

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 765**

51 Int. Cl.:

**A23L 27/00** (2006.01)  
**A23L 27/10** (2006.01)  
**A23L 27/22** (2006.01)  
**A23L 27/23** (2006.01)  
**A23L 27/24** (2006.01)  
**C12P 13/14** (2006.01)  
**C12P 19/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.03.2010 PCT/EP2010/053735**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.09.2010 WO2010108901**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.03.2010 E 10709739 (6)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2410876**

54 Título: **Base de sabor para la intensificación del gusto natural y proceso para su obtención**

30 Prioridad:  
**25.03.2009 WO PCT/EP2009/053530**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.04.2017**

73 Titular/es:  
**NESTEC S.A. (100.0%)  
 Avenue Nestlé 55  
 1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:  
**PALZER, STEPHAN;  
 NIKOLIC, DAVID;  
 BERENDS, PIETER;  
 HO, DAC THANG;  
 FLEURY REY, YVETTE;  
 ULMER, HELGE;  
 SCHOPP, SILKE;  
 APPEL, DANIEL SEBASTIAN y  
 RAAB, THOMAS**

74 Agente/Representante:  
**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 609 765 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).

## DESCRIPCIÓN

Base de sabor para la intensificación del gusto natural y proceso para su obtención

5 La presente invención se refiere a una base de sabor para la intensificación del gusto natural, estable al almacenado, y a un proceso para su fabricación.

10 En la patente GB 1107693 ya se describe un proceso para la fabricación de aliños, aderezos o condimentos a partir de microorganismos. Esta invención se refiere a un proceso en el que se desecha el caldo o bien dicho proceso no es natural. Según los ejemplos 1, 2, 5, 6 y 7 de esta patente se desecha el caldo líquido y se trabaja con las bolas o perdigones (pellets) de las células. Según los ejemplos 3 y 4 de esta patente, el proceso no sigue un curso natural, sino que se emplean productos químicos, se siguen procesando las células y el caldo líquido, se separa sustancialmente el ácido glutámico (principal producto de la fermentación) y se lleva a cabo un tratamiento con NaOH, bicarbonato sódico, HCl, enzimas y resinas adsorbentes. En la patente US nº 6'838'100 se describe un proceso para la  
15 fabricación del cultivo de una base de sabor, que consiste en hidrolizar un material que contiene una proteína durante un tiempo suficiente para preparar el material de sabor, empleando para ello una combinación por lo menos de una enzima con por lo menos una cepa de bacteria de ácido láctico tolerante de la temperatura, elegida en función de su capacidad para proporcionar la actividad de glutaminasa (de tal manera que la base mantenga la actividad de glutaminasa) con el fin de proporcionar ácido glutámico o glutamato a la base en una cantidad suficiente para intensificar la textura y el gusto. El sabor "umami" (quinto sabor agradable después de dulce, salado, ácido y amargo) obtenido aplicando este procedimiento no es lo suficientemente intenso. Por lo tanto es necesario añadir a estas preparaciones el MSG (glutamato monosódico) purificado y nucleótidos (IMP: monofosfato de inosina y GMP: monofosfato de guanosina) o extractos de levadura. El problema tal procedimiento consiste en que no es natural o en que la presencia de extracto de levadura confiere un sabor a levadura al producto final.

25 En la patente EP 2042043 se describe un cultivo de una base de sabor con un mayor poder "umami", que contiene: hasta un 80 % de compuestos de origen natural pertenecientes al grupo formado por el glutamato, el IMP y el GMP, compuestos derivados de modo natural de alimentos, por ejemplo ácidos orgánicos, aminoácidos, péptidos y compuestos aromáticos. La patente EP 2042043 es un antecedente según el Art. 54(3) de la EPC.

