

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 019**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/23** (2006.01)

**A23L 1/238** (2006.01)

**A23L 1/325** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2008** **E 08862916 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013** **EP 2229062**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de un hidrolizado**

30 Prioridad:

**14.12.2007 WO PCT/EP2007/063980**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**07.02.2014**

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)  
Avenue Nestlé 55  
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**LIM, BEE GIM**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 442 019 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCION**

Procedimiento para la preparación de un hidrolizado

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de un hidrolizado, más particularmente se refiere a un procedimiento para la preparación de un hidrolizado a partir de un substrato sólido comestible, de origen animal o vegetal, y en donde dicho hidrolizado puede ser empleado como una base para cocinar o como base de sabores sabrosos.

Antecedentes de la invención

Las salsas de pescado o de productos de pescado fermentados son ampliamente consumidos como condimentos o auxiliares de cocina en los países asiáticos, como por ejemplo el Japón, la China y los países del Sur, como por ejemplo el Vietnam, Camboya, Tailandia y otros. También se consumen ampliamente en Europa y Norteamérica. Las salsas de pescado o los productos de pescado fermentado se preparan tradicionalmente a través de la fermentación del pescado en presencia de sal.

El método tradicional de preparación se basa habitualmente en un proceso que implica la autohidrólisis mediante las enzimas endógenas del pescado. Dichos procesos requieren un período de fermentación de aproximadamente 6 a 12 meses para obtener un rendimiento y unas propiedades sensoriales aceptables. En vista del relativamente largo tiempo de producción se han propuesto muchas estrategias, soluciones o alternativas para reducir el tiempo de producción.

Uno de los métodos propuestos consiste en la adición de ácido clorhídrico a la proteína hidrolizada mediante lo cual, el tiempo requerido se reduce solamente a unas pocas horas. Sin embargo, dicho proceso tiene como resultado un sabor inferior. Los productos producidos por dicho método tienen muy poco aroma y sabor y en muchos casos pueden aparecer algunos cloro-compuestos a partir del proceso con ácido.

Otro método propuesto para la producción de salsas de pescado consiste en la adición de componentes ricos en enzimas para acelerar la hidrólisis de la proteína. Las enzimas vegetales como por ejemplo, la bromelaina procedente de los tallos de piña, o la papaína procedente de la papaya verde, se han empleado como dicha adición. Aunque la salsa de pescado puede ser recuperada después de 3 ó 4 semanas, las características y particularmente el sabor del producto acabado es inferior a la salsa de pescado tradicional. Un problema importante que ha surgido en dichos productos es el de estar generalmente acompañados por un intenso amargor.

Por otra parte, se añade una alta cantidad de sal en el método tradicional empleado para producir salsas de pescado o productos fermentados de pescado. Las altas concentraciones de sal inhiben fuertemente las actividades de la mayoría de las enzimas proteolíticas. Como tal, la salsa de pescado producida bajo una alta concentración de sal, está lejos del óptimo. Además, como se requiere un período de tiempo substancialmente largo para la conservación en una solución de sal y la degradación, el contenido de sal en el producto final es considerablemente alto. En consecuencia, muchos procesos, soluciones y alternativas han sido propuestos con el objetivo de resolver los problemas antes citados.

La solicitud de patente japonesa nº 2003-319944 intenta reducir el empleo de la sal mediante la producción de un material para condimento bajo una condición altamente esterilizada. Esta solicitud describe un material para condimento obtenido mediante la mezcla de un residuo esterilizado procedente de la extracción de pescado seco, con un "koji" sólido producido en condiciones estériles, y degradando la mezcla en un estado esterilizado exento de sal. En esta invención, el residuo de la extracción de pescado seco se emplea como uno de los principales materiales en la producción de material de condimentación. El residuo de la extracción del pescado seco es un producto secundario de las fábricas de procesado del pescado seco. Mientras los nutrientes del residuo de la extracción de pescado seco se pierden durante la extracción, ello proporciona también un polvo de pobre sabor. Adicionalmente, aunque el proceso como se describe en la solicitud es un proceso exento de sal, el proceso necesita efectuarse en condiciones completamente estériles desde el comienzo del paso de la preparación del residuo a partir de la extracción del pescado seco, la preparación del "koji", hasta el paso de degradación de la mezcla del residuo esterilizado a partir de la extracción del pescado seco y del "koji". La esterilización puede aumentar el coste y el nivel de dificultades implicadas en la producción. Además, la esterilización puede también sobrecalentar el producto alimenticio, lo cual por lo tanto perjudicaría las propiedades organolépticas del producto alimenticio producido mediante el mismo.

Además, la salsa de pescado producida a través del método tradicional posee un sabor a pescado y un olor desagradable. El sabor a pescado y el desagradable olor están a veces en el límite de la aceptabilidad de los consumidores, y dicha salsa de pescado puede también desmejorar el gusto del alimento más bien que potenciarlo. Con el fin de superar todos estos problemas, se han propuesto varios métodos para reducir el sabor a pescado y el desagradable olor. La publicación de la patente internacional nº WO 2004045310 describe un procedimiento para la

preparación de la salsa de pescado, mediante la separación del tracto gastrointestinal, y la carne de pescado se mezcla con jengibre y tamarindo antes de la fermentación con el fin de reducir el olor a pescado. Sin embargo el método propuesto no es capaz de eliminar con eficacia el indeseable olor de los productos, y al mismo tiempo, aumenta los costes de producción cuando es necesario preparar otros materiales y añadirlos a la fermentación del pescado y también es necesario efectuar otros pasos. Además, los órganos internos separados no están disponibles de manera adecuada, y pueden convertirse en un potencial peligro para el medio ambiente. Esto es más agudo cuando la cantidad de órganos internos separados es habitualmente muy considerable cuando se necesita una gran cantidad de pescado, dado que es el material principal en la producción.

