

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 767 723**

51 Int. Cl.:

A23J 1/00 (2006.01)

A23J 3/20 (2006.01)

A23L 27/21 (2006.01)

A23L 27/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.09.2016** **PCT/EP2016/072695**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.05.2017** **WO17071890**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2016** **E 16778251 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019** **EP 3367819**

54 Título: **Saborizante natural y procedimiento para su preparación**

30 Prioridad:

27.10.2015 EP 15191571

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.06.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

ULMER, HELGE y
KERLER, JOSEF

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 767 723 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

Saborizante natural y procedimiento para su preparación

5 La presente revelación, se refiere a un procedimiento para preparar una base de sabor natural y a una base de sabor, obtenible mediante dicho procedimiento. Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento para proporcionar una nota de sabor tostado natural a un producto alimenticio.

10 Los aditivos tales como los aminoácidos purificados, las vitaminas o las moléculas saborizantes, se usan, de una forma usual, para mejorar el cuerpo y el sabor en las reacciones de sabor o aroma y de la composición, en los productos alimenticios. No obstante, el problema que aparece, mediante el uso de estos aditivos es que éstos no se consideran como siendo naturales, ya que, generalmente, éstos se obtienen, en primer lugar, mediante una purificación o una síntesis química, lo cual implica una o más etapas de procesado, no naturales, tales como, la elución de las impurezas, mediante el uso de eluyentes químicos o de reacciones químicas sintéticas.

15 Los patrones estándar de sabor o aroma natural, en varios países, incluyendo a Europa, determinan los saborizantes o aromatizantes elaborados únicamente a base de componentes naturales, pero los cuales se preparan mediante procedimientos químicos o mediante la adición de componentes adicionales, tales como los consistentes en saborizantes o aromatizantes no naturales. Un ejemplo de éstos, serían los procedimientos para preparar la L-cisteína, en dos etapas (la de fermentación y la de reducción química). Por esta razón, es deseable disponer de componentes saborizantes o aromatizantes preparados mediante la utilización de procedimientos naturales, tales como únicamente la fermentación y omitiendo cualquier etapa química de producción.

25 El documento de patente internacional WO 2009 / 0 40 150, describe un base saborizante natural, de prologando tiempo de vida de conservación, la cual mejora el sabor, y la cual se encuentra producida mediante fermentación, mediante la utilización de un microorganismo del género *Corynebacterium*, *Brevibacterium* o *Bacillus*. La base saborizante en cuestión, comprende un porcentaje comprendido dentro de un rango situado entre un 10 % y un 80 %, en peso, de compuestos obtenidos de una forma natural, tales como los consistentes en el glutamato, el monofosfato de inosina (IMP) y el monofosfato de guanosina (GMP); y otros compuestos obtenidos de una forma natural, seleccionados de entre el grupo que consiste en los ácidos orgánicos, los aminoácidos, los péptidos y los compuestos aromáticos; y un bajo contenido de grasa de la base saborizante, en un porcentaje comprendido dentro de un rango que va de un 0 % a un 15%, en peso. La base saborizante descrita, mejora el sabor "umami", en productos alimenticios. Sin embargo, ésta no proporciona una nota de sabor superior por sí sola.

35 El documento de patente europea EP 0 357 812, describe un procedimiento para mejorar el sabor de los productos proteicos derivados de microorganismos, el cual comprende el cultivo del microorganismo, en presencia de un aditivo el cual mejora el sabor, sometiendo a tratamiento térmico el fermento resultante y procediendo al secado del mismo, en ausencia de una centrifugación. Los ejemplos de aditivos añadidos, los cuales mejoran el sabor durante la fermentación, son subproductos de origen animal (tales como el extracto de carne de res, el extracto de cerdo o el extracto de pollo) o ácidos grasos producidos al añadir un precursor de productos lácteos y lipasa. El aditivo se usa en un porcentaje del 0,5 % - 5 %, en peso. En este caso, el objetivo propuesto, es el de producir productos alimenticios ricos en proteínas y no un ingrediente intermedio rico en precursores los cuales puedan usarse en subsiguientes reacciones de sabor.

45 El documento de patente internacional WO 2015 020 292, se refiere a un procedimiento para preparar un caldo fermentado de inosina-5'-monofosfato (IMP) o un caldo fermentado de ácido glutámico, como materia prima para la preparación de un saborizante natural. El procedimiento, comprende dos etapas de fermentación, una primera etapa de fermentación fúngica y una segunda etapa de fermentación bacteriana. El caldo fermentado IMP y el caldo fermentado con ácido glutámico, pueden usarse como materias primas para preparar diversos saborizantes o aromatizantes naturales, tal como, por ejemplo, saborizantes neutros (documento de patente internacional WO 2015 012 466) y saborizantes o aromatizantes para carne de res (documento de patente internacional WO 2015 012 464), pollo, cerdo, "kokumi" (documento de patente internacional WO 2015 012 465) y similares. Estos saborizantes o aromatizantes, se pueden personalizar mediante la utilización de diferentes materias primas, o procediendo a cambiar ligeramente la composición del medio, o controlando las condiciones del proceso, incluyendo la temperatura, la presión y el tiempo, en el proceso de mezclado de los caldos fermentados, o en un proceso de reacción o de electrodiálisis. El disponer de dos etapas de fermentación, tal como se describe, tendría las siguientes consecuencias para una producción industrial: (1) el producto final es altamente sensible a los cambios en las características y calidad de la materia prima; (2) el control de dos etapas de fermentación, involucra equipos altamente especializados y la destreza o habilidad de manipulación; y (3) el rendimiento productivo del producto final, depende, en gran medida, de la cantidad inicial que se libera durante la hidrólisis.

