

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 817 049**

51 Int. Cl.:

A23G 3/20 (2006.01)
A23G 3/34 (2006.01)
A23L 2/60 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A23L 27/00 (2006.01)
A23L 27/30 (2006.01)
A23L 33/105 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.06.2014 PCT/US2014/041548**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014 WO14197898**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2014 E 14808283 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3003058**

54 Título: **Extracto de estevia que contiene glucósidos de esteviol seleccionados como modificador del perfil de sabor, salado y dulce**

30 Prioridad:

07.06.2013 US 201361832451 P
20.02.2014 US 201461942331 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.04.2021

73 Titular/es:

PURECIRCLE USA INC. (100.0%)
915 Harger Road, Suite 250
Oak Brook, IL 60523-1492 , US

72 Inventor/es:

PURKAYASTHA, SIDDHARTHA y
PETIT, MARCIA

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 817 049 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 estevia que contiene glucósidos de esteviol seleccionados como modificador del perfil de sabor, salado y dulce

5

Campo de la invención

La invención se refiere a una composición que modifica el gusto y sabor que comprende glucósidos de esteviol principales y moléculas vegetales derivadas de diterpenos glucosiladas y un método para hacer la misma. La invención también se refiere a un alimento o producto para beber que tiene un perfil de gusto y sabor intenso que comprende la composición que modifica el gusto y sabor. La invención también se refiere a un método de aumentar una intensidad de gusto y sabor de un alimento o producto para beber; o mejorar una percepción de sal y reducir un contenido en sodio de un alimento o producto para beber.

Descripción de la técnica relacionada

Los edulcorantes de alta intensidad poseen un nivel de dulzor que muchas veces supera el de la sacarosa. Son esencialmente no calóricos y se usan mucho en la fabricación de alimentos dietéticos y con calorías reducidas. Aunque el edulcorante calórico natural tal como sacarosa, fructosa y glucosa proporcionan el gusto más deseable a los consumidores, son calóricos. Los edulcorantes de alta intensidad no afectan el nivel de glucosa en sangre y proporcionan poco o ningún valor nutritivo.

Sin embargo, los edulcorantes de alta intensidad que en general se usan como sustitutos para sacarosa poseen características de gusto diferentes que las del azúcar, tal como gusto dulce con perfil temporal, respuesta máxima, perfil de sabor, sensación en boca, y/o comportamiento de adaptación diferentes de los del azúcar. Por ejemplo, el gusto dulce de algunos edulcorantes de alta potencia es más lento en el inicio y más largo en duración que el del azúcar y, por tanto, cambia el equilibrio de gusto de una composición alimentaria. Debido a estas diferencias, el uso de edulcorantes de alta potencia en sustituir tal edulcorante a granel como el azúcar en un alimento o bebida produce desequilibrio en el perfil temporal y/o de sabor. Si el perfil de gusto de los edulcorantes de alta potencia se pudiera modificar para impartir características de gusto deseadas, puede proporcionar bebidas y productos alimenticios bajos en calorías con características de gusto más deseables para el consumidor. Para obtener el perfil temporal y/o de sabor similar a azúcar, se han sugerido varios ingredientes en diferentes publicaciones.

Los ejemplos no limitantes de edulcorantes sintéticos incluyen sucralosa, acesulfamo potásico, aspartamo, alitamo, sacarina, derivados sintéticos de neohesperidina dihidrochalcona, ciclamato, neotamo, dulcina, suosan, éster 1-metilico de N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)propil]-L- α -aspartil]-L-fenilalanina, éster 1-metilico de N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-3-metilbutil]-L- α -aspartil]-L-fenilalanina, éster 1-metilico de N-[N-[3-(3-metoxi-4-hidroxifenil)propil]-L- α -aspartil]-L-fenilalanina, sales de los mismos, y similares.

Los ejemplos no limitantes de edulcorantes naturales de alta intensidad incluyen esteviósido, rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rebaudiósido E, rebaudiósido F, esteviolbiósido, dulcósido A, rubusósido, mogrósidos, brazeina, neohesperidina dihidrochalcona (NHDC), ácido glicirrízico y sus sales, taumatina, perilartina, pearnandulcina, mucuroziósidos, baiyunosido, flomisosido-I, ácido dimetil-hexahidrofluoren-dicarboxílico, abrusósidos, periandrina, carnosiflósidos, ciclocariósido, pterocariósidos, polopodósido A, brazilina, hernandulcina, filodulcina, glicifilina, florizina, trilobatina, dihidroflavonol, dihidroquercetin-3-acetato, neoastilibina, trans-cinamaldehído, monatina y sus sales, selligueaina A, hematoxilina, monelina, osladina, pterocariósido A, pterocariósido B, mabinlina, pentadina, miraculina, curculina, neoculina, ácido clorogénico, cinarina, siamenosido y otros.

Los edulcorantes de alta intensidad pueden derivar de la modificación de edulcorantes naturales de alta intensidad, por ejemplo, por fermentación, tratamiento enzimático, o derivación.

Un número creciente de consumidores percibe la capacidad de controlar su salud aumentando su salud actual y/o cobertura frente a futuras enfermedades. Esto crea una demanda para productos alimenticios con características potenciadas y beneficios de salud asociados, específicamente un alimento y tendencia de mercado del consumidor hacia un estilo de vida de "soluciones de salud integrales". El término "*natural*" es muy emotivo en el mundo de los edulcorantes y se ha identificado como uno de confianza clave, junto con "granos integrales", "cardiosaludable" y "bajo en sodio". El término "*natural*" está muy relacionado con 'más saludable'.

Stevia rebaudiana Bertoni es un arbusto perenne de la familia *Asteraceae* (*Compositae*) nativa en ciertas regiones de América del Sur. Las hojas de la planta contienen desde el 10 al 20% de glucósidos diterpénicos, que son aproximadamente de 150 a 450 veces más dulces que el azúcar. Las hojas se han usado tradicionalmente durante cientos de años en Paraguay y Brasil para endulzar bebidas, alimentos y medicinas locales.