La patente JP 04.197.153 describe un método para la producción de un condimento en polvo fermentado de base animal exento de sal, preparando en primer lugar un "koji" fermentado y a continuación añadiendo al "koji" un material de proteínas de base animal como por ejemplo la vieira, y a continuación hidrolizando la mezcla resultante en presencia de un 3-50% de alcohol. La patente JP 04.197.153 emplea un alcohol para reemplazar la adición de sal en el paso de hidrólisis con el fin de reducir el crecimiento de microorganismos patógenos o indeseables. La patente JP 04.197.153 describe que el paso de hidrólisis se realiza a temperaturas entre 30 y 40 °C.

Los métodos convencionales para la preparación de la salsa de pescado se efectúan generalmente para producir un condimento líquido y por lo tanto los métodos se diseñan de tal manera que el producto fermentado necesita ser sometido a un proceso de presión para separar la porción líquida de la porción sólida y solamente la porción líquida de los productos fermentados se emplean como condimentos. Normalmente, la porción sólida se considera como inadecuada o inaceptable para ser empleada o reproducida como composición alimenticia.

Otros procedimientos de fermentación basados en materiales vegetales sin emplear productos animales como por ejemplo productos de pescado, son también conocidos en los países asiáticos como principalmente en China. Estas fermentaciones se basan típicamente sobre la fermentación de las habas de soja y/o el gluten de trigo en un proceso de fermentación de "koji" en estado sólido, seguido opcionalmente dicho proceso con una hidrólisis de un "moromi" sumergido, en unas condiciones habitualmente altas de sal y en presencia de levaduras y otros microorganismos.

Particularmente, la patente EP 0 913 097 describe un procedimiento para la hidrólisis de un "koji" fermentado en presencia de una cepa de *Lactobacillus sake* con el fin de lograr una nota "a carne" más intensa del hidrolizado resultante. Un "koji" fermentado como única materia prima en un proceso de hidrólisis no genera habitualmente ningún problema de contaminación microbiológica cuando el material vegetal se hace fermentar y aparece con ello una flora microbiana típica del "koji" en el proceso de hidrólisis. La hidrólisis se efectúa en ausencia de sal a temperaturas desde 30 hasta 37 °C.

La patente US 5.141.756 describe un procedimiento para la producción de salsa de soja mediante la hidrólisis de un "koji" fermentado, seguido por un paso de hidrólisis y una subsiguiente fermentación de un "moromi". Una cantidad de sal relativamente pequeña, típicamente un 1-3 %, se añade a la hidrólisis con el fin de ejercer un efecto de plasmolisis y aumentar la liberación de enzimas. Al igual que para la patente antes citada EP 0 913 097, la hidrólisis de un "koji" clásico fermentado no ha de poner ningún problema de contaminaciones microbianas indeseadas.

#### Resumen de la invención

Teniendo en cuenta los problemas generados mediante los métodos convencionales de producción de salsa de pescado fermentada o de productos de pescado fermentados, como son por ejemplo, la necesidad de un período de tiempo substancialmente largo, los altos contenidos de sal y la existencia de olor a pescado o de un olor desagradable, la aparición de un procedimiento mejorado o un método que sea capaz de solucionar estos problemas, se considera un progreso en este campo.

Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención el proporcionar un procedimiento para la producción de un hidrolizado de un substrato sólido comestible el cual pueda más tarde emplearse en la preparación de varias composiciones alimenticias.

Otro objetivo de la presente invención es el de proporcionar un procedimiento acelerado que sea capaz de producir la composición alimenticia en un corto tiempo. Además, como no se añade ninguna sal durante el proceso de hidrólisis, la hidrólisis se realiza en un estado substancialmente, o con más preferencia completamente, exento de sal. Como tal, la composición alimenticia producida empleando el hidrolizado de la presente invención es de un contenido bajo en sal.

Todavía, otro objetivo de la presente invención es el de proporcionar un procedimiento para la preparación de un hidrolizado mediante la hidrólisis de un substrato sólido comestible y empleando la enzima de "koji".

De acuerdo con la presente invención, el substrato sólido comestible es de origen animal incluyendo la carne animal, la carne de pescado o la carne de marisco. La carne de pescado y la carne de marisco pueden emplearse en la presente invención incluyendo varios pescados, el camarón, camarones pequeños, los calamares, la sepia, las anchoas, las almejas, los mejillones, los cangrejos, las vieiras secas, las ostras secas, etc.. Aparte de la carne de

animales, la carne de pescado o la carne de marisco seca o deshidratada, el proceso de la presente invención permite también emplear el pescado fresco como materia prima sin la eliminación de sus vísceras o sin la necesidad de efectuar cualquier paso importante previo a un proceso aparte del lavado y, opcionalmente del triturado.

