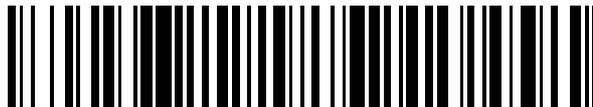


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 722 073**

51 Int. Cl.:

C07H 7/02 (2006.01)

C07K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.01.2016 PCT/EP2016/051543**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.08.2016 WO16120257**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.01.2016 E 16701514 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 3250579**

54 Título: **Conjugados azúcar-dipéptido como moléculas saborizantes**

30 Prioridad:

30.01.2015 EP 15153288

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

07.08.2019

73 Titular/es:

**SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)
Entre-deux-Villes
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**SMARRITO-MENOZZI, CANDICE MARIE;
VITON, FLORIAN;
HOFMANN, THOMAS y
KRANZ, MAXIMILIAN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 722 073 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

Conjugados azúcar-dipéptido como moléculas saborizantes

5 La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para realzar el aroma y el sabor umami de productos alimenticios.

10 Muchos alimentos que se consumen hoy en día son ricos en sabor umami. Umami representa el sabor del aminoácido L-glutamato y de 5'-ribonucleótidos como el guanosín 5'-monofosfato (GMP) y el 5'-inosín monofosfato (IMP) y algunas veces también se designa como el quinto sabor. La palabra umami proviene del japonés y significa delicioso; el sabor umami se puede describir como un gusto "sabroso", "caldoso" o "carnoso". La sensación de umami es debida a la activación de las células receptoras del gusto agrupadas en papilas gustativas distribuidas sobre diversas papilas de la lengua y del epitelio palatal (Chandrashekar y otros, 2006, Nature, 444, 288-294). Su efecto es equilibrar el sabor y redondear el aroma global de un plato. Además el umami mejora la palatabilidad de una amplia variedad de productos alimenticios. El glutamato natural se puede encontrar, por ejemplo, en muchas preparaciones alimenticias de carne y 15 verduras (Ghirri y otros, 2012, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 63 (7), 872-881).

20 El sabor umami o sabroso, carnoso, de un producto alimenticio se puede lograr y/o intensificar añadiendo glutamato monosódico (MSG) y/o los ribonucleótidos GMP e IMP a las recetas culinarias. La industria alimentaria ha desarrollado muchos potenciadores del sabor que contienen dicho MSG y/o ribonucleótidos y están disponibles comercialmente en todo el mundo. Por consiguiente se dispone de una gran variedad de potenciadores del sabor listos al uso para varias aplicaciones culinarias y en distinta forma, como por ejemplo pastas, polvos, líquidos, cubos comprimidos o gránulos.

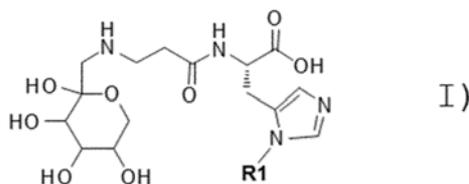
25 El uso de estos aditivos culinarios contribuye a que los productos alimenticios sean deliciosos y tengan características de sabor más intensas y atractivas. De hecho, en todo el mundo, la exquisitez y el sabor atractivo se perciben como uno de los atributos principal de una comida de gran calidad. Sin embargo, en muchas partes del mundo, la adición de MSG y/o ribonucleótidos ha tenido mala prensa y es percibida cada vez más negativamente por los consumidores. Aunque el MSG y estos ribonucleótidos existen naturalmente en muchos productos alimenticios, como en los tomates y en los productos cárnicos, y varias organizaciones, incluyendo la Organización mundial de la salud (OMS) y la 30 Autoridad europea de seguridad alimentaria (EFSA), han demostrado su inocuidad, una publicación del New England Journal of Medicine (Kwok, RHM, 1968, New England Journal of Medicine, 278 (14), 796) desató especulaciones entre los consumidores sobre los efectos perjudiciales del MSG y de los ribonucleótidos, lo cual indujo a muchos consumidores a rechazar los productos que contienen grandes cantidades de estos compuestos. Por tanto hay una gran necesidad de soluciones industriales que permitan reducir el uso del MSG y de los ribonucleótidos agregados a 35 productos alimenticios o a productos mejoradores del gusto, sin alterar el sabor umami, pero asegurando un sabor superior de los productos culinarios.