Actualmente hay más de 230 especies de *Stevia* con propiedades edulcorantes significativas. La planta se ha cultivado con éxito en una amplia gama de condiciones desde sus subtrópicos nativos a latitudes septentrionales frías.

Los glucósidos de esteviol tienen cero calorías y se pueden usar donde se usa azúcar. Son ideales para dietas diabéticas y bajas en calorías. Además, los glucósidos de esteviol dulces poseen propiedades funcionales y sensoriales superiores a las de muchos edulcorantes de alta potencia. El documento WO 2012/129451 A1 divulga una composición potenciadora de gusto y sabor, que comprende un glucósido de esteviol glucosilado. También se divulga un método para hacer la composición potenciadora de gusto y sabor, que comprende las etapas de a) extraer glucósidos de esteviol de hojas de una planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni; y b) transglucosilar los glucósidos de esteviol para añadir unidades de glucosa a los glucósidos de esteviol. El documento US 2011/183056 A1 divulga un glucósido de esteviol novedoso; un edulcorante que contienen rebaudiósido A y el glucósido de esteviol novedoso, que se incluye en la variedad *Stevia Rebaudiana* Bertoni que contiene un alto contenido de rebaudiósido A; y un método de fabricar alimentos, fármacos, no fármacos y cosméticos. El documento WO 2012/177727 A1 divulga una composición ingerible dulce que comprende Reb B y al menos un edulcorante, seleccionado del grupo que consiste en glucósidos de esteviol, extractos de estevia, edulcorantes naturales, edulcorantes terpenoides glucosilados, edulcorantes sintéticos de alta intensidad, oligosacáridos, edulcorantes calóricos, y combinaciones de los mismos. También se divulga un alimento o producto para beber que comprende la composición ingerible dulce, que tiene dulzor, dulzor aumentado, sabor aumentado, o una combinación de los mismos. Masaya Ohta, J. Appl. Glycosci., vol. 57, páginas 199-209 (2010) divulga edulcorantes de *Stevia*, que se extraen de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni por agua caliente, y que se han usado durante algunas décadas para endulzar una variedad de alimentos alrededor del mundo. El documento US 2012/157553 A1 divulga un método de aumentar un gusto dulce de un saborizante, que comprende administrar a un sujeto el saborizante y al menos un polimorfo de rebaudiósido C, o un esteroisómero del mismo, en una cantidad eficaz para proporcionar el efecto potenciador del gusto dulce sin mostrar gusto no deseado. El saborizante es un glucósido de esteviol glucosilado, rebaudiósido A, glicirricina amoniacal, neohesperidina dihidrochalcona o taumatina. El documento US 2009/104330 A1 divulga una composición de gusto salado con sodio reducido. Cuando la composición con sodio reducido contiene edulcorantes, estos edulcorantes se seleccionan de azúcares no reductores, polioles o edulcorantes de alta intensidad para prevenir las interacciones químicas de los edulcorantes con los aminoácidos en la composición. El documento US 4 612 942 A divulga una composición consumible por vía oral que tiene un sabor modificado o potenciado que comprende una cantidad eficaz de un glucósido diperténico. El glucósido diperténico se selecciona del grupo que consiste en esteviolbiósido; esteviósido; rebaudiósido A; rebaudiósido B; rebaudiósido C; rebaudiósido D; rebaudiósido E; dulcósido A; esteviolmonósido; y rubusósido; y derivados de tales compuestos. El documento WO 2011/112892 A1 divulga métodos de preparar glucósidos de esteviol muy purificados, en particular rebaudiósido D. Los métodos incluyen la purificación de la fase de extracción de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. El documento WO 2012/073121 A2 divulga una composición de *Stevia*, útil como un edulcorante único o coedulcorante en, por ejemplo, bebidas, caldos, golosinas, edulcorantes, sopas, salsas, saborizantes, especias, aceites, y grasas, que comprende menos de aproximadamente el 0,2 por ciento en peso de rebaudiósido C o dulcósido A o ambos de la composición, rebaudiósido A (RA) (65-95% en peso), rebaudiósido D (RD) (5-35% en peso), siempre que otros glucósidos de esteviol, excepto rebaudiósido B (RB), no estén presentes en cantidades detectables.

El extracto de la planta *Stevia rebaudiana* contiene una mezcla de diferentes glucósidos diterpénicos dulces, que tienen una única base -esteviol y se diferencian por la presencia de residuos glucídicos en las posiciones C13 y C19. Estos glucósidos se acumulan en las hojas de *Stevia* y componen aproximadamente el 10%-20% del peso seco total. Típicamente, en una base de peso seco, los cuatro glucósidos principales encontrados en las hojas de *Stevia* son dulcósido A (0,3%), rebaudiósido C (0,6%), rebaudiósido A (3,8%), y esteviósido (9,1%). Otros glucósidos identificados en extractos de *Stevia* incluyen rebaudiósido B, C, D, E y F, esteviolbiósido y rubusósido (Fig. 1).

Las estructuras químicas de los glucósidos diterpénicos de *Stevia rebaudiana* se presentan en la figura 1. Las propiedades físicas y sensoriales están bien estudiadas solo para esteviósido y rebaudiósido A. La potencia edulcorante de esteviósido es aproximadamente 210 veces mayor que la sacarosa, rebaudiósido A aproximadamente 300 veces, y rebaudiósido C y dulcósido A aproximadamente 30 veces. El extracto de *Stevia* que contiene rebaudiósido A y esteviósido como componentes principales mostró potencia dulce aproximadamente 250 veces. Se considera que rebaudiósido A y rebaudiósido D tienen los atributos sensoriales más favorables de todos los glucósidos de esteviol principales (Tabla 1).