5 El procedimiento de la presente invención puede emplearse también para preparar el hidrolizado de un sustrato sólido comestible de origen vegetal. El sustrato sólido comestible de origen vegetal consiste en cualquier verdura, legumbres, hojas, flores, tallos, semillas, frutos o cualquier otro material comestible obtenible a partir de vegetales como por ejemplo, las setas, los guisantes, las legumbres, las cebollas, los ajos, los repollos, o cualquier otra planta comestible.

10 Si se desea, puede emplearse una combinación de materiales animales y vegetales para producir el hidrolizado de acuerdo con la presente invención.

15 Otro objetivo de la presente invención es el de proporcionar composiciones alimenticias fermentadas añadiendo un cultivo de bacterias de ácido láctico durante la preparación del "koji" o durante la etapa de hidrólisis.

20 Otro objetivo de la presente invención es el de proporcionar un hidrolizado que sea excelente en sabor, gusto, así como también en textura. Por lo tanto el hidrolizado producido a través del proceso de la presente invención se puede emplear para preparar condimentos líquidos obteniendo la salsa líquida a partir del hidrolizado o alternativamente, éste puede emplearse directamente, sin presión, para producir otras composiciones alimenticias en pasta o en forma sólida.

25 Otro objetivo de la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de un hidrolizado de un sustrato sólido comestible que comprende la preparación de un "koji" fermentado a partir de un material que contiene una proteína y un hidrato de carbono. El "koji" fermentado se mezcla a continuación con un sustrato sólido comestible para formar una mezcla en donde dicha mezcla se hidroliza en un ambiente con menos de un 2% de contenido en sal en peso, basado sobre el peso de la mezcla del sustrato sólido comestible y el "koji" fermentado.

30 En este contexto, el "koji" fermentado se prepara mediante la inoculación de una proteína conteniendo material y un hidrato de carbono con un cultivo de *Aspergillus* que comprende cualquiera de los dos: el *Aspergillus oryzae* o el *Aspergillus sojae* o una combinación de los mismos sobre un lecho de cultivo para formar el "koji" fermentado. El material que contiene la proteína es de preferencia uno cualquiera entre el gluten de trigo, el gluten de arroz, el gluten de maíz o las habas de soja, o una combinación de los mismos.

35 En el procedimiento antes mencionado de preparación de un hidrolizado, puede también emplearse un "koji" fermentado que se prepara a partir del propio sustrato sólido comestible con o sin hidrato de carbono. En el contexto de que el "koji" fermentado está preparado a partir del propio sustrato sólido comestible, el "koji" preparado fermentado se somete a un proceso de hidrólisis en un ambiente con menos de un 2% en peso de contenido de sal, basado sobre el peso del "koji" fermentado para formar el hidrolizado.

40 El "koji" fermentado del propio sustrato sólido comestible se prepara mediante la inoculación de un sustrato sólido comestible seleccionado, con un cultivo de *Aspergillus* sobre un lecho de cultivo para formar el "koji" fermentado.

45 La hidrólisis se efectúa en un ambiente con menos de un 2% de contenido de sal o de preferencia con una completa ausencia de sal, para proporcionar una condición óptima para las actividades de las enzimas.

50 Todavía otro objetivo de la presente invención, se refiere además del cultivo del *Aspergillus*, a la inoculación del "koji" con un cultivo de bacterias de ácido láctico. La inoculación de las bacterias de ácido láctico puede tener lugar durante la preparación del "koji" o durante la etapa de hidrólisis. Si la inoculación de las bacterias de ácido láctico tiene lugar durante la preparación del "koji", el cultivo de las bacterias de ácido láctico puede ser inoculado antes o después del cultivo del *Aspergillus*. Si la inoculación de las bacterias del ácido láctico tiene lugar durante la hidrólisis, el cultivo puede tener lugar bien al principio o bien en el medio de la hidrólisis pero de preferencia al principio.

55 Por lo tanto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición alimenticia que comprende las siguientes etapas:

- a) preparación de un "koji" fermentado mediante la inoculación de un material que contiene proteína de uno cualquiera de, o de una combinación de, gluten de trigo, gluten de arroz, gluten de maíz, o habas de soja, y un hidrato de carbono con un cultivo de *Aspergillus* sobre un lecho de cultivo para formar el "koji" fermentado;
- 60 b) preparación de un sustrato de un sólido comestible en donde el sustrato de sólido comestible es de origen vegetal o animal o una combinación de los mismos;
- c) adición de agua al "koji" fermentado de la etapa (a) y mezclado con el sustrato sólido comestible para formar una mezcla;
- d) hidrólisis de la mezcla de la etapa (c) a una temperatura predeterminada para formar un hidrolizado, sin adición de sal; y
- 65 e) procesado del producto hidrolizado en la etapa (d), en la composición alimenticia;

en donde la temperatura predeterminada para la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 45 °C y 60 °C ó entre 2 °C y 15 °C; ó en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de fermentación del "koji"; o  
 5 en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula al principio de y durante la etapa de hidrólisis; o  
 en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de hidrólisis.

10 Otro aspecto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de una composición alimenticia que comprende las etapas de:

- a) preparación de un "koji" fermentado a partir de un sustrato sólido comestible en donde el sustrato sólido comestible es de origen animal o una combinación de origen vegetal y animal, y un hidrato de carbono;
- 15 b) adición de agua al "koji" fermentado de la etapa (a) para formar una lechada;
- c) hidrólisis del "koji" fermentado de la etapa (b) a una temperatura predeterminada para formar un hidrolizado, sin adición de sal; y
- d) procesado del hidrolizado producido en la etapa (c) en la composición alimenticia;

20 en donde la temperatura predeterminada para la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 45 y 60 °C ó entre 2 °C y 15 °C; ó en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de fermentación del koji; o  
 en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula al principio de, y durante la etapa de hidrólisis; o  
 25 en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de hidrólisis.

