

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 404**

51 Int. Cl.:

**A23F 3/16**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2008 PCT/JP2008/067385**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2009 WO09041555**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2008 E 08833261 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 2193721**

54 Título: **Extracto de té, bebida de té y método de producir los mismos**

30 Prioridad:

**26.09.2007 JP 2007249481**

**05.12.2007 JP 2007314237**

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

**05.03.2018**

73 Titular/es:

**SUNTORY BEVERAGE & FOOD LIMITED (100.0%)**

**3-1-1, Kyobashi**

**Chuo-ku, Tokyo 104-0031, JP**

72 Inventor/es:

**NAGAO, KOJI;**

**MAKI, HIDEKI;**

**SUZUKI, KEN y**

**YOKOO, YOSHIAKI**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 657 404 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

Extracto de té, bebida de té y método de producir los mismos

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un extracto de té, a una bebida de té y a un método de fabricación de los mismos. En particular, la presente invención se refiere a un método de fabricación de un extracto de té que contiene componentes aromáticos de té, es decir, altas concentraciones de aminoácidos, está libre de componentes amargos/astringentes, es decir, catequinas y, por tanto, satisface a los usuarios que discriminan sabores.

**Antecedentes de la técnica**

En cuanto a los tés verdes, el sabor más fuerte a base de aminoácidos extraído de hojas de té tales como gyokuro (té verde refinado) se evalúa esencialmente como tés de calidad alta o extracción hábil. Por ejemplo, la extracción de gyokuro a una temperatura de aproximadamente 60 °C o la extracción de sencha normal (té de hoja natural) con agua enfriada con hielo se realiza para la extracción selectiva de componentes aromáticos sin extracción de componentes amargos/astringentes, es decir, catequinas. En consecuencia, los tés verdes que tienen un aroma fuerte y un contenido de catequinas bajo se evalúan como tés fragantes en muchos casos.

En años recientes, se ha desarrollado un gran número de bebidas de té embotelladas en latas o botellas de PET. Entre las bebidas de té, el mercado de las bebidas de té verde está creciendo. Los consumidores presentan una fuerte preferencia por este tipo de bebidas de té y requieren el desarrollo de bebidas de té embotelladas que tienen un fuerte sabor aromático/suave con sabor menos amargo/astringente, como la extracción con una tetera.

Se notifican métodos de fabricación de extractos de té o bebidas de té que tienen un aroma rico como se indica a continuación: la Bibliografía de Patente 1 divulga un método de extracción de componentes útiles de tés mediante al menos dos procesos de extracción con agua, es decir, la extracción con agua a baja temperatura y la extracción con agua a alta temperatura. En el caso del té verde, la extracción con agua a una temperatura baja de 40 a 60 °C puede extraer principalmente los sabores de aroma y componentes amargos tales como aminoácidos, catequina y cafeína, y componentes de aroma que tienen puntos de ebullición relativamente bajos tales como hexanal, mientras que la extracción a alta temperatura puede extraer principalmente componentes amargos tales como catequina.

La Bibliografía de Patente 2 desvela una bebida de té que se produce mediante la extracción en dos etapas incluyendo la extracción con agua caliente de hojas de té de 80 a 100 °C y después la extracción a baja temperatura a 30 a 50 °C y que tiene un aroma alto comparable con una bebida de té por extracción a alta temperatura, un aroma profundo y un sabor muy suave comparables con una bebida de té por extracción a baja temperatura y sabor astringente débil.

La Bibliografía de Patente 3 divulga una bebida de té que es una mezcla de un extracto producido por extracción con agua de hojas de té verde a -5 a 9 °C y otro extracto producido por extracción con agua caliente del residuo de extracción a 50 a 100 °C y que tiene un sabor amargo/astringente moderado independientemente de altos niveles de catequinas.

La Bibliografía de Patente 4 divulga la preparación de un extracto de té que tiene aroma y sabor astringente reducido por inmersión de hojas de té en agua estática libre de oxígeno a 0 a 36 °C.

La Bibliografía de Patente 5 divulga la producción de una bebida de té que ha de venderse y tomarse en un estado enfriado por debajo de la temperatura normal en la que se realiza la extracción usando agua desgasificada que contiene un oxígeno disuelto de 1 ppm o al menos a 20 °C o más y menos de 60 °C (preferentemente 50 °C o menos), de manera que el contenido de catequinas total y el contenido de catequinas de un tipo de éster de ácido gálico se controlen dentro de intervalos específicos, con lo que la bebida tiene un sabor áspero y astringente moderado.

Además, se divulgan métodos que implican la extracción enzimática con el fin de potenciar el gusto de los extractos de té. Por ejemplo, la Bibliografía de patentes 6 divulga la extracción con agua caliente de té verde común en presencia de tanasa. Este proceso tiene una ventaja de potenciación del gusto endémico del té.

La Bibliografía de Patente 7 divulga el tratamiento de destaninación de un extracto de té y después una reacción del extracto con glutaminasa con el fin de aumentar el contenido de ácido glutámico en el extracto de té.

La Bibliografía de Patente 8 divulga un extracto que presenta un gusto superior, producido mediante la extracción de sencha (té verde) en presencia de protopectinasa y proteasa. Esta bibliografía establece adicionalmente que la proteasa descompone la proteína en las hojas de té para generar aminoácidos, de manera que el gusto de los aminoácidos suprime el sabor amargo/astringente del extracto.

La Bibliografía de Patente 9 divulga un extracto de té verde elegante que se produce mediante la extracción de materia prima de té en presencia de dos enzimas, es decir, proteasa y la tanasa, y que tiene un gran sabor aromático/suave con un sabor astringente reducido como resultado del efecto sinérgico de estas dos enzimas, que es inesperado de un solo uso de estas enzimas.

5 La Bibliografía de Patente 10 divulga un método de fabricación de una bebida de té verde que contiene un extracto de té de gran aroma preparado mediante la extracción después de la zimolisis de hojas de té y un extracto de té caliente preparado mediante la extracción a alta temperatura.

10 Además, se notifican bebidas de té que contienen aminoácidos y que presentan un sabor amargo/astringente reducido. Por ejemplo, la Bibliografía de Patente 11 divulga un té semifermentado que contiene teanina y que presenta un sabor amargo/astringente reducido. Los solicitantes también divulgan una bebida de té que tiene un contenido de catequinas en el intervalo de 40 a 100 mg/100 ml, que contiene ácido glutámico en una cantidad de 6 a 20 mg/100 ml y un sabor astringente reducido debido a la catequina (Bibliografía de Patente 12).

15 La Bibliografía de Patente 13 divulga un extracto de té obtenido mediante la esterilización de hojas de té con agua caliente y después la extracción de las hojas de té en presencia de proteasa y tanasa.

20 [Bibliografía de Patente 1] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 11-56242

[Bibliografía de patente 2] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 6-303904

[Bibliografía de Patente 3] Patente Japonesa N.º 3590027

[Bibliografía de Patente 4] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 2000-50.799

[Bibliografía de Patente 5] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 6-343389

25 [Bibliografía de Patente 6] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 49-110900

[Bibliografía de Patente 7] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 2005-124500

[Bibliografía de Patente 8] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 1-300848

[Bibliografía de Patente 9] Patente Japonesa N.º 3782718

[Bibliografía de Patente 10] Patente Japonesa N.º 3820372

30 [Bibliografía de Patente 11] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 2000-197449

[Bibliografía de Patente 12] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 2006-42728

[Bibliografía de Patente 13] Publicación de Solicitud de Patente Japonesa No Examinada N.º 2003-144049

## Divulgación de la invención

### 35 Problemas que se han de resolver por la invención

Como se ha descrito anteriormente, se conocen diversos procesos para la potenciación del gusto en extractos de té. Se sabe que las enzimas actúan sobre las proteínas y fibras en las hojas de té y/o extractos de té para aumentar la concentración de aminoácidos que son componentes deliciosos en los extractos, en la extracción usando enzimas.

40 El gusto de los extractos de té producidos mediante estos procesos, sin embargo, no siempre es suficientemente satisfactorio. En consecuencia, se espera impacientemente el desarrollo de extractos de té que contengan altas concentraciones de aminoácidos que son componentes aromáticos/suaves y cantidades reducidas de catequinas que son componentes amargos/astringentes.

45 En consecuencia, un objeto de la presente invención es proporcionar un extracto de té que contenga una alta concentración de componentes aromáticos/suaves y cantidades reducidas de componentes amargos/astringentes y un método de fabricación del mismo. Otro objeto de la presente invención es proporcionar una bebida de té embotellada que presente un aroma profundo con cantidades reducidas de componentes astringentes y que pueda comercializarse en grandes cantidades.

### 50 Medios para resolver los problemas

Los inventores han estudiado exhaustivamente para resolver los problemas descritos anteriormente y concluyeron que las catequinas mitigan o impiden la concentración de aminoácidos por la enzima durante la extracción usando una enzima (también denominada "extracción enzimática" en toda la memoria descriptiva). Basándose en la conclusión, los inventores descubrieron que la extracción enzimática de hojas de té después de la retirada al menos parcial de catequinas conduce a un contenido significativamente alto de aminoácidos en el extracto de té resultante con cantidades reducidas de catequinas. Además, los inventores descubrieron que el extracto de té tenía una composición novedosa que difiere de cualquier composición conocida, es decir, una composición que contiene un contenido de aminoácidos total del 7,0 % en peso o más, donde la proporción de la teanina con respecto a los aminoácidos es 0,1 o más y un contenido total de catequinas del 15,0 % en peso o menos (preferentemente del 13,5 % en peso o menos, más preferentemente del 10,0 % en peso o menos, más preferentemente del 8,0 % en peso o menos), sobre la base del contenido sólido derivado de las hojas de té en el extracto de té, y este extracto presenta un sabor aromático/suave y sin sabor amargo/astringente. Como resultado, los inventores confirmaron que el extracto puede utilizarse como un potenciador de gusto de una bebida de té.

Como resultado de una investigación adicional, los presentes inventores han descubierto que la adición de una proporción predeterminada de teanina al extracto de té descrito anteriormente puede proporcionar un aroma fresco. Los inventores han descubierto adicionalmente que un extracto a baja temperatura de hojas de té como fuente de teanina presenta un sabor aromático/suave fresco con sabor amargo/astringente moderado, un extracto de té que presenta un aroma profundo puede producirse mediante extracción enzimática después de la retirada de las catequinas del residuo de la extracción a baja temperatura. Como resultado, se ha completado la presente invención.

La presente invención se refiere a los siguientes aspectos.

1. Un extracto de té producido poniendo hojas de té en contacto con un disolvente, donde dicho extracto de té comprende catequinas y aminoácidos que contienen al menos teanina, donde la proporción total de aminoácidos con respecto al contenido sólido derivado de las hojas de té en el extracto de té es del 7,0 % en peso o más, donde la proporción de la teanina con respecto a los aminoácidos es de 0,1 en términos de peso o más y la proporción total de catequinas es del 15,0 % en peso o menos (preferentemente del 13,5 % en peso o menos, más preferentemente del 10,0 % en peso o menos, mucho más preferentemente del 8,0 % en peso o menos) sobre la base del contenido sólido derivado de las hojas de té en el extracto de té.

2. El extracto de té del Aspecto 1, donde la proporción de la teanina con respecto a los aminoácidos es de 0,15 en términos de peso o más.

3. El extracto de té del Aspecto 1 o 2, donde la teanina se añade como un extracto a baja temperatura preparado mediante la extracción de las hojas de té usando un disolvente a 40 °C o menos.

