизат BioSpringer BS2000 содержит примерно 60% нерастворимых веществ (в расчете на сухую массу), которые непосредственно осаждаются при суспендировании в воде.

Высокое количество нерастворимых веществ делает дрожжевые автолизаты неподходящими для современных применений, таких как инъекция вкусоароматической добавки, например, в мясо. Кроме того, их вкусоароматический профиль довольно ограничен. В довершение всего, низкое количество солюбилизированных белков, пептидов и аминокислот в классических дрожжевых автолизатах делает их менее привлекательными для соленых или пикантных пищевых продуктов, где конечный вкусоароматический профиль, среди прочего, зависит, например, от реакций Майяра (реакции, в которые включена растворимая фракция).

Другим недостатком дрожжевых автолизатов предшествующего уровня техники является почти полное отсутствие или, по меньшей мере, очень низкие уровни 5'-GMP и 5'-IMP. Это делает дрожжевые автолизаты предшествующего уровня техники неподходящими для применений, где усиление вкуса является желательным. Не было найдено ни одного коммерчески доступного дрожжевого автолизата, который содержит более чем 1,5 мас.% [5'-GMP+5'-IMP] в расчете на сухое вещество, не содержащего хлорид натрия (где 5'-GMP и 5'-IMP представлены в виде их солей: $2\text{Na}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

Задачей настоящего изобретения является решение проблемы, связанной с дрожжевыми автолизатами предшествующего уровня техники, и предложение дрожжевых автолизатов с более высоким количеством растворимых материалов, а также способ их производства.

Определения

Кодекс пищевых химикатов: автолизированные дрожжи являются концентрированным, неэкстрагированным, частично растворимым гидролизатом, получаемым из пищевых дрожжей. Солюбилизация осуществляется посредством ферментативного гидролиза или автолиза дрожжевых клеток. Автолизированные дрожжи содержат как растворимый, так и нерастворимый компоненты, полученные из целой дрожжевой клетки.

Кодекс пищевых химикатов: дрожжевой экстракт содержит водорастворимые компоненты дрожжевой клетки, в составе которых имеются первичные аминокислоты, пептиды, углеводороды и соли. Дрожжевой экстракт получают посредством гидролиза пептидных связей природными ферментами, присутствующими в съедобных дрожжах или путем прибавления пищевых ферментов.

"Соотношение сухих веществ" определяют здесь, как отношение между солюбилизованными сухими веществами и общим количеством сухих веществ дрожжевого автолизата. Соотношение сухих веществ определяют следующим образом: 5 г дрожжевого автолизата добавляют к 100 г кипящей воды в стеклянном стакане объемом 200 мл. pH составляет примерно 6. Образующуюся суспензию перемешивают в течение 20 мин в отсутствие дополнительного нагревания. Эксперимент проводят при комнатной температуре, и поэтому температура суспензии будет медленно понижаться.

Спустя 20 мин и когда температура суспензии достигает 20-70°C, 5 мл суспензию фильтруют на фильтре 0,45 мкм (0,45 мкм GD/X PVDF шприцевый фильтр диаметром 25 мм, Whatman) и фильтрат собирают. Сухие вещества в фильтрате и сухие вещества в исходной суспензии определяют при использовании баланса сухих веществ. Примерно 2 г суспензии наносят на фильтровальную бумагу, которую затем вносят в устройство Smart System⁵ Moisture/c инфракрасным датчиком для анализа твердых веществ (SEM Matthews). Соотношение сухих веществ рассчитывают следующим образом:

Соотношение сухих веществ = 100% (сухие вещества в фильтрате (g))/(сухие вещества в исходной суспензии (g)).

Дрожжи определяют здесь как твердый материал, пасту или жидкость, содержащие дрожжевые клетки, как, например, ферментативный бульон, применяемый для производства дрожжей, или дрожжевая суспензия, которые применяются в хлебопекарной промышленности и представляют собой концентрированную и промытую суспензию дрожжевых клеток и которые могут содержать 20-25% сухой массы дрожжей или даже еще больше, или активные или инстантные сухие дрожжи или любую другую форму продукта, которая содержит дрожжевые клетки.

