



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 613 865

51 Int. Cl.:

A23F 3/40 (2006.01) A23F 3/16 (2006.01) A23F 3/14 (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 17.03.2009 PCT/JP2009/055188

(87) Fecha y número de publicación internacional: 24.09.2009 WO2009116538

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 17.03.2009 E 09723566 (7)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 18.01.2017 EP 2266415

(54) Título: Agente mejorador del gusto y bebida de té que contiene el mismo

(30) Prioridad:

17.03.2008 JP 2008068184

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **26.05.2017** 

(73) Titular/es:

SUNTORY BEVERAGE & FOOD LIMITED (100.0%) 3-1-1, Kyobashi Chuo-ku, Tokyo 104-0031, JP

(72) Inventor/es:

FURUTA, HIROKI y MAKI, HIDEKI

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

## **DESCRIPCIÓN**

Agente mejorador del gusto y bebida de té que contiene el mismo

#### 5 Campo de la técnica

La presente invención se refiere a la mejora del sabor de las bebidas de té. En particular, la presente invención se refiere a la mejora en el sabor de las bebidas de té utilizando como ingrediente activo de gliceroglicolípido que puede estar contenido en un extracto disolvente de hojas de té.

#### Técnica anterior

10

15

35

40

50

En los últimos años se han desarrollado y vendido muchas bebidas de té envasadas en recipientes tales como latas y botellas de PET. El mercado de las bebidas de té, especialmente las bebidas de té verde, se ha expandido. Los consumidores han mostrado una preferencia creciente por tales bebidas de té, y hay demandas para el desarrollo de una bebida de té verde envasada que tenga umami y kokumi más fuertes, mientras tenga un sabor astringente moderado, similar a una bebida de té preparada con hojas té de alta calidad que tienen un alto contenido total de nitrógeno, tal como Gyokuro y Shincha, en una tetera.

20 Con respecto a las bebidas de té, se divulga que las hojas de té que contienen una gran cantidad de aminoácidos, tales como teanina, se seleccionan para producir bebidas de té (Documento de patente 1). También se divulga un método para producir esencia de tés con umami y kokumi fuertes haciendo que la proteasa actúe sobre materias primas de tés para hidrolizar la proteína contenida en las materias primas de los tés, de modo que se liberan aminoácidos, que son fuentes de umami, tales como ácido glutámico (documentos de patente 2 y 3). También se 25 divulga que un extracto de té se disuelve en un disolvente que tiene una alta polaridad y la mezcla resultante se somete a HPLC para obtener una fracción después de un tiempo de retención de 25-50 minutos, fracción que puede usarse como agente potenciador del sabor para potenciar el umami y kokumi de alimentos y bebidas (Documento de patente 4). También se divulga un método para obtener una bebida de té con excelente aroma y sabor nutritivo, que comprende extraer en agua o agua templada un extracto de té en polvo fino y someter la solución del extracto resultante a separación centrífuga para separar y eliminar componentes de partículas grandes procedentes del té en polvo fino (documento de patente 5) y un método para obtener una bebida de té verde con un sabor rico y profundo, que comprende retirar partículas finas de una solución de un extracto de té verde para preparar una solución transparente del extracto de té verde y añadir un polvo de té verde a la solución transparente (Documento de patente 6).

Con respecto a los componentes macromoleculares contenidos en un extracto disolvente de té, se comunica que los polisacáridos de té obtenidos a partir de un extracto de té en agua o agua caliente mediante el uso de una membrana de ultrafiltración que tiene un corte de peso molecular de al menos 400.000 pueden evitar la absorción de excesiva de lípidos de las comidas (Documento de patente 7). En cuanto a las macromoléculas solubles en agua procedentes de hojas de té y similares, se propone una bebida que contiene no epicatequinas, epicatequinas y macromoléculas solubles en agua como bebida con un gusto amargo y astringente de las catequinas (Documento de patente 8).

El gliceroglicolípido es conocido como componente que es producido por microorganismos (Documentos de patente 9 y 10). gliceroglicolípido también se conoce como componente que está contenido en una amplia variedad de fracciones de membrana de plantas que incluyen té (Documento no de patente 1). En los últimos años se han descubierto diversas actividades fisiológicas del gliceroglicolípido y se ha intentado establecer un método mediante el cual se puede producir gliceroglicolípido para su uso como base de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos de manera eficiente y económica a partir de productos naturales seguros (Documento de patente 11).

Documento de patente 1: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2002-238458 (Tokukai 2002-238458)

Documento de patente 2: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2003-144049 (Tokukai 2003-144049)

Documento de patente 3: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2006-61125 (Tokukai 2006-61125)

Documento de patente 4: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2005-137286 (Tokukai 2005-137286)

Documento de patente 5: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 11-276074 (Tokukaihei 11-276074) Documento de patente 6: patente japonesa N.º 2981137

Documento de patente 7: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2005-176743 (Tokukai 2005-176743)

Documento de patente 8: patente japonesa N.º 3360073

Documento de patente 9: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2001-247593 (Tokukai 2001-247593)

Documento de patente 10: patente japonesa N.º 3796539

Documento de patente 11: Publicación de patente japonesa no examinada N.º 2005-343814 (Tokukai 2005-

343814)

15

20

25

30

40

45

50

55

#### Divulgación de la invención

#### Medios para resolver problemas

El té elaborado en una tetera se consume generalmente mientras está caliente, por lo que se puede notar el aroma fuerte del té con vapor, con sensaciones del gusto moderado astringente, umami y kokumi. Sin embargo, una bebida de té envasada en un recipiente, especialmente un recipiente transparente tal como una botella de PET y una botella de vidrio, se produce mediante un proceso que incluye la eliminación de partículas de las hojas de té y trozos finos de tejido de las hojas de té de una solución de extracto de las hojas de té para evitar precipitados durante el almacenamiento y a menudo se consume a una temperatura ambiente o inferior (por ejemplo, temperatura de refrigeración). Por lo tanto, tal bebida de té no es satisfactoria en términos de la palatabilidad característica del té (gusto, preferencia) y tiene las desventajas de tener kokumi y umami de té insuficientes para ser fino y acuoso, con falta de armonía entre kokumi, umami y amargor, gusto astringente de las catequinas.

Los presentes inventores intentaron separar una fracción que sirve como componente kokumi de las bebidas de té. En consecuencia, los presentes inventores encontraron que un componente o componentes que tienen una correlación con kokumi estaban contenidos en una fracción que contiene macromoléculas solubles que podría estar contenida en un extracto de té en particular, que contenía una macromolécula o macromoléculas que tenía un peso de al menos 300.000 y se detectó por absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel. Los presentes inventores revelaron que la fracción que contenía macromoléculas solubles no estaba contenida en un extracto de hojas de té comunes en agua o agua caliente, sino que estaba presente en un extracto disolvente de hojas de té que tenían paredes celulares rotas, tales como hojas de té molidas finamente con un molino de piedras.

La fracción que contiene macromolécula soluble que contiene macromolécula o macromoléculas que tienen un peso de al menos 300.000 detectado por absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel se fraccionó adicionalmente para buscar un componente o componentes eficaces para mejorar el kokumi; en consecuencia, se identificaron gliceroglicolípidos. Además, se descubrió que una bebida de té que se ajustó para que contuviera al menos 0,30 µg/ml (equivalente de pigmento) de una fracción que contiene macromoléculas solubles que contenía una macromolécula o macromoléculas que tienen un peso molecular de al menos 300.000 y que se detectó por absorción a 400 nm, es decir, al menos 1,0 µg/ml de gliceroglicolípidos, tenían kokumi y riqueza fuertes. Con los hallazgos anteriores se realizó la presente invención.

35 Específicamente, la presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

### Ventajas de la invención

La presente invención hace posible producir bebidas de té mejoradas en kokumi.

Una fracción que contiene macromoléculas solubles, es decir, gliceroglicolípido, contenidas en un agente de la presente invención para mejorar el gusto de una bebida de té es un componente que está contenido en hojas de té de alta calidad en una cantidad muy pequeña. Una bebida de té que contiene el agente mejorador del gusto se proporciona como una bebida de té de lujo que tiene una dulzura natural sólida de té de alta calidad, incluso cuando se consume a temperatura ambiente o inferior, específicamente a una temperatura de refrigeración (aproximadamente 0-20 °C).

El agente de la presente invención para mejorar el gusto de las bebidas de té es una fracción que contiene macromoléculas solubles procedentes de hojas de té; por lo tanto, el agente se puede añadir a las bebidas de té de modo que se mejoren el umami y el kokumi (especialmente el kokumi) sin causar ningún problema de gusto extraño o sensación extraña en la garganta.

La presente invención proporciona además una bebida de té que es menos probable que forme un precipitado, que se forma a menudo en bebidas de té en polvo, al tiempo que tiene una ventaja de bebidas que contienen una gran cantidad de hojas de té en polvo; es decir, se potencia el kokumi. Las bebidas de té de la presente invención son excelentes en lo que respecta a la estabilidad de almacenamiento a largo plazo, en comparación con las bebidas de té convencionales.

La presente invención hace posible producir bebidas de té que se enmascaran los gustos desagradables de las catequinas (por ejemplo, gusto amargo y astringente).

Un extracto de té que se extrae de hojas de té en agua y que tiene una alta concentración de gliceroglicolípidos no contiene disolvente orgánico; por lo tanto, dicho extracto de té se puede añadir directamente a una bebida (especialmente bebida no alcohólica) cuando se usa como agente mejorador del sabor de la presente invención.

## Breve descripción de los dibujos

5

25

35

60

65

La figura 1 es un gráfico de una cromatografía de filtración en gel que indica un ingrediente activo que está contenido en una bebida de té y proporciona kokumi.