El hidrolizado obtenido a partir del procedimiento de la presente invención puede emplearse como una base, en forma líquida, en forma de pasta o en forma de sólido para varios productos culinarios. El hidrolizado producido mediante la presente invención suele ser procesado a continuación sin prensar, en varias composiciones alimenticias en forma de una pasta, unos cubitos, un polvo o unos gránulos para cocinar.

#### Descripción detallada de las versiones preferidas

35 La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un hidrolizado de un sustrato sólido comestible. El hidrolizado de la presente invención puede ser además procesado o formulado en varias composiciones alimenticias. Particularmente, el hidrolizado preparado de acuerdo con el procedimiento de la presente invención posee una excelente textura y por lo tanto no se emplea solamente para producir condimentos líquidos sometiendo al hidrolizado a un proceso de prensado para extraer la salsa líquida sino que también puede  
 40 emplearse directamente sin prensado, para producir productos pastosos, lo cual es algo que la mayoría de los métodos convencionales son incapaces de lograr. En el método convencional, el hidrolizado se prensa normalmente para separar una salsa líquida a partir de un residuo sólido y solamente la salsa líquida es procesada más tarde en condimentos, mientras que el residuo sólido, más a menudo que lo contrario, es desechado como un desperdicio.

45 El término "composición alimenticia", como se emplea en la presente invención, se refiere a cualquier material comestible que pueda estar en forma líquida, en pasta, en forma sólida o en polvo. La composición alimenticia de la presente invención puede emplearse como un ingrediente o una base para cocinar para varias aplicaciones culinarias en la preparación de sopas, salsas, "gravies", platos, o puede añadirse a varios productos culinarios como potenciador del gusto, como aderezo, como condimento o como salsa para impartir la deliciosa de los alimentos.

50 De acuerdo con la presente invención, los hidrolizados y las composiciones alimenticias producidas a partir de los mismos, son ricos en gusto y aroma. Los mismos son excelentes en cuanto al gusto y al sabor y tienen una reducida o una completa ausencia de olor a pescado.

Por otra parte, el procedimiento de la presente invención requiere un tiempo corto de producción cuando se compara con otros métodos de fermentación convencionales. Aunque la duración del tiempo de producción se ha acortado, el procedimiento de la presente invención proporciona en realidad un mayor grado de hidrólisis y rendimiento. Esto se logra mediante la hidrólisis de un sustrato sólido comestible empleando enzimas obtenidas de un "koji" fermentado y controlando los parámetros durante la hidrólisis. Otra ventaja del procedimiento de la presente invención es que no se ha añadido sal alguna durante la hidrólisis. Las enzimas son sensibles a la sal y una alta concentración de sal inhibiría las actividades de la enzima. Un ambiente que está sustancialmente exento de sal o con una completa ausencia de sal, proporciona una condición óptima para las actividades de las enzimas. Por lo tanto, la hidrólisis de la presente invención permite una mejor hidrólisis de las proteínas puesto que las actividades de las enzimas están maximizadas.

65 Como no se añade ninguna sal al material en la hidrólisis con fines de conservación, la conservación se logra mediante el control de la temperatura de la hidrólisis a una temperatura que es desfavorable para el crecimiento de

microorganismos patógenos o indeseables. De preferencia, un cultivo de bacterias de ácido láctico puede añadirse para potenciar la hidrólisis y prevenir además el deterioro de la mezcla a través de la hidrólisis. La adición de bacterias de ácido láctico puede también eliminar la necesidad de un proceso de fermentación que normalmente requiere un período de tiempo más largo.

5 El procedimiento de la preparación de los hidrolizados y las composiciones alimenticias de acuerdo con la presente invención, puede ser efectuado en unas pocas rutas alternativas que serán descritas en detalle a continuación.

10 Una de las características importantes de la presente invención es que el hidrolizado es de un sustrato sólido combustible.

15 El término "sustrato sólido comestible", como se emplea en la presente, se refiere a un sustrato que es de origen animal o vegetal. El sustrato sólido comestible incluye cualquier carne de animal comestible, carne de pescado o carne de marisco o cualquier vegetal comestible. La carne de pescado y la carne de marisco que puede emplearse en la presente invención incluye varios pescados, los camarones, los camarones pequeños, los calamares, la sepia, las anchoas, las almejas, los mejillones, los cangrejos, las vieiras secas, las ostras secas, etc. El sustrato de origen vegetal que puede emplearse en la presente invención es cualquier vegetal entre las legumbres, las hojas, las flores, los tallos, las semillas, los frutos o cualquier otros materiales comestibles obtenidos a partir de vegetales como por ejemplo los hongos, los guisantes, las leguminosas, las cebollas, los ajos, los repollos o cualquier otro vegetal comestible.

20 El procedimiento de la presente invención permite emplear el pescado o el marisco fresco como materias primas sin eliminación de sus vísceras o sin la necesidad de efectuar cualquier paso de procedimiento previo importante, aparte del lavado y ocasionalmente el triturado.