Раскрытие изобретения

По первому аспекту настоящее изобретение предлагает дрожжевой автолизат, имеющий соотношение сухих веществ, как определено здесь ранее, ≥ 50 и $\leq 95\%$. Более предпочтительно дрожжевой автолизат имеет соотношение сухих веществ $\geq 55\%$, более предпочтительно $\geq 60\%$, более предпочтительно $\geq 65\%$, более предпочтительно $\geq 70\%$, более предпочтительно $\geq 75\%$, более предпочтительно $\geq 80\%$, более предпочтительно ≥ 85 и $< 95\%$ в расчете на не содержащее хлорид натрия сухое вещество дрожжевого автолизата. Предпочтительно дрожжевой автолизат имеет соотношение сухих веществ $\leq 90\%$. Для дрожжевого автолизата, содержащего хлорид натрия, величина соответствующих соотношений сухих веществ будет более высокой за счет высокой растворимости хлорида натрия. Например, когда дрожжевой автолизат без хлорида натрия с соотношением сухих веществ 50% готовят с хлоридом натрия с конечной концентрацией хлорида натрия 40 мас.% (т.е. 60% дрожжевого материала), образующийся приготовленный дрожжевой автолизат будет иметь соотношение сухих веществ 40 (NaCl) + 50% от 60% (дрожжевой материал) = 70%.

В предпочтительном воплощении дрожжевой автолизат по изобретению дополнительно содержит 5'-рибонуклеотиды. В контексте настоящего изобретения "5'-рибонуклеотиды" относится ко всему количеству 5'-монофосфатрибонуклеотидов, образовавшихся во время деградации РНК: гуанозин-5'-монофосфат (5'-GMP), уридин-5'-монофосфат (5'-UMP), цитидин-5'-монофосфат (5'-CMP), аденозин-5'-монофосфат (5'-AMP), где 5'-AMP может быть частично или полностью превращен в инозин-5'-монофосфат (5'-IMP). Предпочтительно дрожжевой автолизат по изобретению содержит по меньшей мере 0,75 мас.% 5'-GMP в расчете на не содержащее хлорид натрия сухое вещество, более предпочтительно по меньшей мере 1 мас.% 5'-GMP, более предпочтительно по меньшей мере 1,5 мас.% 5'-GMP, более предпочтительно по меньшей мере 2 мас.% и наиболее предпочтительно дрожжевой автолизат изобретения содержит по меньшей мере 2,5 мас.% 5'-GMP, в расчете на не содержащее хлорид натрия сухое вещество. Процентное (по массе) содержание 5'-рибонуклеотидов приведено в расчете на гептагидрат их динатриевых солей, если не оговаривается иное. Все процентные доли рассчитывают на базе содержащего хлорид натрия сухого вещества. В настоящем изобретении выражение "не содержащее хлорид натрия сухое вещество" относится к тому факту, что для расчета массового процентного содержания массу любого присутствующего хлорида натрия исключают из дрожжевого автолизата по изобретению. Определение хлорида натрия в композиции и вышеупомянутый расчет могут быть осуществлены способами, известными лицам, квалифицированным в данной области.

В силу строения РНК, 5'-UMP, 5'-CMP и 5'-AMP будут также присутствовать, но эти нуклеотиды не способствуют в значительной мере усилению вкуса или запаха. Когда 5'-AMP превращается в 5'-IMP, обычно с помощью аденилатдезаминазы, автолизат будет содержать 5'-IMP, который способствует усилению вкуса и аромата. Поэтому дрожжевые автолизаты, содержащие 5'-IMP, также охвачены настоящим изобретением. Предпочтительно дрожжевой автолизат по изобретению содержит по меньшей мере 0,75 мас.% 5'-IMP в расчете на не содержащее хлорид натрия сухое вещество, более предпочтительно по меньшей мере 1 мас.% 5'-IMP, более предпочтительно по меньшей мере 1,5 мас.% 5'-IMP, более предпочтительно по меньшей мере 2 мас.% 5'-IMP и наиболее предпочтительно дрожжевой автолизат по изобретению содержит по меньшей мере 2,5 мас.% 5'-IMP в расчете на не содержащее хлорид натрия сухое вещество. Квалифицированным специалистам в данной области будет понятно, что является весьма предпочтительным, чтобы дрожжевой автолизат по изобретению содержал как 5'-GMP, так и 5'-IMP в