40 Por ejemplo, según una reciente publicación científica de A. Dunkel y T. Hofmann (Dunkel y Hofmann, 2009, J. Agric. Food Chem. 2009, 57, 9867-9877), el fraccionamiento sensorial de una sopa de pollo recién preparada mediante doble ebullición llevó a identificar los β -alanil dipéptidos L-anserina, L-carnosina y β -alanilglicina como contribuyentes a una orosensación de acidez espesa y carne blanca. El análisis cuantitativo, seguido de experimentos de recombinación y omisión del sabor, reveló por primera vez que en presencia de ácido L-glutámico y de iones sodio y/o potasio, las concentraciones subumbrales de estos tres β -alanil péptidos aumentan la orosensación de acidez espesa y carne 45 blanca típicamente conocida de la carne avícola. Este es un primer paso para encontrar nuevos compuestos capaces de enriquecer y mejorar el efecto de sabor umami del MSG, lo cual permitirá reducir el uso de MSG.

50 La presente invención tiene por objeto mejorar el estado técnico y proporcionar una solución alternativa o mejorada al estado técnico previo anterior para superar al menos algunos de los inconvenientes descritos anteriormente. El objeto concreto de la presente invención consiste en proporcionar una solución alternativa o mejorada para mejorar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio.

El objeto de la presente invención se consigue de acuerdo con el contenido de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan la idea de la presente invención.

55 Así, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula general I,



60 en la cual R1 es un hidrógeno, un grupo alquilo C₁, C₂, C₃ o C₄, o una sal de dicho compuesto.

En un segundo aspecto la presente invención se refiere a una composición que contiene dicho compuesto de fórmula general I) en una proporción de al menos 1 mg/g, al menos 1,7 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 2,5 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 3,5 mg/g o al menos 5 mg/g de la composición total.

5 Otros aspectos de la presente invención se refieren al uso de dicho compuesto para aumentar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio.

10 Otros aspectos más de la presente invención se refieren al uso de una composición que contiene dicho compuesto en una proporción de al menos 1 mg/g, al menos 1,7 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 2,5 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 3,5 mg/g o al menos 5 mg/g para aumentar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio.

15 Otro aspecto más de la presente invención es un método para aumentar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio culinario, que incluye la etapa de añadir dicho compuesto o la composición que contiene dicho compuesto a un producto alimenticio.

20 Los presentes inventores encontraron sorprendentemente que algunos conjugados sacáridos de β -alanil dipéptidos tienen un efecto potenciador del sabor mucho más fuerte que sus respectivas agliconas. En efecto, estos conjugados de azúcar mejoran la percepción del umami e inducen la orosensación de acidez espesa y carne blanca de una receta culinaria a niveles umbral mucho más bajos que sus correspondientes agliconas. Las moléculas de azúcar- β -alanil dipéptido se generan típicamente in situ durante el procesamiento térmico de las materias primas alimentarias por condensación de glucosa con β -alanil-dipéptidos, como p.ej. carnosina y anserina. Por ejemplo, estas moléculas han sido identificadas por los presentes inventores en un plato de sopa tradicional como el cocido en concentraciones de aproximadamente 7-10 μ moles/l, lo cual corresponde aproximadamente a 2,7 hasta 3,9 μ g/g. Las respectivas agliconas, es decir los β -alanil-dipéptidos, se han identificado, por ejemplo, en un jugo de estofado de buey o en un caldo de pollo, y se han descrito previamente como inductoras de una sensación de acidez espesa y sequedad bucal (Sonntag y otros, 2010, J. Agric. Food Chem. 58, 6341-6350; Dunkel y otros, 2009, J. Agric. Food Chem., 57, 9867-9877). Sin embargo los niveles umbral de estos β -alanil-dipéptidos específicos para mejorar el sabor son mucho más altos que los de sus correspondientes conjugados con azúcar. En la siguiente sección de ejemplos se aportan pruebas de ello. Por lo tanto, las moléculas descritas en la presente invención son potenciadores más fuertes del aroma y del sabor umami que los conocidos β -alanil-dipéptidos. Permiten reducir aún más las cantidades y usos de MSG y/o de ribonucleótidos en los productos alimenticios culinarios sin alterar la riqueza aromática ni reducir el sabor umami típico y deseado de dichos productos. También permiten la producción de concentrados alimenticios con sabor umami, que tienen mucho menos o ningún MSG y/o ribonucleótido y todavía proporcionan un fuerte y típico sabor umami cuando se agregan a un producto alimenticio. Incluso permiten elaborar unos concentrados alimenticios con sabor umami que son mucho más fuertes y tienen una mayor concentración para conferir un sabor umami al producto alimenticio al cual se añaden.