4. El extracto de té de uno cualquiera de los Aspectos 1 a 3, donde el extracto de té tiene un grado Brix en el intervalo del 0,1 al 20 %.

5. El extracto de té de uno cualquiera de los Aspectos 1 a 3, donde el extracto de té es un polvo.

6. Una bebida de té embotellada que comprende el extracto de té de acuerdo con uno cualquiera de los Aspectos 1 a 5.

7. Un método de fabricación de un extracto de té como se define en uno cualquiera de los Aspectos 1 a 5, que comprende las etapas de:

(1) retirar al menos parte de las catequinas de las hojas de té;

(2) extraer enzimáticamente las hojas de té de las que se retiran las catequinas para preparar un extracto enzimático; y

(3) mezclar teanina con el extracto enzimático para preparar un extracto de té que contenga una alta concentración de teanina.

8. El método de fabricación de un extracto de té del Aspecto 7, donde la etapa de retirar las catequinas incluye extraer las hojas de té con un disolvente acuoso a 60 °C o más.

9. El método de fabricación de un extracto de té del Aspecto 7, donde la teanina se añade como un extracto a baja temperatura preparado mediante la extracción de las hojas de té con un disolvente a 40 °C o menos.

10. El método de fabricación de un extracto de té del Aspecto 9, donde las hojas de té de las que se retiran las catequinas es el residuo después de que se retira el extracto a baja temperatura.

### Ventajas de la invención

El extracto de té de la presente invención contiene altas concentraciones de aminoácidos que son componentes aromáticos/suaves y cantidades reducidas de catequinas que son componentes amargos/astringentes y, por tanto, puede potenciar el gusto y el sabor aromático/suave del alimento y la bebida que contiene el extracto de té. En particular, la presente invención proporciona una bebida de té embotellada que se prepara mediante la adición del extracto de té de la presente invención a una bebida de té y que presenta un aroma complejo que incluye aroma fresco y muy suave con sabor amargo/astringente moderado.

### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un gráfico que muestra tendencias de extracción de catequinas y aminoácidos en la extracción de té verde con agua desionizada a 25 °C en las condiciones de los Ejemplos de Referencia (en el dibujo, "catequina" se refiere a "catequinas").

### Mejor modo de realizar la invención

(Extracto de té)

El extracto de té de la presente invención contiene altas concentraciones de aminoácidos que son componentes aromáticos/suaves y cantidades reducidas de catequinas que son componentes amargos/astringentes. El "extracto de té" referido en la memoria descriptiva representa un extracto de hoja de té preparado poniendo hojas de té en contacto con un disolvente, en particular, un disolvente acuoso. Aunque el extracto de té de la presente invención

puede usarse como bebidas de té sin procesamiento adicional, el extracto generalmente se usa como un promotor del gusto mediante su adición a alimentos y bebidas tales como bebidas de agua y de té, ya que es un extracto (también denominado extracto de té en la memoria descriptiva) que contiene una mayor cantidad de contenido sólido soluble que el de las bebidas de té. En el caso de que el extracto de té de la presente invención sea líquido, el grado Brix del extracto generalmente está en el intervalo de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 20 %. El extracto de té de la presente invención puede ser un polvo preparado a partir del extracto de té líquido mediante cualquier procedimiento habitual.

Los "aminoácidos" referidos en la memoria descriptiva es un término colectivo de 19 compuestos que incluyen arginina, lisina, histidina, fenilalanina, tirosina, leucina, isoleucina, metionina, valina, alanina, glicina, prolina, ácido glutámico, serina, treonina, aspártico ácido, triptófano, cistina y teanina, la cantidad total de los aminoácidos significa el peso total de estos 19 compuestos.

El extracto de té de la presente invención (extracto de té) se prepara generalmente mediante la extracción enzimática de hojas de té. La expresión "extracción enzimática" utilizada en el presente documento se refiere a la extracción de hojas de té que contienen enzimas con un disolvente acuoso o a la extracción de hojas de té con un disolvente acuoso que contiene enzimas.

Como se ha descrito anteriormente, el extracto de té de la presente invención se caracteriza por altas concentraciones de aminoácidos y cantidades reducidas de componentes amargos/astringentes. Más específicamente, a una proporción del contenido total de catequinas del 15,0 % en peso o menos, preferentemente del 13,5 % en peso o menos, más preferentemente del 10,0 % en peso o menos y mucho más preferentemente del 8,0 % peso o menos con respecto al contenido sólido derivado de las hojas de té, en el extracto de té, los usuarios no sienten un sabor amargo/astringente. Además, a una proporción de contenido total de aminoácidos con respecto al componente sólido derivado de las hojas de té del 7,0 % en peso o más, en el extracto de té que tiene un contenido de catequina de este tipo, el extracto de té presenta un sabor aromático/suave. Puesto que el extracto de té de la presente invención contiene un contenido absoluto alto de aminoácidos y un contenido relativo alto de aminoácidos con respecto a las catequinas en comparación con los extractos de té convencionales, las bebidas (en particular, las bebidas de té) que contienen el extracto de té de la presente invención presentan un sabor aromático/suave potenciado sin aumento del sabor amargo/astringente.

Además, un extracto de té que contiene un alto contenido de teanina preparado mediante la adición de una proporción de teanina al extracto de té de la presente invención presenta un aroma fresco potenciado además del sabor aromático/suave. La teanina se añade de manera que el contenido de teanina con respecto a los aminoácidos en el extracto de té sea de 0,1 en términos de peso o más, más preferentemente de 0,15 en términos de peso. Como alternativa, la teanina se añade preferentemente de manera que la proporción de teanina sea del 0,3 % en peso o más, preferentemente del 0,6 % en peso o más, más preferentemente del 0,8 % en peso o más, más preferentemente del 1,0 % en peso o más, mucho más preferentemente del 1,5 % en peso o más con respecto al contenido sólido derivado de las hojas de té, en el extracto de té que contiene un contenido alto de teanina. Aunque puede usarse teanina purificada disponible en el mercado derivada de hojas de té, la adición de teanina como extracto a baja temperatura de hojas de té transmite un aroma más fresco y muy suave al extracto de té, debido a la incorporación de componentes aromáticos tales como hexanal. El extracto a baja temperatura de las hojas de té se refiere a un producto de extracción de hojas de té con un disolvente acuoso a 40 °C o menos, por ejemplo, un extracto de té verde (extracto a baja temperatura), preparado mediante la inmersión de hojas de té verde con agua a 40 °C o menos y la filtración de la solución.

Como se ha descrito anteriormente, el extracto de té de la presente invención puede usarse como materia prima para bebidas de té y alimento y bebida tales como cosas dulces. El extracto de té de la presente invención, que presenta un gusto fresco y un aroma suave y profundo con un sabor amargo/astringente reducido, no presentados por los extractos de té convencionales, es adecuado para las bebidas de té.

El extracto de té de la presente invención puede usarse como bebidas de té tal como está o después de diluirse en una concentración apropiada, si es necesario. La bebida de té contenida en un recipiente presenta muchos aromas suaves y profundos con un sabor amargo/astringente reducido, como un extracto de té de clase alta que se prepara mediante una tetera y puede ser consumido a diario por los usuarios. Los ejemplos del recipiente incluyen, pero no se limitan a, botellas de PET, latas, botellas y envases de papel.

El ajuste del pH de la bebida de té dentro del intervalo de aproximadamente 5,9 a 6,3 puede mantener el aroma característico de la presente invención a largo plazo y prevenir eficazmente el pardeamiento. El uso de proteasas en la preparación del extracto enzimático permite que las bebidas de té presentan una alta estabilidad de conservación (prevención de la precipitación).

(Método de fabricación del extracto de té)

El método de fabricación de un extracto de té de la presente invención que contiene altas concentraciones de aminoácidos y que está libre de catequinas no se limita, a condición de que el extracto de té contenga los contenidos

específicos mencionados anteriormente de aminoácidos y catequinas. Por ejemplo, un extracto de té que contiene altas concentraciones de aminoácidos y cantidades reducidas de catequinas puede prepararse mediante a) un proceso que implica la retirada de catequinas por cualquier medio conocido (por ejemplo, adsorción en resina) de un extracto a baja temperatura, que contiene concentraciones altas de aminoácidos, de hojas de té, b) un proceso que implica la inmersión de hojas de té verde en una solución que contiene de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 50 %, preferentemente de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 30 % de ácido clorhídrico a una temperatura alta (aproximadamente 80 °C) para hidrolizar las proteínas en las hojas de té a aminoácidos, mientras que las catequinas se retiran por precipitación (proceso de tratamiento con ácido). Sin embargo, el procedimiento a) no es eficiente, mientras que el extracto de té preparado mediante el procedimiento b), el proceso de tratamiento con ácido requiere un agente neutralizante para neutralizar una gran cantidad de ácido, formándose de este modo una gran cantidad de aroma que excluye la sal. Los presentes inventores han descubierto que el extracto de té (solución de extracción enzimática) de la presente invención era susceptible de ser preparado fácilmente mediante la retirada al menos parcialmente de las catequinas de las hojas de té y después la extracción enzimática de las hojas de té, contenía altas concentraciones de aminoácidos, estaba libre de catequinas y componentes extraños, tales como sales originalmente no contenidas en las hojas de té y presentaba un aroma superior. Este proceso puede potenciar el efecto de la enzima sobre las hojas de té durante el tratamiento enzimático después de la retirada parcial de catequinas de las hojas de té, dando como resultado concentraciones altas de aminoácidos con cantidades reducidas de catequinas.

Los presentes inventores también han descubierto que la mezcla del extracto enzimático descrito anteriormente con teanina que se prepara por separado, en particular, un extracto a baja temperatura de hojas de té proporciona un extracto de té que presenta un aroma suave/profundo, un sabor amargo/astringente reducido y un aroma fresco.

En la presente invención, la etapa de retirada de catequinas de hojas de té, la etapa de preparación de un extracto enzimático a partir de las hojas de té y la etapa de preparación de un extracto a baja temperatura, si es necesario, pueden realizarse de forma continua en un solo extractor y cada etapa se describirá ahora en detalle.

(Primera etapa: Retirada de catequinas)

Como se ha descrito anteriormente, la primera característica del método de fabricación del extracto de té de la presente invención es la retirada de catequinas de hojas de té. El término "catequinas" en la memoria descriptiva indica un término colectivo que incluye catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, galato de catequina, galato de epicatequina, galato de galocatequina y galato de epigalocatequina.

Puede emplearse sin limitación cualquier método que pueda retirar al menos parte de las catequinas con el fin de retirar catequinas de las hojas de té. Por ejemplo, un disolvente acuoso se pone en contacto con hojas de té para producir un extracto de hoja de té y el extracto se retira (se desecha). Puesto que las catequinas pueden extraerse fácilmente a altas temperaturas, se prefiere que las hojas de té se pongan en contacto con un disolvente (preferentemente agua) a una temperatura elevada (preferentemente 60 °C o más) para producir un extracto caliente y el extracto caliente se retire (se deseche).