концентрациях, приведенных выше.

Дрожжевой автолизат по изобретению может дополнительно содержать соль, предпочтительно хлорид натрия. Предпочтительно дрожжевой автолизат по изобретению содержит ≥ 5 и ≤ 50 мас.% хлорида натрия. Более предпочтительно дрожжевой автолизат по изобретению содержит по меньшей мере 10%, более предпочтительно по меньшей мере 20%, более предпочтительно по меньшей мере 30%, более предпочтительно между 35 и 45%, наиболее предпочтительно от 40% (все в мас.%). Предпочтительно дрожжевой автолизат по изобретению содержит $< 50\%$ хлорида натрия (по массе).

Дрожжевой автолизат по настоящему изобретению имеет то главное преимущество по сравнению с дрожжевыми автолизатами предшествующего уровня техники, что большая фракция клеточных дрожжевых составляющих является солюбилизованной. Как результат этого, большая фракция клеточных составляющих может способствовать формированию или усилению вкуса и аромата в последующих пищевых продуктах. На самом деле, функциональность клеточных составляющих используется более эффективно. Это также отражается в более широком вкусоароматическом профиле, который может быть достигнут с автолизатами по изобретению. Дрожжевой автолизат настоящего изобретения может поэтому быть подходяще применен в носителе верхних нот или в качестве него, в ингредиенте для генерирования вкусоароматической реакции или в качестве него или в усилителе вкуса и аромата в качестве него. Степень солюбилизации является столь высокой, что автолизат настоящего изобретения может преимущественно быть применен в пищевых или кормовых продуктах, которые требуют растворимости, более высокой, чем растворимость классических дрожжевых автолизатов. Например, дрожжевой автолизат настоящего изобретения может подходяще быть использован для инъекции в мясо, потому что он не будет закупоривать инжектор. Солюбилизация отражает соотношение сухих веществ таким образом, что более высокое соотношение сухих веществ приводит к более высокой растворимости. Чем выше соотношение сухих веществ, тем более высока степень солюбилизации и тем больше пептидов, аминокислот и других соединений доступно для участия в реакциях генерирования вкуса и аромата.

Дрожжевой автолизат настоящего изобретения отличается от дрожжевого экстракта, потому что он также содержит ценные составляющие клеточных стенок, такие как бета-глюканы, маннопротеины и дрожжевую липидную фракцию. Известно, что бета-глюканы оказывают положительное действие на иммунный ответ, в то время как маннопротеины могут способствовать реакциям Майяра (а значит, аромату и вкусу). Аналогично, липиды также положительно влияют на вкус и/или вкусоароматический профиль.

По второму аспекту изобретение предлагает способ приготовления дрожжевого автолизата по изобретению, имеющего соотношение сухих веществ ≥ 50 и $< 95\%$, более предпочтительно имеющего соотношение сухих веществ $\geq 55\%$, более предпочтительно $\geq 60\%$, более предпочтительно $\geq 65\%$, более предпочтительно $\geq 70\%$, более предпочтительно $\geq 75\%$, более предпочтительно $> 80\%$, более предпочтительно ≥ 85 и $< 95\%$ в расчете на не содержащее хлорид натрия сухое вещество дрожжевого автолизата, предпочтительно $< 90\%$, включающий:

а) подвергание дрожжей, которые определены здесь ранее, автолизу или гидролизу при pH 4-7 и при температуре в пределах 30-70°C в присутствии протеазы; и

б) концентрирование всей реакционной смеси для получения дрожжевого автолизата с условием, что способ не содержит стадию разделения твердое - жидкость для того, чтобы, например, отделить нерастворимые клеточные стенки от растворимых компонентов клетки. Концентрированную реакционную смесь, получаемую после стадии б), предпочтительно сушат с помощью методик, известных в данной области.