65 A menudo, el extracto de levadura, como fuente natural de aminoácidos, se añade a los productos alimenticios y / o ésta se usa en procesos de reacción térmica para el sabor. Se proporciona un ejemplo en el documento de patente estadounidense US 4 879 130. No obstante, el uso de extracto de levadura, añade, de una forma general, una nota típica de levadura o sabor desagradable a tales bases saborizantes o aromatizantes y productos alimenticios. Por lo

general, esto no es del agrado de muchos consumidores, de una forma particular, en cuanto a lo referente a Europa y a los Estados Unidos. El documento de patente europea EP 2 119 373 A1, describe un procedimiento para preparar una composición de base de saborizante (aromatizante) natural, la cual comprende la etapa de cultivar una variedad de levadura de panadería, la cual sobreproduce prolina y acumula prolina en el extracto resultante.

Así, por lo tanto, existe todavía una necesidad persistente en el arte especializado de la técnica y en la industria alimentaria, en cuanto al hecho de proporcionar nuevos procedimientos para preparar composiciones de base de saborizantes o aromatizantes, sabrosas, las cuales proporcionen bases saborizantes, las cuales sean consideradas, por parte de los consumidores, como siendo absolutamente naturales y que, al mismo tiempo, también puedan proporcionar nuevos y más completos y auténticos perfiles de sabor o aroma, y unas altas notas de sabor o aroma.

Resumen de la invención

El objeto de la presente invención, es el de mejorar el estado actual del arte especializado de la técnica y el de proporcionar un nuevo procedimiento para preparar un saborizante con una base de sabor, natural, y que los consumidores la consideren como siendo totalmente natural y que proporcione un perfil de sabor mejorado y totalmente natural a los productos alimenticios. Un objeto adicional de la presente invención, es un procedimiento para proporcionar una nota de sabor tostado natural y auténtico a un producto alimenticio o a un producto sazonador. El objeto de la presente invención se consigue mediante el contenido de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan de una forma adicional la idea de la presente invención.

Correspondientemente en concordancia, la presente invención, proporciona, en un primer aspecto, un procedimiento para preparar una composición de base de un saborizante natural, el cual comprende las etapas de:

- cultivar una cepa bacteriana, en un medio de cultivo, para producir y acumular L-prolina y / o un derivado de la misma, en el medio de cultivo, a una concentración correspondiente a un porcentaje de por lo menos un 1,0 %, en peso, del medio de cultivo;
- de una forma opcional, separar la cepa bacteriana del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo;
- de una forma opcional concentrar el medio de cultivo después de la etapa de cultivo;
- añadir un azúcar reductor al medio de cultivo, después de la etapa de cultivo;
- hacer reaccionar térmicamente el medio de cultivo, después de la adición del azúcar reductor, a una temperatura de 75 °C - 170 °C durante un transcurso de tiempo de por lo menos 5 minutos;
- de una forma opcional, concentrar el medio, después de la etapa de reacción térmica, mediante proceso de evaporación o de secado por pulverización; en donde, el azúcar reductor, se añade al medio, en una cantidad correspondiente a un valor de relación de 1: 5 a 10: 1 (referido a peso / peso) del azúcar, con respecto a la prolina, y en donde, la cepa bacteriana, pertenece a un género seleccionado de entre *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Bacillus* o *Microbacterium*.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a una base saborizante o aromatizante natural, obtenible mediante el procedimiento de la presente invención.

Un tercer aspecto de la invención, se refiere al uso de la presente base de saborizante o aromatizante natural de la presente invención, para añadir una nota de sabor o aroma tostado, a un producto alimenticio.

Todavía otro aspecto adicional de la invención, es un procedimiento para proporcionar una nota de sabor o aroma, con un sabor o aroma a tostado natural, a un producto alimenticio, el cual comprende la etapa de añadir la base de saborizante o aromatizante natural de la presente invención, a la receta de dicho producto alimenticio.

Los inventores, han descubierto el hecho de que, un cultivo de una cepa bacteriana, tal como, por ejemplo, un cultivo de la cepa bacteriana *Corynebacterium glutamicum*, la cual se cultive de forma que ésta sobreproduzca L-prolina o que se acondicione de tal forma que ésta sobreproduzca L-prolina, puede usarse directamente en un procedimiento de reacción térmica para generar una base saborizante o aromatizante con un sabor o aroma natural, que los consumidores perciban como siendo completamente natural y que, de una forma sorprendente, ésta tenga un perfil de sabor o aroma tostado mejorado, en comparación con las bases de saborizantes o aromas saladas correspondientes al arte anterior de la técnica especializada. Para este nuevo procedimiento, se puede tomar un cultivo bacteriano como tal, es decir, sin separar las células bacterianas del medio de cultivo después de la etapa de fermentación, o de una forma alternativa, pudiendo, en primer lugar, eliminar las células bacterianas, del medio de cultivo, después de la fermentación por sedimentación, centrifugación y / o filtración. Con objeto de facilitar el procesamiento posterior, el medio de cultivo, se puede concentrar, con objeto de eliminar una cantidad sustancial de agua, la cual se encuentre presente en el medio de cultivo. Así, por ejemplo, se puede obtener una pasta de medio de cultivo concentrado, la cual tenga un contenido de humedad residual de únicamente un porcentaje correspondiente a un rango que va de aprox. un 5 % a aprox. un 40 % en peso. A continuación, se puede añadir un azúcar reductor, tal como, por ejemplo, glucosa, al medio de cultivo concentrado y, la mezcla, se procesa adicionalmente, haciendo reaccionar térmicamente la mezcla, a una temperatura superior a los 75 °C, de una forma

preferible, a una temperatura superior a los 85 °C. Esta reacción química térmicamente inducida, se conoce así mismo, también, se conoce, mediante el término de reacción de Maillard. De una forma opcional, el producto final de la reacción, puede entonces concentrarse adicionalmente, tal como, por ejemplo, hasta su conversión en una pasta, o secarse, hasta su conversión en una materia en polvo.