TABLA 1

Nombre	Fórmula	T _{fusión} °C	Peso Mol.	Solubilidad en agua, %	Dulzor relativo	Calidad de gusto
Esteviol	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	212-213	318.45	ND	ND	Muy amargo
Esteviolmonósido	C ₂₆ H ₄₀ O ₈	ND	480.58	ND	ND	ND
Esteviósido	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	196-198	804.88	0.13	210	Amargo
Rebaudiósido A	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	242-244	967.01	0.80	200-400	Menos amargo
Rebaudiósido B	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	193-195	804.88	0.10	150	Amargo
Rebaudiósido C	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₂	215-217	951.01	0.21	30	Amargo
Rebaudiósido D	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₈	248-249	1129.15	1.00	220	Como sacarosa
Rebaudiósido E	C ₄₄ H ₇₀ O ₂₃	205-207	967.01	1.70	170	Como sacarosa
Rebaudiósido F	C ₄₃ H ₆₈ O ₂₂	ND	936.99	ND	ND	ND
Dulcósido A	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₇	193-195	788.87	0.58	30	Muy amargo
Esteviolbiósido	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	188-192	642.73	0.03	90	Desagradable
Rubusósido	C ₃₂ H ₅₀ O ₁₃	ND	642.73	ND	110	Muy amargo

Además de los glucósidos de esteviol comercialmente conocidos (Tabla 1), se han encontrado varios glucósidos de esteviol nuevos (diterpeno glucosilado) en extractos de hojas de estevia (5,6,7) como se muestra en la tabla 2. Además de glucósidos diterpénicos, también se han descrito un número de flavonoides, diterpeno labdano, triterpenos, esteroides y aceites volátiles en extractos de hojas de *Stevia rebaudiana* [1, 2, 3, 4].

TABLA 2

Clases químicas	Componentes químicos
Derivados diterpénicos glucosilados	Rebaudiósido G, Rebaudiósido H, Rebaudiósido I, Rebaudiósido J, Rebaudiósido K, Rebaudiósido L, Rebaudiósido M, Rebaudiósido N, Rebaudiósido O, éster α -D-glucopiranosílico del ácido 13-[(2-O-(6-O- β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosil- β -D-glucopiranosil)oxi] kaur-16-en-18-oico, éster β -D-glucopiranosílico del ácido 13-[(2-O- β -D-glucopiranosil-3-O- β -D-fructofuranosil- β -D-glucopiranosil)oxi] kaur-16-en-18-oico
Monoterpenoides	Borneol
Diterpenoides	Austroinulina, 6-O-acetil austroinulina, 6-acetil austroinulina, 7-O-acetil austroinulina, esterebina A, B, C, D, E, F, G, H, jhanol
Triterpenoides	Acetato de amirina beta
Sesquiterpenos	α -bergamoteno, bisaboleno, β -burboneno, δ -cadineno, γ -cadineno
Aceites esenciales	β -cariofileno, trans β -tameseno, α -humuleno, δ -cadieno, óxido de cariofileno, nerolidol, linalol, α -terpineol, terpinen-4-ol
Derivados de esteroides	Estigmasterol, β -sitosterol, campesterol
Flavonoides	Glucosil-4'-O-apigenina, glucosil-7-O-luteolina, ramnosil-3-O-kaempferol, quercetina, glucosil-3-O-quercetina, arabinosil-3-O-quercetina, 5,7,3'-metoxiflavona, 3,6,4'-metoxiflavona, centaureidina, avicularina

10 Todos los glucósidos de esteviol proporcionan dulzor y otros atributos de gusto a un nivel mayor que cierto nivel umbral de concentraciones en agua. Por debajo del nivel umbral de concentración, los componentes de glucósidos de esteviol y sus mezclas como se encuentran en un extracto de estevia no limitante típico como se muestra posteriormente no tiene gusto de dulzor reconocible. Pero tal extracto de estevia por debajo del nivel umbral de reconocimiento de dulzor
15 significativo muestra características notables de modificación de perfil dulce y de sabor en aplicaciones de alimentos y bebidas.

20 La presente invención se define mediante las reivindicaciones. También se describe en el presente documento el uso de los siguientes extractos de estevia (Tabla 3) con el nivel variable de diferentes glucósidos de esteviol y otros glucósidos derivados la planta estevia, cuya combinación contribuye ningún dulzor significativo, pero modifica el perfil de sabor y dulzor a cierta concentración en las aplicaciones típicas de alimento y bebida.

Tabla 3

Extractos de estevia	Glucósidos de esteviol*, %												TSG* (%)	Otros glucósidos
	Reb A	Esteviócido	Reb D	Reb F	Reb C	Dulcósido A	Rubu-sósido	Reb B	Esteviol biósido	Reb E	Reb N	Reb O		
PCS-5001	10-20	4-12	1-4	1-5	10-25	1-5	1-4	0.5-5	0.5-5	1-4	0.5-4	0.5-4	45-65	35-50
PCS-1015	18-25	5-10	8-20	0-1	1-3	0-1	0-1	0.5-5	0-1	2-6	4-8	3-8	55-65	35-45

* TGS o Glucósidos de esteviol totales contiene nueve glucósidos de esteviol que están reconocidos por el Codex Alimentarius (una comisión de la FAO y la OMS) y autoridades regulatorias principales.