Для того чтобы сделать дрожжевой автолизат по изобретению содержащим соль, предпочтительно хлорид натрия, последний может быть добавлен во время любой стадии способа, но предпочтительно до стадии сушки. Например, часть соли может быть добавлена во время стадии а), а остаток до или после стадии б) или все может быть добавлено на стадии а) или до или после стадии б). Соль может быть добавлена в твердом виде или в форме раствора соли. Количество соли, подлежащее добавлению, будет зависеть от требуемого содержания соли в дрожжевом автолизате и может легко быть определено квалифицированным специалистом.

В способе изобретения дрожжи, которые подвергают автолизу или гидролизу, предпочтительно представляют собой дрожжевую суспензию, как определено здесь ранее. В другом воплощении изобретения дрожжи, которые подвергают автолизу или гидролизу, являются дрожжевым ферментативным бульоном. Преимущество при использовании дрожжевого ферментативного бульона в качестве исходного материала для автолиза или гидролиза вместо использования дрожжевой суспензии состоит в увеличении выхода и уменьшении себестоимости дрожжевого автолизата, так как промежуточные стадии концентрирования и промывания для получения дрожжевой суспензии могут быть опущены. Различные исходные материалы будут приводить к дрожжевым автолизатам с различным вкусовым профилем.

Дрожжи могут представлять собой любой тип пищевых дрожжей, например пекарские дрожжи, пивные дрожжи или винные дрожжи. Предпочтительно используют дрожжевой штамм, принадлежащий к родам *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* или *Torul*. В предпочтительном воплощении используют

дрожжевой штамм, принадлежащий к роду *Saccharomyces*, т.е. *Saccharomyces cerevisiae*.

В одном предпочтительном воплощении дрожжевой автолизат настоящего изобретения получают путем автолиза дрожжей. В контексте настоящего изобретения автолиз дрожжей относится к хорошо известным и описанным процессам в данной области, см., например, Savory flavors, Tilak W. Nagodawithana, Esteekay Associates inc. 1995. Автолиз представляет собой деградацию дрожжей с помощью своих собственных эндогенных ферментов после того, как дрожжевые клеточные стенки были разрушены или повреждены. Разрушение или повреждение клеточных стенок может быть осуществлено любыми подходящими способами, например механически, химически или ферментативно. Типичный автолизат обогащен пептидами и аминокислотами по сравнению с суммарным белковым пулом.

Процесс может быть ускорен путем прибавления экзогенных ферментов. В одном воплощении изобретения, автолиз ускоряют путем прибавления одной или более протеаз, пептидаз и/или глюканаз.

В другом предпочтительном воплощении дрожжевой автолизат настоящего изобретения получают гидролизом дрожжей. В контексте настоящего изобретения гидролиз дрожжей относится к процессам, которые в целом описаны, как контролируемый лизис дрожжевой клетки. После инактивации дрожжевых эндогенных ферментов деградация дрожжей осуществляется с помощью экзогенно добавленных ферментов. В одном воплощении одну или более протеаз, пептидаз и/или глюканаз добавляют для гидролиза дрожжей.

Протеаза или пептидаза, применяемые для приготовления дрожжевого автолизата, могут быть растительного, бактериального или грибкового происхождения и могут иметь определенную специфичность, например пролин-, цистеин-, серин-, глутамин- или лейцин-специфичность. Подходящие примеры включены в ЕС 3.4.X и подклассы. Предпочтительно протеаза является эндопротеазой. Более предпочтительно протеаза является бактериальной или грибковой эндопротеазой. Глюканаза, которая может быть применена для приготовления дрожжевого автолизата, может также быть растительного, бактериального или грибкового происхождения, в частности может принадлежать к классу ферментов ЕС 3.2.1.6.