Descripción breve de las figuras

40 Figura 1: cromatograma HPLC-UV de una carnosina tratada térmicamente con glucosa.
Figura 2: cromatograma HPLC-UV de un nitrato de anserina tratado térmicamente con glucosa.

Descripción detallada de la presente invención

45 La presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula general I), en la cual R1 es un hidrógeno, un grupo alquilo C₁, C₂, C₃ o C₄, o una sal de dicho compuesto. En una forma de ejecución el grupo R1 del compuesto de la presente invención es un hidrógeno o un grupo metilo. Los nombres químicos de los correspondientes compuestos son: 1-desoxi-D-fructosil-N- β -alanil-L-histidina y 1-desoxi-D-fructosil-N- β -alanil-N-metil-L-histidina, respectivamente.

50 Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a una composición que contiene dicho compuesto de fórmula general I) en una proporción de al menos 1 mg/g, al menos 1,7 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 2,5 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 3,5 mg/g o al menos 5 mg/g de la composición total.

55 En una forma de ejecución preferida la composición de la presente invención es de calidad alimentaria. Como "calidad alimentaria" los presentes inventores se refieren a que la composición es apta para el consumo humano, por ejemplo directamente, en forma concentrada y/o diluida en un producto alimenticio.

60 Por ejemplo, la composición de la presente invención se selecciona del grupo formado por un condimento culinario, un aditivo culinario, una salsa o un concentrado de sopa, o un producto alimenticio seco o húmedo para mascotas.

65 Otros aspectos de la presente invención se refieren al empleo de dicho compuesto para mejorar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio. Tal producto alimenticio puede ser un producto nutritivo listo para comer. También puede ser un saborizante concentrado utilizado para condimentar otro producto alimenticio. El compuesto según la presente invención se puede usar ventajosamente para añadirlo a un condimento, a un aditivo culinario o a un producto alimenticio concentrado. De este modo se refuerza aún más el efecto del sabor umami en un producto alimenticio tal como un condimento, un aditivo culinario o un producto nutritivo.

Otros aspectos de la presente invención también se refieren al uso de una composición que contiene dicho compuesto en una proporción de al menos 1 mg/g, al menos 1,7 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 2,5 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 3,5 mg/g, o al menos 5 mg/g de la composición total, a fin de mejorar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio. Un producto alimenticio de este tipo puede ser ventajosamente un producto nutritivo listo para el consumo. El uso de la presente invención tiene la ventaja de que permite usar extractos naturales que, por ejemplo, han sido enriquecidos con dichos compuestos para aromatizar y mejorar el sabor umami natural de dichos productos alimenticios.

Otro aspecto más de la presente invención es un método para intensificar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio culinario, que incluye la etapa de añadir dicho compuesto o la composición que contiene dicho compuesto a un producto alimenticio. El producto alimenticio puede ser un producto nutritivo listo para comer o un concentrado saborizante.

Como ejemplo de la presente invención, la concentración final de dicho compuesto en el producto alimenticio es de al menos 1 mg/g, al menos 1,7 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 2,5 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 3,5 mg/g o al menos 5 mg/g de la composición, lo cual, por ejemplo, permite preparar ventajosamente productos para condimentar alimentos y productos saborizantes concentrados que confieren un fuerte sabor umami a otro producto alimenticio tras la adición.

Los especialistas en la materia entenderán que pueden combinar libremente todas las características de la presente invención descritas en este documento. En particular, las características descritas para los productos de la presente invención son combinables con los usos y el método de la presente invención y viceversa. Asimismo, también pueden combinarse las características descritas para diferentes formas de ejecución de la presente invención. El alcance de la presente invención se define únicamente haciendo referencia a las reivindicaciones adjuntas.

Otras ventajas y características de la presente invención resultan evidentes a partir de las figuras y ejemplos.

Ejemplo 1: síntesis de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina a partir de glucosa y carnosina (β-alanil-L-histidina)

Productos químicos: el bisulfito de sodio y la glicerina se adquirieron de Sigma, la glucosa de SDFine Chemicals, la carnosina de ChemImprex, el metanol y el ácido acético de Merck. Todos los reactivos disponibles en el comercio se utilizaron tal como se recibieron de sus respectivos proveedores.