- 5 También se describen en el presente documento extractos de estevia que contienen glucósidos de esteviol principales (Tabla 3) y otros glucósidos de esteviol minoritarios y derivados diterpénicos glucosilados (moléculas solubles en agua). Los ejemplos no limitantes de tales moléculas minoritarias son Reb E, Reb G, Reb H, Reb I, Reb K, Reb L, Reb M, Reb N, Reb O (Ohta et al, 2010).
- 10 También se describe en el presente documento un método para hacer una composición de extracto de estevia específica, que incluye: extraer glucósidos de esteviol y otras moléculas solubles en agua de hojas de una planta de *Stevia rebaudiana*, y separar el exceso de glucósidos de esteviol de la cantidad y tipo de glucósidos de esteviol requeridos para contribuir a las características modificadoras de gusto y sabor del extracto de estevia.
- 15 Esta invención combina glucósidos de esteviol principales en cierta proporción junto con moléculas vegetales derivadas de diterpenos glucosiladas derivadas de una planta de *Stevia rebaudiana*, para proporcionar perfil de sabor aumentado en aplicación de alimentos y bebidas, que se puede mezclar con otros edulcorantes calóricos naturales para impartir perfil de dulzor más deseable. Los ejemplos no limitantes de edulcorantes calóricos incluyen dextrosa, fructosa, sacarosa, maltosa, lactosa, jarabe de maíz, jarabe de glucosa derivado de diferentes hidratos de carbono, jarabe de caña, azúcar saborizado, miel, melaza.
- 20 Esta invención combina glucósidos de esteviol principales en cierta proporción junto con moléculas vegetales derivadas de diterpenos glucosiladas derivadas de una planta de *Stevia rebaudiana*, para proporcionar perfil de sabor aumentado en aplicación de alimentos y bebidas, que se puede mezclar con otros edulcorantes no calóricos naturales para impartir perfil de dulzor más deseable. Los ejemplos no limitantes de edulcorantes naturales de alta intensidad incluyen glucósidos de esteviol, brazeina, monatina y sus sales, neohesperidina dihidrochalcona (NHDC), ácido glicirricico y sus sales, taumatina, mogrosidos y extractos de lu han guo, perilartina, mabinlina, pentadina, miraculina, curculina, neoculina, ácido clorogénico, cinarina, siamenosido y otros.
- 25 Esta invención combina glucósidos de esteviol principales en cierta proporción junto con moléculas vegetales derivadas de diterpenos glucosiladas derivadas de una planta de *Stevia rebaudiana*, para proporcionar perfil de sabor aumentado en aplicación de alimentos y bebidas, que se puede mezclar con otros edulcorantes no calóricos sintéticos para impartir perfil de dulzor más deseable. Los ejemplos no limitantes de edulcorantes sintéticos incluyen sucralosa, acesulfamo potásico, aspartamo, alitamo, advantamo, sacarina, derivados sintéticos de neohesperidina dihidrochalcona, ciclamato, neotamo, dulcina, suosan, éster 1-metílico de N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)propil]-L-□-aspartil]-L-fenilalanina, éster 1-metílico de N-[N-[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-3-metilbutil]-L-□-aspartil]-L-fenilalanina, éster 1-metílico de N-[N-[3-(3-metoxi-4-hidroxifenil)propil]-L-□-aspartil]-L-fenilalanina, sales de los mismos, y similares.
- 30
- 35

Breve compendio de la divulgación

- 40 La presente invención se define mediante las reivindicaciones. Según esto, la presente invención se refiere a una composición modificadora del gusto y sabor que comprende glucósidos de esteviol principales que comprende Reb A, Reb C, Reb D y esteviócido, y moléculas vegetales derivadas de diterpeno glucosiladas, derivadas de una planta de *Stevia rebaudiana*, en donde el contenido de cada uno de los cuatro glucósidos de esteviol principales varía entre el
- 45 1% al 25% de la composición. La presente invención también se refiere a un alimento o producto para beber que tiene un perfil de gusto y sabor intenso, que comprende la composición modificadora de gusto y sabor de la invención a concentraciones que varían entre 1 a 1000 ppm, preferiblemente de 5 a 250 ppm, para proporcionar modificación de sabor y gusto con aumento del dulzor limitado o no significativo. La presente invención además se refiere a un método de (i) aumentar una intensidad de sabor y gusto de un alimento o producto para beber, o (ii) mejorar una percepción
- 50 de sal y reducir un contenido de sodio de un alimento o producto para beber, que comprende un condimento, un producto cárnico, un producto para picar, una salsa o una salsa de carne que comprende la etapa de añadir la composición modificadora de gusto y sabor de la invención a un alimento o producto para beber. Por último, la invención también abarca un método para hacer la composición modificadora de gusto y sabor de la invención, que

comprende las etapas de: a. extraer extracto de estevia que contiene glucósidos de esteviol de una planta de *Stevia rebaudiana*; y b. eliminar el exceso de glucósidos de esteviol. En general en el presente documento se describe una composición modificadora de gusto y sabor. La composición incluye diferentes glucósidos de esteviol con otras moléculas solubles en agua derivadas de hoja de estevia, tal como ejemplos no limitantes de glucósidos vegetales, flavonoides, diterpeno labdano, triterpenos, que pueden modificar la intensidad de un sabor y/o gusto en un alimento o producto para beber.

También se describe en el presente documento un alimento o producto para beber que tiene un perfil de gusto y sabor intenso, en donde el alimento o producto para beber incluye una composición modificadora de gusto y sabor que comprende el extracto de estevia de glucósidos de esteviol y moléculas solubles en agua derivadas de la planta estevia. Se puede hacer una amplia gama de productos alimenticios y de bebida, tal como, pero no limitado a, refrescos carbonatados, zumos de frutas, alimentos lácteos, bebidas lácteas, productos horneados, productos de cereales, alimentos para picar, y edulcorantes de mesa, según la presente divulgación. El perfil de gusto y sabor de un alimento o producto para beber que incluye una composición modificadora de gusto y sabor, en donde la composición modificadora de gusto y sabor comprende el extracto de estevia de glucósidos de esteviol y moléculas solubles en agua derivadas de la planta estevia, puede ser más intenso que un perfil de gusto y sabor comparativo de un alimento o producto para beber comparativo que no incluye la composición modificadora de gusto y sabor. Además, la sensación en boca y percepción de gusto global de un alimento o producto para beber que incluye la composición modificadora de gusto y sabor, en donde la composición potenciadora de gusto y sabor incluye la mezcla compleja de glucósidos de esteviol y moléculas solubles en agua, se puede mejorar en relación a una sensación en boca y percepción de gusto global de un alimento o producto para beber comparativo que no incluye la composición potenciadora de gusto y sabor.