Otro método para retirar eficientemente solo catequinas es el uso de resina adsorbible, por ejemplo, el contacto con una resina adsorbible a una temperatura alta (preferentemente 60 °C o más) como se divulga en, por ejemplo, el documento WO2005/077384. Puesto que las catequinas se retiran selectivamente y otros componentes derivados del té, tales como componentes aromáticos, están contenidos en el extracto, el extracto puede usarse como un disolvente de extracción en la siguiente etapa de extracción enzimática. También pueden retirarse selectivamente catequinas en las hojas de té mediante otros procesos conocidos usando ácidos, soluciones alcalinas o disolventes orgánicos. Por ejemplo, se sumergen hojas de té en ácido clorhídrico con una concentración de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente 5 % en peso, preferentemente de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 2 % en peso (solución de ácido) (pH: de aproximadamente 1 a 4) a una temperatura elevada (aproximadamente 80 °C) para retirar catequinas por precipitación, con lo que se obtiene una solución ácida.

En vista de la operabilidad y el gusto derivado de los componentes originales de las hojas de té, se prefieren la extracción de alta temperatura y el desechado del extracto.

Los disolventes utilizables para la extracción a alta temperatura pueden ser cualquier disolvente acuoso, tal como agua destilada, agua desionizada y soluciones hidroalcohólicas. En vista del punto de ebullición del alcohol, se prefiere el uso de agua destilada o agua desionizada.

La retirada parcial de catequinas de las hojas de té puede determinarse por medición de la concentración de las catequinas en el extracto a alta temperatura o la solución de tratamiento con ácido en la etapa de retirada de las catequinas.

Las cantidades de las catequinas pueden determinarse por cualquier proceso conocido, por ejemplo, análisis de separación tal como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) del filtrado a través de un filtro (0,45 µm).

Los ejemplos de hojas de té que pueden usarse como materia prima incluyen té al vapor sin fermentar (tés verdes), tales como sencha, bancha (té verde grueso), houjicha (té verde tostado), gyokuro, kabusecha (té oscuro cultivado) y tencha (té dulce); té no fermentados tostados en vasija tales como ureshinocha, aoyagicha y diversos té chinos; té semifermentados tales como houshu cha (té pouchong), tekkanon cha (té Tie Kuan Yin) y té oolong; té fermentados tales como té negro, awabancha (té verde grueso cosechado en el distrito Awa en Japón) y té Pu-er. Entre estas hojas de té, se prefieren té no fermentados (ryokucha) y té semifermentados que se evalúan predominantemente por su sabor aromático/suave.

Aunque pueden usarse hojas de té nuevas como hojas de té en bruto, se prefiere el uso de residuo de extracción después de la extracción a baja temperatura como se describe a continuación en el punto de vista económico porque también pueden retirarse aminoácidos además de catequinas durante la etapa de retirada de catequinas de la presente invención. Se prefiere la conservación preliminar de aminoácidos que pueden extraerse fácilmente en vista del rendimiento de aminoácidos.

De acuerdo con los resultados de la investigación de los presentes inventores, el contenido sólido de un extracto a baja temperatura de las hojas de té verde contenía aproximadamente del 15 al 25 % en peso de catequinas y del 1,0 al 7,0 % en peso de aminoácidos (incluyendo del 0,4 al 3,5 % en peso de teanina), como se describe a continuación. La proporción de teanina en los aminoácidos fue de aproximadamente 0,4 a 0,5 (consúltense los Ejemplos Comparativos A1 y A1' y los Ejemplos D1, D1' y E1). Además, el contenido sólido del extracto de alta temperatura de hojas de té verde contenía aproximadamente el 15 % en peso de catequinas y el 2,5 % en peso de aminoácidos (incluyendo el 1,5 % en peso de teanina). La proporción de teanina en los aminoácidos fue de aproximadamente 0,5 (referida al Ejemplo B1). Además, el contenido sólido en un extracto de alta temperatura del residuo de la extracción a baja temperatura de hojas de té verde contenía aproximadamente 30 a 35 % en peso catequinas y 0.4 a 2.0 % en peso de aminoácidos (incluyendo 0 a 1,5 % en peso de teanina). La proporción de teanina en los aminoácidos fue de aproximadamente 0 a 0,6 (consúltense los Ejemplos D2, D2' y E2). El contenido sólido en una solución de tratamiento con ácido para retirar catequinas contenía aproximadamente el 10 % en peso de catequinas y aproximadamente el 3,5 % en peso de aminoácidos (incluyendo el 1,5 % en peso de teanina). La proporción de teanina en los aminoácidos fue de aproximadamente 0,4 (consúltense el Ejemplo C1).

Los resultados demuestran que un proceso eficiente y simple de retirada de las catequinas es la extracción a alta temperatura de un residuo del extracto después de la extracción a baja temperatura de hojas de té verde y la retirada (eliminación). Los resultados demuestran adicionalmente que el extracto a baja temperatura se usa como una fuente de teanina que se ha de añadir a un extracto enzimático que se describe a continuación debido a que el extracto a baja temperatura de las hojas de té verde contiene grandes cantidades de aminoácidos, especialmente teanina.

(Segunda etapa: Preparación del extracto enzimático)

La presente invención implica la extracción enzimática de las hojas de té de la que se retiran las catequinas en la primera etapa. El extracto enzimático en la memoria descriptiva se refiere a la extracción con un disolvente acuoso de hojas de té al que se añade una enzima o al que se añade una enzima de extracción de hojas de té con un disolvente acuoso.

Puede usarse cualquier enzima que pueda enriquecer la cantidad de los aminoácidos en el extracto. Por ejemplo, pueden usarse varios aminoácidos, tales como proteasa,  $\alpha$ -amilasa, celulasa, hemicelulasa, pectinasa y protopectinasa solos o en combinación. Entre ellos, se prefiere el uso combinado de proteasa que descompone las proteínas insolubles en las hojas de té en péptidos de bajo peso molecular solubles y aminoácidos y celulasa o pectinasa que descomponen la fibra en las hojas de té para liberar a proteínas presentes en las hojas de té con el fin de potenciar la eficiencia de extracción en aminoácidos, en vista de la eficiencia de extracción de aminoácidos.

La celulasa en el presente documento se refiere a una enzima que hidroliza el enlace  $\beta$ -1,4-glucosídico de la celulosa para generar celobiosa. Puede usarse cualquier celulasa que pueda usarse en alimentos sin restricción independientemente de su origen y pureza. Los ejemplos de celulasas disponibles en el mercado incluyen Cellulosine T2, Cellulosine AC40 y Cellulosine AL (disponible de Hankyu Kyoei Bussan Kabushiki Kaisha); celulasa "Onozuka" 3S (Yakult Pharmaceutical Industry Co., Ltd.); y celulasa T "Amano" 4 y celulasa A "Amano" 3 (Amano Enzyme Inc.).

La pectinasa (también denominada pectina despolimerasa o poligalactouronidasa) en el presente documento se refiere a una enzima que hidroliza el enlace  $\alpha$ -1,4-glucosídico del ácido poligalacturónico (ácido pectínico). Puede usarse cualquier pectinasa que pueda usarse en alimentos sin restricción independientemente de su fuente y pureza y dicha pectinasa está disponible en el mercado con el fin de clarificar zumos de fruta y mejorar el rendimiento de extracción. Los ejemplos de dichas pectinasas incluyen Cellulosin PC5, Cellulosin PE60 y Cellulosin PEL (disponibles de Hankyu Kyoei Bussan Kabushiki Kaisha); pectinasa 3S y HL pectinasa (Yakult Pharmaceutical Industry Co., Ltd.); y pectinasa "Amano" PL, pectinasa "Amano" G (Amano Enzyme Inc.).

La proteasa en el presente documento se refiere a una enzima que cataliza la hidrólisis de los enlaces peptídicos de proteínas y péptidos. La proteasa se clasifica a grandes rasgos en endopeptidasa (proteínasa) que afecta a proteínas y péptidos para formar péptidos de bajo peso molecular, y exopeptidasa (peptidasa) que afecta a péptidos para formar aminoácidos. Puede usarse cualquier proteasa entre ellas y se prefiere en particular la exopeptidasa que puede formar aminoácidos. Puede usarse cualquier proteasa que pueda usarse en alimentos sin restricción independientemente de su fuente y pureza y puede seleccionarse en vista del pH óptimo. Los ejemplos de dichas proteasas incluyen Orientase 22BF, 90N Orientase, Orientase ONS, Orientase 20A y Nucleicin (disponible de Hankyu Kyohei Bussan Kabushiki Kaisha); Panchidase NP-2, Papaína soluble y proteasa YP-SS (Yakult Pharmaceutical Industry Co., Ltd.); Denatyme AP, Denapcyne, Papaína purificada para uso alimentario (Nagase Chemtex Corporation); y proteasa M "Amano", proteasa A "Amano" G, proteasa P "Amano" 3G, proteasa N "Amano", glutaminasa F "Amano" 100, Newlase F, Pancreatina F, Papaína W-40 y Bromelina F (Amano Enzyme Inc.).

Las condiciones de la extracción enzimática dependen del tipo de la enzima utilizada, del tipo de las hojas de té se utilizadas y de la preferencia deseada. En general, la cantidad de la enzima que se ha de añadir varía de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 0,1, preferentemente de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 0,05 partes en peso sobre la base de una parte en peso de hojas de té. Una cantidad de menos de 0,0001 partes en peso conduce a un efecto insuficiente sobre los aumentos en aminoácidos en el extracto. Una cantidad superior a 0,1 partes en peso conduce a una desventaja económica debido a la eficiencia de la extracción saturada de aminoácidos y puede afectar al sabor del extracto en algunas enzimas.

La temperatura de la extracción enzimática puede seleccionarse apropiadamente en vista de las condiciones óptimas para la enzima que se ha de usar y generalmente varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 °C, preferentemente de aproximadamente 35 a aproximadamente 45 °C. La extracción enzimática a una temperatura inferior a 20 °C conduce a una mala eficiencia de la extracción, mientras que la extracción enzimática a una temperatura superior a 50 °C puede conducir a un sabor extraño del extracto.

El tiempo de extracción enzimática también puede determinarse adecuadamente y generalmente varía de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 horas, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 18 horas. Un tiempo más corto que 0,5 horas puede provocar una reacción enzimática insuficiente. Un tiempo más largo de 20 horas conduce a una desventaja económica debido a la eficiencia de extracción saturada de aminoácidos y puede afectar al sabor del extracto en algunas enzimas.

El pH durante la extracción enzimática se establece preferentemente al pH óptimo para la enzima que se ha de usar y puede usarse un ajustador de pH, si es necesario.

Preferentemente, la reacción enzimática (extracción enzimática) se realiza con agitación o circulación.

Después de la reacción enzimática, el sistema de reacción se calienta a aproximadamente 60 a aproximadamente 121 °C durante aproximadamente 2 segundos a 20 segundos para desactivar la enzima. A continuación, se prefiere que el extracto de té (extracto enzimático) se enfríe inmediatamente con el fin de evitar el deterioro del gusto. El extracto de té resultante puede someterse a cualquier procedimiento de separación tal como separación centrífuga o filtración para potenciar la transparencia del extracto, si es necesario. Como alternativa, el extracto puede condensarse en una solución concentrada. Como alternativa, el extracto puede secarse en una sustancia seca (forma de polvo).