Los inventores, han descubierto, sorprendentemente, el hecho de que, cuando se usa este procedimiento, se pueden generar composiciones de base de saborizantes o aromatizantes naturales, los cuales que tienen una nota de sabor tostado significativamente mejorada, con respecto a los procedimientos correspondientes al arte anterior de la técnica especializada, los cuales hacen uso de medios de fermentación bacterianos, no acondicionados, regulares, como por ejemplo, tal como se describe en el documento de patente internacional WO 2009 / 040 150, ó mediante el uso de L-prolina purificada aislada, en sistemas de modelos estándar de reacción de Maillard. La evidencia de ello, se proporciona abajo, a continuación, en la sección de Ejemplos. Como consecuencia de ello, la presente invención, proporciona un nuevo procedimiento, el cual presenta la ventaja de ser absolutamente natural, es decir, sin el uso y la adición de productos químicos o moléculas aisladas, de ser relativamente barato, y aplicable industrialmente a gran escala, y que proporciona un perfil de sabor tostado, todavía mejor, a la composición de base resultante del saborizante.

Descripción resumida de los dibujos

Figura 1: Evaluación sensorial de las muestras 1 - 4, etiquetadas como 1 a 4, respectivamente. A significa tostado, B significa mantecoso, C significa galletas, D, significa palomitas de maíz, E, significa sabor a caramelo y F significa dulce

Descripción detallada de la invención

La presente invención, se refiere a un procedimiento para preparar una composición de base de un saborizante o aromatizante natural, el cual comprende las etapas de:

- cultivar una cepa bacteriana, en un medio de cultivo, para producir y acumular L-prolina y / o un derivado de la misma, en el medio de cultivo, a una concentración correspondiente a un porcentaje de por lo menos un 1,0 %, en peso, del medio de cultivo;
- de una forma opcional, separar la cepa bacteriana del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo;
- de una forma opcional concentrar el medio de cultivo después de la etapa de cultivo;
- añadir un azúcar reductor al medio de cultivo, después de la etapa de cultivo;
- hacer reaccionar térmicamente el medio de cultivo, después de la adición del azúcar reductor, a una temperatura de 75 °C - 170 °C durante un transcurso de tiempo de por lo menos 5 minutos;
- de una forma opcional, concentrar el medio, después de la etapa de reacción térmica, mediante proceso de evaporación o de secado por pulverización; en donde, el azúcar reductor, se añade al medio, en una cantidad correspondiente a un valor de relación de 1 : 5 a 10 1 (referido a peso / peso) del azúcar, con respecto a la prolina, y en donde, la cepa bacteriana, pertenece a un género seleccionado de entre Corynebacterium, Arthrobacter, Brevibacterium, Bacillus o Microbacterium.

El término "natural" de la presente invención significa "elaborado mediante productos naturales", es decir que, la composición base del saborizante o aromatizante, se elabora únicamente mediante fermentación y tratamiento térmico. Así, por lo tanto, el término "natural", también significa, así mismo, el hecho de que, la composición de base de saborizante o aromatizante, no comprende una adición de compuestos químicos artificiales tales como las consistentes en moléculas producidas sintéticamente y / o químicamente purificadas, ni tampoco está elaborada a partir de dichos compuestos artificiales. Los ejemplos de tales moléculas no deseadas, son los compuestos saborizantes o aromatizantes, los colorantes, los compuestos antimicrobianos, las vitaminas, los aminoácidos, los ácidos orgánicos, los alcoholes y los ésteres. El "cultivo de una cepa bacteriana" se lleva a cabo mediante un proceso de fermentación. De una forma típica, tales procesos de fermentación, se sumergen y se conducen en reactores de fermentación, cerrados o abiertos. La elección y la composición del medio de cultivo, depende de la elección de la cepa bacteriana seleccionada para producir y acumular L-prolina y / o un derivado de la misma en dicho medio de cultivo. De una forma típica, la persona experta en el arte especializado de la técnica, la cual esté familiarizada con los procedimientos de fermentación de una cepa bacteriana seleccionada, conoce y puede componer fácilmente un medio de cultivo, el cual sea apropiado para el respectivo procedimiento de cultivo.

La cepa bacteriana para el procedimiento de la presente invención, pertenece a un género seleccionado de entre Corynebacterium, Arthrobacter, Brevibacterium, Bacillus o Microbacterium.

En una forma específica de presentación de la presente invención, el derivado de la L-prolina es la hidroxiprolina.

En una forma preferida de presentación, el cultivo de la cepa bacteriana, produce y acumula L-prolina y / o un derivado de la misma, a una concentración correspondiente a un porcentaje de por lo menos un 1,5 %, en peso, de una forma más preferiblemente de por lo menos 2,0 % en peso, de una forma todavía más preferible, de por lo

menos un 2,5, % en peso % del medio de cultivo. Las concentraciones de la L-prolina y / o un derivado de la misma, serían, de una forma más preferiblemente, incluso superiores a un porcentaje del 3 %, en peso, del 4 %, en peso, del 5 %, en peso, o incluso del 10 %, en peso, del medio de cultivo.