30 Es, pues, objeto de la presente invención proporcionar una composición alimentaria natural que sea útil para aportar de modo fácil y conveniente un sabor "umami" más intenso a las preparaciones alimentarias sin emplear aditivos y sin el inconveniente del sabor posterior a levadura. La idea básica, en la que se apoya la presente invención, consiste en aportar una base de sabor que intensifique el gusto en cualquier forma estable al almacenado y/o concentrada y que pueda emplearse para sazonar comidas y cualquier tipo de comida sabrosa (picante).

35 La presente invención se refiere a una base de sabor que intensifica el gusto, que consta de:

40 - entre el 8 y el 80 % de compuestos derivados de modo natural elegidos entre el grupo formado por el glutamato, el IMP y el GMP,  
- compuestos derivados de alimentos de origen natural, por ejemplo ácidos orgánicos o sus sales, aminoácidos, péptidos y compuestos aromáticos,

45 dicha base se obtiene por fermentación bacteriana con una bacteria elegida entre el grupo formado por el *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Brevibacterium glutamicum*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium casei*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium efficiens* y *Bacillus subtilis*

50 dicha bacteria empleada para la fermentación puede separarse o no del caldo de la fermentación y dicha base no se purifica.

Además, la bacteria empleada para la fermentación puede retirarse o no del caldo de la fermentación.

55 Según la invención, todos los componentes recién mencionados (glutamato, IMP, GMP, los compuestos derivados de alimentos de modo natural) son de origen natural porque de las materias primas empleadas para el proceso de la presente descripción, se ha definido el glutamato, el IMP y el GMP, derivados de modo natural como compuestos obtenidos por el método siguiente:

- fermentación sin purificación durante el proceso posterior o

60 En la presente descripción, sin purificaciones indica que ningún compuesto del caldo de fermentación se ha cristalizado, que no se ha empleado producto químico alguno antes del secado y que no se ha efectuado ninguna técnica separativa cromatográfica. La separación de las células no debe entenderse como una purificación.

Se entiende por glutamato los aniones glutamato en combinación con cualquier tipo de cationes y/o el ácido glutámico libre. Con preferencia, estos cationes son los cationes sodio o potasio. Se entiende por compuestos aromáticos los compuestos volátiles, por ejemplo la trimetilpirazina, el ácido acético o el ácido propiónico.

5 Todos los porcentajes se indican en peso y se refieren a la materia seca.

Según una forma de ejecución de la invención, la base contiene entre el 8 y el 80 % de compuestos derivados de modo natural elegidos entre el grupo formado por el glutamato, el IMP y el GMP. De modo más específico, la base contiene entre el 5 y el 70 % de IMP y/o de GMP derivados de modo natural y entre el 7 y el 70 % de glutamato.

10 Es posible según la invención producir una base de sabor solamente con glutamato, o con IMP y/o con GMP o cualquier combinación. Se entiende por "solamente" que en la base pueden estar presentes también niveles bajos, de hasta el 2%, de IMP y/o de GMP o bien de glutamato, respectivamente. En el primer caso, la cantidad de glutamato está comprendida entre el 5 y el 70 %. Con preferencia, la cantidad de glutamato está comprendida entre el 10 y el 65 %, con preferencia especial entre el 30 y el 65 %. En el segundo caso, el contenido de IMP y/o de GMP está comprendido entre el 15 y el 70 %, con preferencia entre el 30 y el 50 %. Cuando están presentes el glutamato, el IMP y/o el GMP, entonces la cantidad total varía entre el 8 y el 80 %, con preferencia entre el 20 y el 60 %, con preferencia especial entre el 30 y el 50 %.

20 La base de sabor cultivada que intensifica el gusto contiene además:

- azúcares y
- macromoléculas.

25 Se entiende por macromoléculas los polisacáridos, las proteínas y las grasas.

El tipo de azúcar a emplear según la presente invención no es crítico. Estos azúcares pueden ser de cualquier tipo conocido en la técnica.

30 Según una forma de ejecución de la invención, la cantidad de glutamato, IMP y/o GMP naturales está comprendida entre el 10 y el 80 %. Con preferencia, esta cantidad está comprendida entre el 10 y el 60 %.