- La figura 2 es un gráfico que muestra las áreas del pico de un componente en diversas soluciones de extracto de té que se especifica por el pico 1 en la cromatografía de filtración en gel.
  - La figura 3 es un gráfico que muestra las áreas del pico del componente en soluciones de extracto de té que se especifica por el pico 1 en la cromatografía de filtración en gel, soluciones de extracto de té que se obtienen a partir de hojas de té preparadas mediante molturación en diferentes condiciones de molturación.
- La figura 4 es un gráfico que muestra una correlación entre la evaluación sensorial y las áreas del pico del componente especificado por el pico 1 en la cromatografía de filtración en gel.
  - La figura 5 es un gráfico que muestra cómo el procesamiento por un homogeneizador de alta presión afecta a la elución del componente especificado por el pico 1.
- La figura 6 es un gráfico que muestra cómo una temperatura de extracción y una presión del homogeneizador de alta presión afectan a la elución del componente especificado por el pico 1.
  - La figura 7 muestra los resultados del análisis de TLC realizado sobre el componente especificado por el pico 1. La figura 8 es un gráfico que muestra los resultados del análisis de HPLC realizado sobre el componente especificado por el pico 1.
  - La figura 9 es un gráfico de la HPLC de fracciones de una composición mejoradota del gusto (kokumi).
- La figura 10 muestra una cantidad de gliceroglicolípidos contenidos en un extracto de hojas de té en agua caliente y una cantidad de gliceroglicolípidos contenidos en un extracto de Maccha en agua caliente.
  - La figura 11 muestra cómo el procesamiento por un homogeneizador de alta presión afecta a la elución de gliceroglicolípidos.
  - La figura 12 muestra una correlación entre el componente especificado por el punto 1 y los puntos dados en la evaluación sensorial del kokumi.
    - La figura 13 muestra una correlación entre los gliceroglicolípidos y los puntos dados en la evaluación sensorial del kokumi.
    - La figura 14 muestra una correlación entre una absorbancia a 680 nm y los puntos dados en la evaluación sensorial una sensación de gusto claro.
- 30 La figura 15 muestra intervalos adecuados de gliceroglicolípidos y turbidez.

### Mejor modo para realizar la invención

(Agente mejorador del gusto)

Un agente de la presente invención para mejorar el gusto de bebidas de té es un extracto disolvente de hojas de té y contiene como ingrediente activo una fracción que contiene macromoléculas solubles que tiene un peso molecular de al menos 300.000 y se detecta por absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel. La expresión "fracción que contiene macromoléculas solubles", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un componente vacío que se detecta por absorción a 400 nm tras un tiempo de retención de aproximadamente 6 minutos en cromatografía de filtración en gel realizada sobre un líquido que ha pasado a través de un filtro de membrana (con un tamaño de poro de 0,45 µm, JUJI FIELD INC.) cuando un extracto disolvente de hojas de té o una bebida de té se filtra mediante el filtro de membrana (véase la Figura 1).

- Un extracto de hojas de té en agua caliente no contiene casi ninguna macromolécula soluble. Por otro lado, un extracto de hojas de té de alta calidad, tal como Gyokuro, Kamairitamaryokucha y Fukamushicha, en agua caliente contiene una cantidad muy pequeña de la fracción que contiene macromoléculas solubles (véase la Figura 3).
- El agente de la presente invención para mejorar el gusto de las bebidas de té es un extracto disolvente de hojas de té y contiene gliceroglicolípido como ingrediente activo. El gliceroglicolípido en la presente invención es un glicolípido donde una cadena de azúcar constituida por 1 a 3 monosacáridos está unida mediante éster al diacilglicerol. Ejemplos de monosacáridos que constituyen la cadena de azúcar contenida en el gliceroglicolípido incluyen galactosa, glucosa, manosa, fructosa, xilosa, arabinosa, fucosa, quinovosa, ramnosa y sulfoquinovosa. Entre los ejemplos de grupos acilo se incluyen residuos de ácidos grasos de cadena lineal o ramificada saturados o insaturados que tienen de 6 a 24 átomos de carbono; es decir, ácido linolénico, ácido linoleico, ácido oleico, ácido esteárico y ácido palmítico.
  - El gliceroglicolípido en la presente invención incluye al menos monogalactosil diacilglicerol (MGDG) y digalactosil diacilglicerol (DGDG). Se cree que el gliceroglicolípido en una bebida está presente como un sistema de dispersión coloidal.
  - El agente de la presente invención puede usarse para mejorar el kokumi de las bebidas de té, enmascarar el gusto amargo y astringente de las bebidas de té, especialmente el gusto amargo y astringente de las catequizas, y prevenir los precipitados en una bebida de té. El agente de la presente invención es especialmente eficaz para mejorar el gusto de bebidas de té que contienen hojas de té molidas (incluyendo Maccha y Maccha molida). Como se usa en el presente documento, el término "kokumi" se refiere a la riqueza con una excelente sensación en la

boca. Específicamente, el término se refiere a la riqueza con una sensación en boca suave y sin ninguna textura o sensación desagradable en la boca, tales como "viscosidad" y "adherencia" de goma coloidal hidrófila (goma macromolecular) o almidón soluble en agua usado para aumentar la viscosidad y similares.

- Las catequinas de la presente invención son catequina, galocatequina, galato de catequina, galato de galocatequina, epicatequina, epigalocatequina, galato de epicatequina y galato de epigalocatequina. Un contenido de catequinas en la presente invención indica una cantidad total de las catequinas anteriores. Una bebida de té de la presente invención contiene de 0,20 mg/ml a 5,0 mg/ml de categuizas.
- Maccha es hojas de té que se preparan de la siguiente manera. Las hojas de té cultivadas en la sombra protegidas 10 de la luz se cuecen al vapor y, después, se enfrían y, sin amasar las hojas de té, las hojas de té se secan en un aparato Tencha para el secado. Las hojas secas resultantes se cortan en pedazos pequeños y los tallos se eliminan, seguido de secado adicional para preparar Tencha. El Tencha resultante se muele con una piedra de molino hasta obtener un polvo. La trituración, tal como la trituración con una piedra de molino, para romper las paredes celulares 15 de las hojas de té permite eluir una fracción que contiene macromoléculas solubles que contiene gliceroglicolípido, que es un componente de membrana celular. En consecuencia, siempre que un método de la presente invención para la producción de un agente mejorador del sabor incluya triturar hojas de té suficientemente para romper las paredes celulares y someter las hojas de té molido a extracción con disolvente para eluir un componente de membrana celular (fracción que contiene macromolécula soluble que contiene gliceroglicolípido), los tipos de hojas 20 de té para su uso como materias primas, las técnicas para triturar hojas de té, los tamaños de trituración y similares en el método de la presente invención no están particularmente limitados (véase la figura 4). Un tamaño de trituración es, por ejemplo, un tamaño promedio de partícula (mediana del tamaño) de 1-100 µm, preferiblemente 1-50 μm, más preferiblemente 1-20 μm.
- Los métodos para la extracción con disolvente de hojas de té molidas no están particularmente limitados; en general, 25 la extracción se lleva a cabo utilizando 5-100 partes en peso, preferiblemente 10-90 partes en peso de un disolvente con respecto a las hojas de té molidas. Generalmente, las hojas de té molidas se dispersan en una cantidad adecuada de un disolvente y se agitan para llevar a cabo la extracción. El disolvente para su uso en la extracción no está particularmente limitado, siempre y cuando pueda usarse como alimento. Entre los ejemplos se incluyen agua, 30 tal como aqua destilada, aqua desmineralizada, aqua corriente, aqua de iones alcalinos, aquas marinas profundas, agua de intercambio iónico y agua desoxigenada, y disolventes orgánicos tales como alcohol que contiene agua, alcohol y hexano. El uso de agua es especialmente preferido en vista de su facilidad de uso en bebidas de té, que son bebidas sin alcohol. Se puede establecer apropiadamente una temperatura de extracción, pero la extracción a temperaturas bajas puede impedir que se extraigan componentes amargos y astringentes de las categuinas y similares, haciendo que un agente sea más útil para mejorar el kokumi. Por otra parte, la extracción a altas 35 temperaturas provoca la elución de una gran cantidad de componentes hidrosolubles, incluyendo componentes macromoleculares, tales como pectina y hemicelulosa, que causan agregación, y estos componentes y gliceroglicolípidos pueden precipitar cuando se enfrían. Para obtener un alto rendimiento en gliceroglicolípidos, se prefiere la extracción a bajas temperaturas. Las temperaturas bajas son de aproximadamente 5-50 °C, 40 preferiblemente 10-40 °C.

Un tiempo de extracción varía de acuerdo con la temperatura del disolvente, una cantidad del disolvente que se usa y un nivel de agitación, pero es generalmente de 30 segundos a 30 minutos, preferiblemente de 1 minuto a 10 minutos. Se puede añadir un antioxidante, tal como ácido L-ascórbico, o un ajustador de pH, tal como carbonato ácido sódico, en un momento de o después de la extracción, pero la extracción se realiza, preferiblemente, en una condición próxima a una condición neutra, por ejemplo, de pH 5 a 7, preferentemente de 5,5 a 7, especialmente preferiblemente de 6 a 7; en una condición ácida, el rendimiento de gliceroglicolípidos disminuye porque es probable que el gliceroglicolípido no se eluya fácilmente, que el gliceroglicolípido precipite y que el gliceroglicolípido se descomponga.

Si un extracto de disolvente donde se suspenden las hojas de té molidas en un disolvente de extracción se tritura finamente por medio de un homogeneizador de alta presión, aumenta la cantidad de fracción macromolecular eluida que contiene gliceroglicolípido (véanse las figuras 5 y 6). Por lo tanto, es preferible que la trituración en húmedo se realice mediante el uso de un homogeneizador de alta presión, ya sea simultáneamente o después de la extracción con disolvente de hojas de té molidas. Un homogeneizador de alta presión es un aparato que rompe las gotitas de emulsión y las partículas suspendidas en trozos muy pequeños por cizallamiento y cavitación producidos cuando una solución de extracto se inyecta desde una abertura fina a alta velocidad a alta presión. Para el agente mejorador del gusto de la presente invención, no solo puede usarse un homogeneizador de alta presión, sino también cualquier aparato que pueda eluir una gran cantidad de una fracción que contiene macromoléculas solubles a partir de hojas de té molidas. En el caso de usar un homogeneizador de alta presión, una cantidad de fracción soluble eluida tiene una tendencia a aumentar con una presión más alta del homogeneizador de alta presión. Sin embargo, si la presión es demasiado alta, es probable que el gliceroglicolípido eluído se descomponga, precipite con otros componentes eluidos y similares. Por lo tanto, es preferible que la presión del homogeneizador de alta presión sea de 50-1000 kg/cm², preferiblemente 100-500 kg/cm² o superior, más preferiblemente, 100-300 kg/cm².