También se describe en el presente documento un método de aumentar la intensidad de gusto y sabor de un alimento o producto para beber, que incluye la etapa de añadir una composición potenciadora del gusto y sabor al alimento o producto para beber, en donde la composición modificadora del gusto y sabor comprende el extracto de estevia de glucósidos de esteviol y moléculas solubles en agua derivadas de planta estevia. También se describe en el presente documento un método de mejorar las propiedades organolépticas de un alimento o producto para beber incluyendo un jarabe con alta fructosa, que incluye la etapa de añadir la composición modificadora de gusto y sabor al alimento o producto para beber. Por ejemplo, añadir la composición modificadora de gusto y sabor puede producir que el jarabe de alta fructosa, tal como, jarabe de maíz con alta fructosa, sepa más como azúcar. Además, si el jarabe con alta fructosa es jarabe de maíz con alta fructosa 42 (HFCS 42), añadir la composición potenciadora de gusto y sabor puede producir que el HFCS 42 sepa más como jarabe de maíz con alta fructosa 55 (HFCS 55).

También se describe en el presente documento un método de aumentar la intensidad de gusto y sabor de un alimento médico y producto farmacéutico, que incluye la etapa de añadir una composición modificadora de gusto y sabor al alimento o producto para beber, en donde la composición modificadora de gusto y sabor comprende el extracto de estevia de glucósidos de esteviol seleccionados y moléculas solubles en agua derivadas de la planta estevia. También se describe en el presente documento un método de mejorar las propiedades organolépticas de un alimento médico o un producto farmacéutico que contiene ingredientes alimenticios funcionales tal como vitaminas, minerales y aminoácidos, que incluye la etapa de añadir la composición modificadora de gusto y sabor al alimento o producto para beber. Por ejemplo, añadir la composición modificadora de gusto y sabor puede producir que el gusto indeseado debido a vitaminas, minerales, aminoácidos y otros ingredientes funcionales no limitantes, mejore el gusto y la palatabilidad.

También se describe en el presente documento un método de hacer una composición potenciadora de gusto y sabor, que incluye: extraer glucósidos de esteviol y otras moléculas solubles en agua de hojas de una planta de *Stevia rebaudiana*, y separar el exceso de glucósidos de esteviol de la cantidad y tipo de glucósidos de esteviol requeridos para contribuir a las características modificadoras de gusto y sabor del extracto de estevia.

Ejemplos

Ejemplo 1A: Detección del umbral de concentración para reconocimiento del dulzor

Para detectar el nivel de reconocimiento de dulzor de PCS-5001 (extracto de estevia), se usó el método de prueba esbozado por Harman, et al (Food Technology, 11/2013) con diez panelistas entrenados que habían sido previamente cualificados por su agudeza de sabor y entrenados en el uso de una escala de clasificación de intensidad de dulzor, evaluaron una serie de soluciones acuosas de sacarosa y el extracto de estevia (PCS-5001 o PCS-1015) a temperatura ambiente; las soluciones de sacarosa de concentración del 1,5% y las soluciones de extracto de estevia con concentraciones que variaban entre 100 y 120 ppm para PCS-5001 y 70-80 ppm para PCS-1015 se prepararon con agua de filtro. El objetivo de la prueba era determinar el nivel de reconocimiento de dulzor del extracto de estevia. Las evaluaciones se hicieron en triplicado usando los mismos panelistas de modo que se generaron un total de 30 valores para cada punto de dato promedio.

Las muestras se codificaron y presentaron en orden aleatorio a los miembros del panel para degustar y determinar que muestra era más dulce (ASTM E2164-08: Standard Method for Directional Difference Test). Se pidió a los panelistas que se centraran solo en el atributo dulce de esas muestras y que usaran agua templada y solución de sal con el fin de limpiar el paladar entre muestras.

Los resultados se contaron y se calculó la significancia por SIM 2000 (Sensory Computer System, NJ). Los resultados se presentan en la tabla 4. El dulzor global de esas muestras apenas era detectable. El 2-AFC muestra que PCS-5001 100 ppm y 70 ppm de solución PCS-1015 eran la muestra menos dulce y eran significativamente menos dulces que el control de azúcar al 1,5%. La muestra con PCS-5001 120 ppm y PCS-1015 80 ppm eran las muestras más dulces que muestran dulzor significativamente mayor que el control de azúcar al 1,5% (Tabla 4). Se determinó que la concentración umbral de reconocimiento del EXTRACTO DE ESTEVIA (PCS-5001) en agua era 100 ppm. Se determinó que la concentración umbral de reconocimiento del EXTRACTO DE ESTEVIA (PCS-1015) en agua era 70 ppm.

Tabla 4: Percepción de dulzor de extracto de estevia en diferentes concentraciones frente a solución de azúcar al 1,5%.

Comparación de percepción de dulzor de EXTRACTO DE ESTEVIA en agua	¿Solución de azúcar (1,5%) más dulce?	¿Solución de extracto de estevia más dulce?	Valor P	Significancia
PCS-5001: 100 ppm, N=30	23	7	0.0052	***
PCS-5001: 110 ppm, N=30	20	10	0.0987	**
PCS-5001: 120 ppm, N=30	9	21	0.0457	***
PCS-1015: 70 ppm, N=30	26	4	0.0001	***
PCS-1015: 80 ppm, N=30	5	25	0.0003	***

Ejemplo 1B: Detección de dulzor del umbral de concentración para detección de dulzor

Los diez miembros del panel evaluaron una serie de refrescos carbonatados (CSD) con sabor a limón-lima edulcorados con sacarosa y EXTRACTO DE ESTEVIA a temperatura ambiente; las evaluaciones se hicieron en triplicado usando los mismos panelistas de modo que se generaron al menos 30 valores para cada punto de datos promedio. La muestra control de refresco carbonatado con sabor a limón lima tenía concentración de sacarosa del 1,5% y la muestra de prueba contenía EXTRACTO DE ESTEVIA (PCS-5001) con concentraciones a 110 y 120 ppm o EXTRACTO DE ESTEVIA (PCS-1015) con concentraciones de 70 y 90 ppm. Otros ingredientes en la muestra de CSD eran ácido cítrico, sabor limón-lima, benzoato de sodio, citrato de potasio y goma xantana. El objetivo de la prueba era determinar el límite de detección del dulzor del EXTRACTO DE ESTEVIA. Las pruebas se realizaron como se ha esbozado en el ejemplo 1A.