35 Una característica importante de la invención consiste en que la base de sabor se produce de manera natural. Los componentes activos de gusto de la base de sabor, por ejemplo el ácido glutámico, el IMP y el GMP, son de origen natural, ya que no se han purificado del caldo de fermentación por procesos posteriores. Se entiende por purificación la cristalización y los métodos cromatográficos, por ejemplo la cromatografía de intercambio iónico, la cromatografía de interacción hidrófoba, la cromatografía de exclusión de tamaños, la cromatografía de afinidad, la cromatografía de adsorción, etc. Para determinar el origen natural de los diferentes componentes de la composición pueden aplicarse diferentes técnicas.

40 En la base de sabor final pueden estar presentes cantidades del orden de trazas de fragmentos de RNA o de DNA del procarionte empleado para el proceso de fermentación. Estas moléculas pueden aislarse por amplificación aplicando la técnica PCR (polymerase chain reaction), que permite identificar el tipo de microorganismo empleado para la fermentación. En cambio es muy improbable la presencia de moléculas de RNA o de DNA después de someter el caldo de fermentación a las técnicas de purificación de tipo cristalización o separación cromatográfica.

45 Una segunda técnica para comprobar el origen natural de los componentes activos del gusto es la identificación de péptidos y/o proteínas presentes en la base de sabor, que tienen su origen en el microorganismo empleado para la fermentación. La identificación puede realizarse por técnicas de espectrometría de masas como son la CL-EM/EM o MALDI-TOF/TOF. El cotejo con bases de datos de proteínas permite concluir que cuál es el tipo de organismo que se ha empleado para la fermentación. Sin embargo, las técnicas de purificación como la cristalización conducirán a la separación de péptidos y proteínas de las moléculas activas en el gusto, como son el ácido glutámico, el IMP o el GMP.

50 La base de sabor tiene una composición muy compleja. Aparte del glutamato y/o el IMP y/o el GMP contiene otros compuestos de tipo ácidos orgánicos, sales, aminoácidos, péptidos, polisacáridos. Estos compuestos se perderían durante un proceso de purificación por cristalización y también durante la purificación cromatográfica.

55 La base de sabor proporciona características sensoriales mejoradas de "umami", que se aportan de manera natural.

60 Todos los porcentajes de la presente descripción se expresan en peso.

65 Los ácidos orgánicos son principalmente el ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético y ácido málico. La cantidad de lactato está comprendida entre el 0,01 y el 8 %, la del acetato entre el 0,01 y el 6 % y la del citrato entre el 0,01 y el 8 %.

Los aminoácidos son principalmente la alanina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutámico, glicina, leucina, lisina, metionina, triptófano o valina.

5 Los péptidos son dipéptidos, tripéptidos o polipéptidos.

Además, el glutamato es no es un MSG añadido, sino glutamato natural, presente en la base de la manera de obtener un auxiliar de cocción. La cantidad de glutamato está comprendida entre el 0,01 y el 70 %. La cantidad de IMP y/o GMP está comprendida entre el 0,01 y el 70 %.

10 El NaCl está también presente en el auxiliar de cocción según esta invención. La sal puede estar presente de modo natural pero también puede añadirse, en función del tipo de proceso y de la versión adoptada. La cantidad de sal puede variar dentro de amplios márgenes.

15 El auxiliar de cocción contiene además entre el 0 y el 20 % de polisacáridos. Estos polisacáridos se eligen entre el grupo formado por celulosa derivada, pectina, goma de algarroba, almidón, solos o en combinación.

20 El auxiliar de cocción estable al almacenado contiene además del 0 al 70 % de proteínas. Estas proteínas se eligen entre el grupo formado por el colágeno, la gelatina, la miosina, la actina, las proteínas de la leche, las proteínas vegetales, las proteínas de la carne o del pescado, solos o en combinación. Son también posibles otros tipos de proteínas.