В одном воплощении дрожжевой автолизат настоящего изобретения получают при использовании сочетания одной или более протеаз, и/или пептидаз, и/или глюканаз. В предпочтительном воплощении эндопротеаза и глюканаза присутствуют для получения дрожжевого автолизата с помощью автолиза или гидролиза. Ферменты в сочетаниях могут быть добавлены одновременно или последовательно. Они могут быть добавлены одной порцией или несколькими порциями. В другом воплощении ферментативную обработку сочетают с механической обработкой.

Количество ферментов, которое надлежит добавить, будет зависеть от нескольких факторов, таких как фермент(ы), который(е) используют, и от того, применяют ли сочетание с другой обработкой, такой как механическая обработка. Обычно одну или более протеаз, пептидаз или глюканаз применяют в концентрациях, где ферменты находятся в избытке, который может легко быть определен лицом, квалифицированным в данной области. По экономическим причинам, может быть использован меньший избыток.

Способы предшествующего уровня техники получения дрожжевых автолизатов с низким соотношением сухих веществ (т.е. ниже 50%) по причинам стоимости осуществляют за столь короткое время, насколько это возможно, при использовании минимально возможного количества ферментов. Высокое соотношение сухих веществ не считают ценным свойством дрожжевого автолизата. Дрожжевые автолизаты настоящего изобретения могут быть получены с помощью способа изобретения. Отличие между способом изобретения и способами предшествующего уровня техники состоит в более высокой степени автолиза или гидролиза дрожжевого клеточного материала. Эти более высокие степени автолиза или гидролиза могут быть получены при использовании большего количества протеазы и/или путем инкубирования в течение большего времени и/или при более высокой температуре. Конечно, температура не должна быть столь высокой, чтобы происходило разрушение используемого(ых) фермента(ов). Требуемые количества протеазы и оптимальные условия для того, чтобы получать дрожжевые автолизаты настоящего изобретения, будут зависеть от сочетания типа и количества используемых ферментов, времени гидролиза и температуры. С помощью рутинной оптимизации квалифицированный специалист может без лишних сложностей определить оптимальные условия для получения соотношения сухих веществ по меньшей мере 50% при использовании настоящего фермента и настоящей концентрации фермента. Альтернативно, при настоящей температуре и/или максимальном времени гидролиза квалифицированный специалист может легко определить количество фермента, которое следует добавить для того, чтобы получить дрожжевой автолизат по изобретению. Подходящее время инкубации для стадии а) способа изобретения может составлять от 1 до 50 ч, предпочтительно 2-40 ч, более предпочтительно 3-30 ч, наиболее предпочтительно 5-20 ч. Подходящий pH для стадии а) способа изобретения составляет pH между 4 и 7, более предпочтительно между 5 и 6, наиболее предпочтительно между 5,5 и 6,0. Подходящая температура для стадии а) способа изобретения составляет между 30 и 70°C, более предпочтительно между 40 и 60°C, наиболее предпочтительно между 45 и 55°C, например 50°C.

В одном воплощении способа изобретения перед стадией б) реакционную смесь, получаемую на стадии а), подвергают дополнительно ферментативной обработке с образованием 5'-рибонуклеотидов и,

при необходимости, ферментативной обработке для превращения 5'-AMP в 5'-IMP. В одном воплощении 5'-рибонуклеотид-содержащий дрожжевой автолизат получают с помощью способа, который включает инкубирование с фосфодиэстеразой согласно способам, известным в данной области, предпочтительно при pH в пределах 4,8-5,5 и предпочтительно при температуре в пределах 55-68°C. Контролируемый гидролиз позволяет получать дрожжевые автолизаты, которые содержат 5'-рибонуклеотиды.