Las muestras con PCS-5001 (EXTRACTO DE ESTEVIA) 120 ppm y PCS-1015 (EXTRACTO DE ESTEVIA) 90 ppm no mostraron diferencia significativa en dulzor que el control de azúcar al 1,5%. Se determinó que la concentración del umbral de reconocimiento de PCS-5001 (EXTRACTO DE ESTEVIA) en un refresco carbonatado con sabor a limón-lima era 110 ppm. Se determinó que la concentración del umbral de reconocimiento de PCS-1015 5001 (EXTRACTO DE ESTEVIA) en un refresco carbonatado con sabor a limón-lima era 70 ppm. Los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5: Percepción de dulzor de EXTRACTO DE ESTEVIA en diferentes concentraciones frente a solución de azúcar al 1,5% en un refresco carbonatado (CSD) típico.

Percepción de dulzor de EXTRACTO DE ESTEVIA en CSD	¿Muestra de CSD con azúcar más dulce?	¿Muestra de CSD con estevia más dulce?	Valor P	Significancia
PCS-5001: 110 ppm, N=30	23	7	0.0052	***
PCS-5001: 120 ppm, N=36	20	16	0.677	NS
PCS-1015: 70 ppm, N=30	21	9	0.0428	***
PCS-1015: 90 ppm, N=30	12	18	0.3616	NS

Ejemplo 2: Efecto del extracto de estevia sobre la modificación de sabor en una aplicación de refresco carbonatado típico

5 Se desarrolló un refresco carbonatado con sabor a cola para evaluar el efecto de PCS-5001 y PCS-1015 (extracto de estevia) sobre el perfil de dulzor y sabor de la bebida que estaba edulcorada con azúcar y edulcorante de estevia para alcanzar una reducción de azúcar del 30% (Tabla 6). Las muestras con y sin PCS-5001 y PCS-1015 fueron evaluadas por treinta miembros de panel consumidores, que asignaron valores relativos a cada muestra para agrado global, 10 dulzor, sabor a vainilla, nota tostada, y regusto en una escala de intensidad continua de 10 pt como se esboza en la tabla 7.

Tabla 6: Refresco con sabor a cola para evaluación sensorial

FÓRMULA DE BEBIDA DE COLA	Control: reducción de azúcar del 30%	Muestra: Reducción de azúcar del 30% con PCS-5001	Muestra: Reducción de azúcar del 30% con PCS-1015
Agua	91.68	91.67	91.67
Azúcar	7.89	7.89	7.89
Sabor Cola - Flavor Systems	0.375	0.375	0.375
Ácido fosfórico al 85%	0.0333	0.0333	0.0333
Cafeína	0.0100	0.0100	0.0100
Glucósido de estevia	0.0100	0.0100	0.0100
PCS-5001		0.0110	
PCS-1015			0.0080
Total	100	100	100

15 Tabla 7: Evaluación sensorial del refresco carbonatado con sabor a cola

• Naturaleza de los participantes	Empleados de la empresa
• Número de sesiones	1
• Número de participantes:	30
• Diseño de ensayo:	Equilibrado, aleatorizado con par. Enmascarado
• Método de ensayo sensorial:	Clasificación de intensidad y aceptación
• Condición ambiental	Luz de reservado estándar
• Atributos y escalas:	
• Aceptación global en una escala hedónica de 10 pt donde 10 = gusta extremadamente y 0 = disgusta extremadamente	
• Agrado global, dulzor, sabor a vainilla, nota tostada, y regusto dulce. Escala de intensidad continua de 10 pt donde 0 = imperceptible y 10 = extremadamente pronunciado	
• Análisis estadístico:	ANOVA (por bloque) con prueba de Duncan post hoc
• Tamaño de muestra	~1,5 oz. en un vaso de plástico tapado transparente
• Temperatura de servicio	Temperatura refrigerada (~45°F)
• Instrucción de servicio/panelistas:	Muestras servidas simultáneamente. Se instruyó a los panelistas para leer la lista de ingredientes

20 La figura 2 muestra la modificación de los perfiles de sabor y dulzor causada por la adición de extracto de estevia (PCS-5001). Los resultados indicaron que la muestra que contenía extracto de estevia PCS-5001 y la muestra que

5 contenía PCS-1015 tuvieron significativamente mayor sabor a cola, sabor a vainilla, notas de especia tostada y agrado global comparado con las muestras control (a una confianza del 95%). La muestra que contenía PCS-5001 tuvo direccionalmente menor amargor, e intensidad de regusto amargo comparada con las muestras control (confianza del 90% y el 95%, respectivamente). La muestra que contenía PCS-1015 tuvo direccionalmente menor amargor, e intensidad de regusto dulce comparado con las muestras control (a confianza del 80%). Además, la muestra con extracto de estevia (PCS-1015) tuvo significativamente menos regusto amargo comparada con la muestra control (a confianza del 95%).