65

45

50

55

El procesamiento por un homogeneizador de alta presión se lleva a cabo en una condición próxima a una condición neutra, por ejemplo, a pH 5-7, preferiblemente de 5,5 a 7, especialmente preferiblemente de 6 a 7; en una condición ácida, el rendimiento de gliceroglicolípido disminuye porque es probable que el gliceroglicolípido no eluya fácilmente, que el gliceroglicolípido precipite y que el gliceroglicolípido se descomponga.

5

10

Como el agente mejorador del gusto de la presente invención es un componente soluble, es preferible que la separación y la clarificación, tal como la separación y filtración centrífugas, se lleve a cabo sobre el extracto disolvente de hojas de té molidas o el producto molido en húmedo para eliminar los contenidos sólidos insolubles. Específicamente, es preferible llevar a cabo la separación y la clarificación que puedan eliminar la mayoría de las partículas de contenido de sólidos insolubles que tienen un tamaño de partícula de 1 µm o mayor. La frase "la mayor parte de", como se usa en el presente documento, se refiere a 50 % o más, preferiblemente 90 % o más, más preferiblemente 95 % o más, especialmente preferentemente 99 % o más. Después de realizar tal trituración fina y clarificación, las hojas de té resultantes tienen un tamaño promedio de partícula de aproximadamente 0,1 µm a 1 µm, preferiblemente de 0,3 µm a 1 µm.

15

20

25

30

El análisis de los componentes se llevó a cabo sobre la fracción que contiene macromoléculas solubles que es un ingrediente activo del agente potenciador del gusto de la presente invención y se encontró que la fracción que contenía macromolécula soluble contenía gliceroglicolípido y clorofila. El gliceroglicolípido es una especie de glicolípidos que tienen un esqueleto de la molécula de glicerol al que están unidos un residuo de azúcar y un grupo acilo, tal como ácido graso, y es una sustancia anfipática que tiene un residuo de azúcar hidrófilo y un acilo hidrófobo en una molécula. Todavía no se ha revelado un mecanismo de la acción del agente mejorador del gusto de la presente invención en la fracción que contiene macromoléculas solubles, pero es razonable deducir que el gliceroglicolípido presente como un sistema de dispersión coloidal forma asociaciones débiles con otros componentes en las hojas de té, para dar riqueza y kokumi. Un método conocido para producir gliceroglicolípido a partir de hojas de té es extraer gliceroglicolípido de las hojas de té usadas mediante el uso de un disolvente orgánico (publicación de patente japonesa no examinada n.º 2005-343814). Aunque se conocen las actividades fisiológicas del gliceroglicolípido, los gustos que el gliceroglicolípido da a las bebidas de té no se conocían. Tampoco se sabía que una gran cantidad de componentes que contenían gliceroglicolípido pudiera obtenerse si la extracción se llevó a cabo después de que se realizó la molturación para romper las paredes celulares. Los hallazgos anteriores se revelan por primera vez mediante la presente invención. La presente invención también tiene la ventaja de que se puede obtener un extracto de té que tiene una alta concentración de gliceroglicolípido sin el uso de un disolvente orgánico.

40

35

una cantidad predeterminada de gliceroglicolípido. Entre los ejemplos específicos se incluyen un método para usar el agente ya sea añadiendo un extracto de disolvente de hojas de té molidas directamente a una bebida de té o diluyendo el extracto de disolvente con agua o con una solución de extracto de té y, después, añadiendo el extracto de disolvente diluido a una bebida de té y un método para usar el agente concentrando un extracto de disolvente, en algunos casos seguido de un secado adicional, para obtener esencia o polvo, y añadiendo la esencia o polvo a una bebida de té. La esencia y el polvo seco pueden prepararse por métodos conocidos públicamente. El agente mejorador del gusto de la presente invención también puede usarse en forma de un producto refinado puro (líquido o polvo) producido por refinado de un ingrediente activo, una fracción que contiene una macromolécula soluble o gliceroglicolípido, a partir de un extracto de disolvente de hojas de té molidas mediante cromatografía de filtración en gel o cualquier otro método de aislamiento conocido públicamente.

El agente mejorador del gusto de la presente invención se puede usar en cualquier forma, siempre que contenga

45

El agente de la presente invención puede proporcionar kokumi a una bebida de té sin dar ninguna textura o sensación en la boca desagradable, tal como "viscosidad" y "adherencia", independientemente de la temperatura de la bebida de té donde se consume la bebida de té. El agente de la presente invención es un componente extraído de hojas de té con agua y puede proporcionar riqueza natural.

50

55

Una cantidad del agente de la presente invención que se va a usar puede seleccionarse apropiadamente de acuerdo con un uso pretendido. En el caso de utilizar el agente para potenciar el kokumi de bebidas de té, si el gliceroglicolípido o un extracto de té que contiene gliceroglicolípido se añade a una bebida de té de modo que la bebida de té contiene al menos 1,0 µg/ml de gliceroglicolípido, la bebida de té tiene kokumi rico, incluso cuando se almacena a una temperatura ambiente o inferior, por ejemplo, estado refrigerante, y se consume mientras está en el estado refrigerante. En el caso de utilizar el agente de la presente invención para potenciar el kokumi, el agente se mezcla generalmente en Una cantidad de aproximadamente 1000 µg/ml o menor, preferiblemente 500 µg/ml o menor, más preferiblemente 400 µg/ml o menor, especialmente preferiblemente 350 µg/ml o menor, pero un límite superior de la cantidad no está particularmente limitado.

60

65

(Bebidas de té)

El término "bebidas de té", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a extractos disolventes de hojas crudas de plantas que pertenecen al género de camelia (nombre académico: *Camellia sinensis*), extractos disolventes de té no fermentado obtenidos procesando las hojas crudas y extractos disolventes de té semifermentado obtenido procesando las hojas crudas. Especialmente, los objetivos son las bebidas de té verde (té

no fermentado) donde el kokumi es un factor clave del gusto.

10

45

50

55

60

Una bebida de té de la presente invención se caracteriza por contener al menos 0,30 µg/ml, equivalente de pigmento, preferiblemente 0,50 µg/ml, de la fracción que contiene macromoléculas solubles que tiene un peso molecular de al menos 300.000 y se detecta por absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel, es decir, al menos 1,0 µg/ml, preferiblemente al menos 1,5 µg/ml de gliceroglicolípido, de manera que se potencian el umami y el kokumi (especialmente kokumi), mientras que el gusto amargo y astringente no se potencian. En esta memoria descriptiva, una concentración de la fracción que contiene macromoléculas solubles está indicada por una cantidad equivalente de Amarillo alimentario N. ° 4. El Amarillo alimentario N. ° 4. es un compuesto que también se denomina tartrazina (fórmula química: C16H9N4Na3O9S2). A menos que se especifique lo contrario, se utiliza una cantidad total de MGDG y DGDG para indicar una concentración de gliceroglicolípido en esta memoria descriptiva. Los expertos en la técnica pueden realizar la medición apropiadamente utilizando un medio disponible, pero los Ejemplos descritos en esta memoria descriptiva pueden hacer referencia a condiciones detalladas.

La bebida de té de la presente invención contiene al menos 1,0 μg/ml, preferiblemente no menos de 1,5 μg/ml, de 15 gliceroglicolípido, y esto evita precipitados que se forman a menudo en bebidas de té en polvo durante el almacenamiento a largo plazo. Por consiguiente, las bebidas que contienen té en polvo son una de las realizaciones preferidas de la presente invención. Las bebidas que contienen té en polvo son bebidas que contienen hojas de té molidas; específicamente, bebidas de té que se obtienen mezclando hojas de té molidas (por ejemplo, Maccha) y 20 contienen contenidos sólidos insolubles, tales como trozos finos de tejido de hojas de té molidas y partículas de té verde. Los precipitados se evitan en las bebidas de té en polvo que contienen un contenido de sólidos insolubles que tienen un tamaño promedio de partícula inferior a 1 µm, en comparación con los que tienen un tamaño promedio de partícula de 1 µm o mayor, pero el problema de la formación de precipitados no se resuelve completamente con respecto a las bebidas de té envasadas que se almacenan a temperatura ambiente durante un largo período de 25 tiempo, tales como las almacenadas a temperatura ambiente durante tres meses o más. Sin embargo, en la bebida de té de la presente invención que contiene al menos una cantidad específica de gliceroglicolípido, el gliceroglicolípido está presente como un sistema de dispersión coloidal para prevenir precipitados de agregados, precipitados de contenidos de sólidos insolubles y similares durante el almacenamiento a largo plazo de la bebida de té y, por tanto, la bebida de té de la presente invención es probable que forme precipitados que se forman a menudo 30 en las bebidas de té en polvo. Una proporción de hojas de té molidas que se mezclan con una bebida de té es, generalmente, de aproximadamente 0,02 a 0,5 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,03 a 0,4 % en peso. Obsérvese que la bebida que contiene el té en polvo se ajusta para que tenga una absorbencia de 0,02 - 0,25, preferiblemente 0.02 - 0.20, más preferiblemente 0.02 - 0.15, a 680 nm. La bebida que contiene el té en polyo ajustada de este modo para que tenga una absorbencia dentro del intervalo específico tiene una ventaja de las bebidas que contienen una gran cantidad de hojas de té en polvo, es decir, kokumi potenciado, y tienen un 35 retroqusto claro sin dar ninguna astringencia característica de las hojas de té molidas o la aspereza que se origina a partir de componentes insolubles y el efecto de prevenir precipitados se produce significativamente en la bebida que contiene polvo. Específicamente, una bebida de té que contiene gliceroglicolípido en una proporción {(cantidad de gliceroglicolípidos (µg/ml))/(absorbencia a DO680 nm)} de 7 o superior, preferiblemente 10 o superior, más 40 preferiblemente 12 o superior, con respecto a los componentes insolubles es la bebida sin ninguna astringencia característica de hojas de té molidas o aspereza que se origina de los componentes insolubles.