- 5 En una forma de presentación, el procedimiento de la presente invención, comprende, de una forma adicional, una etapa de inactivación por calor de la cepa bacteriana, después de la etapa de cultivo. Esta inactivación por calor, se lleva a cabo después de la finalización del proceso de fermentación, es decir, al final de la fase de crecimiento de las células bacterianas, en el medio de cultivo, y ello da como resultado una inactivación de la viabilidad de las células bacterianas, incluyendo una inactivación de enzimas las cuales se han liberado, o las cuales se encuentran todavía
- 10 contenidas en el interior de las células bacterianas. La inactivación por calor, evita, potencialmente, una degradación de la compleja composición del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo, tal como, por ejemplo, un crecimiento y / o metabolismo descontrolado de las bacterias y / o una actividad adicional no controlada de ciertas enzimas.
- 15 En una forma adicional de presentación, las cepas bacterianas, se separan del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo, es decir, después del proceso de fermentación. La separación de la cepa bacteriana del medio de cultivo, se puede obtener, de una forma típica, mediante sedimentación, centrifugación y / o filtrado. Una ventaja de esta forma de presentación, puede ser la consistente en que, la manipulación adicional del medio de cultivo, en el procedimiento de la presente invención, es más fácil, en un entorno industrial. De una forma adicional, se reduce el
- 20 riesgo de que las cepas bacterianas, degraden potencialmente la calidad lograda, del medio de cultivo, una vez que haya terminado el proceso de fermentación.

En todavía otra forma adicional de presentación, el medio de cultivo, puede concentrarse después de la etapa de cultivo. Esta operación, se puede llevar a cabo sin una separación previa de la cepa bacteriana, del medio de cultivo. Como consecuencia de ello, un medio de cultivo concentrado de en concordancia con esta forma de presentación, puede comprender células bacterianas, o puede no contenerlas. De una forma preferible, la concentración del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo, se lleva a cabo mediante la evaporación parcial o la evaporación total, del agua que se encuentra presente en el medio de cultivo. De una forma preferible, el medio de cultivo concentrado resultante, se encuentra en forma de una pasta. Dicha pasta, puede todavía tener un

- 25 contenido de agua correspondiente a un porcentaje comprendido entre un 5 % y un 40 %, en peso, de una forma preferible, comprendido entre un 15 % y un 35%, en peso. Una de las ventajas de esta forma de presentación, reside en el hecho de que ésta, permite lleva a cabo la etapa de reacción química, térmica, conjuntamente con el azúcar reductor, en una forma más concentrada.
- 30

- 35 En una forma de presentación de la presente invención, el azúcar reductor añadido al medio de cultivo, después de haber terminado la etapa de cultivo, se trata es monosacárido, el cual comprenda 4, 5 ó 6 átomos de carbono. De una forma alternativa, también se puede usar, así mismo, un azúcar reductor consistente en un disacárido. De una forma preferible, el azúcar reductor, se selecciona de entre el grupo que consiste en la glucosa, la xilosa, la ribosa, la ramnosa, la fructosa, la maltosa, la lactosa, la arabinosa o una combinación de los mismos. El azúcar que más se
- 40 prefiere, es la glucosa.

En el presente procedimiento, el azúcar reductor se añade al medio en una cantidad correspondiente a un factor de relación comprendido dentro de un rango que va de 1 : 5 a 10 : 1 (referido a peso / peso) del azúcar, con respecto a la prolina, de una forma preferible, en un factor de relación comprendido dentro de un rango que va de 1 : 1 a 5 : 1 (referido a p / p) de la proporción azúcar : prolina. El factor de relación azúcar : prolina, deberá entenderse como siendo el factor de relación (referido a peso / peso) de azúcar reductor, frente a L-prolina y / o un derivado de la misma. Los inventores, han descubierto el hecho de que, la adición de azúcar reductor, al medio de cultivo, después de la etapa de cultivo, en este rango de factor de relación, proporciona los mejores resultados, en cuanto lo referente a la generación de un perfil de sabor o aroma tostado deseado, típico, en el siguiente proceso de reacción química,

- 45
- 50

El procedimiento de la presente invención, comprende una etapa de reacción térmica del medio de cultivo, después de la adición del azúcar reductor, a una temperatura de 75 °C – 170 °C durante un transcurso de tiempo de por menos 5 minutos, de una forma preferible, de por lo menos 10 minutos. Esta etapa, se trata de una etapa de

- 55 reacción química entre los diferentes componentes los cuales se encuentran presentes en el medio de cultivo, después de la adición del azúcar reductor y la cual se induce térmicamente. Esta etapa de reacción térmica, también se conoce, comúnmente, así mismo, como reacción de Maillard. Es durante esta etapa de reacción térmica que diferentes moléculas precursoras del medio de cultivo, reaccionan químicamente, tal como, por ejemplo, con el azúcar reductor, dando ello como resultado nuevas moléculas activas de aroma y sabor. Finalmente, es el conjunto
- 60 del medio de cultivo seleccionado de la presente invención, conjuntamente con el azúcar reductor, que proporcionan el nuevo y mejorado perfil de sabor o aroma, de esta base natural de saborizante o aromatizante, después de la etapa de reacción térmicamente inducida.

De una forma preferible, la etapa de reacción térmica del procedimiento de la presente invención, se lleva a cabo a una a una temperatura de 85 °C - 150 ° C, llevándose ésta a cabo, de una forma más preferible, a una temperatura

- 65

de 95 °C -130 °C.