Дрожжевой автолизат можно сконцентрировать с помощью способов, известных в данной области, таких как обратный осмос, ультрафильтрация или выпаривание. В предпочтительном воплощении дрожжевой автолизат концентрируют с помощью выпаривания. После концентрирования дрожжевой автолизат может быть высушен и преобразован в готовую форму. В предпочтительном воплощении дрожжевой автолизат концентрируют с помощью выпаривания и распылительной суши.

При использовании способа изобретения дрожжевые автолизаты могут быть получены с улучшенными рабочими характеристиками в отношении впрыскивания, усиления вкуса и вкусоароматического профиля. Новые вкусоароматические профили можно получать в зависимости от дрожжевой фракции, которую используют, и в зависимости от того, подвергалась ли дрожжевая фракция автолизу или гидролизу. В зависимости от используемого способа лизиса, дрожжевой автолизат может содержать 5'-рибонуклеотиды, в дополнение к клеточным стенкам или компонентам клеточных стенок, белкам, пептидам, аминокислотам, неорганическим веществам, углеводам, витаминам группы B.

По третьему аспекту настоящее изобретение относится к применению дрожжевого автолизата по изобретению в продуктах, в частности в кормах для домашних животных, или в пищевой промышленности, в частности мясной и мясоперерабатывающей промышленности. Продукты по изобретению могут быть использованы в источнике вкуса и аромата или в качестве него, например, в носителе высокой ноты, в усилителе вкуса и аромата или в качестве него, в улучшителе вкуса и запаха или в качестве него, в носителе верхней ноты или в качестве него. В одном воплощении дрожжевой автолизат используют в столовой приправе или в качестве нее. Усилитель вкуса и аромата, улучшитель вкуса и аромата, носитель верхней ноты или столовая приправа, которые содержат дрожжевой автолизат по изобретению, также охвачены в настоящем изобретении. Усилитель вкуса и аромата, улучшитель вкуса и аромата, носитель верхней ноты или столовая приправа могут содержать 0,1-30 мас.% автолизата настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1.

Генерирование дрожжевого автолизата из суспензии дрожжей с помощью автолиза.

1 л суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* нагревали до 50°C. Затем 2 мл Alcalase® (Sigma Aldrich, содержащий протеазу из *Bacillus licheniformis*) добавляли и смесь инкубировали в течение 20 ч без регулирования pH. Сухой хлорид натрия добавляли с тем, чтобы получить дрожжевой автолизат с 40 мас.% соли. Наконец, реакционную смесь, содержащую соль, концентрировали с помощью выпаривания и распылительной суши.

Образующийся порошок анализировали на состав. Результаты представлены в табл. 1. Результаты демонстрируют очень высокое количество солюбилизированных сухих веществ в дрожжевом автолизате. Седиментационные испытания продемонстрировали, что проходит около 24 ч до начала седиментации, в то время как в случае дрожжевых автолизатов предшествующего уровня техники это время составляет от нескольких секунд до минут.

Таблица 1
Композиция дрожжевого автолизата примера 1

Компонент	%
Соотношение сухих веществ *	86
Соотношение сухих веществ * ¹	76
Азот (по Кельдалю) ¹	10,4
Белок (N* 6,25) ¹	65,0
Азот (амино)	3,6
Азот (амино)/общий азот (AN/TN)	34,8
Зола ¹	6,0
Сухие вещества (клеточные стенки) ¹	30,0
Свободные аминокислоты/все аминокислоты	37,1
Глютаминовая кислота ¹	4,0

*На основе фильтруемости 5% суспензии на фильтре 0,45 мкм.

¹В расчете на сухое вещество, не содержащее NaCl.

Пример 2.

Генерирование дрожжевого автолизата из суспензии дрожжей с помощью гидролиза.