25 Finalmente, la base de sabor de intensificación del gusto contiene también por lo menos un hidrato de carbono elegido entre el grupo formado por la glucosa, fructosa, ramnosa, manosa, trehalosa, sorbita, glicerina, maltodextrinas, solas o en combinación. Son también posibles otros hidratos de carbono.

Otra característica de la invención es la baja cantidad de grasa, que está comprendida entre el 0 y 15 %. Más en particular, el auxiliar de cocción tiene un componente ácido graso comprendido entre el 0 y el 3,2 %.

30 Pueden considerarse diferentes formas de presentación para el producto de la invención. Es posible disponer de la composición en cualquier forma física, por ejemplo cubos (terrones), polvo, pasta, concentrado, granulado o líquido.

Se han identificado los rasgos organolépticos típicos que describen el carácter delicioso del gusto "umami" según un grupo de personas entrenadas, que se recogen en la lista siguiente:

- 35
- difusión rápida: corresponde a la primera sensación que el consumir experimenta en toda la boca,
  - nota completa: corresponde a los niveles bien equilibrados, apropiados, de todas las notas de sabor que desembozan en una sensación de gusto en la boca favorable y completa,
  - suavidad: corresponde al recubrimiento suave de la lengua,
  - 40 - salivación: este corresponda a la intensidad de salivación que el producto genera inmediatamente después del consumo,
  - retención: esta es una sensación posterior al consumo, que el producto deja en la boca.

45 Se han identificado los cinco rasgos descriptivos que se emplean para caracterizar y jerarquizar los diferentes productos que se fabrican con diferentes ingredientes empleados en concentraciones diferentes.

50 Téngase en cuenta que muchos rasgos descriptivos se refieren a características organolépticas, que guardan relación no solo con el gusto sino también con un efecto textural. Por ejemplo, la retención se refiere a una posible interacción prolongada de los componentes de los caldos con la mucosa bucal y el epitelio de la lengua, en los que están situadas las papilas gustativas. Por lo tanto, uno puede notar que el carácter delicioso en el sentido en el que se entiende en el contexto de la presente invención indica una sensación que va más allá del gusto propiamente dicho. El carácter delicioso puede calificarse, pues, como interacción entre el gusto y la ocupación del interior de la boca, gracias a un efecto textural importante o por lo menos no despreciable.

55 Hay dos maneras diferentes de emplear el auxiliar de cocción de la invención. En el caso de los dados (terrones), la pasta o el polvo, es posible añadir el auxiliar de cocción a la comida o sobre la comida, en una cantidad que dependerá del gusto deseado por el consumidor. Normalmente el auxiliar de cocción se añade o se mezcla con la comida en una cantidad comprendida entre el 0,01 el 10 %, porcentajes referidos al peso total de la comida.

60 Según otra característica, la invención se refiere a un método para conferir y/o intensificar el gusto de una comida mediante la adición de una base de sabor natural según la invención a dicha comida en una cantidad comprendida entre el 0,01 y el 50 %, porcentajes referidos al peso total de la comida.

65 Según otra característica, la invención se refiere a un proceso para la fabricación de una base de sabor que intensifica el gusto, descrita en párrafos anteriores, que consiste en el paso de proceso descrito a continuación:

- la fermentación sobre el sustrato empleando una cepa de *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium casei*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium efficiens* y *Bacillus subtilis*.

5 Según una forma de ejecución del proceso de la invención puede llevarse a cabo la separación de las células o de los escombros celulares por filtración y/o centrifugación, lo cual conduce a un caldo libre de células. Es posible también mezclar el caldo con un hidrolizado natural en una proporción comprendida entre el 0 y el 99 %.