El extracto de té resultante (extracto enzimático) contiene altas concentraciones de aminoácidos y bajas concentraciones de catequinas. Como se describe a continuación, de acuerdo con la investigación de los presentes inventores, el contenido sólido en un extracto enzimático preparado mediante extracción enzimática de un residuo de extracto (hojas de té) de extracción de baja temperatura de hojas de té verde para retirar parte de las catequinas contiene de aproximadamente el 4,0 a aproximadamente el 6,0 % en peso de aminoácidos (incluyendo del 0,05 al 0,3 % en peso de teanina) y aproximadamente del 7,0 al 8,5 % en peso de catequinas. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) es de 0,6 a 0,7 (consúltense los Ejemplos Comparativos A2 y A2'). El contenido sólido en un extracto enzimático preparado mediante extracción enzimática de un residuo de extracción (hojas de té) de extracción a alta temperatura de hojas de té verde para retirar parte de las catequinas contiene aproximadamente el 11 % en peso de aminoácidos (incluyendo el 0,2 % en peso de teanina) y el 0,7 % en peso de catequinas. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) es de 15,8 (consúltense el Ejemplo B2). Además, el contenido sólido en un extracto enzimático preparado mediante extracción enzimática de un residuo de extracción (hojas de té) de extracción a alta temperatura de un residuo de extracción de la extracción a baja temperatura de hojas de té verde para retirar parte de las catequinas contiene de aproximadamente el 7,5 a aproximadamente el 11,5 % en peso de aminoácidos (incluyendo del 0,03 al 0,7 % en peso de teanina) y del 0,5 al 6,0 % en peso de catequinas. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) es de 1,0 a 16,0 (consúltense los Ejemplos D3, D3' y E3). Además, el contenido sólido en un extracto enzimático preparado mediante la extracción enzimática de hojas de té de las que se retiran catequinas por tratamiento con ácido contiene aproximadamente el 12,5 % en peso de aminoácidos (incluyendo el 0,3 % en peso de teanina) y aproximadamente el 8,0 % en peso de catequinas. La relación calculada (a/b) de los

aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) es de 1,6 (consúltese el Ejemplo C2).

Estos resultados demuestran que la extracción enzimática después de la extracción a alta temperatura o el tratamiento con ácido de hojas de té verde para la retirada de catequinas produce un extracto enzimático que contiene altas concentraciones de aminoácidos y bajas concentraciones de catequinas. En vista de estos resultados con los resultados de la primera etapa, la extracción enzimática usando hojas de té de las que se retiran eficazmente catequinas produce un extracto de té (extracto enzimático) que contiene altas concentraciones de aminoácidos y bajas concentraciones de catequinas. Se cree que la reacción de retirada de catequinas en las hojas de té conduce a una potenciación en la reacción o los efectos de la enzima.

El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en el extracto enzimático en la segunda etapa pueden determinarse adecuadamente basándose en la memoria descriptiva del extracto de té requerido. En general, a un contenido total de aminoácidos en el contenido sólido del 2,5 % en peso, preferentemente del 7,0 % en peso o más, el extracto de té resultante presenta un sabor aromático/suave. Además, a un contenido total de catequinas en el componente sólido del 15,0 % en peso o menos, preferentemente del 10,0 % en peso o menos, el extracto de té resultante sustancialmente no presenta sabor amargo/astringente. Se confirma que un extracto de té (extracto enzimático) que tiene una relación (a/b) del contenido de aminoácidos (a) con respecto al contenido de catequina (b) de 1 o más, preferentemente de 5 o más, más preferentemente de 10 o más, más preferentemente de 15 o más presenta un aroma suave, profundo, sin sabor amargo/astringente y, por tanto, es útil como un potenciador del gusto para las bebidas de té, por ejemplo.

(Tercera etapa: Preparación de extracto de té que contiene una concentración alta de teanina)

La presente invención proporciona adicionalmente un extracto de té que puede producirse mediante la mezcla de teanina con el extracto de té (extracto enzimático) preparado mediante la extracción enzimática descrita anteriormente y presenta un aroma fresco enriquecido, además de un aroma suave, profundo. La teanina se añade preferentemente de manera que el contenido de teanina en el extracto de té que contiene una concentración alta de teanina sea de 0,1 en términos de peso o más, preferentemente de 0,15 en términos de peso o más con respecto a la cantidad total de los aminoácidos. Como alternativa, la teanina se añade preferentemente de manera que la proporción de la teanina en el extracto de té que contiene una concentración alta de teanina sea del 0,3 % en peso o más, preferentemente del 0,6 % en peso o más, más preferentemente del 0,8 % en peso o más, más preferentemente del 1,0 % en peso o más, mucho más preferentemente del 1,5 % en peso o más con respecto al contenido sólido derivado de las hojas de té. Puede seleccionarse cualquier teanina entre productos purificados aislados a partir de hojas de té, productos concentrados de los mismos y teanina en polvo y teanina líquida disponibles en el mercado. Puesto que el extracto a baja temperatura de hojas de té contiene una concentración alta de teanina como se describe en la primera etapa, el extracto a baja temperatura de las hojas de té puede añadirse como una fuente de teanina. El uso del extracto a baja temperatura de las hojas de té conduce a la adición de componentes aromáticos tales como hexanal, dando como resultado la creación de aroma fresco y sabor muy suave. El extracto a baja temperatura de las hojas de té se describirá ahora con más detalle.

Los ejemplos de hojas de té que pueden usarse como materia prima para un extracto a baja temperatura de las hojas de té incluyen tés sin fermentar (tés verdes), tales como sencha, bancha (té verde grueso), houjicha (té verde tostado), gyokuro, kabusecha (té oscuro cultivado) y tencha (té dulce); tés no fermentados tostados en vasija tales como ureshinocha, aoyagicha y diversos tés chinos; tés semifermentados tales como houshu cha (té pouchong), tekkanon cha (té Tie Kuan Yin) y té oolong; tés fermentados tales como té negro, awabancha (té verde grueso cosechado en el distrito Awa en Japón) y té Pu-er. Entre estas hojas de té, se prefieren tés no fermentados y tés semifermentados que se evalúan principalmente por su sabor aromático/suave. Además, se prefiere el uso de las mismas hojas de té que las utilizadas en el extracto enzimático en vista del gusto.

El extracto a baja temperatura puede prepararse mediante la extracción de una de las hojas de té con un disolvente a baja temperatura. La baja temperatura se refiere en el presente documento a de aproximadamente 0 a aproximadamente 40 °C, preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 °C. La extracción a baja temperatura puede extraer selectiva y eficientemente componentes aromáticos frescos incluyendo componentes de aroma tales como hexanal. Como se ha descrito anteriormente, la teanina corresponde a estos componentes aromáticos frescos, es decir, la teanina es un componente extraído a baja temperatura.

Puede usarse cualquier disolvente de extracción que se use en la industria alimentaria sin restricción. Los ejemplos de dichos disolventes incluyen agua destilada, agua desmineralizada, agua corriente, agua ionizada alcalina, agua del océano profundo, agua desionizada, agua desoxigenada, soluciones hidroalcohólicas (alcohol del 10 al 90 % v/v) y agua que contiene sales inorgánicas. Entre ellas, preferentemente se usan agua pura y agua desionizada. Si se disuelven en agua iones tales como iones de calcio o de hierro, se combinan con tanino, el extracto de las hojas de té, para generar sustancias insolubles o para cambiar el color del extracto.

La cantidad de disolvente de extracción que se ha de usar depende del tipo de las hojas de té utilizadas, del tipo del disolvente de extracción, la temperatura de extracción y la preferencia deseada. En general, la cantidad está en el intervalo de 5 a 50 partes en peso por una parte en peso de hojas de té.

El tiempo de extracción puede determinarse adecuadamente y generalmente es de aproximadamente 5 a 30 minutos, más preferentemente de 10 a 20 minutos. La investigación de los presentes inventores confirmó que la extracción a baja temperatura da como resultado una lixiviación más rápida de los aminoácidos que de las catequinas, en más detalle, la extracción completa de los aminoácidos durante aproximadamente 10 minutos en un proceso de extracción usando agua desionizada (25 °C) que es de diez veces el peso de las hojas de té y un aumento en la proporción de catequinas después de la extracción completa de los aminoácidos. En consecuencia, se prefiere mucho más que la extracción finalice inmediatamente después de que se extraigan completamente los aminoácidos. La extracción completa de los aminoácidos puede determinarse mediante el tiempo al que ya no se observa lixiviación de aminoácidos en la medición del contenido de aminoácidos en el extracto a intervalos de tiempo regulares por HPLC o cualquier otro medio (consúltese el Ejemplo de Referencia 1).

Puede usarse cualquier proceso de extracción conocido sin restricciones para la extracción a baja temperatura de la presente invención. Por ejemplo, se ponen hojas de té y un disolvente en un tanque, seguido de la extracción y el extracto se separa de las hojas de té a través de un tamiz, mediante separación centrífuga o filtración opcionales, para recuperar el extracto (también denominado extracción con amasador). Como alternativa, la extracción se realiza permitiendo que un disolvente fluya a través de las hojas de té (extracción por flujo). En vista de la eficiencia de extracción, se prefiere la extracción por flujo. Puede usarse cualquier proceso de extracción por flujo, tal como la denominada extracción por goteo mediante ducha de flujo descendente y extracción en columna, sin restricción. En la extracción en columna, se prefiere un proceso de flujo ascendente en el que se permite que el líquido fluya desde la parte inferior a la parte superior, debido a la alta eficiencia de la extracción y a la menor obstrucción de la malla. En este proceso, las hojas de té se colocan generalmente sobre una malla de metal. También puede usarse cualquier otro material que pueda soportar las hojas de té y separar el extracto de las hojas de té, por ejemplo, tela o papel, en lugar de la malla de metal. Durante la extracción, el extractor está sellado herméticamente para la extracción a presión. Se puede añadir cualquier aditivo como antioxidante.

El extracto a baja temperatura resultante puede someterse opcionalmente a cualquier operación de separación, por ejemplo, separación centrífuga o filtración con el fin de mejorar la transparencia. Además, el extracto puede condensarse en una solución concentrada.

El extracto a baja temperatura resultante contiene una gran cantidad de teanina, que es un componente de aroma fresco entre aminoácidos. Se prefiere un contenido de teanina superior. La extracción se realiza preferentemente de manera que la cantidad de la teanina extraída sea de 10 mg o más, preferentemente de 15 mg o, más preferentemente de 20 mg o más por 10 g de hojas de té. Además, la extracción se realiza preferentemente de manera que la cantidad de la teanina extraído sea del 0,8 % en peso o más, preferentemente del 1,0 % en peso o más, más preferentemente del 1,5 % en peso o más, más preferentemente del 2,0 % en peso o más, mucho preferentemente del 2,5 % en peso o más de todo el contenido sólido soluble derivado de hojas de té ( $[g] = \text{peso total del extracto } [g] \times \text{grado Brix } [\%] / 100$ ).

En la presente invención, la mezcla del extracto enzimático con el extracto a baja temperatura puede proporcionar un extracto de té que presente un sabor superior, como se ha descrito anteriormente. Para más detalles, la mezcla del extracto enzimático, que contiene concentraciones altas de aminoácidos y presenta un aroma suave y profundo, con el extracto a baja temperatura, que contiene una gran cantidad de teanina que es un componente aromático fresco, puede proporcionar un extracto de té que presente un aroma fresco, profundo y suave.

Estos extractos pueden mezclarse en cualquier proporción sin restricción, dependiendo de la preferencia deseada, de manera que el contenido de teanina en el extracto de té resultante que contiene una concentración alta de teanina sea de 0,1 en términos de peso o más, preferentemente de 0,15 en términos de peso o más de la cantidad total de aminoácidos, o de manera que el contenido de teanina sea del 0,3 % en peso o más, preferentemente del 0,6 % en peso o más, más preferentemente del 0,8 % en peso o más, más preferentemente del 1,0 % en peso o más, más preferentemente del 1,5 % en peso o más del contenido sólido derivado de las hojas de té en el extracto de té que contiene una concentración alta de teanina. Preferentemente, la cantidad total de extracto a baja temperatura se usa con el fin de garantizar los componentes eficaces en las hojas de té. En un caso de este tipo, la relación de volumen del extracto enzimático con respecto al extracto a baja temperatura es generalmente de aproximadamente 1:0,1 a 15, preferentemente de aproximadamente 1:2 a 10.