1 л суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* нагревали при 95°C в течение 5 мин и затем охлаждали до 50°C. Затем 2 мл Alcalase® (Sigma Aldrich, содержащий протеазу из *Bacillus licheniformis*) добавляли и смесь инкубировали в течение 6 ч без регулирования pH. После этого инкубирования смесь обрабатывали 5'-фосфодиэстеразой в течение 15 ч при pH 5,3 и 65°C для гидролиза РНК. После этого смесь обрабатывали дезаминазой (Amano) в течение 5 ч при pH 5,1 и 55°C для превращения 5'-AMP в 5'-IMP. Сухой хлорид натрия добавляли с тем, чтобы получить дрожжевой автолизат с 40 мас.% соли. Наконец, реакционную смесь, содержащую соль, концентрировали с помощью выпаривания и распылительной сушки.

Образующийся порошок анализировали на состав. Результаты представлены в табл. 2, которая показывает очень высокие количества солубилизованных сухих веществ, присутствующих в дрожжевом автолизате. Результаты в табл. 2 также демонстрируют присутствие более чем 1,5 мас.% 5'-GMP и 5'-IMP в расчете на сухое вещество, не содержащее NaCl, о чем никогда не сообщалось ранее для дрожжевых автолизатов, изготовленных с помощью гидролиза.

Таблица 2
Композиция дрожжевого автолизата примера 2

Компонент	%
Соотношение сухих веществ *	80
Соотношение сухих веществ * ¹	67
Азот (по Кельдалю) ¹	10,2
Белок (N* 6,25) ¹	63,8
Азот (амино)	3,5
Азот (амино)/общий азот (AN/TN)	34,3
Зола ¹	5,9
Сухие вещества (клеточные стенки) ¹	32,1
Свободные аминокислоты/все аминокислоты	17,3
5'-GMP ¹	2,6
5'-IMP ¹	3,0
Глютаминовая кислота ¹	2,1

*На основе фильтруемости 5% суспензии на 0,45 мкм фильтре.

¹В расчете на сухое вещество, не содержащее NaCl.

Пример 3.

Генерирование дрожжевого автолизата с помощью автолиза ферментативного бульона.

1 л ферментативного бульона *Saccharomyces cerevisiae* нагревали до 50°C. Затем 1 мл Alcalase® (Sigma Aldrich, содержащий протеазу из *Bacillus licheniformis*) добавляли и смесь инкубировали в течение 20 ч без регулирования pH. Сухой хлорид натрия добавляли с тем, чтобы получить дрожжевой автолизат с 40 мас.% соли. Наконец, реакционную смесь, содержащую соль, концентрировали с помощью выпаривания и распылительной сушки.

Образующийся порошок анализировали на его состав. Результаты представлены в табл. 3 и демонстрируют очень высокое количество солубилизованных сухих веществ в дрожжевом автолизате по изобретению (соотношение сухих веществ 85%).

Таблица 3

Композиция дрожжевого автолизата примера 3

Компонент	%
Соотношение сухих веществ *	85
Соотношение сухих веществ * ¹	75
Азот (по Кельдалю) ¹	7,2
Белок (N* 6,25) ¹	45
Азот (амино) ¹	2,4
Азот (амино)/общий азот (AN/TN)	34,1
Зола ¹	21,5
Сухие вещества (клеточные стенки) ¹	29,7
Свободные аминокислоты/все аминокислоты	37,4
Глютаминовая кислота ¹	2,2
Бетанин ¹	6,9

*На основе фильтруемости 5% суспензии на 0,45 мкм фильтре.

¹В расчете на сухое вещество, не содержащее NaCl.

Пример 4.

Сравнение соотношений сухих веществ.