10 La fermentación se lleva a cabo para obtener la cantidad requerida de glutamato, que después se mezcla con el producto obtenido por el proceso objeto de la patente US nº 6'838'100 ya mencionada al principio de esta descripción: es decir, un producto obtenido por hidrólisis de un material que contiene proteínas empleando una combinación por lo menos de una enzima y por lo menos una cepa de bacteria de ácido láctico tolerante del calor, elegida en función de su capacidad de proporcionar la actividad de glutaminasa. En este proceso, la enzima es una exo- o una endo-proteasa, desaminasa, carbohidrasa o amiloglucosidasa.

15 Según este tipo de procedimiento, la fermentación se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 25 y 40 °C, a un pH comprendido entre 5 y 9 y durante un período de tiempo comprendido entre 20 y 72 horas.

20 Según otra característica de la invención, el proceso está más dirigido a aumentar el contenido de IMP y de GMP. En este caso, el proceso es el mismo que antes, pero con otros parámetros en lo que respecta al procedimiento de la reacción.

Igual que antes, el hidrolizado natural es el producto obtenido con arreglo a la patente US nº 6'838'100.

25 En el caso de aumentar el contenido de IMP y de GMP, la fermentación se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 25 y 40 °C, a un pH comprendido entre 5 y 9 y durante un período de tiempo comprendido entre 3 y 9 días.

30 Está claro que actuando con arreglo al proceso para obtener más glutamato, hay también presencia de nucleótidos y viceversa para el proceso destinado a aumentar el contenido de nucleótidos.

35 En ambos procesos recién mencionados, antes del mezclado con el hidrolizado natural es posible también pulverizar o secar el caldo con vacío sobre cinta y convertirlo en cualquier otra forma física, por ejemplo polvo, pasta, cubos (terrones).

40 El sustrato es con preferencia un sustrato natural. Este sustrato natural es una fuente de carbono o nitrógeno de cualquier tipo, con la condición de que sea utilizable para la cepa empleada. Como fuente de carbono pueden emplearse por separado o en combinación de dos o más los siguientes: monosacáridos o oligosacáridos, por ejemplo glucosa, fructosa, manosa, trehalosa, sucrosa, maltosa, hidrolizado enzimático de almidón, melaza. Como fuente de nitrógeno pueden emplearse por separado o en combinación de dos o más los siguientes: amoníaco, urea, sales de amonio, por ejemplo sulfato amónico, aminoácidos, péptidos, proteínas, extracto de levadura, licor de maceración de maíz, hidrolizado enzimático de material vegetal o almidón, productos cárnicos o de pescado. Pueden añadirse también nutrientes: estos nutrientes son por ejemplo fosfatos, minerales o vitaminas.

45 El material vegetal puede elegirse entre el grupo formado por el trigo, el maíz, la tapioca (mandioca) y el centeno.

El almidón tratado enzimáticamente es el almidón de una de las plantas recién mencionadas.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención con mayor detalle.

50 Ejemplo 1 (glutamato)

Se mezcla la glucosa derivada enzimáticamente con otros sustratos necesarios para el crecimiento de un microorganismo.

55 Se inocula la mezcla a una concentración bastante alta de células de un microorganismo perteneciente al género del *Corynebacterium glutamicum*.

La fermentación se lleva a cabo a una temperatura de 40 °C, a un pH comprendido entre 6 y 7 durante 24 horas.

60 Durante la fermentación con estos parámetros se excretan ácidos como producto secundario natural del proceso de fermentación.

65 Se inactivan las células con un tratamiento térmico y después se separan por medios físicos del medio de fermentación, mientras que los ácidos derivados de modo natural permanecen en el caldo.

Se retiran las células separación, se concentra el líquido filtrado resultante y se seca por atomización.

5 El polvo obtenido tiene un contenido de glutamato monosódico (MSG) del 11 %, un contenido de lactato del 0,90 %, un contenido de acetato del 0,20 % y un contenido de citrato del 9,0 %.

Ejemplo 2 (ribonucleótidos)

10 Se prepara un sustrato de igual modo que en el ejemplo 1 y se inicia la fermentación con una inoculación de *Corynebacterium ammoniagenes* igual que en el ejemplo 1.