En una forma adicional de presentación de la presente invención, se procede a secar el medio de cultivo, después de la adición del azúcar reductor y después de la etapa de reacción térmica, hasta la obtención de una materia en polvo. El secado, puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante procedimiento de secado por pulverización o mediante proceso de secado al vacío. De una forma ventajosa, entonces, la composición de base del saborizante o aromatizante natural obtenida, puede integrarse de una mejor forma, en productos condimentantes, no líquidos, tales como, por ejemplo, los consistentes en condimentos en polvo, o en tabletas condimentantes. Un aspecto adicional de la presente invención es una base de saborizante o aromatizante natural, obtenible mediante el procedimiento de la presente invención. Como se proporciona evidencia a continuación, esta nueva base de saborizante o aromatizante natural tiene una nota de sabor tostado mejorada y, así, por lo tanto, ésta es distinguible de bases de saborizantes similares, correspondientes al arte anterior de la técnica especializada. De una forma particular, los inventores han observado el hecho de que, esta nueva base de saborizante aromatizante natural, ha mejorado, todavía más, de una forma adicional, las notas de sabor o aroma de caramelo, de palomitas de maíz, de galleta o de mantequilla, en comparación con las de los respectivos productos de saborizantes de base de referencia.

Todavía otro aspecto adicional de la presente invención, es el uso de la presente base de saborizante natural, para agregarse a una nota de sabor tostado a un producto alimenticio. De una forma preferible, el producto alimenticio, se selecciona de entre el grupo que consiste en las sopas culinarias, los fideos, los caldos, las salsas, los condimentos, las preparaciones de comidas listas para comerse, las preparaciones de bebidas instantáneas y listas para tomarse, las galletas, los pasteles, los productos de aperitivos o tentempiés, los productos de masas de pasta, y las obleas. De una forma preferiblemente, las sopas culinarias, los caldos, las salsas o los productos condimentantes de la presente invención, se encuentran en forma de una materia en polvo, de un líquido, de un producto granulado, de una tableta o de una masa de pasta. De una forma adicional, cuando el producto alimenticio se trata de una preparación de comida lista para comerse, de un producto de aperitivo o tentempié o merienda, de un producto de una masa de pasta, de una forma preferible, éste se congela.

Aún todavía otro aspecto adicional de la presente invención, es un procedimiento para proporcionar una nota de sabor o aroma tostado natural a un producto alimenticio, el cual comprende la etapa de agregar la base de saborizante o aromatizante natural de la presente invención, a la receta de dicho producto alimenticio. De una forma preferible, el procedimiento, es para proporcionar una nota de sabor tostado natural a un producto alimenticio o condimento culinario.

Aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, entenderán el hecho de que se pueden combinar libremente todas las características de la presente invención, las cuales se describen aquí. De una forma particular, las características descritas para el procedimiento para preparar la composición de base del saborizante o aromatizante natural de la presente invención, se pueden combinar con el sabor y aroma de base obtenible mediante el procedimiento, con el uso de dicha base saborizante o aromatizante, y con el procedimiento para el uso de dicha base saborizante o aromatizante, y viceversa. De una forma adicional, se pueden combinar las características descritas para las diferentes formas de presentación de la presente invención.

Otras ventajas y características de la presente invención, resultarán evidentes, a raíz de las figuras y de los ejemplos.

Ejemplo 1:

Se procedió a preparar un medio de cultivo mediante una cepa de *Corynebacterium*, tal como se describe de una forma básica en el documento de patente internacional WO 2009 / 040 150. Así, de esta forma, se cultivó una cepa bacteriana de *Corynebacterium glutamicum* en un medio de cultivo el cual comprendía glucosa, como sustrato, para el crecimiento, a un valor pH de 6 - 7 y a una temperatura 37 °C durante un transcurso de tiempo de aproximadamente 36 horas.

Posteriormente, se procedió a inactivar la cepa bacteriana, mediante un proceso de tratamiento térmico y, las células bacterianas, se separaron del medio de fermentación, mediante proceso de filtrado. El filtrado, el cual presentaba el medio cultivado, se concentró, a continuación, para su conversión en una materia en polvo, mediante proceso de secado pulverización.

El medio cultivado en polvo obtenido, tenía una composición constituida por aminoácidos y ácido orgánico natural, tal como se muestra en la Tabla 1. Las cantidades respectivas se proporcionan en %, referido a peso / peso de medio de cultivo total después de la fermentación y filtrado, pero previamente a la concentración.

Tabla 1: Composición basada en materia seca.

Componente	% en peso / peso
<u>Aminoácidos</u>	
Cistina	0,19
Tirosina	0,06
Arginina	0,38
Alanina	0,36
Ácido aspártico	0,05
Ácido glutámico	11,05
Prolina	0,22
<u>Ácidos orgánicos</u>	
Ácido acético	1,95
Ácido láctico	0,90

Subsiguientemente, se procedió añadir L-prolina técnicamente pura (de procedencia de la firma Sigma-Aldrich Pte Ltd, Singapur) al medio de cultivo en polvo, para lograr una concentración total de L-prolina, correspondiente a un porcentaje del 30 %, en peso (en base a peso / peso, de materia seca) del medio de cultivo. Se procedió, a continuación, a disolver la materia en polvo con la L-prolina, en agua, para proporcionar una solución al 10 % (referido a peso / peso). A continuación, se procedió a añadir un porcentaje del 9 %, en peso, de glucosa, a la solución, dando ello como resultado un medio de cultivo reconstituido con glucosa añadida, el cual tenía un factor de relación glucosa : prolina, de 3 : 1. Subsiguientemente, la mezcla, se sometió reacción térmica, mediante aporte de calor, durante un transcurso de tiempo de 20 minutos, a una temperatura de 120 °C, y ésta se enfrió, a continuación, a la temperatura ambiente. A ésta, se la denominará como muestra 1.