25 Otra importante característica de la presente invención es que la enzima "koji" se emplea para la hidrólisis del sustrato sólido comestible. Existen básicamente dos caminos para preparar el "koji" fermentado para la hidrólisis en la presente invención. El "koji" puede ser preparado a partir de un material que contenga proteína, el cual comprende uno cualquiera o una combinación de, gluten de trigo, gluten de arroz, gluten de maíz o habas de soja mediante la inoculación de un material seleccionado que contenga proteína y un hidrato de carbono con un cultivo de *Aspergillus* sobre un lecho de cultivo para formar el "koji" fermentado. Alternativamente, el "koji" fermentado puede ser preparado a partir de un propio sustrato sólido comestible mediante la inoculación de un sustrato seleccionado sólido comestible con un cultivo de *Aspergillus* sobre un lecho de cultivo para formar el "koji" fermentado. Estos dos tipos de "koji" fermentado son aplicables a cualquiera de las siguientes posibles rutas en la producción de hidrolizados y/o composiciones comestibles.

30 Después de la preparación del "koji" fermentado, la hidrólisis puede empezar de acuerdo con el procedimiento de la presente invención. Un aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación del hidrolizado de un sustrato sólido comestible como se ha descrito anteriormente, mediante la mezcla del "koji" fermentado preparado a partir de un material que contiene proteínas y un hidrato de carbono con un sustrato sólido comestible e hidrolizando la mezcla resultante bajo unas condiciones predeterminadas para formar el hidrolizado. Si el "koji" fermentado empleado se prepara a partir del propio sustrato sólido comestible, el "koji" fermentado puede someterse a un proceso de hidrólisis prescindiendo del paso de mezclado.

35 De preferencia, la hidrólisis se efectúa en un ambiente con menos del 2% del contenido de sal en peso, basado, o bien sobre el peso de la mezcla del sustrato sólido comestible y el "koji" fermentado preparado a partir de un material que contiene proteína, o bien sobre el peso del "koji" fermentado preparado a partir del sustrato sólido comestible. Con más preferencia, la hidrólisis de la presente invención se efectúa en ausencia de sal.

40 La hidrólisis de la mezcla de un sustrato sólido comestible y un "koji" fermentado preparado a partir de un material que contiene proteína, crea un sabor complejo al hidrolizado al final de la hidrólisis. Por ejemplo, si se hidroliza el pescado en presencia de un "koji" fermentado preparado a partir de habas de soja, el hidrolizado producido a partir del mismo tendrá un sabor complejo de pescado y habas de soja. De forma similar, si se añade además un vegetal para la hidrólisis, el hidrolizado producido a partir del mismo tendrá un sabor incluso más complejo de pescado, habas de soja, y el vegetal.

45 Como se ha mencionado anteriormente, la hidrólisis de la presente invención se efectúa en un ambiente que está substancialmente exento de sal o que tiene una completa ausencia de sal. Por lo tanto, el crecimiento de microorganismos indeseables está restringido o inhibido mediante el control de la temperatura de la hidrólisis. De preferencia, la hidrólisis de la presente invención se efectúa a una temperatura entre 45 °C y 60 °C ó entre 2 °C y 15 °C durante un período entre 5 horas y 14 días. Estos dos intervalos de temperatura se escogen como los dos intervalos de temperatura que se oponen al crecimiento de la mayoría de microorganismos indeseables a través del período de hidrólisis. Los microorganismos poseen unos requerimientos específicos para el crecimiento, uno de los cuales es la temperatura. Cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento óptima, es decir, la temperatura a la cual el crecimiento del microorganismo está en su pico. Cada microorganismo tiene también una temperatura de crecimiento mínimo a la cual su crecimiento cesa si la temperatura cae por debajo de la misma, y

una temperatura de crecimiento máximo por encima de la cual morirá si esta temperatura es sobrepasada. El margen de temperatura puede diferir en gran manera de un microbio a otro. Generalmente, la mayor parte de los microorganismos, especialmente la mayoría de los microorganismos que pueden causar el deterioro de un alimento, son activos a una temperatura entre 20 °C y 40 °C.

En un segundo aspecto de la presente invención, además de un cultivo de *Aspergillus* en la preparación el "koji" fermentado, puede añadirse un cultivo de bacterias de ácido láctico, bien en la fermentación del "koji" o bien durante la etapa de hidrólisis. Las bacterias de ácido láctico que pueden añadirse comprenden cualquiera o una combinación de las bacterias del género del *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*.

La adición de un cultivo de bacterias de ácido láctico puede también actuar sinérgicamente con la temperatura controlada para inhibir el crecimiento de los microorganismos indeseables en la subsiguiente hidrólisis. Las bacterias de ácido láctico tienen la propiedad de producir ácido láctico a partir de la glucosa. De forma similar a la temperatura, cada microorganismo tiene un margen de pH en el cual su crecimiento es posible. Cada microorganismo tiene normalmente un nivel óptimo de pH bien definido en el cual la velocidad de crecimiento está en el máximo. La mayoría de las bacterias crecen bien a un pH neutro o ligeramente alcalino y la velocidad de crecimiento se vuelve más lenta cuando los valores del pH se vuelven más bajos o más altos. La propiedad de las bacterias del ácido láctico de producir ácido láctico a partir de la glucosa permite que el ambiente para la hidrólisis se mantengan en una condición substancialmente ácida, lo cual impide el crecimiento de los microorganismos. Las bacterias de ácido láctico se cree también que son capaces de inhibir el crecimiento de los microorganismos patógenos o indeseables a través de la producción de bacteriocinas. Las bacteriocinas son proteínas o complejos de proteína producidos por las bacterias para inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas similares o cepas bacterianas estrechamente relacionadas. Además, las bacterias de ácido láctico inhiben también el crecimiento de los microorganismos a través de la producción de otros productos metabólicos como por ejemplo el peróxido de hidrógeno, el dióxido de carbono y el diacetilo.