Se usó cromatografía analítica de capa fina (TLC) sobre placas RP-18 F254s (Merck). Las placas de TLC se revelaron mediante luz UV de onda corta y tinción con ninhidrina.

Los espectros de RMN H^1 (360,13 MHz) y RMN C^{13} (90,56 MHz) se registraron en un espectrómetro Bruker DPX-360 equipado con un cabezal de sonda multinuclear de banda ancha con gradiente z. Los desplazamientos químicos (en ppm) se expresaron respecto a un patrón interno (TMS o TSP). Las multiplicidades se indican de la siguiente manera: s = singulete, d = doblete, t = triplete, q = cuádruplete, m = multiplete, bs = singulete ancho.

Se suspendió D-glucosa (23 g, 127,37 mmoles, 2,8 eq.) y bisulfito sódico (1,6 g, 12,389 mmoles, 0,28 eq.) en metanol (38 ml) y glicerina (19 ml). Después de agitar durante 30 min a 100°C se agregó carnosina (10 g, 44,22 mmoles, 1,0 eq.) y ácido acético (5,1 ml) y la mezcla resultante se calentó durante 3,5 horas a 100°C. La masa reactiva se enfrió y se diluyó con 38 ml de agua. La mezcla reactiva se purificó empleando una columna empaquetada con la resina de intercambio iónico Amberlite IRN77 (100 g). Se usó NH_3 0-0,4% en agua como gradiente para elución. Finalmente se aislaron 6,8 g de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina (39,62%); Rf (n-butanol: ácido acético: agua, 3: 2: 2): 0,21; MS (M^+): m/z 388,16; RMN H^1 (óxido de deuterio) δ 2,77 [m, 2H], 3,13 [dd, $J = 15,4, 8,2$ Hz, 1H], 3,21-3,27 [m, 1H], 3,28-3,32 [m, 2H], 3,33-3,44 [m, 2H], 3,63-3,75 [m, 1H], 3,76-3,85 [m, 2H], 3,87-3,91 [m, 1H], 3,99-4,03 [m, 2H], 4,53 [dd, $J = 8,2, 5,2$ Hz, 1H], 7,28 [d, $J = 1,0$ Hz, 1H], 8,61 [d, $J = 1,4$ Hz, 1H]; RMN C^{13} (óxido de deuterio) δ 26,98, 30,26, 44,28, 53,01, 53,92, 63,91, 68,80, 69,20, 69,76, 95,21, 116,65, 129,49, 133,15, 171,60, 176,13.

Ejemplo 2: preparación de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina a partir de glucosa y carnosina (β-alanil-L-histidina)

Se calentó una mezcla de carnosina (226 mg; 1 mmol; 1 eq.) y glucosa (360 mg; 2 mmoles; 1 eq.) en 20 ml de tampón de Na_2HPO_4 (0,5 mol/l, pH 7,0) en un recipiente cerrado a 80°C durante 3 h. Luego el disolvente se evaporó a presión reducida y el precipitado resultante se liofilizó. Se disolvieron en agua partes alícuotas del polvo liofilizado y se filtraron (0,45 μm) tras 10 minutos de ultrasonificación. Después las soluciones se fraccionaron por cromatografía líquida de interacción hidrófila semipreparativa (HILIC-HPLC) con una columna TSKgel Amide-80 de 300 x 21,5 mm d.i., 10 μm , equipada con una columna protectora de 75 x 21,5 mm d.i., 10 μm , (Tosoh Bioscience, Stuttgart, Alemania). Se utilizó un gradiente consistente en ácido fórmico acuoso (1% en agua, disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B), controlando el efluente con un detector ELSD (detector de dispersión de luz evaporativa) y ajustando el caudal a 8 ml/min. Se empezó con una mezcla de 75% de B y 25% de A durante 10 minutos y el gradiente se redujo progresivamente hasta 0% de B y 80% de A durante otros 10 minutos. Después de mantener estas condiciones durante 5 min, el gradiente

se incrementó hasta 75% de B y 25% de A en 8 min. Por purificación se obtuvieron 6 fracciones, tal como se ve en la figura 1.

5 La molécula correspondiente a la fracción F5 se identificó como carnosina y la molécula F6 como 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina (basándose en datos de LC-MS y RMN).