15 La fermentación se lleva a cabo a 30°C, a un pH comprendido entre 6 y 8 durante 6 días. Durante la fermentación con estos parámetros se excretan nucleótidos tales como el IMP y/o el GMP como producto secundario natural del proceso de fermentación.

Se sigue procesando el caldo de fermentación caldo de la misma manera que en el ejemplo 1.

20 El polvo obtenido tiene un contenido de MSG del 0,5 %, un contenido de IMP del 6,2 %, un contenido de GMP del 0,3 % y un contenido de acetato del 3,70 %.

Ejemplo 3

25 Los productos con componentes derivados de modo natural, obtenidos en los ejemplo 1 y 2, se mezclan entre sí antes y/o después del proceso de secado. Se mezclan los productos del ejemplo 1 y ejemplo 2 con un hidrolizado natural con el fin de obtener la mejor relación de un gusto "umami" intenso sin sabor agrio para ciertas aplicaciones, p. ej. en sopas.

30 El hidrolizado natural sirve de base y se añade en una cantidad de hasta el 50 %. Este hidrolizado se mezcla con un 25 % de producto del ejemplo 1 y un 25% de producto del ejemplo 2. Se aplica el producto ya mezclado en productos culinarios en una cantidad que depende del tipo de aplicación. Por ejemplo, en el caso de una sopa, se añade el producto antes mencionado en una cantidad de aprox. el 2 % y en el caso de las salsas, se añade en una cantidad de aprox. el 20 %. El gusto "umami" resultante de la aplicación del producto recién descrito es más intenso que cuando se aplica cualquier otro intensificador de gusto comercial o artificial disponible.

35 Ejemplo 4

Se mezclan entre sí los productos de los ejemplos 1 y ejemplos 2 antes y/o después del proceso de secado.

40 Se somete el polvo de la mezcla a un análisis por CG-EM para determinar los compuestos aromáticos activos. Para ello se efectúa una microextracción en fase sólida (SPME) y se inyecta una muestra en el espacio de cabeza.

Están presentes los compuestos siguientes: trimetilpirazina, ácido acético, ácido propiónico.

45 Ejemplo 5

Una evaluación sensorial de la aplicación de una mezcla de de los polvos descritos en los ejemplos 1 y 2 a un producto culinario arroja el resultado siguiente: la intensidad del gusto "umami" es mayor que cuando se emplea la misma cantidad en peso de MSG puro.

50

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso de fabricación de una base de sabor que intensifica el gusto, dicha base contiene:
- 5 - entre el 8 y el 80 % de compuestos derivados de modo natural elegidos entre el grupo formado por el glutamato, monofosfato de inosina (IMP) y el monofosfato de guanosina (GMP),  
- compuestos derivados de alimentos de modo natural, por ejemplo ácidos orgánicos y sus sales, aminoácidos, péptidos y compuestos aromáticos,
- 10 que consiste en el siguiente paso de proceso:
- la fermentación sobre un sustrato empleando un microorganismo del género elegido entre el grupo formado por el *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium efficiens* y *Bacillus subtilis*;
- 15 y dicha base no se purifica, lo cual significa que no se cristaliza ningún compuesto del caldo de fermentación ni se emplean productos químicos para la purificación antes del secado ni se lleva a cabo ninguna técnica cromatográfica de separación y que la separación de las células no deberá entenderse como una purificación.
- 20 2. Un proceso según la reivindicación 1, en el que la fermentación se lleva a cabo a una temperatura entre 25 y 40 °C, a un pH entre 5 y 9 y durante un período de tiempo de 20 a 72 horas.
3. Un proceso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el sustrato se obtiene por hidrólisis enzimática de un material vegetal o por hidrólisis enzimática del almidón.
- 25 4. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 3, en el que los aminoácidos son la alanina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutámico, glicina, leucina, lisina, metionina, triptófano o valina.
- 30 5. Un proceso según una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 4, en el que los ácidos orgánicos son el ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético o ácido málico.