10 **Ejemplo 3: Bebida de té con sabor a melocotón para evaluación sensorial**

15 Se desarrolló una bebida de té negro con sabor a melocotón para evaluar los efectos del EXTRACTO DE ESTEVIA sobre el perfil de dulzor y sabor de la bebida que estaba edulcorada con azúcar y edulcorante de estevia para alcanzar una reducción de azúcar del 30% (tabla 8). Las muestras con y sin EXTRACTO DE ESTEVIA fueron evaluadas como se esboza en el ejemplo 2 por treinta miembros de panel consumidores, que asignaron valores relativos a dulzor, amargor, sabor a melocotón, sabor a té, intensidad de ácido, astringencia, y regusto en una escala de intensidad continua de 10 pt donde 0 = imperceptible y 10 = extremadamente pronunciado.

Tabla 8: Muestras de bebida de té con sabor a melocotón para evaluación sensorial

	Té con azúcar reducido	Té con azúcar reducido con PCS-5001	Té con azúcar reducido con PCS-1015
Agua	95.71	95.70	95.71
Sacarosa	3.850	3.850	3.850
Té negro en polvo	0.275	0.275	0.275
Ácido cítrico	0.0880	0.0880	0.0880
Sabor melocotón	0.0330	0.0330	0.0330
Citrato de sodio	0.0150	0.0150	0.0150
Sorbato de potasio	0.0150	0.0150	0.0150
Glucósido de estevia	0.0140	0.0140	0.0140
Extracto de estevia PCS-5001		0.0120	
Extracto de estevia PCS-1015			0.0080
Goma xantana - TIC	0.0013	0.0013	0.0013

20 La figura 3 muestra la modificación de los perfiles de sabor y dulzor causada por la adición de EXTRACTO DE ESTEVIA (PCS-5001) en la bebida de té helado con sabor a melocotón. Los resultados indicaron que la muestra que contenía PCS-5001 tuvo significativamente mayor sabor a melocotón, y agrado global (a una confianza del 95%). La muestra que contenía PCS-5001 tuvo significativamente menor astringencia que la muestra control (confianza del 95%). Los resultados mostrados en la figura 4 indicaron que la muestra de prueba que contenía PCS-1015 tuvo mayor sabor a melocotón, sabor a té negro, y agrado global (a confianza del 95%). La muestra contenía PCS-1015 también tuvo significativamente menor astringencia, intensidad dulce, intensidad amarga, y regusto amargo que la muestra control (a confianza del 95%). Además, la muestra de PCS-1015 tuvo menor intensidad de regusto dulce que la muestra control (a confianza del 90%).

35 **Ejemplo 4: Efecto del extracto de estevia sobre la modificación de sabor de aplicaciones saladas**

40 Se desarrolló una mezcla de condimentos para determinar el efecto de modificación del sabor del extracto de estevia en una mezcla de condimentos en muestras de cacahuets tostados con azúcar reducido. Treinta miembros de panel consumidores evaluaron dos muestras de los cacahuets para aceptación global e intensidades de atributos (sabor global, salado, dulzor, sabor ahumado, intensidad de picante/especia, sabor a cacahuate, sabor a chile en polvo, amargor e intensidad de regusto dulce persistente). Las dos muestras (Tabla 9) incluían: 1) muestra control con azúcar reducido al 50% que contenía glucósidos de estevia, y 2) muestra de prueba con azúcar reducido al 50% que contenía glucósido de estevia y extracto de estevia, PCS-5001 o PCS-1015.

45 El objetivo de la prueba era determinar si la adición de extracto de estevia afecta al perfil de sabor de un alimento para pizar salado. Los resultados indicaron que la adición de PCS-5001 a 110 ppm y PCS-1015 a 70 ppm proporcionaron modificación de sabor (Figura 5). Las muestras de prueba que contenían PCS-5001 110 ppm tuvieron significativamente mayor intensidad de sal, sabor ahumado, e intensidad amarga comparado con el control (confianza del 95%). La muestra de prueba también tuvo menor intensidad dulce que el control (confianza del 95%). Además, la muestra de prueba que contenía extracto de estevia tuvo direccionalmente mayores notas de especia y chile (confianza del 90%). La muestra de prueba que contenía PCS-1015 tuvo significativamente mayor intensidad de sal

que la muestra control (a confianza del 95%). La muestra de prueba mostró un aumento en la intensidad de picante/especia, y sabor a chile comparada con el control.

Tabla 9: Efecto del EXTRACTO DE ESTEVIA en aplicaciones de picar y condimento

	Glucósido de esteviol	Glucósido de esteviol + Extracto de estevia	Glucósido de esteviol + Extracto de estevia
Cacahuets sin sal	86.8	86.8	86.8
Aceite vegetal	2.93	2.93	2.93
Azúcar	5.88	5.88	5.88
Sal	2.93	2.93	2.93
Chile en polvo	0.174	0.174	0.174
Comino en polvo	0.286	0.286	0.286
Ajo en polvo	0.156	0.156	0.156
Pimienta cayena	0.156	0.156	0.156
Humo líquido	0.729	0.729	0.729
Glucósido de esteviol	0.0243	0.0243	0.0243
PCS-5001		0.0110	
PCS-1015			0.0070
Peso total (g)	100	100	100

5

Tabla 10: Evaluación sensorial de aplicaciones de picar y condimento

Naturaleza de los participantes	Empleados de la empresa
Número de sesiones	1
Número de participantes:	30
Diseño de ensayo:	Equilibrado, aleatorizado con par. Enmascarado
Método de ensayo sensorial:	Clasificación de intensidad y aceptación
Condición ambiental	Luz de reservado estándar
Atributos y escalas:	
Aceptación global en una escala hedónica de 9 pt donde 9 = gusta extremadamente, 5 = ni gusta ni disgusta y 1 = disgusta extremadamente	
Sabor global, salado, dulzor, intensidad de ahumado, intensidad picante/especia, sabor a cacahuete, chile en polvo e intensidad de regusto (dulce y amargo) en una escala de intensidad continua de 10 pt donde 0 = imperceptible y 10 = extremadamente pronunciado	
Comentarios generales abiertos	
• Análisis estadístico:	ANOVA (por bloque) con prueba de Duncan post hoc
• Tamaño de muestra	~1,5 oz. en un vaso de plástico tapado transparente
• Temperatura de servicio	Temperatura refrigerada (~70°F)
• Instrucción de servicio/panelistas:	Muestras servidas simultáneamente. Los panelistas evaluaron cada muestra una vez.