La bebida de té de la presente invención contiene al menos 1,0 µg/ml, preferiblemente al menos 1,5 µg/ml, de gliceroglicolípidos para enmascarar el gusto amargo y astringente característico de las catequinas. Por consiguiente, una bebida de té que contiene catequina que tiene una alta concentración de catequinas es una de las realizaciones preferidas de las bebidas de té de la presente invención. Las bebidas de té que contienen categuina son una bebida de té que contiene catequinas en una cantidad de 0,10-5,0 mg/ml, preferiblemente 0,20-4 mg/ml, más preferiblemente 0,25-3 mg/ml, aún más preferiblemente 0,30-2 mg/ml, especialmente preferiblemente 0,35-1 mg/ml. Las categuinas tienen efectos fisiológicos, tales como la prevención del aumento del colesterol y la inhibición de la alfa-amilasa. Para obtener tales efectos fisiológicos, una persona adulta debe consumir 4-5 tazas de té al día. Para facilitar la ingesta de una gran cantidad de catequinas, ha habido demandas de una técnica para mezclar una concentración alta de catequinas con una bebida, es decir, una técnica para enmascarar el gusto amargo y astringente característico de las categuinas manteniendo al mismo tiempo un gusto original de té. El gliceroglicolípido, que es anfipático, actúa para incluir catequinas y forma un sistema de dispersión coloidal; por lo tanto, se puede enmascarar el gusto amargo y astringente de las catequinas en la bebida de té de la presente invención que contiene al menos una cantidad específica de gliceroglicolípido, haciendo posible mezclar una concentración alta de categuinas. Para enmascarar el gusto amargo y astringente, la bebida de té de la presente invención contiene 0,002-0,025 partes en peso, preferiblemente 0,002-0,020 partes en peso, más preferiblemente 0,003-0,015 partes en peso de gliceroglicolípido por 1 parte en peso de catequinas. Una bebida de té (bebida de té verde) que tiene concentraciones de gliceroglicolípidos y catequinas dentro del intervalo anterior tiene un equilibrio armonioso entre kokumi, umami de té y gusto amargo y astringente de las catequinas para tener un gusto astringente moderado y umami y kokumi más fuerte, incluso cuando la bebida de té se consume mientras está a temperatura ambiente o menor.

Cuando la bebida de té de la presente invención que contiene una concentración alta de catequinas es una bebida que contiene té en polvo, la astringencia característica de las hojas de té molidas puede inhibir la actividad de

enmascarar el gusto amargo y astringente de las catequinas. Por lo tanto, en el caso de la bebida que contiene té en polvo, la bebida de té se ajusta para que tenga la absorbencia especificada anteriormente, es decir, una absorbencia de,02-0,25, preferiblemente 0,02-0,20, más preferiblemente 0,02-0,15, a 680 nm.

5 Cuando más alto es un contenido de gliceroglicolípidos en una bebida de té, se producen más efectos de potenciación del kokumi de la bebida de té, enmascarando el gusto amargo y astringente de las catequinas y evitando los precipitados. El contenido en gliceroglicolípidos se puede seleccionar de acuerdo con un nivel deseado de los efectos, pero aproximadamente 1000 μm/ml o menos, preferiblemente 500 μg/ml o menos, más preferiblemente 400 μg/ml o menos, especialmente preferiblemente 350 μg/ml o menos es adecuado en vista de un aroma como una bebida de té.

El agente mejorador del gusto de la presente invención se puede añadir directamente a la bebida de té de la presente invención o puede diluirse con agua y, después, añadirse a la bebida de té de la presente invención, pero la bebida de té resultante puede tener solamente kokumi. Por lo tanto, para obtener una bebida de té que tenga un gusto astringente moderado y un umami y kokumi potenciados, es preferible que el agente mejorador del gusto se agregue a una solución de extracto de té para producir la bebida de té.

Específicamente, es preferible que la bebida de té de la presente invención se produzca mediante las siguientes etapas:

20

25

30

35

40

45

60

65

15

- (1) romper las paredes celulares de las hojas de té para obtener hojas de té molidas;
- (2) obtener un extracto de disolvente de las hojas de té molidas; y
- (3) mezclar el extracto de disolvente para obtener una bebida de té que contiene al menos 0,30 µg/ml (equivalente de pigmento) de una fracción que contiene macromoléculas solubles que tiene un peso molecular de al menos 300.000 y se detecta por absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel, es decir, al menos 1,0 µg/ml de gliceroglicolípido.

Es preferible que en la etapa 3), el extracto de disolvente de las hojas de té molidas se mezcle con una disolución de extracto de disolvente de las hojas de té que se preparó separadamente (en lo sucesivo en el presente documento "solución de extracto de té") para producir una bebida de té que tiene una concentración predeterminada de la fracción que contiene macromoléculas solubles.

Una solución de extracto de té que sirve como una base a la cual se va de añadir el agente mejorador del gusto de la presente invención es una bebida de té ordinaria que se obtiene extrayendo con un disolvente (preferiblemente agua) hojas de té ordinarias que no se muelen y separando después las hojas de té por filtración. Las hojas de té para su uso como materias primas de la solución de extracto de té y las condiciones de extracción pueden determinarse apropiadamente de acuerdo con un aroma deseado de bebidas de té. Para dar un gusto astringente moderado a las bebidas de té, se prefiere el uso de una solución de extracto de té preparada por extracción a temperaturas altas (aproximadamente 60-90 °C). Obsérvese que un antioxidante, tal como ácido L-ascórbico, o un ajustador de pH, tal como carbonato ácido de sodio, se puede añadir a la solución de extracto de té en un momento de o después de la extracción.

Como se ha indicado anteriormente, las paredes celulares de las hojas de té se rompen para obtener hojas de té molidas, de modo que se puede eluir una fracción que contiene macromoléculas solubles, que es un componente potenciador de kokumi, en una membrana celular. Del mismo modo, el agente mejorador del gusto, los métodos de molturación específicos, los tamaños de molturación y similares no están particularmente limitados, siempre y cuando se puedan romper las paredes celulares, pero se prefiere la molturación con piedra. Las condiciones de extracción son las mismas que para la producción del agente mejorador del gusto.

Para la bebida de té de la presente invención, es preferible que, además de las etapas (1) a (3), se incluya una etapa de clarificación (etapa 4), tal como separación centrífuga y filtración, después de la etapa (2). La clarificación, tal como la separación centrífuga y la filtración, pueden remediar la aspereza y el retrogusto desagradable causados por contenidos de sólidos insolubles, tales como trozos finos de tejido de las hojas de té molidas y las partículas de té verde, y pueden prevenir precipitados durante el almacenamiento. Como se ha descrito anteriormente, el componente mejorador del gusto de la presente invención es una macromolécula soluble; por lo tanto, el componente mejorador del gusto no se disminuye por la clarificación.

Las condiciones para la separación y clarificación, tales como separación centrífuga y filtración, se pueden determinar apropiadamente. Si las condiciones de clarificación se determinan de tal manera que una bebida de té tenga una absorbencia de 0,25 o menor a 680 nm, la bebida de té resultante tiene un retrogusto claro sin aspereza, y el efecto de la presente invención, es decir, kokumi potenciado puede detectarse más. Las condiciones de separación centrífuga específicas incluyen la clarificación que puede eliminar la mayor parte de las partículas de contenido de sólidos insolubles que tienen un tamaño de partícula de 1 µm o mayor. La frase "la mayor parte de", como se usa en el presente documento, se refiere a 50 % o más, preferiblemente 90 % o más, más preferiblemente 95 % o más, especialmente preferentemente 99 % o más.

La presente invención proporciona bebidas de té envasadas (especialmente bebida de té verde) que tienen umami y kokumi potenciados, mientras que tienen gusto astringente moderado característico de las bebidas de té. Las bebidas de té de la presente invención se producen mediante las etapas precedentes (1) a (3), preferiblemente (1) a (4). Las bebidas de té producidas de este modo se esterilizan y se envasan en recipientes o se envasan en recipientes y luego se calientan para esterilizar (por ejemplo, esterilización en retorta) para producir bebidas de té envasadas. Por ejemplo, para producir una bebida enlatada, se envasa una cantidad predeterminada de la bebida de té y se esteriliza en retorta (por ejemplo, 1,2 mm de Hg, 121 °C, 7 minutos). Para producir bebidas de té embotelladas en PET, cartones de bebidas de té o bebidas de té embotelladas, se realiza, por ejemplo esterilización UHT, que incluye mantener las bebidas a 120-150 °C durante de un segundo a varias decenas de segundos, o similar, y se envasan cantidades predeterminadas de las bebidas mediante llenado en caliente o relleno aséptico a baja temperatura. Dado que las bebidas de té envasadas de la presente invención son para proporcionar bebidas de té con excelente gusto, se prefiere el llenado aséptico a baja temperatura.

Como recipientes para bebidas de té de la presente invención se pueden utilizar cualquier recipiente de uso habitual, tales como latas de aluminio, latas de acero, botellas de PET, botellas de vidrio y recipientes de papel. Las bebidas de té envasadas de la presente invención producidas como se ha descrito anteriormente contienen gliceroglicolípido presente como un sistema de dispersión coloidal. La presencia del sistema de dispersión coloidal no solo proporciona kokumi, sino también prevé cambios en el sabor, el color, los precipitados, y similares durante el almacenamiento. Esto es favorable especialmente en el caso de usar envases transparentes (por ejemplo, botellas de PET, botellas de vidrio) como recipientes de envasado.

### **Ejemplos**

10

15

20

30

35

40

La presente invención se describe con detalle a continuación, con referencia a los ejemplos de prueba y el ejemplo.

No obstante, la presente invención no está limitada a la descripción siguiente.

Ejemplo de prueba 1: Análisis del componente potenciador del gusto (kokumi)

Se analizó un ingrediente activo que proporciona kokumi usando bebidas de té envasadas (8 tipos) que estaban comercialmente disponibles como bebidas embotelladas en PET. Las bebidas de té a 20 °C se agitaron suficientemente para que fueran uniformes. A continuación, las bebidas de té se abrieron y se pasaron a través de un filtro de membrana (con un tamaño de poro de 0,45 µm, JUJI FIELD INC., sistema de agua no esterilizado 13A) a temperatura ambiente. El filtrado se recuperó y se sometió a cromatografía de filtración en gel (serie 1100 de Agilent). El ensayo se realizó como se describe a continuación.