El contenido de aminoácidos en el extracto de té mixto es de 160 mg o más, preferentemente de 180 mg o más, más preferentemente de 200 mg o más por 10 g de hojas de té y del 2,5 % en peso o más, preferentemente del 5,0 % en peso o más, más preferentemente del 7,0 % en peso del contenido sólido soluble total derivado de las hojas de té ( $[g] = \text{peso total de extracto } [g] \times \text{grado Brix } [\%] / 100$ ). El contenido de teanina es de 10 mg o más, preferentemente de 15 mg o más, más preferentemente de 20 mg o más por 10 g de hojas de té y del 0,3 % en peso o más, preferentemente del 0,6 % en peso o más, más preferentemente del 0,8 % en peso o más, más preferentemente del 1,0 % en peso o más, mucho más preferentemente del 1,5 % en peso o más del contenido total soluble sólido derivado de las hojas de té ( $[g] = \text{peso total de extracto } [g] \times \text{grado Brix } [\%] / 100$ ).

Por otra parte, el contenido de catequinas en el extracto de té es de 800 mg o menos, preferentemente de 700 mg o menos por 10 g de hojas de té y es del 15,0 % en peso o menos, preferentemente del 13,5 % en peso o menos, más

preferentemente del 10,0 % en peso o menos, mucho más preferentemente del 8,0 % en peso o menos del contenido soluble sólido total derivado de las hojas de té ( $[g] = \text{peso total de extracto } [g] \times \text{grado Brix } [\%] / 100$ ). Como se describe a continuación, los resultados del estudio de los presentes inventores demuestran que un extracto de té preparado mediante la mezcla de un extracto de enzima con un extracto a baja temperatura de hojas de té  
 5 contiene aminoácidos en una cantidad total del 2,5 % en peso o más del contenido sólido de hojas de té y presenta un sabor aromático suave, profundo. Entre los extractos de té que contienen altas concentraciones de aminoácidos, un extracto que tiene un contenido de catequinas (contenido total de catequinas) superior al 15,0 % en peso presenta un sabor ligeramente amargo/astringente (consúltense el Ejemplo Comparativo A1); sin embargo, un extracto que tiene un contenido de catequinas del 15,0 % en peso o menos y un contenido de aminoácidos (cantidad  
 10 total de aminoácidos) inferior o igual al 5,0 % en peso no presenta sabor amargo/astringente (consúltense el Ejemplo Comparativo A1' y el Ejemplo C3), en particular, extractos que tienen un contenido de aminoácidos del 7,0 % en peso o más presenta un sabor aromático profundo (consúltense los Ejemplos D4' y E4) y extractos que tienen un contenido de aminoácidos del 5,0 % en peso o menos presentan un sabor amargo/astringente ligero independientemente de un contenido de catequinas bajo del 15,0 % en peso o menos (consúltense los ejemplos B3  
 15 y D4).

El extracto de té resultante puede mezclarse con cualquier aditivo, si es necesario. Los ejemplos de aditivos incluyen ácido ascórbico y sales del mismo, modificadores del pH, productos químicos aromáticos y agentes colorantes.

20 El extracto de té puede someterse a cualquier procedimiento de separación tal como separación centrífuga o filtración para potenciar la transparencia del extracto, si es necesario. Como alternativa, el extracto puede condensarse en forma de una solución concentrada o secarse en forma de una sustancia seca (forma de polvo). Los presentes inventores confirmaron que una solución concentrada que se preparó mediante condensación de un  
 25 extracto de té que contenía una alta concentración de teanina preparado mezclando un extracto enzimático con un extracto a baja temperatura de hojas de té y un extracto de té preparado mediante liofilización de la solución concentrada en polvo y después disolución del polvo en agua (extracto a partir de concentrado) presentaron un gusto satisfactorio.

**Ejemplos**

30 La presente invención se describirá ahora con más detalle por medio de Ejemplos, pero no debe limitarse a estos Ejemplos. En los siguientes Ejemplos (incluyendo los Ejemplos de Referencia y los Ejemplos Comparativos), se usaron dos tipos de hojas de té tostado (denotados por "moderadamente tostado" o "débilmente tostado").

35 Ejemplo de Referencia 1

Se pusieron hojas de té verde moderadamente tostado (10 g) en un extractor de columna y se añadieron desde la parte superior del extractor 100 ml de agua desionizada a 25 °C para sumergir las hojas de té verde. Se alimentó continuamente agua desionizada a 25 °C a un caudal de 50 ml/min durante 20 minutos, mientras que la solución que  
 40 se descargaba continuamente desde la parte inferior se muestreó cada dos minutos. Se determinaron los contenidos de catequina y aminoácidos de las soluciones muestreadas.

Las catequinas se determinaron por HPLC en las siguientes condiciones.

45 (Condiciones de HPLC)

Unidad de HPLC: HPLC TOSOH sistema LC8020 modelo II  
 Columna: TSK gel ODS80T SQA (4,6 mm por 150 mm)  
 Temperatura de la columna: 40 °C

50 Fase móvil A: agua-acetonitrilo-ácido trifluoroacético (90:10:0,05)

Fase móvil B: agua-acetonitrilo-ácido trifluoroacético (20:80:0,05)

Detector: UV 275 nm

Volumen inyectado: 20 µl

Caudal: 1 ml/min.

55 Programa de gradiente:

| Tiempo (minutos) | % de A | % de B |
|------------------|--------|--------|
| 0                | 100    | 0      |
| 5                | 92     | 8      |
| 11               | 90     | 10     |
| 21               | 90     | 10     |
| 22               | 0      | 100    |
| 29               | 0      | 100    |
| 30               | 100    | 0      |

Sustancias patrón: catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, galato de catequina, galato de epicatequina, galato de galocatequina y galato de epigalocatequina (Kurita High-Purity Reagents)

También se determinaron los aminoácidos por HPLC en las siguientes condiciones.

5 (Condiciones de HPLC)

Unidades de HPLC: Waters Amino Acid Analyzer 2695

Columna: columna AccQ-Tag (3,9 mm por 150 mm)

10 Temperatura de la columna: 40 °C

Fase móvil A: AccQ-TagA (pH 5,8)

Fase móvil B: acetonitrilo

Fase móvil C: agua/metanol = 9/1

Detector: EX 250 nm EM 395 nm, Ganancia 100

15 Volumen inyectado: 5 µl

Programa de gradiente:

| Tiempo (min) | Caudal (ml/min) | % de A | % de B | % de C |
|--------------|-----------------|--------|--------|--------|
| 0            | 1               | 100    | 0      | 0      |
| 1            | 1               | 99     | 1      | 0      |
| 16           | 1               | 97     | 3      | 0      |
| 25           | 1               | 94     | 6      | 0      |
| 35           | 1               | 86     | 14     | 0      |
| 40           | 1               | 86     | 14     | 0      |
| 50           | 1               | 82     | 18     | 0      |
| 51           | 1               | 0      | 60     | 40     |
| 54           | 1               | 100    | 0      | 0      |
| 75           | 1               | 0      | 60     | 40     |
| 110          | 0               | 0      | 60     | 40     |

20 Sustancias patrón: 18 aminoácidos (arginina, lisina, histidina, fenilalanina, tirosina, leucina, isoleucina, metionina, valina, alanina, glicina, prolina, ácido glutámico, serina, treonina, ácido aspártico, triptófano y cistina) y teanina.

25 Los resultados se muestran en la Fig. 1. La Fig. 1 demuestra que los aminoácidos se extraen a una velocidad mayor que la de catequinas (indicadas como catequina en el dibujo) de hojas de té verde y se extraen cantidades casi enteras de aminoácidos en aproximadamente 10 minutos, mientras que las catequinas permanecen parcialmente en un tiempo transcurrido de 20 minutos. Se confirma que la selección del tiempo de extracción en la extracción a baja temperatura da como resultado la extracción selectiva de aminoácidos (componentes aromáticos) con la extracción suprimida de catequinas (componentes astringentes).

### Ejemplo de Referencia 2

30 Se preparó un extracto a baja temperatura para la determinación de aminoácidos y catequinas como en el Ejemplo de Referencia 1, excepto porque se usaron hojas de té verde (débilmente tostado). Los resultados también muestran que los aminoácidos se extraen más rápido que las catequinas de estas hojas de té verde y casi toda la cantidad se extrae en aproximadamente 10 minutos, al igual que en el Ejemplo de Referencia 1. La cantidad total de los aminoácidos fue de 167 mg en el extracto.

### Ejemplo Comparativo 1

40 En una primera etapa, se pusieron hojas de té verde moderadamente tostado (10 g) en un extractor de columna y se añadieron desde la parte superior del extractor 100 ml de agua desionizada a 25 °C para sumergir las hojas de té verde. Se alimentó agua desionizada a 25 °C continuamente a un caudal de 50 ml/min durante 20 minutos para preparar un extracto a baja temperatura (muestra A1). Al residuo del extracto después de la extracción de la Muestra A1, se le añadieron 0,2 g de proteasa y 0,2 g de pectinasa. Se añadió agua desionizada a 40 °C de manera que el peso total fuera de 160 g, la solución se hizo circular a una velocidad de 50 ml/min durante 16 horas a 40 °C para promover la reacción enzimática. La solución procesada por enzimas resultante se calentó a 90 °C durante 10 minutos para la desactivación de las enzimas, para preparar una solución de reacción enzimática (Muestra A2). El volumen total de la Muestra A1 y el volumen total de la Muestra A2 se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra A3).

50 El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en la Muestra A1 con respecto a la Muestra A3 se determinaron como en el Ejemplo de Referencia 1. El aroma de cada muestra se evaluó por tres panelistas expertos.

Los resultados se muestran en la Tabla 1. El peso (rendimiento) de la solución recuperada fue de 972 g en la Muestra A1 o de 130 g en la Muestra A2. El contenido de aminoácidos fue de 57 mg en la Muestra A1 o de 103 mg de la Muestra A2. En vista de estos resultados con los resultados en los Ejemplos de Referencia, aunque se extraen cantidades casi enteras de aminoácidos en la primera etapa, el rendimiento de los aminoácidos se potencia adicionalmente mediante la descomposición de proteínas durante el tratamiento enzimático en la segunda etapa.

El contenido de las catequinas fue de 671 mg en la Muestra A1 o de 171 mg de la Muestra A2. Estos resultados en vista de los resultados en los Ejemplos de Referencia demuestran que las catequinas no extraídas en la primera etapa se extraen en la segunda etapa. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) en la Muestra A2 fue de 0,60.

En los resultados del ensayo de evaluación del aroma, las Muestras A1 y A2 tienen características de aroma diferentes; aroma fresco en la Muestra A1 y aroma profundo, suave, en la Muestra A2. Además, la Muestra A2 se evaluó como un sabor ligeramente amargo/astringente probablemente derivado de catequinas. Una solución mixta (Muestra A3) de Muestra A1 y Muestra A2 presentó características de aroma de estas dos soluciones de muestra, es decir, un aroma fresco, suave, profundo con un sabor ligeramente amargo/astringente.