Ejemplo 2

Se procedió a preparar una muestra de referencia con una cantidad equivalente de L-prolina pura, en una solución acuosa tamponada (es decir, una solución al 3 % en peso, a un valor pH de 6,5). Se añadió un porcentaje del 9 %, en peso, de glucosa, a la solución de L-prolina, dando ello como resultado una solución de glucosa-prolina en agua, con el mismo factor de relación de glucosa : prolina de 3 : 1, tal como en la mezcla de medio de cultivo correspondiente al Ejemplo 1. Esta muestra de referencia, se sometió a la misma temperatura de reacción térmica mediante aporte de calor, durante un transcurso de tiempo de 20 minutos, a una temperatura de 120 °C, tal como la mezcla en el Ejemplo 1, y a continuación, ésta se enfrió a la temperatura ambiente. A ésta, se la denominará como muestra 2.

Ejemplo 3

Se procedió a preparar una muestra de referencia adicional, donde se usó el medio cultivado con la cepa de *Corynebacterium glutamicum* del Ejemplo 1 sin la adición de L-prolina. El medio de cultivo en polvo, después del secado por pulverización, se disolvió en agua, para proporcionar una solución al 10 % (referida peso / peso). A continuación, se añadió un porcentaje del 9 %, en peso, de glucosa, a la solución. El medio de cultivo reconstituido, tenía una concentración de L-prolina natural del 0,02 %, en peso. Así, por consiguiente, el medio de cultivo con la glucosa añadida tenía un factor de relación glucosa : prolina de 9 : 0. A continuación, la mezcla, se sometió a una reacción térmica mediante aporte de calor, durante un transcurso de tiempo de 20 minutos, a una temperatura de 120 °C y, subsiguientemente, ésta se enfrió a temperatura ambiente. A ésta, se la denominará como muestra 3.

Ejemplo 4

Se procedió a preparar una muestra adicional, en la que se usó el medio cultivado con una *Corynebacterium glutamicum*, la cual sobreproducía L-prolina, de una forma natural. No se añadió L-prolina adicional. Se obtuvo un medio de cultivo, el cual comprendía un 3 %, en peso, de L-prolina. El medio de cultivo, se secó por pulverización y, a continuación, éste se disolvió en agua, para proporcionar una solución al 10 % (p / p). A continuación, se procedió a añadir un 9 %, en peso, de glucosa, a la solución. El medio de cultivo en polvo, tenía una concentración de L-prolina natural de 30 % en peso. Así, por consiguiente, el medio de cultivo con la glucosa añadida, tenía un factor de relación de glucosa : prolina de 3 : 1. Subsiguientemente, la mezcla, se sometió a una reacción térmica mediante aporte de calor, térmico durante un transcurso de tiempo de 20 minutos, a una temperatura de 120 °C, y a continuación, ésta se enfrió a temperatura ambiente. A ésta, se la denominará como muestra 4.

Ejemplo 5:

Se procedió a someter las muestras 1 a 4 a una evaluación sensorial, mediante un panel capacitado de seis miembros. Las mezclas reaccionadas obtenidas se dividieron en 12 tazas de degustación. En la primera ronda de degustación, se les pidió, a los miembros del panel, que éstos presentaran descriptores de sabor que se asociaran con las muestras que éstos probaron. Después de ello, los miembros del panel, acordaron seis conceptos

descriptores clave para las muestras (tostado, mantequilla, galleta, palomitas de maíz, caramelo y dulce). En una segunda ronda de degustación, los miembros del panel tuvieron que juzgar la fuerza del sabor percibido en las muestras y marcarla en una escala que iba de 1 - 5 (1 para muy baja; 2 para baja; 3 para media; 4 para alta; 5 para muy alta). Se procedió, a continuación, a calcular el valor promedio de todas las respuestas, y éste se representa en la Figura 1.

Los resultados sensoriales, revelaron claramente un desarrollo del sabor significativamente más fuerte para 5 descriptores, a saber, tostado, mantecoso, bizcocho, palomitas de maíz y caramelo, para las dos muestras 1 y 4 las cuales contenían el medio cultivado conjuntamente con la L-prolina. La solución con una cantidad igual de L-prolina en agua (muestra 2) así como también la muestra del medio cultivado de referencia, sin L-prolina (muestra 3), eran claramente inferiores en cuanto a la referente al desarrollo del sabor, según lo juzgado por dichos 5 descriptores. Tal como se esperaba, el dulce fue el concepto descripto dominante para la muestra 3, en donde había un porcentaje del 9 % de azúcar reductor presente en el medio de cultivo reconstituido y no había L-prolina.

Así, por consiguiente y de una forma sorprendente, la L-prolina, en el contexto de un caldo cultivado bacteriano, proporciona un perfil del sabor con una alta nota de sabor, mucho más fuerte y típico, cuando ésta reacciona con un azúcar reductor, que cuando ésta reacciona en una igual concentración molar, con la misma cantidad y así, por lo tanto, una cantidad igual de un mismo azúcar reductor, en únicamente agua.