Columna de filtración en gel: Shodex Asahipak GS520 HQ (nombre de la empresa, diámetro interno de 7,6 mm x longitud de 300 mm, límite de exclusión 300.000)

Cantidad de muestra introducida: 10 µl

Caudal: 0,5 ml/min.

Detector de UV-VIS: Agilent, serie 1100, G1315B DAD Longitud de onda fijada para la detección: 400 nm

Eluyente: agua Temperatura: 40 °C

45

50

55

60

Algunos de los resultados de la medición se muestran en la Figura 1. Se detectaron aproximadamente cuatro picos en las bebidas de té verde. Los cuatro picos fueron: una fracción (fracción vacía, en lo sucesivo en el presente documento "pico 1") que se eluyó en un 40 % después de un tiempo de retención de 6 minutos; una fracción que se eluyó en un 35 % después de un tiempo de retención de 7 minutos (pico 2); una fracción que se eluyó en un 20 % después de un tiempo de retención de 10 minutos (pico 3); y una fracción que se eluyó en un 5 % después de un tiempo de retención de 13 minutos (pico 4).

Después, se realizó una evaluación sensorial del kokumi en las bebidas de té comercialmente disponibles (20 °C). La comparación pareada de Scheffe se utilizó como un método para la evaluación. La evaluación se realizó en una escala de 5 puntos: +2 si el kokumi precedente era más fuerte que el kokumi siguiente, +1 si el kokumi precedente era ligeramente más fuerte que el kokumi siguiente, ± 0 si no había diferencia entre el kokumi precedente y el kokumi siguiente, -1 si el kokumi precedente era ligeramente más débil que el kokumi siguiente y -2 si el kokumi precedente era más débil que el kokumi siguiente. Cuatro áreas de pico de los picos 1-4 obtenidos mediante cromatografía de filtración en gel y los resultados de la evaluación sensorial se muestran en una figura para determinar una correlación; solo se obtuvo una correlación en el pico 1. Este resultado mostró que el componente que dio kokumi a una bebida de té verde es una fracción de vacío detectada mediante absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel. Un peso molecular correspondiente al pico 1 era de 300.000 o superior en equivalente de pululano. La mayoría de las bebidas de té comercialmente disponibles contenían 0-0,2 μg/ml del componente de pico 1 (equivalente de pigmento).

#### Ejemplo de prueba 2: Tipos de hojas de té

10

15

35

40

45

60

Se compararon las cantidades de un componente macromolecular soluble indicado por el pico 1 en varias hojas de té. Específicamente, se añadieron 200 ml de agua caliente (70 °C) a 1,4 g de cada uno de los siete tipos de hojas de té siguientes: (a) Gyokuro elaborado por segunda vez, (b) Kabusecha elaborado por segunda vez (c) Sencha elaborado por tercera vez, (d) Kamairi Tamaryokucha, (e) Fukamushicha elaborado por segunda vez, (f) Tencha elaborado por primera vez, y (g) Hojicha. Las mezclas se extrajeron durante 5 minutos. A continuación, se retiraron las hojas de té y las soluciones resultantes se enfriaron a 20 °C. Las soluciones de extracto de té enfriadas de este modo se sometieron a medición por cromatografía de filtración en gel como en el Ejemplo de prueba 1 y se realizó una evaluación sensorial sobre las respectivas soluciones de extracción (20 °C) de las hojas de té.

También, Tencha (f) se molió con piedra para obtener hojas de té molidas con piedra (h) (con un tamaño promedio de partícula de 15 μm). A 0,4 g de las hojas de té molidas en piedra se añadieron 200 ml de agua caliente (35 °C) y la mezcla se dejó durante 5 minutos. continuación, la mezcla se sometió a separación centrífuga para separar y eliminar contenidos sólidos con un tamaño de partícula grande y la solución resultante se enfrió a 20 °C para obtener una suspensión de las hojas de té molidas en piedra. La suspensión se evaluó de manera similar.

Los resultados de la medición de las áreas del pico 1 por cromatografía de filtración en gel se muestran en la Figura 2. Se encontró que el componente de pico 1 se eluyó muy poco en las soluciones de extracto de hojas de té, mientras que una gran cantidad del componente de pico 1 se eluyó en el caso en que las hojas de té se molieron. Entre las soluciones de extracto de hojas de té, solo hojas de té de alta calidad, tales como (a) Gyokuro, (d) Kamairi Tamaryokucha, y (e) Fukamushicha, contenían el componente de pico 1 en una cantidad muy pequeña. Se confirmó como resultado de la evaluación sensorial que había una correlación entre una cantidad del componente de pico 1 y el kokumi. Las hojas de té de molidas en piedra (h) tenían gusto rico en kokumi y gusto rico incluso cuando el té se consumía, mientras estaba a una temperatura ambiente o inferior (20 °C). Este gusto era la dulzura natural robusta que se podía notar cuando se consumía té de alta calidad elaborado en una tetera mientras estaba caliente El gusto tenía una sensación suave en la boca y dulzura robusta, y no había sensación en la boca o textura desagradables, tales como pegajosidad y viscosidad.

### 30 Ejemplo de prueba 3: Condiciones de molturación

Las hojas de tencha se trituraron en las condiciones especificadas a continuación para preparar hojas de té molidas. Específicamente, se prepararon los tres tipos de hojas de té molidas siguientes: hojas de té molidas en piedra (i; tamaño promedio de partícula: 15 µm); Hojas de té preparadas mediante molturación en piedra adicional de la Tencha molida en piedra (i) (molido en piedra (tamaño de partícula fina), tamaño promedio de partícula: 11 µm) (j); y hojas de té molidas mediante el uso de una máquina (molino de chorro) (k, tamaño promedio de partícula: 16 µm).

Se prepararon suspensiones de té de las hojas de té molidas como en el Ejemplo de prueba 2 y se sometieron a medición por cromatografía de filtración en gel como en el Ejemplo de Prueba 1 para determinar las áreas del pico del componente de pico 1, y se llevó a cabo una evaluación sensorial.

Los resultados se muestran en la Figura 3. Los niveles comparables del componente de pico 1 se eluyeron independientemente de los tamaños de trituración y los métodos de trituración y los niveles comparables de kokumi se detectaron en la evaluación sensorial. Especialmente, las hojas de té molidas en piedra (tamaño de partícula fina) tenían más kokumi del componente de pico 1. Obsérvese que se confirmó que habían roto las paredes celulares de todas las hojas de té molidas.

## Ejemplo de prueba 4: Tipos de hojas de té molidas

Dado que la elución del componente de pico 1 se observó ligeramente en hojas de té de alta calidad en el Ejemplo de prueba 2, varias hojas de té (ocho tipos en total, por ejemplo, Gyokuro elaborado por primera vez, Sencha elaborado por tercera vez, Kabusecha elaborado por segunda vez, Hojicha elaborado por cuarta vez, y Bancha elaborado por tercera vez) se utilizaron como materia prima y se molieron para tener un tamaño de partícula similar, por medio del cual se prepararon hojas de té molidas. Las suspensiones de las hojas de té molidas se obtuvieron por el mismo método que el usado en el Ejemplo de prueba 2, y se evaluaron asimismo.

Los resultados se muestran en la Figura 4. Al igual que en el Ejemplo de prueba 1, hubo una fuerte correlación entre las áreas de pico del componente de pico 1 y el kokumi en la evaluación sensorial (20 °C); se confirmó que la fracción de vacío detectada por absorción a 400 nm en cromatografía de filtración en gel era el componente que proporcionó kokumi a la bebida de té verde.

## Ejemplo de prueba 5: Procesamiento mediante homogeneizador de alta presión

Se procesó una suspensión (20 °C) de las hojas de té molidas en piedra (h) del Ejemplo de prueba 2 mediante un homogeneizador a alta presión a una presión de 15 MPa para obtener una solución de extracto de té. Como en el Ejemplo de prueba 1, la medición por cromatografía de filtración en gel se realizó para determinar las áreas del pico

del componente de pico 1, y se realizó la evaluación sensorial.

Los resultados se muestran en la Figura 5. Se confirmó que el procesamiento mediante el homogeneizador condujo a la elución de una mayor cantidad del componente de pico 1. En la evaluación sensorial, la solución de extracto de té procesada mediante el homogeneizador de alta presión tenía kokumi más fuerte.

#### Ejemplo de prueba 6: Temperatura de extracción

Se prepararon suspensiones de té de las hojas de té molidas en piedra (h) del Ejemplo de prueba 2 molidas con piedra se prepararon a temperaturas de extracción cambiadas. Las suspensiones de té se prepararon a presiones cambiadas del homogeneizador de alta presión. Las suspensiones de té resultantes se midieron por cromatografía de filtración en gel como en el Ejemplo de prueba 1 para determinar las áreas de pico del componente de pico 1 y se realizó la evaluación sensorial.

Los resultados se muestran en la Figura 6. Aunque las temperaturas de extracción no tuvieron casi ningún impacto sobre la elución del componente de pico 1, una cantidad eluida aumentó de acuerdo con las presiones del homogeneizador. Las mismas tendencias se observaron en el consumo y en la evaluación de kokumi, lo que sugiere que el procesamiento de las hojas de té molidas por el homogeneizador de alta presión fue eficaz en la extracción de un componente potenciador de kokumi.

### Ejemplo de prueba 7: Componente de pico 1

La solución del extracto (suspensión) de hojas de té molidas que se preparó en el Ejemplo de prueba 5 y se procesó mediante el homogeneizador de alta presión se congeló. Dos gramos de esta muestra congelada se disolvieron en 20 ml de agua destilada, seguido de separación centrífuga (8000 rpm, 5 minutos). La solución del sobrenadante se sometió a cromatografía de filtración en gel para fraccionar el componente de pico 1 (fracción de vacío), seguida de liofilización. La fracción de vacío fraccionada fue de 168 mg. Esta se disolvió en 100 ml de agua destilada, se acidificó con 10 ml de ácido sulfúrico al 5 % y se extrajo dos veces con 100 ml de acetato de etilo. La fracción soluble en acetato de etilo se concentró y se secó para obtener 52 mg. Esto se desarrolló mediante TLC (disolvente revelador: CH3Cl/MeOH/agua = 65/25/4) y se visualizó mediante el uso de ácido sulfúrico al 5 %.