[Tabla 1]

|                                                    | A1                                        | A2                                                              | A3                                                                     |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Rendimiento [g]                                    | 972                                       | 130                                                             | 1102                                                                   |
| Grado Brix [%]                                     | 0,32                                      | 1,86                                                            | 0,50                                                                   |
| Contenido sólido soluble [g]                       | 3,08                                      | 2,42                                                            | 5,50                                                                   |
| Aminoácidos [mg]                                   | 57                                        | 103                                                             | 160                                                                    |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido [% en peso] | 1,85                                      | 4,26                                                            | 2,91                                                                   |
| Teanina (b) en los aminoácidos [mg]                | 27                                        | 1                                                               | 28                                                                     |
| Teanina en el contenido sólido [% en peso]         | 0,86                                      | 0,05                                                            | 0,50                                                                   |
| Catequinas (b) [mg]                                | 671                                       | 171                                                             | 842                                                                    |
| Catequinas en el contenido sólido [% en peso]      | 21,76                                     | 7,08                                                            | 15,31                                                                  |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)                       | 0,09                                      | 0,60                                                            | 0,19                                                                   |
| Teanina/aminoácidos (c/a)                          | 0,47                                      | 0,01                                                            | 0,17                                                                   |
| Evaluación del aroma                               | Aroma fresco con sabor amargo/astringente | Aroma profundo, suave, con sabor ligeramente amargo/astringente | Aroma fresco, suave, profundo con sabor ligeramente amargo/astringente |

Ejemplo Comparativo 2

Se preparó un extracto a baja temperatura (Muestra A1') como en el Ejemplo comparativo 1, excepto porque las hojas de té utilizadas fueron hojas de té verde (ligeramente tostado) y después se preparó una solución de reacción enzimática (Muestra A2') a partir del residuo de extracción. Las cantidades totales de Muestras A1' y A2' se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra A3'). Cada muestra se sometió a determinación de aminoácidos y catequinas y evaluación sensitiva como en el Ejemplo Comparativo 1.

Los resultados se muestran en la Tabla 2. Los pesos de la solución recuperada (rendimiento) fueron de 462 g en la Muestra A1' y de 129 g en la Muestra A2'. El contenido de aminoácidos fue de 120 mg en la Muestra A1' y de 187 mg en la Muestra A2'. Estos resultados en vista de los resultados en los Ejemplos de Referencia demuestran que se extraen cantidades casi enteras de aminoácidos en la primera etapa, como el Ejemplo Comparativo 1, y el rendimiento de los aminoácidos se potencia adicionalmente mediante la descomposición de proteínas durante el tratamiento enzimático en la segunda etapa.

El contenido de las catequinas fue de 337 mg en la Muestra A1' y de 282 mg en la Muestra A2'. Los resultados en vista de los resultados en los Ejemplos de Referencia demuestran que las catequinas no extraídas en la primera etapa se extraen en la segunda etapa, como el Ejemplo Comparativo 1. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) en la Muestra A2' fue de 0,66.

Los resultados del ensayo sensitivo demuestran que el extracto enzimático (Muestra A2') preparado en la segunda etapa, que contiene cantidades reducidas de catequinas, pero concentraciones altas de aminoácidos, satisfizo a los usuarios que discriminaban sabores, es decir, aroma suave, profundo, rico, con sabor amargo/astringente relativamente bajo. La Muestra A3', que es una mezcla de la Muestra A1' y la Muestra A2', es un extracto de té verde que presenta un aroma bastante, es decir, un sabor fresco, suave, profundo con un sabor astringente reducido.

[Tabla 2]

|                                        |             | A1'                                       | A2'                                                 | A3'                                                        |
|----------------------------------------|-------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Rendimiento                            | [g]         | 462                                       | 129                                                 | 591                                                        |
| Grado Brix                             | [%]         | 0,46                                      | 2,66                                                | 0,94                                                       |
| Contenido sólido soluble               | [g]         | 2,15                                      | 3,42                                                | 5,56                                                       |
| Aminoácidos                            | [mg]        | 120                                       | 187                                                 | 307                                                        |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido | [% en peso] | 5,60                                      | 5,48                                                | 5,52                                                       |
| Teanina (b) en los aminoácidos         | [mg]        | 6,                                        | 9                                                   | 73                                                         |
| Teanina en el contenido sólido         | [% en peso] | 2,94                                      | 0,28                                                | 1,30                                                       |
| Catequinas (b)                         | [mg]        | 337                                       | 282                                                 | 619                                                        |
| Catequinas en el contenido sólido      | [% en peso] | 15,71                                     | 8,25                                                | 11,13                                                      |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)           |             | 0,36                                      | 0,66                                                | 0,50                                                       |
| Teanina/aminoácidos (c/a)              |             | 0,53                                      | 0,05                                                | 0,24                                                       |
| Evaluación del aroma                   |             | Aroma fresco con sabor amargo/astringente | Aroma suave, profundo, sin sabor amargo/astringente | Aroma fresco, suave, profundo sin sabor amargo/astringente |

5 Ejemplo Comparativo 3. Producción de extracto de té (1) En una primera etapa, se pusieron hojas de té verde ligeramente tostado (10 g) en un extractor de columna y se añadieron desde la parte superior del extractor 100 ml de agua desionizada a 75 °C para sumergir las hojas de té verde. Se alimentó agua desionizada a 75 °C continuamente a un caudal de 50 ml/min durante 70 minutos para preparar un extracto de alta temperatura (Muestra B1). Al residuo de extracto después de la extracción de la Muestra B1, se le añadieron 0,2 g de proteasa y 0,2 g de pectinasa. Después se añadió agua desionizada a 40 °C de manera que el peso total fuera de 160 g, la solución se hizo circular a una velocidad de 50 ml/min durante 16 horas a 40 °C para promover la reacción enzimática. La solución procesada por enzimas resultante se calentó a 90 °C durante 10 minutos para la desactivación de las enzimas, para preparar una solución de reacción enzimática (Muestra B2). El volumen total de la Muestra A1 y el volumen total de la Muestra A2 se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra B3).

15 El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en la Muestra B1 con respecto a la Muestra B3 se determinaron como en el Ejemplo de Referencia 1. El aroma de cada muestra se determinó por tres panelistas expertos.

20 Los resultados se muestran en la Tabla 3. El peso de la solución recuperada (rendimiento) fue de 3,406 g en la Muestra B1 o de 139 g en la Muestra B2. El contenido de aminoácidos fue de 175 mg en la Muestra B1 o de 256 mg en la Muestra B2. El contenido de catequinas fue de 1,083 mg en la Muestra B1 o de 16 mg en la Muestra B2. Estos resultados demuestran que se extrajeron cantidades casi totales de aminoácidos en la primera etapa (extracción a alta temperatura) y el rendimiento de los aminoácidos se potencia adicionalmente mediante la descomposición de proteínas durante el tratamiento enzimático en la segunda etapa, además de la extracción de aminoácidos libres en la primera etapa (extracción a alta temperatura).

25 La diferencia entre la Muestra A2' en el Ejemplo Comparativo 2 y la Muestra B2 en el Ejemplo Comparativo 3 es si la solución de reacción enzimática se prepara a partir del residuo de extracto después de la extracción a baja temperatura o después de la extracción a alta temperatura. En la comparación de las cantidades de las catequinas extraídas en la Muestra A1' con las de la Muestra B1, la cantidad total de las catequinas extraídas en la Muestra B1 es aproximadamente 3,2 veces mayor que en la Muestra A1'. En la comparación de las cantidades de los aminoácidos en la Muestra A2' con la de la Muestra B2, la cantidad total de los aminoácidos en la Muestra B2 es aproximadamente 1,4 veces mayor que la de la Muestra A2'. Estos resultados muestran que la extracción a alta temperatura antes de la extracción enzimática, en otras palabras, la retirada de catequinas conduce a una reacción enzimática eficaz, lo que da como resultado la extracción de grandes cantidades de aminoácidos. Esto se debe a que la retirada de catequinas probablemente potencia la actividad y, por tanto, la función de la enzima.

35 La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) en la Muestra B2 fue de 15,79.

[Tabla 3]

|                                        |             | B1   | B2    | B3   |
|----------------------------------------|-------------|------|-------|------|
| Rendimiento                            | [g]         | 3406 | 139   | 3445 |
| Grado Brix                             | [%]         | 0,22 | 1,65  | 0,27 |
| Contenido sólido soluble               | [g]         | 7,36 | 2,29  | 9,65 |
| Aminoácidos                            | [mg]        | 175  | 256   | 432  |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido | [% en peso] | 2,39 | 11,20 | 4,48 |

|                                   |             | B1                                   | B2                                                       | B3                                                   |
|-----------------------------------|-------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Teanina (b) en los aminoácidos    | [mg]        | 85                                   | 5                                                        | 90                                                   |
| Teanina en el contenido sólido    | [% en peso] | 1,16                                 | 0,23                                                     | 0,94                                                 |
| Catequinas (b)                    | [mg]        | 1083                                 | 16                                                       | 1099                                                 |
| Catequinas en el contenido sólido | [% en peso] | 14,72                                | 0,71                                                     | 11,40                                                |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)      |             | 0,16                                 | 15,79                                                    | 0,39                                                 |
| Teanina/aminoácidos (c/a)         |             | 0,48                                 | 0,02                                                     | 0,21                                                 |
| Evaluación del aroma              |             | Sabor ligeramente amargo/astringente | Aroma suave, profundo, rico sin sabor amargo/astringente | Aroma fresco, profundo, sin sabor amargo/astringente |

#### Ejemplo 1. Producción de extracto de té (2)

5 En una primera etapa, se pusieron hojas de té verde ligeramente tostado (10 g) en un vaso de precipitados y se añadieron 150 ml de ácido clorhídrico al 0,2 % a 80 °C (pH: 2,0). Después de cinco horas de inmersión a 80 °C, se añadieron 0,32 g de hidróxido de sodio granular para ajustar el pH a 6,6 (Muestra de Referencia C1). Al residuo del extracto después de que se extrajera la Muestra de Referencia C1, se le añadieron 0,2 g de proteasa y 0,2 g de pectinasa. Después se añadió agua desionizada a 40 °C de manera que el peso total fuera de 160 g, la solución se hizo circular a una velocidad de 50 ml/min durante 16 horas a 40 °C para promover la reacción enzimática. La solución procesada con enzimas resultante se calentó a 90 °C durante 10 minutos para la desactivación de las enzimas, para preparar una solución de reacción enzimática (Muestra C2). El volumen total de Muestra de Referencia C1 y el volumen total de Muestra C2 se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra de Referencia C3).

15 El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en la Muestra de Referencia C1, la Muestra C2 y la Muestra de Referencia C3 se determinaron como en el Ejemplo de Referencia 1. El aroma de cada muestra se evaluó por tres panelistas expertos.

20 Los resultados se muestran en la Tabla 4. Los pesos de la solución recuperada (rendimiento) fueron de 252 g en la Muestra de Referencia C1 y de 129 g en la Muestra C2. El contenido de aminoácidos fue de 172 mg en la Muestra de Referencia C1 y de 325 mg en la Muestra C2. El contenido de las catequinas fue de 442 mg en la Muestra de Referencia C1 y de 203 mg en la Muestra C2. Estos resultados demuestran que se extraen grandes cantidades de catequinas durante la primera etapa (tratamiento con ácido) y la cantidad de los aminoácidos generados durante la segunda etapa (tratamiento enzimático) aumentan debido a la descomposición de proteínas, además de la extracción de aminoácidos libres en la primera etapa (tratamiento con ácido).