Como consecuencia de lo anteriormente expuesto, puede concluirse el hecho, a raíz de los resultados los cuales se presentan en la Figura 1, de que un procedimiento el cual que comprenda un medio de cultivo el cual contenga una cantidad elevada de L-prolina natural, producida y acumulada mediante el cultivo de una cepa bacteriana, y a continuación se haga reaccionar térmicamente, en presencia de un azúcar reductor, proporciona una base de sabor natural, la cual tiene unas altas nota de sabor, mucho más fuertes y típicas, con respecto a, por ejemplo, sabores tostados, de galletas y de palomitas de maíz, de lo que se podría esperar en el arte anterior de la técnica especializada (véase a dicho ejemplo, Blank et al.; Formation of odour-active compounds in Maillard model systems based on proline; Flavour Research at the Dawn of the Twenty-first Century; Proceedings of the 10th Weuman Flavour Research Symposium; - Formación de compuestos activos de olor en sistemas modelo Maillard basados en prolina; Flavor Research at the Dawn del siglo XXI; Actas del 10º Simposio de Investigación de Sabor Weuman; Editado por JL Le Quére y PX Etiévant; Lavoisier, Intercept 2003, páginas 458 - 463).

Ejemplo 6

Un medio de cultivo de la especie *Corynebacterium*, el cual tenga una mayor cantidad de L-prolina, puede obtenerse de la forma la cual se describe en el documento KR 2003 / 0 066 950. De una forma alternativa, puede obtenerse un medio de cultivo el cual comprenda una gran cantidad de L-prolina, procediendo a cultivar *Corynebacterium*, en las condiciones las cuales se encuentran especificadas en el documento de patente japonesa JP 5 9120 094. Todavía una alternativa adicional, podría ser la consistente en cultivar un *Corynebacterium* mutante o una cepa mutante de *Brevibacterium*, para producir un medio de cultivo con una cantidad elevada de L-prolina, tal como se describe en el documento de patente europea EP 0 098 122. Así, de este modo, fue posible acumular un porcentaje total del 2 % - 3 %, en peso, de L-prolina, en el medio de cultivo. De una forma similar, se podría usar una cepa bacteriana perteneciente al género *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium* o *Microbacterium*, para el mismo propósito, tal como se describe en el documento de patente estadounidense US 4 444 885. Así, de este modo, se podría acumular un porcentaje total del 2 % - 4 %, en peso, de L-prolina. Todavía otra alternativa adicional, sería la de obtener un medio de cultivo con L-prolina acumulada, tal como se describe en el documento de patente estadounidense US 4 224 409.

El medio de cultivo con L-prolina libre acumulada puede procesarse, de una forma adicional, por ejemplo, mediante un tratamiento térmico. Tal tipo de tratamiento térmico, puede ser el proceder a un calentamiento, durante un transcurso de tiempo de 1 - 5 minutos, a una temperatura de aprox. 120 °C.

A continuación, puede procederse a separar las células bacterianas del medio de cultivo, mediante una etapa de filtrado estándar, tal como se conoce en el arte de la técnica especializada, y concentrarse adicionalmente, mediante la evaporación del agua del medio. El medio de cultivo, se encontrará entonces presente en forma de una pasta espesa, con un contenido de agua el cual varía que varía dentro de un rango del 20 % - 25 %, en peso. La pasta se puede almacenar a una temperatura de 4 °C hasta que se produzca su posterior procesado.

El medio de cultivo, se puede reconstituir de nuevo, a partir de la pasta, en agua y glucosa, tal como un azúcar reductor, el cual se puede agregar al medio, en una cantidad apropiada para proporcionar, como resultado, un factor de relación azúcar: prolina de, por ejemplo, una valor de relación de 2 : 1 ó de 4: 1. La mezcla se puede hacer reaccionar bajo unas condiciones térmicas de 125 °C durante un transcurso de tiempo de 25 minutos en un recipiente de reacción. Subsiguientemente, se procede a enfriar la mezcla, nuevamente, a la temperatura ambiente y ésta se seca, hasta la consecución de una materia en polvo, mediante un proceso de secado por pulverización, para dar como resultado una composición de base de un saborizante natural, la cual se puede usar en productos alimenticios.

- 5 El análisis sensorial, tal como éste se ha descrito anteriormente arriba, en el Ejemplo 5, se puede llevar a cabo en esta base saborizante o aromatizante, tal como, por ejemplo, mediante un panel de degustación entrenado. Dichos resultados sensoriales, revelarán un desarrollo del sabor o aroma, significativamente más fuerte, para por lo menos los 5 conceptos descriptores mencionados anteriormente si éstos se comparan con las muestras de referencia, con únicamente L-prolina, azúcar y agua, o con el uso de un medio de cultivo bacteriano estándar sin la acumulación elevada de L-prolina.

REIVINDICACIONES

1.- Un procedimiento para preparar una composición de base de un saborizante natural, el cual comprende las etapas de:

- cultivar una cepa bacteriana, en un medio de cultivo, para producir y acumular L-prolina y / o un derivado de la misma, en el medio de cultivo, a una concentración correspondiente a un porcentaje de por lo menos un 1,0 %, en peso, del medio de cultivo;
- de una forma opcional, separar la cepa bacteriana del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo;
- de una forma opcional concentrar el medio de cultivo después de la etapa de cultivo;
- añadir un azúcar reductor al medio de cultivo, después de la etapa de cultivo;
- hacer reaccionar térmicamente el medio de cultivo, después de la adición del azúcar reductor, a una temperatura de 75 °C - 170 °C durante un transcurso de tiempo de por lo menos 5 minutos;
- de una forma opcional, concentrar el medio, después de la etapa de reacción térmica, mediante proceso de evaporación o de secado por pulverización;

en donde, el azúcar reductor, se añade al medio, en una cantidad correspondiente a un valor de relación de 1: 5 a 10: 1 (referido a peso / peso) del azúcar, con respecto a la prolina, y en donde, la cepa bacteriana, pertenece a un género seleccionado de entre Corynebacterium, Arthrobacter, Brevibacterium, Bacillus o Microbacterium.