Los resultados se muestran en la Figura 7. Se confirmaron clorofila y tres clases de gliceroglicolípidos.

Esta capa de acetato de etilo se sometió a HPLC. Las condiciones de la medición por HPLC son las siguientes.

Columna: columna de gel de sílice (Cosmosil 5C18AR, 4,6 x 150 mm)

Eluyente: A 50 % de MeOH, B 100 % de MeOH

Gradiente:

0-10 minutos	A 100% a B 0%
10-20 minutos	A 0% a B 100%
20-20,5 minutos	A 0 % a B 100 %
20,5-25 minutos	A 100 % a B 0 %

Caudal: 1 ml/min. Detección: 210 nm

Los resultados se muestran en la Figura 8. El gliceroglicolípido es un componente representado por la siguiente fórmula

#### [Compuesto 1]

25

30

donde R1 and R2 son ácidos grasos, y R es H o galactosa. El componente de pico separado por HPLC se analizó por RMN, y se encontró que el componente de pico contenía gliceroglicolípido.

#### Ejemplo de prueba 8: Identificación del componente potenciador del gusto (kokumi)

- Se fraccionó adicionalmente una fracción de una solución de extracto de Maccha que tenía un peso molecular de al menos 300.000 y se realizó la evaluación sensorial y el análisis por cromatografía inversa sobre la fracción resultante.
- A 0,4 g de las hojas de té molidas en piedra se añadieron 200 ml de agua caliente (35 °C) y la mezcla se dejó durante 5 minutos. A continuación, la mezcla se sometió a separación centrífuga para separar y eliminar los contenidos sólidos que tenían un tamaño de partícula grande. A continuación, se retiraron los contenidos de sólidos insolubles a temperatura ambiente mediante el uso de un filtro de membrana (con un tamaño de poro de 0,45 μm, JUJI FIELD INC., sistema de agua no esterilizado 13A). A continuación, se realizó la filtración a presión mediante el uso de una membrana de ultrafiltración (Millipore, disco de ultrafiltración Biomax PBMK, poliéter sulfona, 300.000 NMWL) y un componente sobre la membrana se recuperó para obtener un componente potenciador del gusto (kokumi) que tiene un peso molecular de al menos 300.000. Esto se disolvió en agua, se acidificó con HCl y se sometió a una distribución líquido-líquido con acetato de etilo. Entre los productos de la distribución líquido-líquido, se adsorbió una capa de acetato de etilo sobre un cartucho de extracción en fase sólida ODS (Waters, Sep-Pak Plus
   C18) y se fraccionó y eluyó en un disolvente mixto de agua-etanol mientras que una concentración de El etanol se cambió secuencialmente.
- Los resultados de la evaluación sensorial de una capa de agua en el momento de la distribución líquido-líquido y las fracciones obtenidas por el fraccionamiento de ODS se muestran en la tabla siguiente. Entre las capas, solo la fracción obtenida por fraccionamiento ODS y elución en etanol al 100 % tenía kokumi rico característico de Maccha.

	CAPA DE AGUA	CAPA DE FRACCIÓN OBTENIDA AGUA POR FRACCIONAMIENTO	FRACCIÓN OBTENIDA POR FRACCIONAMIENTO	(Tabla 1) CAPAS DE ACETATO DE ETILO FRACCIÓN OBTENIDA POR FRACCIONAMIENTO	(Tabla 1)         CAPAS DE ACETATO DE ETILO         ACCIÓN OBTENIDA       FRACCIÓN OBTENIDA       FRACCIONAMIENTO       POR FRACCIONAMIENTO         FRACCIONAMIENTO       POR FRACCIONAMIENTO       POR FRACCIONAMIENTO       POR FRACCIONAMIENTO	FRACCIÓN OBTENIDA POR FRACCIONAMIENTO
			ODS Y ELUCIÓN CON 25% DE ETANOL	ODS Y ELUCIÓN CON 50% DE ETANOL	ODS Y ELUCIÓN CON 75% DE ETANOL	ODS Y ELUCIÓN CON 100% DE ETANOL
KOKUMI	×	×	×	×	Δ	0

Las fracciones respectivas obtenidas de este modo se sometieron a cromatografía inversa y se realizó un análisis cuantitativo de los gliceroglicolípidos. Las condiciones de análisis son las siguientes.

Columna inversa: TSK-GEL (TOSOH, diámetro interior 4,6 mm x longitud 150 mm)

Cantidad de muestra introducida: 10 µl

Caudal: 1,0 ml/min.

Detector RI: RIA-10A de SHIMADZU

Eluyente: 95 % de metanol

Temperatura: 40 °C

10

15

20

5

Se usaron MGDG y DGDG de los productos lipídicos como preparaciones en el análisis cuantitativo. Entre las preparaciones, MGDG se divide aproximadamente en dos picos; ya que un pico exhibido en las bebidas de té era un pico sucesivo, las concentraciones se prorratearon sobre la base de las proporciones de las áreas de los picos de las preparaciones para determinar las concentraciones de análisis. A menos que se especifique lo contrario, se utiliza una cantidad total de MGDG y DGDG para indicar una concentración de gliceroglicolípido en esta memoria descriptiva.

Los resultados del análisis se muestran en la Figura 9. Los gliceroglicolípidos se detectaron solamente en la fracción obtenida por fraccionamiento ODS y elución en 100 % de etanol. Se identificó a partir de los resultados que los gliceroglicolípidos eran el componente potenciador del gusto (kokumi).

			[Tabla 2]	
	DGDG (ug/ml)	MGDG (ug/ml)	GLICEROGLICOLÍPIDO TOTAL (ug/ml)	GLICEROGLICOLÍPIDO TOTAL (mg/1 g DE HOJAS DE TÉ)
HOJAS DE TÉ EXTRAÍDAS EN AGUA CALIENTE	0,017	0,057	0,074	0,011
MACCHA EXTRAÍDA EN AGUA CALIENTE	0,213	0,311	0,524	2,622

#### Ejemplo de prueba 9: Hojas de té para uso y condiciones de procesamiento de las mismas

25

30

A 1,4 g de las hojas de té Sencha comunes se añadieron 200 ml de agua caliente (70 °C) para extraer las hojas de té durante 5 minutos. A continuación, se retiraron las hojas de té y la solución resultante se enfrió a 20 °C. Además, se añadieron 200 ml de agua caliente (35 °C) a 0,4 g de Maccha y la mezcla se dejó durante 5 minutos para obtener una suspensión de Maccha. Se sometieron a cromatografía inversa como en el Ejemplo de prueba 2 y se midieron las cantidades de gliceroglicolípidos. Se confirmó que el extracto de las hojas de té extraídas en el agua caliente no contenía casi ningún gliceroglicolípido, mientras que el extracto de Maccha extraído en el agua caliente contenía una gran cantidad de gliceroglicolípidos (véase la siguiente tabla y la figura 10).

			[Tabla 3]	
	DGDG	MGDG	TOTAL de	TOTAL de
	(ug/ml)	(ug/ml)	GLICEROGLICOLÍPIDOS	GLICEROGLICOLÍPIDO
			(ug/ml)	TOTAL (mg/1 g DE HOJAS
				DE TE)
MACCHA AÑADIDA DIRECTAMENTE	0,213	0,311	0,524	2,622
MACCHA HOMOGENEIZADA	3,651	6,034	9,685	4,842

35

40

La suspensión de Maccha (20 °C) se procesó mediante un homogeneizador a alta presión a una presión de 15 MPa para obtener una solución de extracto de té. La solución de extracción de té se sometió a cromatografía inversa por el mismo proceso que el descrito anteriormente para determinar una cantidad de gliceroglicolípido. Se confirmó que la molturación fina por el homogeneizador a alta presión condujo a una mayor cantidad de gliceroglicolípidos eluidos (véase la Figura 11). En la evaluación sensorial, la solución de extracto de té procesada mediante el homogeneizador de alta presión tenía kokumi más fuerte.

## Ejemplo 1: Producción de un agente mejorador del gusto

Maccha (hojas de té finamente molidas) que se preparó mediante por molturación en piedra de Tencha se suspendió en aproximadamente ochenta veces el agua. Esta suspensión se procesó mediante un homogeneizador de alta presión a una presión de 15 MPa y se sometió a separación centrífuga (6000 rpm, 10 minutos) para separar y eliminar al menos el 99 % de contenidos sólidos con un tamaño de partícula de 1 μm o mayor, con lo que se obtuvo una dispersión de las hojas de té molidas que contenían contenidos de sólidos insolubles (hojas de té molidas) que

tenían un tamaño promedio de partícula inferior a 1 µm. La suspensión se analizó mediante cromatografía de filtración en gel como en el Ejemplo de prueba 1. Además, se analizó el pigmento amarillo N.º 4 para preparar una curva estándar y se calculó una concentración (µg/ml; equivalente de pigmento) de un componente de pico 1 en la dispersión de las hojas de té molidas ultrafinas sobre la base de un área de pico 1. Había aproximadamente 50 µg/ml del componente de pico 1. Además, la suspensión se analizó mediante cromatografía inversa como en el Ejemplo de prueba 8. Había aproximadamente 20 µg/ml de gliceroglicolípidos.

## Ejemplo 2: Producción de bebidas de té (1)

Se prepararon varias concentraciones (agente mejorador del gusto: solución de extracto de té verde = 0-5: 10-5) de los agentes mejoradores del gusto (agente mejorador del gusto que contiene 20 μg/ml de gliceroglicolípido) preparado en el Ejemplo 1 y que contenía aproximadamente 50 μg/ml del componente de pico 1 se añadieron a soluciones de extracto de té verde para producir bebidas de té. Las soluciones de extracto de té verde que sirven como bases de las bebidas de té se prepararon añadiendo 200 ml de agua caliente (70 °C) a 1,4 g de hojas de té (Sencha común), extrayendo las hojas de té durante 5 minutos y luego retirando las hojas de té por filtración. Las bebidas de té producidas de este modo se sometieron a separación centrífuga en diversas condiciones para producir bebidas de té con diferentes absorbencias.