Ejemplo 3: preparación de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina a partir de glucosa y carnosina (β-alanil-L-histidina)

10 Se calentó a reflujo durante 2 h una mezcla de carnosina (905 mg; 4 mmoles) e hidróxido potásico (224 mg; 4 mmoles) en 100 ml de metanol. Tras enfriar a temperatura ambiente, el precipitado se separó por filtración y el sobrenadante se concentró a presión reducida, obteniéndose la sal potásica de carnosina. Luego se calentó a 80°C durante 2 h, en un recipiente cerrado, una mezcla de la sal potásica de carnosina (2 mmoles) y glucosa (360 mg; 2 mmoles) en metanol (50 ml, pH 5,0 con ácido fórmico). Después de evaporar el disolvente a presión reducida, el precipitado se disolvió en agua y se liofilizó. El producto de la reacción se purificó en las condiciones indicadas en el ejemplo 2.

Ejemplo 4: preparación de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina a partir de glucosa y anserina (β-alanil-N-metil-L-histidina)

20 Se suspendió D-glucosa (127,37 mmoles, 2,8 eq.) y bisulfito sódico (12,389 mmoles, 0,28 eq.) en metanol (38 ml) y glicerina (19 ml). Después de agitar durante 30 min a 100°C se agregó nitrato de anserina (44,22 mmoles, 1,0 eq, Bachem) y ácido acético (5,1 ml) y la mezcla resultante se calentó durante 3,5 h a 100°C. Luego la masa reactiva se enfrió y se diluyó con agua (38 ml). La mezcla se purificó por cromatografía líquida preparativa, usando una columna de HILIC Phenomenex Luna 5 μ de 250 x 4,60 mm con tampón de NH₄Ac 5 mM en agua (disolvente A) y acetonitrilo (90%, disolvente B) ajustado a pH 5,8. El cromatograma resultante y el gradiente están representados en la figura 2. El primer pico se identificó como la sal de nitrato, mientras que el pico 2 es la deseada 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina y el pico 3 corresponde a la anserina sin reaccionar. Finalmente se aislaron 2,6 g de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina (15 %).

25 LC-MS (ESI⁻): *m/z* 401,13 (100, [M-H]⁻); RMN H¹ (400 MHz, 300 K, óxido de deuterio), δ 2,70-2,86 [m, 2H], 3,09 [dd, J = 15,8, 8,3 Hz, 1H], 3,26 [dd, J = 15,8, 5,0 Hz, 1H], 3,34-3,40 [m, 2H], 3,36 [m, 2H], 3,71-3,77 [m, 1H], 3,78-3,83 [m, 1H], 3,85 [s, 3H], 3,88-3,92 [m, 1H], 3,99-4,05 [m, 2H], 4,51 [dd, J = 8,5, 5,5 Hz, 1H], 7,24 [s, 1H], 8,54 [s, 1H]; RMN C¹³ (100 MHz, 300 K, óxido de deuterio) δ 28,77, 33,28, 35,87, 47,24, 55,96, 56,18, 66,85, 71,74, 72,14, 72,68, 98,18, 120,99, 133,96, 138,25, 174,55, 179,19.

35 **Ejemplo 5: evaluación sensorial de carnosina (β-alanil-L-histidina) y anserina (β-alanil-N-metil-L-histidina) en caldo modelo**

Las pruebas sensoriales se realizaron en un recinto de panel sensorial a 20-25°C. Para evitar una impresión de aroma o gusto retro-nasal se usaron pinzas para la nariz. El panel sensorial estaba formado por 8 a 14 personas entrenadas. El panel se entrenó para evaluar el sabor de las disoluciones acuosas (1 ml de cada) de los siguientes compuestos de gusto estándar usando un ensayo triangular: sacarosa (50 mmoles/l) y L-alanina (15 mmoles/l) respectivamente para el sabor dulce, ácido láctico (20 mmoles/l) para el sabor agrio, NaCl (12 mmoles/l) para el sabor salado, cafeína (1 mmol/l) e hidrocloreuro de quinina (0,05 mmoles/l) respectivamente para el sabor amargo, glutamato sódico (8 mmoles/l) para el sabor umami y tanino (0,05%) para la astringencia. La sensación oral de "carne blanca" se valoró con una solución de caldo modelo preparada con glutamato monosódico monohidrato (1,9 g/l), extracto de levadura (2,1 g/l), maltodextrina (6,375 g/l) y cloruro sódico (2,9 g/l) en agua embotellada (pH 5,9).