La adición de un cultivo de bacterias de ácido láctico da como resultado un nivel o grado más alto de liberación de aminoácidos de lo que es generalmente posible con los métodos convencionales. Las composiciones alimenticias de la presente invención tienen un contenido más alto de aminoácidos comparado con los productos actualmente disponibles en el mercado. Debido al contenido más alto de aminoácidos, las composiciones alimenticias de la presente invención tienen un cuerpo más lleno y una excelente estabilidad organoléptica. Con la presencia de bacterias de ácido láctico, los aminoácidos se transformarán en compuestos aromáticos que contribuyen en gran manera al sabor y al gusto.

El hidrolizado producido a partir de un procedimiento como se ha descrito anteriormente, puede estar también sometido más tarde a una etapa de fermentación "moromi" para formar una composición alimenticia. Por lo tanto un tercer aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento que somete el hidrolizado de la presente invención a una etapa de fermentación "moromi". Para lograr esto pueden añadirse levaduras y solución de salmuera al hidrolizado para formar un "moromi" y permitir que el "moromi" sea fermentado.

La mezcla fermentada puede ser prensada con el propósito de separar una salsa líquida de un residuo sólido. La salsa líquida extraída de esta forma se pasteuriza a continuación a una temperatura entre 90 °C y 140 °C durante un período entre 15 segundos y 30 minutos después de los cuales se filtra para dar un condimento líquido. Alternativamente, la salsa líquida puede convertirse en forma de polvo mediante la concentración de la salsa líquida, a continuación secando hasta un bajo contenido de humedad y finalmente moliendo en forma de polvo produciendo así un condimento en forma de polvo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la producción de un hidrolizado o un producto de pescado fermentado, mediante la adición de un cultivo de bacterias de ácido láctico para la hidrólisis, sin pasar a través de una fermentación "moromi". La composición alimenticia se prepara mediante un proceso similar al del proceso de preparación de un hidrolizado como se ha descrito anteriormente. Sin embargo se añade un cultivo de bacterias de ácido láctico durante la preparación del "koji" o durante la etapa de hidrólisis. El cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula a una densidad de inoculación de  $10^4$  a  $10^9$  unidades por gramo (cfu/g) formadoras de colonias, de "koji" fermentado preparado a partir de un material que contiene proteína o de un substrato sólido comestible o la mezcla de hidrólisis del substrato sólido comestible y "koji" fermentado preparado a partir de un material conteniendo proteína.

En este caso en donde un cultivo de bacterias de ácido láctico está presente durante la etapa de hidrólisis, la temperatura para la hidrólisis debe ajustarse y mantenerse entre 15 °C y 45 °C.

En otra versión de la presente invención la lechada puede estar sometida a un procedimiento de molienda húmeda durante la etapa de hidrólisis de manera que la textura del hidrolizado producido a partir del mismo es más fina en su forma y es más adecuada para ser producido en forma de un producto pastoso. La molienda en húmedo se efectúa de preferencia de una a cuatro horas después del comienzo de la hidrólisis.

Finalmente, el hidrolizado puede pasteurizarse a una temperatura entre 90 °C y 140 °C durante un período entre 15 segundos y 30 minutos. El hidrolizado pasteurizado puede ser procesado además, con o sin presión, en varias

composiciones alimenticias en forma de líquido, pasta u otras formas sólidas como por ejemplo condimentos, pastas para cocinar, cubitos, polvo o gránulos. Opcionalmente puede añadirse sal al hidrolizado antes del proceso de pasteurización para potenciar el gusto.

5 No es necesario para el procedimiento de la presente invención efectuarlo en un ambiente completamente esterilizado, y puede incluso llevarse a cabo en un ambiente no esterilizado sin el crecimiento de microorganismos indeseables que puede estropear la mezcla durante la hidrólisis.

10 La presente invención se refiere también a los productos alimenticios preparados empleando una cualquiera de las rutas anteriormente descritas.

La presente invención se ilustrará ahora todavía más mediante los ejemplos siguientes. Los ejemplos se proponen solamente para la ilustración de la descripción, y la presente invención no está de ninguna manera limitada por dichos ejemplos.

15 Ejemplo 1

20 55 kilos de habas de soja molidas desengrasadas fueron sumergidas en 70 kilos de agua a 75 °C durante 40 minutos. Las habas de soja molidas sumergidas fueron a continuación calentadas a 124 °C y mantenidas a la misma temperatura durante 10 minutos y a continuación se enfriaron por debajo de los 40 °C con aplicación del vacío. Finalmente las habas de soja molidas cocidas se mezclaron con una mezcla de 50 kilos de trigo tostado y 25 g de TKJ (inóculo de semilla de *Aspergillus oryzae*), para dar un "koji" de soja el cual se fermentó a continuación durante 42 horas. Al "koji" de soja obtenido no se añadió sal.