Las cantidades (equivalente de pigmento) del componente de pico 1 y los gliceroglicolípidos contenidos en las bebidas de té (10 tipos) se determinaron por el mismo método que en el Ejemplo 1. También se midieron las absorbencias a 680 nm usando un espectrofotómetro (espectrofotómetro UV-1600 de SHÍMADZU). También se midieron las cantidades de catequinas contenidas en las bebidas de té. La medición de las catequinas se realizó pasando las bebidas de té utilizadas como muestras a través de un filtro de membrana (con un tamaño de poro de 0,45 µm, JUJI FIELD INC., sistema de agua no esterilizada 13A) para eliminar el contenido de sólidos y luego sometiendo las bebidas de té resultantes a análisis por HPLC. Las condiciones del análisis HPLC son las siguientes:

#### (Condiciones de análisis HPLC)

30

45

50

55

60

Analizador: Tosoh Corporation, TOSOH HPLC sistema LC8020 modelo II [multiestación: LC-8020, bomba: CCMC-II, automuestreador: AS-8021, detector: UV-8020, horno de columna: CO-8020, desgasificador en línea: SD-8023]

Condiciones del análisis: [columna: TSK gel ODS-80Ts QA, eluyente A: 10 % de acetonitrilo/agua 0,05 %de TFA, eluyente B: 80 % de acetonitrilo/agua 0,05 %de TFA, caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 40°C, detección: UV275 nm]

Las bebidas de té se enfriaron a 5 °C y panelistas especializados realizaron la evaluación sensorial en las bebidas de té. El kokumi en un momento de consumo y una sensación clara inmediatamente después de consumir (retrogusto) se evaluó en una escala de 5 puntos (5 puntos: fuertemente detectado, 4 puntos: detectado, 3 puntos: ligeramente detectado, 2 puntos: poco detectado, 1 punto: no detectado), y se calcularon los promedios. También se evaluaron el gusto amargo y astringente originado a partir de las catequinas y la astringencia originada a partir de las hojas de té molidas.

Las bebidas de té se pusieron en botellas PET de 500 ml, se esterilizaron (130 °C, 1 minuto) y luego se almacenaron a temperatura ambiente durante un mes. A continuación, se realizó una inspección visual para determinar si había cualquier precipitado.

Los resultados se muestran en las Tablas 4 y 5. El kokumi en la evaluación sensorial tenía una correlación con el componente de pico 1 y el contenido de gliceroglicolípidos (Figuras 12 y 13). Las bebidas de té que contienen cada una al menos 0,30 µg/ml (al menos 1,0 µg/ml de gliceroglicolípido), pigmento equivalente, del componente de pico 1 tenían kokumi rico similar al del té preparado en un vaso de agua, que las bebidas de té envasadas convencionales no tenían; especialmente las bebidas de té que contenían 0,50 µg/ml o más (1,5 µg/ml o más de gliceroglicolípido) tenían kokumi fuerte. En el caso en que los gliceroglicolípidos por catequinas (GDG/catequinas) eran 0,001 o menos, las bebidas de té tenían un fuerte gusto amargo y astringente de las catequinas. En el caso en que los gliceroglicolípidos por catequinas eran 0,003, las bebidas de té tenían umami y kokumi, mientras que tenían un gusto astringente moderado. Lo anterior sugiere que si los gliceroglicolípidos y las catequinas en una bebida de té se ajustan de tal manera que gliceroglicolípidos por catequinas (GDG/catequinas) es 0,002 o superior, preferentemente de 0,003 o superior, el gusto amargo y astringente de las catequinas se enmascara, por lo que la bebida de té tiene un gusto amargo y astringente en equilibrio con kokumi y es altamente potable, incluso cuando la bebida de té se consume mientras se encuentra a una temperatura de refrigerante.

Las absorbancias a 680 nm tenían una correlación negativa con una sensación clara en la evaluación sensorial (Figura 14). En el caso donde una absorbencia era de aproximadamente 0,30, no se detectó sensación clara. En el caso donde una absorbencia era de aproximadamente 0,25 o menor, no se detectó sensación clara. En el caso donde una proporción de gliceroglicolípidos y los contenidos sólidos insolubles (GDG/DO680) era de aproximadamente 5, se detectó la astringencia característica de los contenidos de sólidos insolubles, es decir, las

hojas de té molidas. En el caso en que el GDG/DO680 era de 7 o más, la astringencia característica se detectó poco. En el caso en que el GDG/DO680 era de 10 o más, la astringencia característica no se detectó.

Lo anterior sugiere que las bebidas de té que tienen gusto astringente moderado y kokumi rico incluso cuando las bebidas de té se consumen mientras están a una temperatura refrigerante son un intervalo especificado en la Figura 15; más preferiblemente gliceroglicolípidos por catequinas (GDG/catequinas) es 0.002 o superior, preferiblemente 0,003 o superior, y/o la proporción entre gliceroglicolípidos y los contenidos de sólidos insolubles (GDG/DO680) es 7 o superior, preferiblemente 10 o superior. Se analizaron las bebidas de té envasadas comercialmente, pero ninguna de ellas cumplió el intervalo especificado en la Figura 15. También se realizó una evaluación sensorial, pero las bebidas de té de la presente invención tuvieron una mayor palatabilidad general, en comparación con las de las bebidas de té convencionales dentro del intervalo especificado en la Figura 15.

	GDG/	DO680	47,620	5,465	5,393	30,646	5,421	29,063	12,346	7,543	12,102	7,496
	DO680	DO680		0,278	0,295	0,055	0,298	0,058	0,135	0,216	0,137	0,218
	GDG/	CATEQUINAS	0,0004	0,0012	0,0032	0,0033	0,0048	0,0049	0,0031	0,0033	0,0046	0,0047
	CATEQUINAS		318,69	319,56	325,86	328,32	331,59	334,04	327,18	327,00	332,43	331,77
[Tabla 4]	TOTAL DE	GLICEROGLICOLIPIODOS (GDG, ug/ml)	0,119	0,389	1,028	1,080	1,591	1,643	1,031	1,077	1,546	1,544
	MGDG	(lm/gn)	0,082	0,235	0,631	0,680	0,982	1,031	0,644	0,667	0,965	0,958
	DGDG	(lm/gn)	0,037	0,154	0,397	0,400	609'0	0,613	0,387	0,410	0,581	0,586
	COMPONENTE DE	PICO 1 (EQUIVALENTE DE PIGMENTO) (ug/ml)	20'0	0,14	0,35	0,35	0,51	0,52	0,37	0,36	0,50	0,53
			MUESTRA 1	2	က	4	5	9	2	8	6	10

[Tabla 5]

	KOKUMI	GUSTO AMARGO Y ASTRINGENTE DE LAS CATEQUINAS	SENSACIÓN CLARA	ASTRINGENCIA	PRECIPITADO
MUESTRA 1	1,4	DETECTADO	3,5	NINGUNA	NINGUNO
2	2,3	ALGO	2,8	DETECTADO	PRESENTE
3	2,8	MODERADO	3,5	DETECTADA	PRESENTE
4	3,7	MODERADO	2,7	NINGUNA	NINGUNO
5	3,4	MODERADO	4,1	DETECTADA	PRESENTE
6	4,6	MODERADO	1,4	NINGUNA	NINGUNO
7	3,4	MODERADO	1,0	NINGUNA	NINGUNO
8	3,8	MODERADO	3,9	ALGO	NINGUNO
9	4,3	MODERADO	1,2	NINGUNA	NINGUNO
10	4,5	MODERADO	3,7	ALGO	NINGUNO

#### Ejemplo 3: Producción de bebidas de té (2)

5

A una solución de extracto de té verde que no contenía gliceroglicolípido, se añadió 0,07 % en peso de Maccha con respecto a la cantidad total de la solución de extracto y la mezcla se procesó mediante un homogeneizador de alta presión y se sometió a separación centrífuga para obtener una absorbencia dentro de un intervalo mostrado en la Figura 15.

10

El análisis y la evaluación sensorial se realizaron como en el Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la Tabla 6. Las bebidas de té de la presente invención cada una con al menos 1,0 μg/ml de gliceroglicolípidos tenía un kokumi rico similar al obtenido mediante la preparación de hojas de té de alta calidad. Las bebidas de té tenían riqueza y sensación clara.

15

Las bebidas de té en el intervalo preferido se esterilizaron (130 °C, 1 minuto), pero se mantuvo kokumi rico.

[Tabla 6]

L	i abia oj								
		COMPONENTE	DGDG	MGDG	TOTAL DE	CATEQUINAS	GDG/	DO680	GDG/
		DE PICO 1	(ug/ml)	(ug/ml)	GLICEROGLICOLÍPIODOS		CATEQUINAS		DO680
		(EQUIVALENTE			(GDG, ug/ml)				
		DE PIGMENTO)			, ,				
		(ug/ml)							
	MUESTRA 11	0,72	0747	1,577	2,112	350,00	0,0044	0,072	29,332
	12	0,84	0,739	1,849	2,503	365,05	0,0042	0,076	32,939

	KOKUMI	GUSTO AMAR	GO Y	SENSACIÓN	ASTRINGENCIA	PRECIPITADO
		ASTRINGENTE [	DE LAS	CLARA		
		CATEQUINAS				
MUESTRA	4,8	MODERADO		4,1	NINGUNA	NINGUNO
11						
12	5,0	MODERADO		4,3	NINGUNA	NINGUNO