La concentración umbral de gusto de la β-alanil-L-histidina se determinó en el caldo modelo mediante una prueba de tres alternativas con dos blancos y una muestra con concentraciones ascendentes de β-alanil-L-histidina. Se encontró que la concentración umbral de la impresión oral de acidez espesa y carne blanca era de 22.700 μmoles/l (5,3 mg/g).

La concentración umbral de gusto de la β-alanil-N-metil-L-histidina se puede determinar de la misma manera arriba descrita para la β-alanil-L-histidina.

55 **Ejemplo 6: evaluación sensorial de la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina y la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina en caldo modelo**

La concentración umbral de gusto de la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina se determinó en el caldo modelo del modo descrito en el ejemplo 5 y se encontró que era 4.400 μmoles/l (1,7 mg/g) para impresión oral de acidez espesa y carne blanca. Este valor umbral de gusto es muy inferior al nivel umbral de 22.700 μmoles/l (5,3 mg/g) determinado para la respectiva β-alanil-L-histidina con el mismo sistema de modelo experimental (véase el ejemplo 5). De hecho corresponde a una disminución de la concentración umbral de sabor por un factor de 5 aproximadamente.

Este resultado significa que en las mismas condiciones se necesita una cantidad aproximadamente 5 veces inferior de moléculas de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina, en comparación con la respectiva β-alanil-L-histidina, para impartir el mismo efecto intensificador del aroma y del sabor umami en un producto alimenticio.

Se puede observar un mismo resultado y una reducción cuantitativa similar al probar y comparar los valores umbral de sabor de la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina en comparación con la respectiva anserina (β-alanil-N-metil-L-histidina).

Ejemplo 7: identificación y cuantificación de la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina en caldos de carne

Preparación del caldo de cocido: los ingredientes (del mercado local) y sus cantidades están resumidos en la tabla 1. Los trozos de carne se suspendieron en 5 l de agua fría. Se añadieron 22,5 g de NaCl y se hirvió la mezcla. Después de 2 horas, las verduras cortadas se agregaron al caldo y la preparación se hirvió una hora más. La mezcla se filtró para eliminar las partes sólidas.

Tabla 1: ingredientes del caldo de cocido

Verduras		Carne	
Puerro	140 g	Tapa plana	624 g
Cebollas	45 g	Redondo	62 g
Apio	108 g	Tuétano	180 g
Nabos	88 g	Codillo	190 g
Clavo	0,35 g	Rabo	303 g
Zanahorias	136 g	Costillar plano	251 g

Preparación del caldo de carne: los trozos de carne (tabla 1) se suspendieron en 5 l de agua fría. Se añadieron 22,5 g de NaCl y la mezcla se hirvió durante 3 horas. La mezcla se filtró para eliminar las partes sólidas.

Se añadió una cantidad definida de patrones marcados con C₆¹³ a 50 ml de los caldos y estos se introdujeron en un cartucho Strata C18-E y se eluyeron con agua para llegar a una dilución efectiva de 1:10.

La cuantificación se realizó por análisis de dilución isotópica estable con una HPLC-MS equipada con una columna TSKgel-Amide 80 (3 μm, 2 mm x 150 mm de Tosoh Bioscience, Stuttgart, Alemania) y la columna protectora TSKgel-Amide 80 (3 μm, 2 mm x 10 mm de Tosoh Bioscience, Stuttgart, Alemania). El eluyente A era una mezcla de acetonitrilo con ácido fórmico al 1,0% y el eluyente B agua con ácido fórmico al 1,0%. El volumen de inyección fue de 3 μl. El caudal fue de 0,2 ml/min. El gradiente de disolvente comenzó con 95% de A durante 0 a 5 min, después 95-5% de A durante 5 a 15 min, 5% A durante 10 min, 5-95% durante 27 a 30 min. En la tabla 2 figuran las condiciones de la MS.

Tabla 2. Transiciones de masa

Sustancia	PM [Da]	Q1 → Q3 [m/z]	DP ^a	CE ^b	CXP ^c
1-Desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina	388	389 → 305	71	25	4

^aPotencial de desagrupamiento; ^bEnergía de colisión; ^cPotencial de salida de la celda

Se encontraron 10 y 7 μmoles/l de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina en caldo de carne y caldo de cocido, que corresponden respectivamente a una concentración aproximada de 2,7 y 3,9 μg/g de caldo.