30 En la comparación de las cantidades de las catequinas extraídas de la Muestra A1' en el Ejemplo Comparativo 2 con la de la Muestra de Referencia C1 en el Ejemplo 1, la cantidad total de las catequinas extraídas de la Muestra de Referencia C1 es de aproximadamente 1,3 veces la de la Muestra A1'. En la comparación de las cantidades de aminoácidos de la Muestra A2' en el Ejemplo Comparativo 2, la cantidad total de los aminoácidos en la Muestra C2 es aproximadamente 1,7 veces mayor que la de la Muestra A2'. La diferencia entre la Muestra A2' en el Ejemplo Comparativo 2 y la Muestra C2 en el Ejemplo 1 es si la etapa (tratamiento con ácido débil) de retirada de catequinas antes de la extracción enzimática se emplea o no. Los resultados en el Ejemplo 1 también demuestran que la retirada de catequinas antes de la extracción enzimática conduce a una reacción enzimática eficaz, que puede extraer grandes cantidades de aminoácidos.

35 La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) en la Muestra C2 fue de 1,60.

[Tabla 4]

|                                        |             | C1   | C2    | C3   |
|----------------------------------------|-------------|------|-------|------|
| Rendimiento                            | [g]         | 252  | 129   | 380  |
| Grado Brix                             | [%]         | 1,81 | 2,02  | 1,88 |
| Contenido sólido soluble               | [g]         | 4,55 | 2,60  | 7,15 |
| Aminoácidos                            | [mg]        | 172  | 325   | 497  |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido | [% en peso] | 3,78 | 12,49 | 6,95 |
| Teanina (b) en los aminoácidos         | [mg]        | 74   | 9     | 83   |
| Teanina en el contenido sólido         | [% en peso] | 1,63 | 0,33  | 1,16 |
| Catequinas (b)                         | [mg]        | 442  | 203   | 645  |
| Catequinas en el contenido sólido      | [% en peso] | 9,71 | 7,82  | 9,02 |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)           |             | 0,39 | 1,60  | 0,77 |

|                           | C1                                                    | C2                                                  | C3                                                          |
|---------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Teanina/aminoácidos (c/a) | 0,43                                                  | 0,03                                                | 0,17                                                        |
| Evaluación del aroma      | Aroma fresco con sabor ligeramente amargo/astringente | Aroma suave, profundo, sin sabor amargo/astringente | Aroma fresco, suave, profundo, sin sabor amargo/astringente |

#### Ejemplo comparativo 4. Producción de extracto de té (3)

5 En una primera etapa, se pusieron hojas de té verde moderadamente tostado (10 g) en un extractor de columna y se añadieron desde la parte superior del extractor 100 ml de agua desionizada a 25 °C para sumergir las hojas de té verde. Se alimentó agua desionizada a 25 °C continuamente a un caudal de 50 ml/min durante 20 minutos para preparar un extracto a baja temperatura (Muestra D1). En una segunda etapa, se añadieron 100 ml de agua desionizada a 75 °C al residuo del extracto después de la extracción de la Muestra D1 y el agua desionizada a 75 °C se alimentó continuamente a un caudal de 50 ml/min durante 40 minutos para preparar un extracto a alta temperatura (Muestra D2). En una tercera etapa, se añadieron 0,2 g de proteasa y 0,2 g de pectinasa como enzimas al residuo del extracto después de la extracción de la Muestra D2 y se añadió agua desionizada a 40 °C en un peso total de 160 g. La solución se hizo circular a una velocidad de 50 ml/min durante 16 horas mientras que se mantuvo a 40 °C para el tratamiento enzimático (reacción). La solución procesada con enzimas resultante se calentó a 90 °C durante 10 minutos para la desactivación de las enzimas, para preparar una solución de reacción enzimática (Muestra D3). En una cuarta etapa, el volumen total de Muestra D1 y el volumen total de Muestra D2 se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra D4).

20 El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en la Muestra D1 con respecto a la Muestra D4 se determinaron como en el Ejemplo de Referencia 1. El aroma de cada muestra se evaluó por tres panelistas expertos.

25 Los resultados se muestran en la Tabla 5. El extracto a alta temperatura (Muestra D2) preparado en la segunda etapa se desecha en la presente invención, que sustancialmente no contiene aminoácidos, pero contiene catequinas, presenta resultados graves en la evaluación de aroma, es decir, sabor amargo/astringente con olores desagradables (extracto insípido = degarashi). Por el contrario, el extracto enzimático (Muestra D3) preparado en la tercera etapa contiene altas concentraciones de aminoácidos, pero sustancialmente nada de catequinas, y satisface a los usuarios que discriminan sabores, es decir, sabor suave, profundo, rico, sin sabor amargo/astringente. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) en la Muestra D3 fue de 15,13. Los resultados demuestran que el contenido de catequinas en el extracto enzimático (Muestra D3) preparado en la tercera etapa se reduce debido a la retirada de las catequinas en la segunda etapa.

35 Un extracto de té verde mixto (Muestra D4) de la Muestra D1 y la Muestra D3 presentó un sabor complicado con sabor amargo/astringente reducido, que es bastante diferente del sabor convencional.

[Tabla 5]

|                                                    | D1                                        | D2                                                                | D3                                                        | D4                                                                    |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Rendimiento [g]                                    | 975                                       | 2189                                                              | 130                                                       | 1105                                                                  |
| Grado Brix [%]                                     | 0,32                                      | 0,07                                                              | 1,53                                                      | 0,46                                                                  |
| Contenido sólido soluble [g]                       | 3,10                                      | 1,53                                                              | 1,98                                                      | 5,08                                                                  |
| Aminoácidos [mg]                                   | 54                                        | 7                                                                 | 154                                                       | 209                                                                   |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido [% en peso] | 1,75                                      | 0,43                                                              | 7,78                                                      | 4,10                                                                  |
| Teanina (b) en los aminoácidos [mg]                | 25                                        | 0                                                                 | 1                                                         | 26                                                                    |
| Teanina en el contenido sólido [% en peso]         | 0,81                                      | 0,00                                                              | 0,03                                                      | 0,50                                                                  |
| Catequinas (b) [mg]                                | 668                                       | 472                                                               | 10                                                        | 378                                                                   |
| Catequinas en el contenido sólido [% en peso]      | 21,54                                     | 30,82                                                             | 0,51                                                      | 13,34                                                                 |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)                       | 0,08                                      | 0,01                                                              | 15,13                                                     | 0,31                                                                  |
| Teanina/aminoácidos (c/a)                          | 0,46                                      | 0,00                                                              | 0,00                                                      | 0,12                                                                  |
| Evaluación del aroma                               | Aroma fresco con sabor amargo/astringente | Sin aroma con sabor muy amargo/astringente y olores desagradables | Aroma suave, profundo, rico, sin sabor amargo/astringente | Aroma suave, profundo, rico, con sabor ligeramente amargo/astringente |

La diferencia entre la Muestra A2, que es la solución de reacción enzimática, en el Ejemplo Comparativo 1 y la Muestra D3, que es la solución de reacción enzimática, en el Ejemplo 3 es si la etapa de retirada de catequinas anterior a la extracción enzimática se emplea o no. En la comparación de la cantidad de los aminoácidos en la Muestra A2 con la de la Muestra D3, la cantidad total de los aminoácidos en la Muestra D3 es aproximadamente 1,5 veces mayor que la de la Muestra A2. Estos resultados muestran que la retirada de catequinas antes de la extracción enzimática conduce a una reacción enzimática eficaz, lo que da como resultado la extracción de una cantidad suficiente de aminoácidos. Esto se debe a que la retirada de catequinas probablemente potencia la actividad y, por tanto, la función de la enzima.

10 Ejemplo 2. Producción de extracto de té (4)

Un extracto a baja temperatura (Muestra de Referencia D1') se preparó como en el Ejemplo Comparativo 4, excepto porque las hojas de té utilizadas fueron hojas de té verde (ligeramente tostado), se preparó una solución de reacción enzimática (Muestra de Referencia D2') a partir del residuo de extracción y se preparó una solución de reacción enzimática (Muestra de Referencia D3') a partir del residuo de extracción. Las cantidades totales de Muestras de Referencia D1' y D3' se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra D4'). Cada muestra se sometió a determinación de aminoácidos y catequinas y a la evaluación sensitiva por tres panelistas como en el Ejemplo Comparativo 1.

20 Los resultados se muestran en la Tabla 6. Los pesos de la solución recuperada (rendimiento) fueron de 461 g en la Muestra de Referencia D1', de 2945 g en la Muestra de Referencia D2' y de 139 g en la Muestra de Referencia D3'. El contenido de aminoácidos fue de 167 mg en la Muestra de Referencia D1', de 8 mg en la Muestra de Referencia D2' y de 256 mg en la Muestra de Referencia D3'. Estos resultados en vista de los resultados en los Ejemplos de Referencia demuestran que se extraen cantidades casi enteras de aminoácidos en la primera etapa y el rendimiento de los aminoácidos se potencia adicionalmente mediante la descomposición de proteínas durante el tratamiento enzimático en la tercera etapa.

30 El contenido de las catequinas fue de 507 mg en la Muestra de Referencia D1', de 276 mg en la Muestra de Referencia D2' y de 16 mg en la Muestra de Referencia D3'. Los resultados a la vista de los resultados en los Ejemplos de Referencia demuestran que cantidades casi enteras de catequinas no extraídas en la primera etapa se extraen en la segunda etapa. La relación calculada (a/b) de los aminoácidos (a) con respecto a las catequinas (b) en la Muestra de Referencia D3' fue de 15,79.

[Tabla 6]

|                                                    | D1'                                       | D2'                                                               | D3'                                                                               | D4'                                                               |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Rendimiento [g]                                    | 461                                       | 2945                                                              | 139                                                                               | 600                                                               |
| Grado Brix [%]                                     | 0,53                                      | 0,06                                                              | 1,66                                                                              | 0,79                                                              |
| Contenido sólido soluble [g]                       | 2,46                                      | 1,86                                                              | 2,30                                                                              | 4,76                                                              |
| Aminoácidos [mg]                                   | 167                                       | 8                                                                 | 256                                                                               | 423                                                               |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido [% en peso] | 6,81                                      | 0,44                                                              | 11,14                                                                             | 8,90                                                              |
| Teanina (b) en los aminoácidos [mg]                | 80                                        | 5                                                                 | 1                                                                                 | 80                                                                |
| Teanina en el contenido sólido [% en peso]         | 3,25                                      | 0,28                                                              | 0,03                                                                              | 1,69                                                              |
| Catequinas (b) [mg]                                | 507                                       | 576                                                               | 16                                                                                | 523                                                               |
| Catequinas en el contenido sólido [% en peso]      | 20,64                                     | 31,05                                                             | 0,71                                                                              | 11,00                                                             |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)                       | 0,33                                      | 0,01                                                              | 15,79                                                                             | 0,81                                                              |
| Teanina/aminoácidos (c/a)                          | 0,48                                      | 0,67                                                              | 0,00                                                                              | 0,19                                                              |
| Evaluación del aroma                               | Aroma fresco con sabor amargo/astringente | Sin aroma con sabor muy amargo/astringente y olores desagradables | Aroma suave, profundo, rico, con sustancialmente nada de sabor amargo/astringente | Aroma fresco, suave, profundo, rico, sin sabor amargo/astringente |

35 Ejemplo 3. Producción de extracto de té (5: Procedimiento de aumento a escala)

Se investigó la productividad del extracto de té de la presente invención.