25 Durante las 42 horas de fermentación del "koji", los siguientes perfiles de temperatura se mantuvieron para el lecho de cultivo:

0 - 25 horas a 30 °C  
25 - 42 horas a 27 °C

30 El "koji" se mezcló a las 18 y 25 horas para asegurar un suficiente flujo de aire a través del lecho de cultivo para una buena ventilación.

35 60 kilos de "koji" fermentado se añadieron a un depósito de 250 litros con agitación y doble forro, conteniendo agua a 55 °C. El agua para el ratio "koji" se ajustó a 1,8.

El pescado fresco se lavó en primer lugar con agua para eliminar las materias extrañas. El pescado se cargó a continuación en una máquina de triturar con un tamaño de tamiz de 3 mm. Después de 15 minutos de hidrólisis del "koji", el pescado triturado se añadió a la suspensión de "koji" a un ratio pescado: "koji" de 1 : 1.

40 Después de 1 hora de hidrólisis, la mezcla se molió mediante un molino coloidal. Después de la molienda, la hidrólisis se continuó durante otras 20 horas para lograr un mayor grado de hidrólisis. Después de la hidrólisis se añadió sal al 12% m/m al hidrolizado y se mezcló homogéneamente. Esto se hizo para retrasar el crecimiento de los microorganismos. El hidrolizado se pasteurizó a 95 °C durante 15 minutos antes de ser envasado en un recipiente de plástico para el almacenamiento.

El hidrolizado resultó tener un cuerpo con una textura excelente y un perfil de sabor redondeado. El hidrolizado se formuló con otros ingredientes frescos para formar una composición alimenticia.

50 Ejemplo 2

55 50 kilos de pescado fresco se lavaron en primer lugar con agua para eliminar las materias extrañas. El pescado se cargó a continuación en un triturador con un tamaño de tamiz de 3 mm. El pescado triturado se mezcló con 50 kilos de harina de trigo tostada con un mezclador. A continuación se extrusionó la masa con el triturador de carne para formar un substrato en forma de barras cilíndricas con un diámetro de 5 mm.

60 El substrato se trató en un autoclave a 100 °C durante 20 minutos. Finalmente el substrato de pescado cocido se mezcló con 20 g de TJK (inóculo de semilla de *Aspergillus oryzae*) para dar un "koji" de pescado que a continuación se fermentó durante 42 horas mediante un procedimiento similar al empleado en un proceso de producción convencional de salsa de soja. Al "koji" contenido no se le añadió sal.

Durante las 42 horas de la fermentación del "koji", se mantuvieron los siguientes perfiles de temperatura para el lecho de cultivo:

65 0 - 25 horas a 30 °C  
25 - 42 horas a 27 °C



El "koji" se mezcló a las 18 horas y 25 horas para asegurar el suficiente flujo de aire a través del lecho de cultivo para una buena ventilación.

5            50 kilos de "koji" fermentado se añadieron a un depósito de 250 litros de doble fondo, con agitación, que contenía agua a 45 °C. El agua para el ratio "koji" se ajustó a 1,8.

Después de 1 hora de hidrólisis, la mezcla se molió en un molino coloidal. Después de la molienda, la hidrólisis se continuó durante otras 20 horas para lograr un mayor grado de hidrólisis. Después de la hidrólisis, se añadió sal al 12% m/m al hidrolizado y se mezcló homogéneamente. Esto se hizo para retrasar el crecimiento de los microorganismos. El hidrolizado se pasteurizó a 95 °C durante 15 minutos antes de ser envasado en un recipiente de plástico para el almacenamiento.

El hidrolizado tenía un cuerpo con una textura excelente y un perfil de sabor redondeado. El hidrolizado se formuló con otros ingredientes frescos para formar una composición alimenticia.

#### Ejemplo 3

Se siguió un procedimiento similar al que se ha descrito en el ejemplo 1, excepto que después de la hidrólisis a 55 °C durante 20 horas, el hidrolizado se sometió durante 2 semanas a un proceso de fermentación "moromi", después de la adición de sal (12% m/m) y un inóculo de levadura.

Finalmente, la mezcla del hidrolizado se prensó para separar una salsa de pescado de soja a partir de un residuo sólido. La salsa se trató a 90 °C durante 20 minutos. La salsa líquida se concentró por evaporación. El concentrado obtenido se secó en un horno de vacío y a continuación se molió para formar un polvo.

#### Ejemplo 4

Se siguió un procedimiento similar al que se ha descrito en el ejemplo 2, excepto que después de la hidrólisis a 55 °C durante 20 horas, el hidrolizado se sometió a un proceso de fermentación "moromi" de 4 semanas, después de la adición de sal (12% m/m) y un inóculo de levadura.

Finalmente, la mezcla hidrolizada se prensó para separar la salsa de pescado de un residuo sólido. La salsa se trató a 90 °C durante 20 minutos.

#### Ejemplo 5

Se siguió un procedimiento similar al que se ha descrito en el ejemplo 1, excepto en la duración de la hidrólisis a 55 °C, la cual se acortó a 8 horas. Después de lo cual, la temperatura de la hidrólisis se disminuyó a 35 °C. Se añadió 1 kilo del cultivo de caldo de Lactobacillus sake cuando la temperatura del hidrolizado alcanzó los 35 °C. La hidrólisis se continuó durante otras 12 horas a 35 °C antes de la adición de sal (12% m/m) y pasteurización a 95 °C durante 20 minutos.