Соотношение сухих веществ автолизатов по изобретению сравнивали с соотношением сухих веществ коммерческого образца. Поэтому 5 г каждого порошкообразного автолизата суспендировали в кипящей воде и общую массу доводили до 100 г с помощью воды. Затем различные суспензии фильтровали на фильтре 0,45 мкм. Соотношение сухих веществ является мерой количества растворенных сухих (твердых) веществ в автолизате. Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Сравнение растворимости различных автолизатов

Дрожжевой автолизат	Кол-во сухих веществ в		Соотношение сухих веществ	
	суспензии,%	фильтрате,%	автолизат, как таковой (%)	в расчете на сухое вещество без NaCl (%)
BioSpringer 2000	5,04	2,03	40	40
Автолизат примера 1	4,66	4,00	86	76
Автолизат примера 2	4,82	3,86	80	67
Автолизат примера 3	4,79	4,07	85	75

Результаты, представленные в табл. 4, ясно демонстрируют, что коммерческий дрожжевой автолизат имеет более низкие уровни солубилизованных сухих веществ, чем дрожжевые автолизаты по изобретению.

Пример 5.

Вкусоароматический профиль новых дрожжевых автолизатов.

Автолизаты из примеров 1-3 испытывали с помощью комиссии по оценке качества продуктов. Результаты представлены в табл. 5 и показывают, что аромат и вкус автолизатов, приготовленных способом по изобретению, различаются в зависимости от исходного материала и способа лизиса, который используют. Вкусоароматические профили изменяются в пределах от дрожжевых до мясных и лакричных.

Таблица 5

	Вкус	Запах
Автолизат примера 1	Дрожжевой, бульонный, слегка серный	Серный, дрожжевой
Автолизат примера 2	Сладкий, полный, слегка бульонный	Слегка дрожжевой
Автолизат примера 3	Мясной, дрожжевой, лакричный, сладкий	Сладкий, бульонный

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ приготовления дрожжевого автолизата с содержанием нерастворимых веществ от ≥ 5 до $\leq 50\%$, по меньшей мере $0,75$ мас.% 5'-GMP и по меньшей мере $0,75$ мас.% 5'-IMP в расчете на не содержащую хлорид натрия сухую массу дрожжевого автолизата, включающий:

а) подвергание дрожжей автолизу при pH 4-7 и при температуре в диапазоне $30-70^{\circ}\text{C}$ в присутствии эндогенной протеазы дрожжей на время инкубации от 1 до 50 ч;

б) дополнительную ферментативную обработку с образованием 5'-рибонуклеотидов и дополнительную ферментативную обработку с превращением 5'-AMP в 5'-IMP и

с) концентрирование всей реакционной смеси для получения дрожжевого автолизата в условиях, не включающих разделение на твердую и жидкую фракции.

2. Способ по п.1, дополнительно включающий стадию сушки концентрированной реакционной смеси, получаемой на стадии с).

3. Способ по п.1 или 2, дополнительно включающий добавление соли, предпочтительно хлорида натрия.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором дрожжи являются суспензией дрожжей или ферментативным бульоном.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором дрожжи относятся к роду *Saccharomyces*, *Kluveromyces*, *Candida* или *Torula*, предпочтительно рода *Saccharomyces*, более предпочтительно *Saccharomyces cerevisiae*.

6. Способ по п.1, дополнительно включающий добавление одной или более протеаз, пептидаз и/или глюканаз в процессе автолиза на стадии а) или между стадиями а) и б).

7. Дрожжевой автолизат, имеющий от ≥ 5 до $\leq 50\%$ нерастворимых веществ, по меньшей мере $0,75$ мас.% 5'-GMP и по меньшей мере $0,75$ мас.% 5'-IMP в расчете на не содержащую хлорид натрия сухую массу дрожжевого автолизата, полученный способом по любому из пп.1-6.

8. Дрожжевой автолизат по п.7, дополнительно содержащий соль, предпочтительно хлорид натрия.

9. Применение дрожжевого автолизата по п.7 или 8 в качестве вкусоароматической добавки для пищевых продуктов, например мясных продуктов и столовых приправ, для усиления их вкуса и аромата, в том числе для придания верхней ароматической ноты.

10. Вкусоароматическая добавка для пищевых продуктов, например мясных продуктов и столовых приправ, для усиления их вкуса и аромата, в том числе для придания верхней ароматической ноты, которая содержит дрожжевой автолизат по п.7 или 8.