#### **REIVINDICACIONES**

- 1. Una bebida de té que comprende una hoja de té molida y al menos 1,0 µg/ml de gliceroglicolípidos y que tiene una absorbencia de 0,25 o inferior a 680 nm, donde la bebida de té comprende al menos 0,002 partes en peso de los gliceroglicolípidos por 1 parte en peso de catequizas y donde el gliceroglicolípido es monogalactosil diacilglicerol o digalactosil diacilglicerol.
- 2. La bebida de té de la reivindicación 1, donde una proporción de los gliceroglicolípidos y un contenido de sólidos insolubles ((cantidad de gliceroglicolípidos (µg/ml))/(absorbencia a 680 nm) es 7 o superior.
- 3. Uso de al menos un gliceroglicolípido para mejorar un gusto de una bebida de té, donde la bebida de té comprende al menos 1,0 µg/ml de al menos un gliceroglicolípido como ingrediente activo, donde la bebida de té comprende al menos 0,002 partes en peso de los gliceroglicolípidos por 1 parte en peso de catequinas y donde el gliceroglicolípido es monogalactosil diacilglicerol o digalactosil diacilglicerol.
- 4. El uso de la reivindicación 3, donde el gusto se mejora potenciando el kokumi, enmascarando el gusto astringente o evitando un precipitado.
- 5. El uso de la reivindicación 4, donde la bebida de té contiene un producto de molturación en húmedo de una hoja de té molida.
  - 6. Un método para producir una bebida de té que contiene gliceroglicolípidos, que comprende las etapas de
    - (1) romper las paredes celulares de las hojas de té para obtener hojas de té molidas;
    - (2) obtener un extracto de disolvente de las hojas de té molidas; y
    - (3) mezclar el extracto de disolvente para obtener una bebida de té que contiene al menos 1,0 μg/ml de gliceroglicolípidos, donde la bebida de té comprende al menos 0,002 partes en peso de gliceroglicolípidos por 1 parte en peso de catequinas y donde el gliceroglicolípido es monogalactosil diacilglicerol o digalactosil diacilglicerol.
  - 7. El método de la reivindicación 6, que comprende además, después de la etapa (2), moler en húmedo mediante el uso de un homogeneizador de alta presión en una condición próxima a una condición neutra (pH 5 7, preferiblemente 5,5 7, especialmente preferentemente 6-7).
- 8. El método de la reivindicación 6 o 7, que comprende además, después de la etapa (2), una etapa de clarificación (etapa (4)), tal como separación o filtración centrífuga.
  - 9. El método de la reivindicación 8, donde las condiciones de clarificación se determinan de tal manera que la bebida de té tiene una absorbencia de 0,25 o menor a 680 nm.
  - 10. Un método para mejorar el gusto de una bebida de té usando gliceroglicolípido, donde la bebida de té comprende al menos 1,0 μg/ml gliceroglicolípidos, donde la bebida de té comprende al menos 0,002 partes en peso de gliceroglicolípidos por 1 parte en peso de catequinas y donde el gliceroglicolípido es monogalactosil diacilglicerol o digalactosil diacilglicerol.

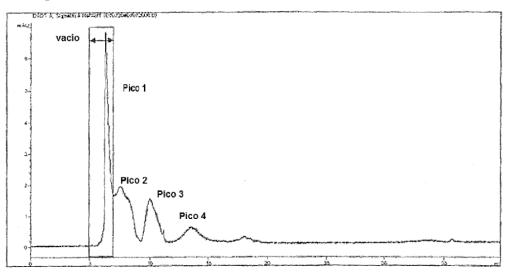
40

10

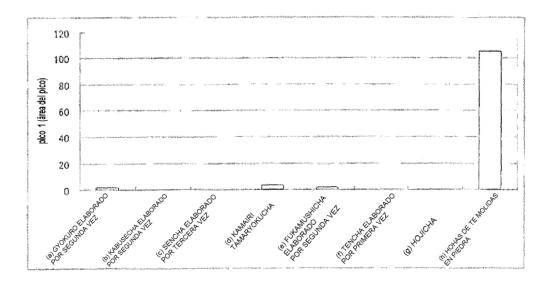
15

25

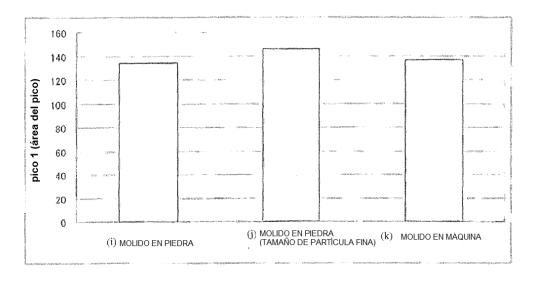
# Figura 1



## Figura 2



## Figura 3



## Figura 4

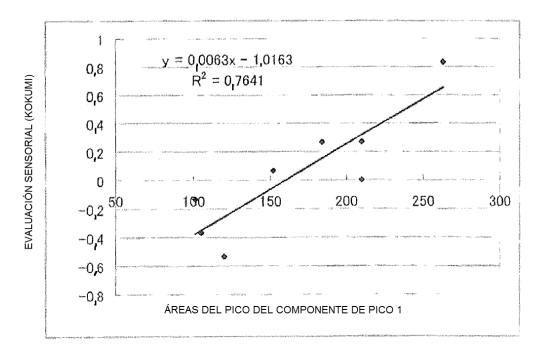


Figura 5

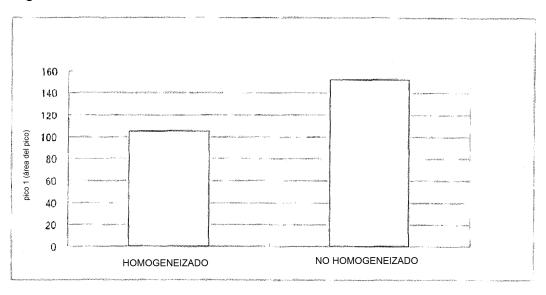


Figura 6

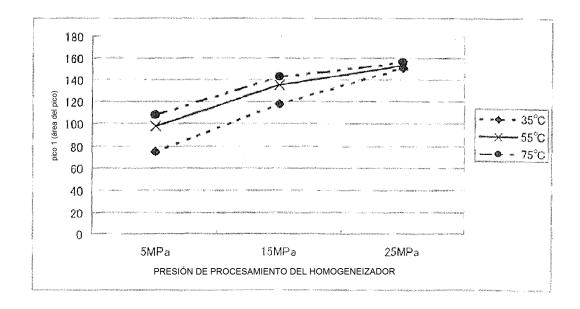


Figura 7

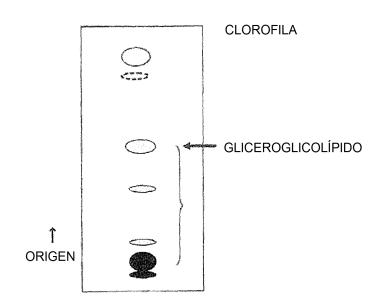


Figura 8

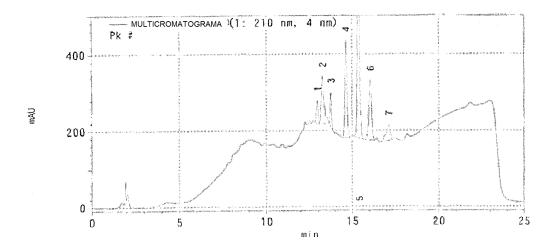


Figura 9

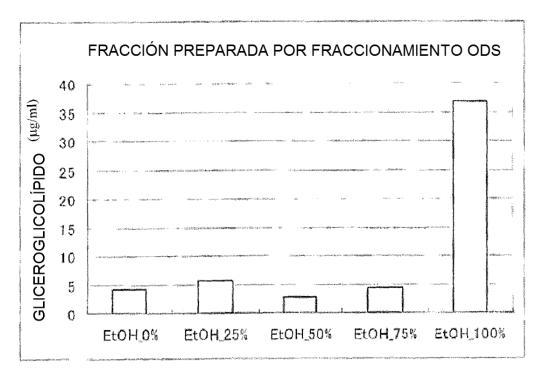


Figura 10

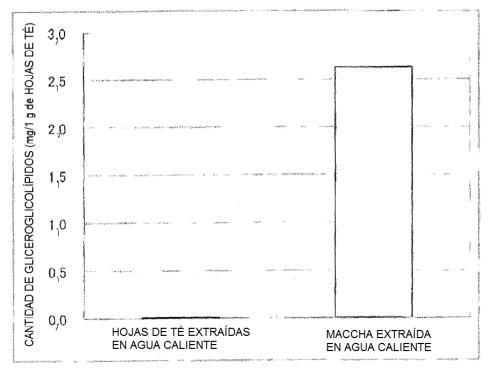


Figura 11

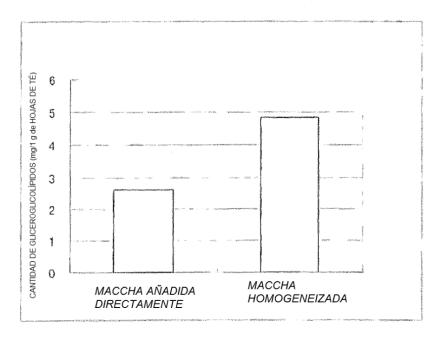


Figura 12

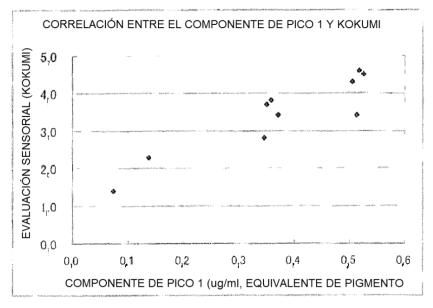


Figura 13

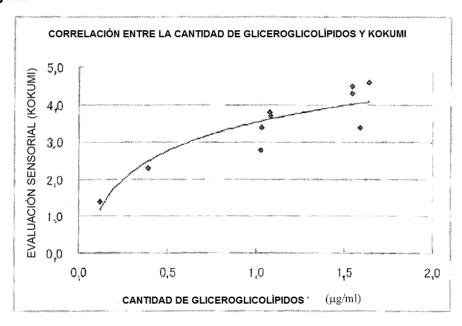


Figura 14

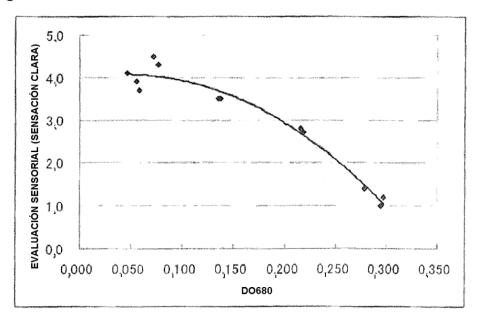


Figura 15