2.- El procedimiento, según la reivindicación 1, en donde, el derivado de la L-prolina, es la hidroxiprolina.

3.- El procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 - 2, en donde, el cultivo de la cepa bacteriana produce y acumula L-prolina y / o un derivado de la misma, a una concentración de por lo menos un 1,5 %, en peso, de una forma preferible, de por lo menos un 2,0 %, en peso, de una forma más preferible, de por lo menos un 5 %, en peso, del medio de cultivo.

4.- El procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 - 3, el cual comprende, de una forma adicional, una etapa de inactivación por calor de la cepa bacteriana, después de la etapa de cultivo.

5.- El procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 - 4, en donde, la separación de la cepa bacteriana, del medio de cultivo, se obtiene por sedimentación, centrifugación y / o filtrado.

6.- El procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 - 5, en donde, la concentración del medio de cultivo, después de la etapa de cultivo, se lleva a cabo mediante evaporación parcial o total del agua que se encuentre presente en el medio de cultivo.

7.- El procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 - 6, en donde, el azúcar reductor, se selecciona de entre el grupo que consiste en la glucosa, la xilosa, la ribosa, la ramnosa, la fructosa, la maltosa, la lactosa, la arabinosa o una combinación de los mismos.

8.- El procedimiento, según una de las reivindicaciones 1 - 7, en donde, el medio, después de la etapa de reacción térmica, se seca hasta su conversión en una materia en polvo.

9.- Una base saborizante, con un sabor natural, obtenible mediante el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 - 8.

10.- Uso de la base saborizante con un sabor natural, según la reivindicación 9 para añadir una nota de sabor tostado, a un producto alimenticio.

11.- El uso, según la reivindicación 10, en donde, el producto alimenticio, se selecciona de entre el grupo que consiste en sopas culinarias, fideos, caldos, salsas, condimentos, preparaciones de comidas listas para comerse, tentempiés, y productos de masas de pasta.

12.- El uso, según la reivindicación 11, en donde, las sopas culinarias, los caldos, las salsas o los condimentos, de encuentran en forma de una materia en polvo, de un líquido, de un producto granulado, de una tableta o de una pasta.

13.- El uso, según la reivindicación 11, en donde, las preparaciones de comidas, de aperitivos o de productos de masas de pasta, listos para comerse, están congelados.

14.- Un procedimiento para proporcionar una nota de sabor a tostado natural, a un producto alimenticio, el cual comprende la etapa de añadir la base saborizante con un sabor natural de la reivindicación 9, en la receta de dicho producto alimenticio.

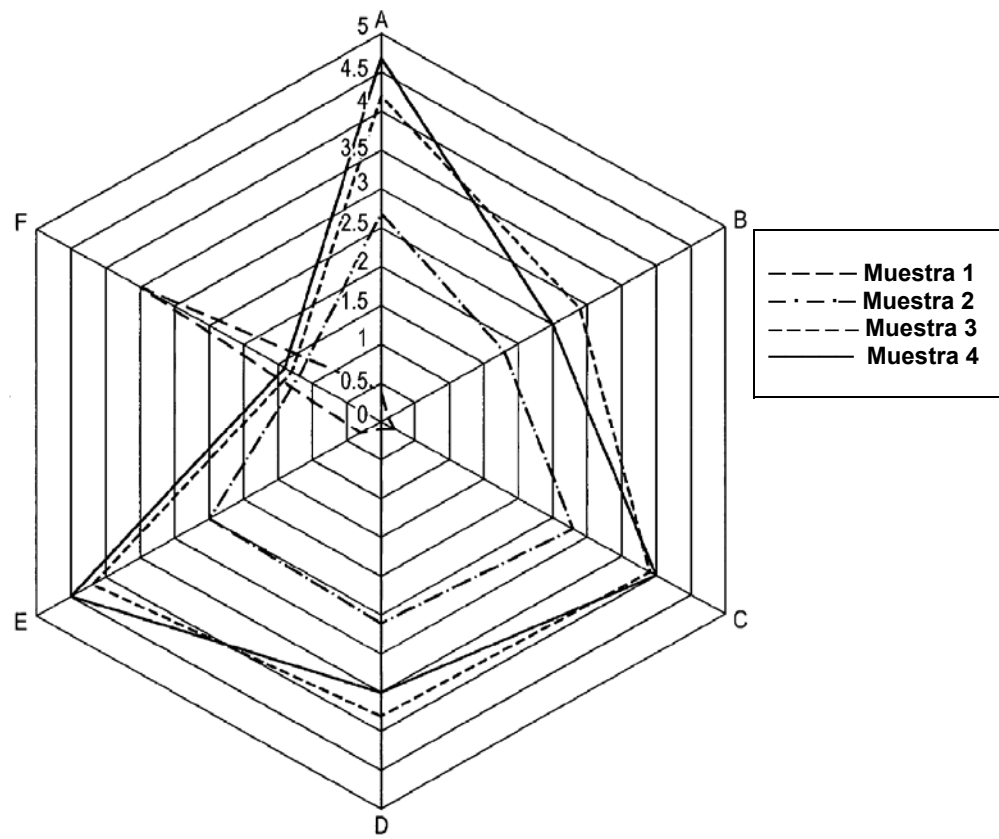


Fig. 1