Ejemplo 8: composiciones de condimento

Se prepararon sopas de pollo disolviendo 6 g de base de pollo en polvo (receta detallada indicada en la tabla 3) y 1 g de glutamato monosódico en 500 ml de agua caliente. Se añadió 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina o 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina a una concentración de 2 g/l.

Tabla 3. Composición de base de pollo en polvo

Ingrediente	Proporción (%)
Carne de pollo en polvo	30
Almidón	1,52
Saborizantes	2,58
Apio en polvo	0,50
Ajo en polvo	0,90
Grasa de pollo	8,00
Maltodextrina	56,50
Total	100

La evaluación sensorial se realizó con 12 panelistas previamente valorados por sus habilidades sensoriales. Se pidió a los panelistas que probaran un conjunto de 2 sopas de pollo, una que no contenía 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-

histidina y una que contenía 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina (2 g/l). Se pidió a los panelistas que describieran las diferencias sensoriales que observaran.

5 El panel sensorial concluyó que las sopas de pollo con y sin la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina se percibían como significativamente diferentes y la adición de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina aumentó notablemente el sabor a pollo hervido y a carne.

10 La misma evaluación sensorial de las muestras de sopa de pollo se realizó con y sin contenido de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina a 2 g/l de caldo. El panel sensorial concluyó que las sopas de pollo con y sin la 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina fueron percibidas como significativamente diferentes y la adición de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina aumentó notablemente el sabor a pollo hervido y a carne.

Ejemplo 9: composiciones de condimento

15 Se prepararon sopas de tomate disolviendo 6 g de base de tomate en polvo (receta detallada indicada en la tabla 4) en 500 ml de agua caliente. Se añadió a las sopas 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina o 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina a una concentración de 2 g/l.

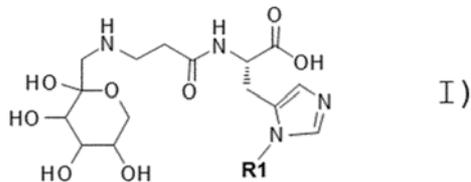
20 Tabla 4. Composición de sopa de tomate en polvo

Ingrediente	Cantidad (g)
Extracto de levadura	0,036
Azúcar blanco	0,348
Saborizantes	0,629
Tomate en polvo	0,03
Harina de trigo	0,562
Almidón de maíz	0,247
Goma guar	0,012
Especias en polvo	0,071
Maltodextrina	0,038
Aceite de girasol	0,022
Total	2

25 El panel sensorial concluyó que las sopas de tomate con y sin 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina o 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina fueron percibidas como significativamente diferentes y la adición de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-L-histidina o de 1-desoxi-D-fructosil-N-β-alanil-N-metil-L-histidina aumentó notablemente el sabor y las notas especiadas de estas sopas.

REIVINDICACIONES

5 1. Un compuesto de la fórmula general I,



en la cual R1 es un hidrógeno, un grupo alquilo C₁, C₂, C₃ o C₄, o una sal de dicho compuesto.

10 2. El compuesto según la reivindicación 1, en la cual R1 es un hidrógeno o un grupo metilo o una sal de dicho compuesto.

3. Una composición que lleva el compuesto según la reivindicación 1 o 2 en una proporción de al menos 1 mg/g.

15 4. La composición según la reivindicación 3, que es de calidad alimentaria.

5. La composición según una de las reivindicaciones 3-4, la cual se elige del grupo formado por un condimento culinario, un aditivo culinario, una salsa o un concentrado de sopa, o un producto alimenticio seco o húmedo para mascotas.

20 6. Uso del compuesto según la reivindicación 1 o 2 para intensificar el aroma de un producto alimenticio.

7. Uso del compuesto según la reivindicación 1 o 2 para intensificar el sabor umami de un producto alimenticio.

25 8. Uso de la composición según una de las reivindicaciones 3-5 para realzar el aroma de un producto alimenticio.

9. Uso de la composición según una de las reivindicaciones 3-5 para intensificar el sabor umami de un producto alimenticio.