#### Ejemplo 6

Se siguió un procedimiento similar al que se ha descrito en el ejemplo 1, excepto que se añadió 1 kilo del cultivo de caldo de Lactobacillus sake a la soja cocida después de enfriar a 38 °C y al inicio de la fermentación del "koji".

En lugar de hidrolizar a 45 °C, la hidrólisis del "koji" de soja inoculado con Lactobacillus sake y el sustrato de pescado, se ajustó a una temperatura de 30 °C.

#### Ejemplo 7

Se siguió un procedimiento similar al que se ha descrito en el ejemplo 1, excepto que el pescado fresco triturado se reemplazó por anchoas secas. El ratio de anchoas secas a "koji" fue de 0,5 y el ratio del agua a "koji" fue de 2,5.

El hidrolizado mostró tener un cuerpo de excelente textura y un perfil de sabor redondeado. El hidrolizado se formuló con azúcar, especias, etc. para formar una composición alimenticia.

60

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de una composición alimenticia que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) preparación de un "koji" fermentado mediante la inoculación de un material que contiene proteína que comprende uno cualquiera o una combinación de, gluten de trigo, gluten de arroz, gluten de maíz o habas de soja y un hidrato de carbono con un cultivo de *Aspergillus* sobre un lecho de cultivo para formar el "koji" fermentado;
- 10 b) preparación de un sustrato sólido comestible en donde el sustrato sólido comestible es de origen vegetal o animal o una combinación de los mismos;
- c) adición de agua al "koji" fermentado de la etapa (a) y mezclado con el sustrato sólido comestible para formar una mezcla;
- 15 d) hidrólisis de la mezcla de la etapa (c) a una temperatura predeterminada para formar un hidrolizado, sin adición de sal; y
- e) procesado del hidrolizado producido en la etapa (d) en la composición alimenticia;

en donde la temperatura predeterminada para la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 45 °C y 60 °C ó entre 2 °C y 15 °C; ó

20 en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias del ácido láctico se inocula durante la etapa de fermentación del "koji"; ó en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias del ácido láctico se inocula al principio y durante la etapa de hidrólisis; ó en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de hidrólisis.

25 2. Un procedimiento para la preparación de una composición alimenticia que comprende las etapas de:

- 30 a) preparación de un "koji" fermentado a partir de un sustrato sólido comestible, en donde el sustrato sólido comestible es de origen animal o una combinación de origen vegetal y de origen animal, y un hidrato de carbono;
- b) adición de agua al "koji" fermentado de la etapa (a) para formar una lechada;
- c) hidrólisis del "koji" fermentado de la etapa (b) a una temperatura predeterminada para formar un hidrolizado, sin adición de sal; y
- 35 d) procesado del hidrolizado producido en la etapa (c) en la composición alimenticia;

en donde la temperatura predeterminada para la etapa de la hidrólisis es una temperatura entre 45 °C y 60 °C ó entre 2 °C y 15 °C; ó

40 en donde la temperatura predeterminada para la etapa de la hidrólisis es una temperatura entre 15°C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de fermentación del "koji"; ó en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula al principio de y durante la etapa de la hidrólisis; o en donde la temperatura predeterminada de la etapa de hidrólisis es una temperatura entre 15 °C y 45 °C, si un cultivo de bacterias de ácido láctico se inocula durante la etapa de la hidrólisis.

45 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el sustrato sólido comestible de origen animal incluye carne animal, carne de pescado o carne de marisco.

4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde el sustrato sólido comestible de origen vegetal comprende verduras, legumbres, hojas, flores, tallos, semillas o frutos de un vegetal, como por ejemplo, los hongos, los guisantes, las leguminosas, las cebollas, los ajos o los repollos.

5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la inoculación con un cultivo de bacterias de ácido láctico se efectúa durante la etapa de fermentación del "koji".

55 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la inoculación con un cultivo de bacterias de ácido láctico se efectúa al principio de o durante la etapa de hidrólisis.

7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la hidrólisis se efectúa en un ambiente con menos de un 2% de contenido de sal en peso con respecto al peso de la mezcla de sustrato sólido comestible y "koji" fermentado preparado a partir de un material que contiene proteína, o con respecto al peso del "koji" fermentado preparado a partir de un sustrato sólido comestible.

60 8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde el procedimiento comprende además una etapa para someter la mezcla de hidrólisis a un procedimiento de molienda en húmedo durante la etapa de hidrólisis.

65

9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde el hidrolizado se pasteuriza a una temperatura entre 90 °C y 140 °C durante un período entre 15 segundos y 30 minutos.
- 5 10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el hidrolizado pasteurizado puede ser además procesado, sin presión, en varias composiciones alimenticias en forma de una pasta, unos cubitos, un polvo o unos gránulos, para cocinar.
- 10 11. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde el procedimiento comprende además las etapas de:
- adición de solución de salmuera y levadura al hidrolizado producido en la etapa de hidrólisis para formar un "moromi"; y
  - fermentación del "moromi" para formar la composición alimenticia.
- 15 12. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la composición alimenticia se prensa para separar una salsa líquida de un residuo sólido.
- 20 13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la salsa líquida se obtiene en forma de un polvo mediante concentración, a continuación se seca en un horno al vacío y finalmente se muele en un polvo para dar un condimento sólido.
14. Un producto alimenticio preparado a partir de un procedimiento en cualquiera de las precedentes reivindicaciones.