40 En una primera etapa, se pusieron hojas de té verde ligeramente tostado (2,00 kg) en un extractor de columna y se añadieron desde la parte superior del extractor 26,4 kg de agua desionizada a 25 °C para sumergir las hojas de té verde. Se alimentó agua desionizada a 25 °C continuamente a un caudal de 3,3 l/min durante 30 minutos para

preparar un extracto a baja temperatura (Muestra de Referencia E1). En una segunda etapa, se alimentó agua desionizada a 85 °C continuamente a un caudal de 3,3 l/min durante 60 minutos para preparar un extracto a alta temperatura (Muestra de Referencia E2). En una tercera etapa, se añadieron 40 g de proteasa y 40 g de pectinasa como enzimas al residuo del extracto después de la extracción de la Muestra de Referencia E2, se añadieron 6,00 g de ácido ascórbico como antioxidante y se añadió agua desionizada a 40 °C en un peso total de 32 kg. La solución se hizo circular a una velocidad de 5,0 l/min durante 16 horas mientras que se mantuvo a 40 °C para la reacción enzimática. La solución de procesada con enzimas resultante se calentó a 90 °C durante 10 minutos para la desactivación de las enzimas, para preparar una solución de reacción enzimática (Muestra de Referencia E3). En una cuarta etapa, el volumen total de la Muestra de Referencia E1 y el volumen total de la Muestra de Referencia E3 se mezclaron para preparar un extracto de té (Muestra E4).

El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en la Muestra de Referencia E1, la Muestra de Referencia E2, la Muestra de Referencia E3 y la Muestra E4 se determinaron como en el Ejemplo de Referencia 1.

Los resultados se muestran en la tabla 7. El contenido de aminoácidos fue de 18,8 g en la Muestra de Referencia E1, de 4,5 g en la Muestra de Referencia E2 y de 41,8 g en la Muestra de Referencia E3. Además, el contenido de catequinas fue de 67,3 g en la Muestra de Referencia E1, de 80,0 g en la Muestra de Referencia E2 y de 31,4 g en la Muestra de Referencia E3.

Estos resultados en vista de los resultados en el Ejemplo 2 demuestran que el extracto a baja temperatura (Muestra de Referencia E1) y el extracto enzimático (Muestra de Referencia E3) tienen un contenido de aminoácidos alto mientras que el extracto a temperatura caliente (Muestra de Referencia E2) contiene grandes cantidades de catequinas, como el Ejemplo 2. En consecuencia, el proceso de la presente invención puede aumentarse a escala a un nivel de producción práctico sin problemas.

[Tabla 7]

|                                                    | E1                                        | E2                                                                | E3                                                                                | E4                                                                |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Rendimiento [kg]                                   | 87                                        | 177                                                               | 31                                                                                | 118                                                               |
| Grado Brix [%]                                     | 0,40                                      | 0,14                                                              | 1,67                                                                              | 0,73                                                              |
| Contenido sólido soluble [g]                       | 0,35                                      | 0,25                                                              | 0,52                                                                              | 0,86                                                              |
| Aminoácidos [mg]                                   | 18,8                                      | 4,5                                                               | 41,8                                                                              | 61                                                                |
| Aminoácidos (a) en el contenido sólido [% en peso] | 5,45                                      | 1,81                                                              | 8,06                                                                              | 7,02                                                              |
| Teanina (b) en los aminoácidos [mg]                | 10                                        | 3                                                                 | 4                                                                                 | 14                                                                |
| Teanina en el contenido sólido [% en peso]         | 2,90                                      | 1,06                                                              | 0,70                                                                              | 1,58                                                              |
| Catequinas (b) [mg]                                | 67,3                                      | 80,0                                                              | 31,4                                                                              | 99                                                                |
| Catequinas en el contenido sólido [% en peso]      | 19,49                                     | 32,56                                                             | 6,06                                                                              | 11,42                                                             |
| Aminoácidos/catequinas (a/b)                       | 0,28                                      | 0,06                                                              | 1,33                                                                              | 0,61                                                              |
| Teanina/aminoácidos (c/a)                          | 0,53                                      | 0,59                                                              | 0,09                                                                              | 0,23                                                              |
| Evaluación del aroma                               | Aroma fresco con sabor amargo/astringente | Sin aroma con sabor muy amargo/astringente y olores desagradables | Aroma suave, profundo, rico, con sustancialmente nada de sabor amargo/astringente | Aroma fresco, suave, profundo, rico, sin sabor amargo/astringente |

Ejemplo 4. Producción de extracto de té (polvo) En una primera etapa, la solución mixta (Muestra D4') preparada en el Ejemplo 2 se evaporó en un grado Brix de 15 para preparar un extracto concentrado (Muestra F1). En una segunda etapa, la Muestra F1 se liofilizó para preparar polvo de té verde (Muestra F2). En una tercera etapa, se añadió una cantidad adecuada de agua desionizada a la Muestra F2 de manera que fuera de grado Brix 15 para preparar un extracto a partir de concentrado (Muestra F3).

El contenido de aminoácidos y el contenido de catequinas en la Muestra F1 y la Muestra F3 se determinaron como en el Ejemplo de Referencia 1. El aroma de cada muestra se evaluó por tres panelistas expertos.

Los resultados de la evaluación del aroma demuestran que tanto la Muestra F1 como la Muestra F3 satisfacen a los panelistas que discriminan sabores, es decir, aroma suave, profundo, rico con sabor menos amargo/astringente. Esto muestra que el aroma del extracto concentrado puede conservarse después de la disolución del polvo liofilizado del extracto concentrado.

Ejemplo 5. Producción de bebida de té

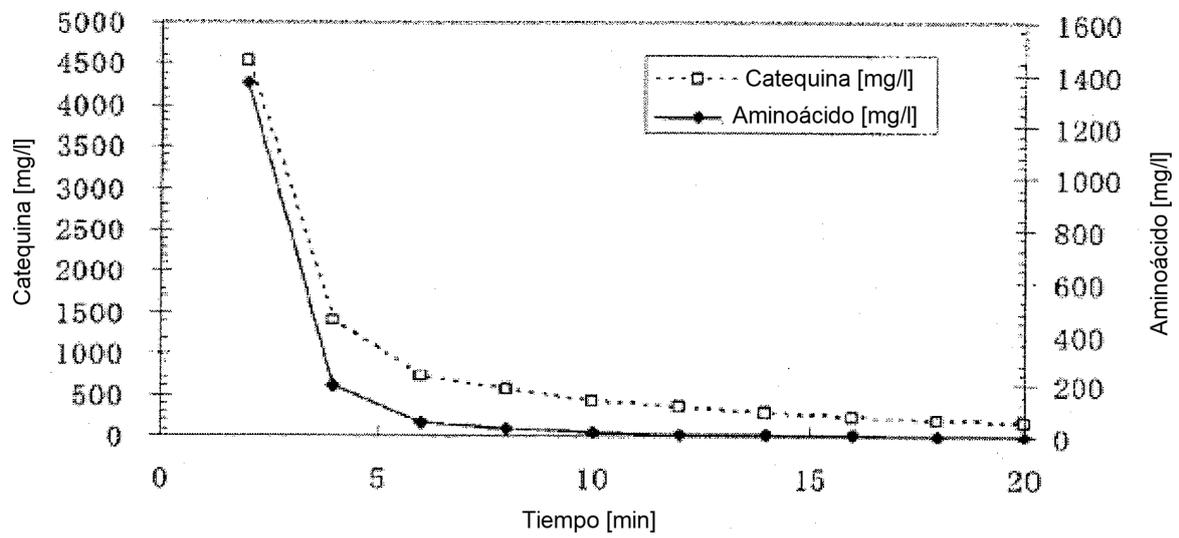
5 Se produjo una bebida de té con el extracto de té (Muestra de Referencia D4), que se produjo en el Ejemplo Comparativo 4). Se sometieron hojas de té verde (45 g) a extracción con un amasador (80 °C, 10 minutos) y las  
10 hojas de té se separaron con un separador centrífugo y un filtro para preparar una solución de té verde. Se añadieron un ácido L-ascórbico (2 g) e hidrógeno carbonato de sodio (2 g) a la solución de té verde en un tanque de mezcla, se añadió Muestra de Referencia D4 de manera que el contenido total de los aminoácidos derivados de la Muestra de Referencia D4 fuera de 20 ppm en la bebida final y por último se añadió agua pura para preparar una solución de mezcla que tuviera un volumen final de 7 l. La solución de mezcla se esterilizó por UHT (130 °C, 1  
15 minuto), se colocó en una botella de PET de 500 ml para preparar una bebida de té verde embotellada. También se preparó una bebida de té verde de referencia de una manera similar excepto porque no se añadió la Muestra de Referencia D4. Los resultados de la evaluación del aroma demuestran que la bebida de té verde que contiene Muestra de Referencia D4 presenta características de aroma novedosas, es decir, aroma complicado con astringencia reducida, en comparación con la bebida de té verde de referencia que no contiene Muestra de Referencia D4.

También se produjo una bebida de té con el extracto de té (Muestra D4') producida en el Ejemplo 2. Esta bebida de té también mostró características de aroma novedosas, es decir, aroma complicado con astringencia reducida.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un extracto de té producido poniendo hojas de té en contacto con un disolvente, donde dicho extracto de té comprende catequinas y aminoácidos que contienen al menos teanina, donde la proporción total de aminoácidos con respecto al contenido sólido derivado de las hojas de té en el extracto de té es del 7,0 % en peso o más, donde la proporción de la teanina con respecto a los aminoácidos es de 0,1 en términos de peso o más y la proporción total de catequinas es del 15,0 % en peso o menos sobre la base del contenido sólido derivado de las hojas de té en el extracto de té.
- 10 2. El extracto de té de la Reivindicación 1, donde la proporción de la teanina con respecto a los aminoácidos es de 0,15 en términos de peso o más.
- 15 3. El extracto de té de la Reivindicación 1 o 2, donde la teanina se añade como un extracto a baja temperatura preparado mediante la extracción de las hojas de té usando un disolvente a 40 °C o menos.
- 20 4. El extracto de té de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, donde el extracto de té tiene un grado Brix en el intervalo del 0,1 al 20 %.
- 25 5. El extracto de té de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, donde el extracto de té es un polvo.
- 30 6. Una bebida de té embotellada que comprende el extracto de té de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5.
- 35 7. Un método de fabricación de un extracto de té como se define en una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, que comprende las etapas de:
- (1) retirar al menos parte de las catequinas de las hojas de té;
  - (2) extraer enzimáticamente las hojas de té de las que se retiran las catequinas para preparar un extracto enzimático; y
  - (3) mezclar teanina con el extracto enzimático para preparar un extracto de té que contenga una alta concentración de teanina.
- 40 8. El método de fabricación de un extracto de té de la Reivindicación 7, donde la etapa de retirar las catequinas incluye extraer las hojas de té con un disolvente acuoso a 60 °C o más.
9. El método de fabricación de un extracto de té de la Reivindicación 7, donde la teanina se añade como un extracto a baja temperatura preparado mediante la extracción de las hojas de té con un disolvente a 40 °C o menos.
10. El método de fabricación de un extracto de té de la Reivindicación 9, donde las hojas de té de las que se retiran las catequinas son el residuo después de que se retira el extracto a baja temperatura.

Figura 1



\* En el gráfico, "Catequina" se refiere a "Catequinas".