30 10. Método para para intensificar el aroma y/o el sabor umami de un producto alimenticio culinario, que incluye la etapa de añadir el compuesto según la reivindicación 1, el compuesto según la reivindicación 2 o la composición según una de las reivindicaciones 3-5 a un producto alimenticio.

35 11. El método según la reivindicación 10, en el cual la concentración final del compuesto de la reivindicación 1 o 2 en el producto alimenticio es de al menos 1 mg/g.

Figura 1

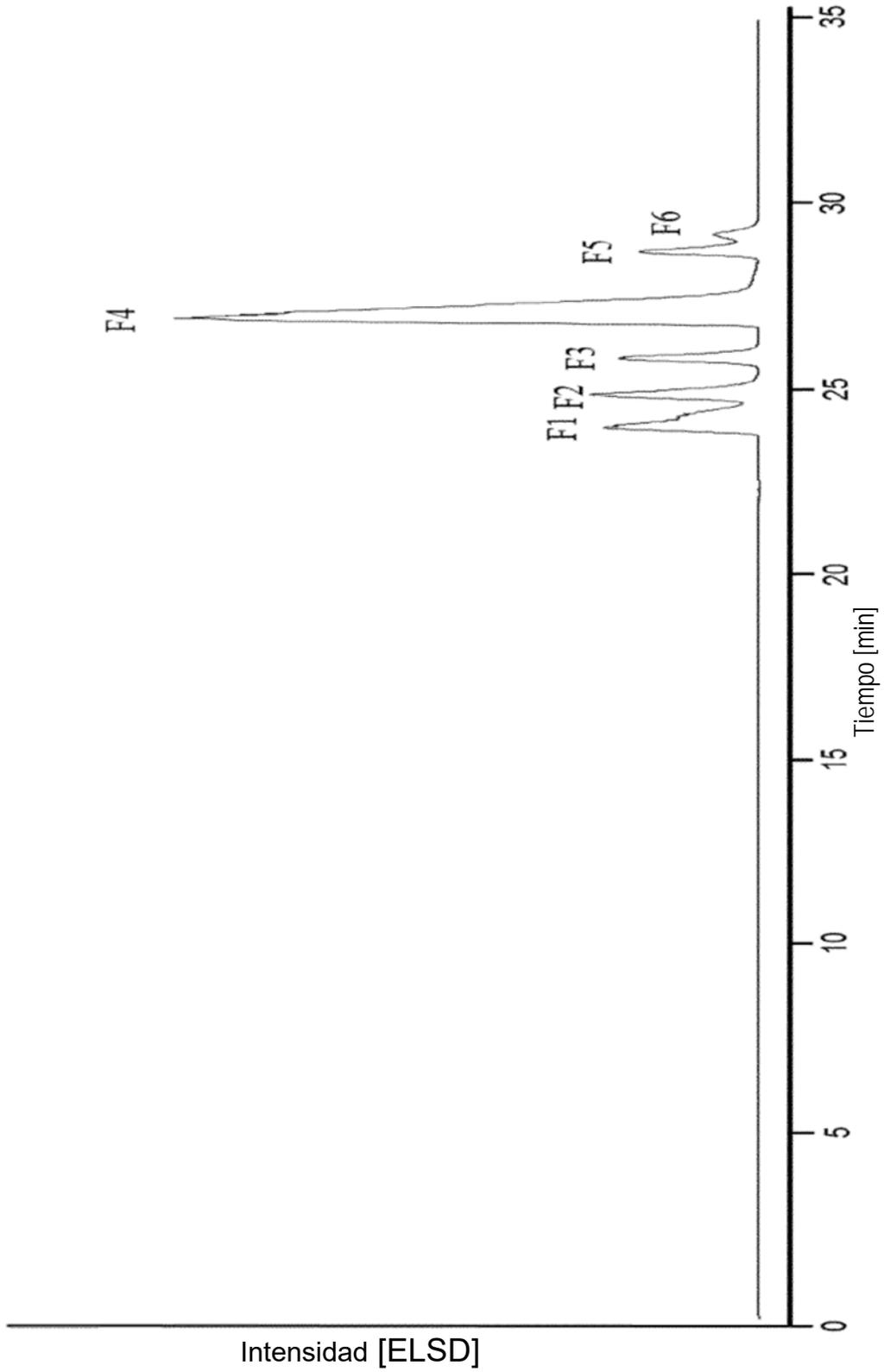


Figura 2