10 **Ejemplo 5: Modificación de sabor de salsa y preparación vegetal**

Se desarrolló una preparación de ketchup para determinar el efecto de modificación de sabor de extracto de estevia (PCS-1015). Un panel de treinta empleados de empresa evaluó la aceptación global e intensidades de atributos (tomate, cebolla, vinagre, dulce, salado, amargor y regusto) de cada muestra. Se adoptó la metodología de evaluación sensorial esbozada en el ejemplo 4 para las muestras de la salsa como se presenta en la tabla 11.

15

Tabla 11: Efecto de PCS-1015 (extracto de estevia) sobre ketchup

	Glucósido de esteviol	Glucósido de esteviol con extracto de estevia
Zumo de tomate (tamizado)	52.4863	52.4793
Puré de tomate	24.6236	24.6236
Vinagre blanco destilado	11.3454	11.3454
Agua	1.5845	1.5845
Sacarosa	2.6511	2.6511
Pasta de tomate	5.8311	5.8311
Cebolla en polvo	0.8649	0.8649
Sal	0.5811	0.5811
Glucósido de esteviol	0.032	0.032
Extracto de extevia (PCS 1015)		0.007
Total	100	100

La figura 6 muestra la modificación de los perfiles de sabor y dulzor causada por la adición de extracto de estevia (PCS-1015). Los resultados indican que las muestras de prueba que contenían extracto de estevia, PCS-1015, tuvieron un aumento significativo en notas herbales, y notas saladas (cebolla/ajo) en un intervalo de confianza del 95%. La muestra de prueba que contenía PCS-1015 tuvo direccionalmente menor amargor, regusto amargo y agrado global en un intervalo de confianza del 90% comparada con la muestra control.

Ejemplo 6: Efecto de PCS-1015 (extracto de estevia) sobre la modificación de sabor de aplicaciones lácteas

Se desarrolló una bebida láctea con sabor a chocolate para determinar el efecto de modificación de sabor de extracto de estevia (PCS-1015) en bebida láctea. El panel evaluó muestras de la leche con chocolate para aceptación global e intensidades de atributos (sabor a chocolate, notas lácteas, dulzor, amargor y regusto). Las dos muestras (Tabla 12) incluían: 1) muestra control con azúcar reducido al 50% que contenía glucósidos de estevia, y 2) muestra de prueba con azúcar reducido al 50% que contenía glucósidos de estevia y 80 ppm de extracto de estevia PCS-1015.

Tabla 12: Efecto PCS-1015 (extracto de estevia) sobre bebida lácteas saborizada

Fórmula láctea	Reducción de azúcar total del 50% con glucósido de esteviol	Reducción de azúcar total del 50% con extracto de estevia y glucósido de esteviol
Leche con grasa reducida al 2%	96.5803	96.5753
Azúcar	2.40	2.40
Cacao en polvo	0.80	0.80
Palsgaard 150 ChoMilk	0.20	0.20
Glucósidos de esteviol	0.0197	0.0197
PCS-1015		0.080
Total	100	100

Tabla 13: Evaluación sensorial de bebida láctea

• Naturaleza de los participantes	Empleados de la empresa
• Número de sesiones	1
• Número de participantes:	30
• Diseño de ensayo:	Equilibrado, aleatorizado con par. Enmascarado
• Método de ensayo sensorial:	Clasificación de intensidad y aceptación
• Condición ambiental	Luz de reservado estándar
• Atributos y escalas:	
• Aceptación global en una escala hedónica de 10 pt donde 10 = gusta extremadamente y 0 = disgusta extremadamente	
• Agrado global, dulzor, amargor, notas lácteas, chocolate, y regusto. Escala de intensidad continua de 10 pt donde 0 = imperceptible y 10 = extremadamente pronunciado	
• Análisis estadístico:	ANOVA (por bloque) con prueba de Duncan post hoc
• Tamaño de muestra	~1,5 oz. en un vaso de plástico tapado transparente
• Temperatura de servicio	Temperatura refrigerada (~45°F)
• Instrucción de servicio/panelistas:	Muestras servidas simultáneamente. Se instruyó a los panelistas para leer la lista de ingredientes, evaluar cada muestra

La figura 7 muestra la modificación de los perfiles de sabor y dulzor causados por la adición de extracto de estevia (PVS-1015). Los resultados indican que la muestra con azúcar reducido al 50% que contiene edulcorante de glucósido de esteviol y extracto de estevia, PCS-1015, tuvo significativamente mayor sabor a chocolate.

Ejemplo 7: Efecto de extracto de estevia (PCS-5001) sobre la modificación de sabor de aplicaciones de productos horneados

Se desarrolló una formulación de magdalena con sabor a limón y semilla de amapola para determinar el efecto de modificación de sabor de extracto de estevia (PCS-5001) en aplicaciones de productos horneados. Para probar la contribución de PCS-5001 en productos horneados, se hornearon magdalenas de semilla de amapola con sabor a limón con una formulación reducida en azúcar un 45% con glucósido de esteviol como control, y formulación reducida en azúcar con glucósido de esteviol y extracto de estevia (PCS-5001) como la muestra de prueba como se muestra en la tabla 14. Un panel de consumidores de treinta miembros evaluó las dos muestras de magdalenas de semillas amapola y limón para varios atributos (sabores de limón, vainilla, notas tostadas, regusto dulce & amargo).

Tabla 14: Efecto PCS-5001 (extracto de estevia) sobre productos horneados

Ingredientes	Glucósido de esteviol (400 ppm) Control	Glucósido de esteviol con extracto de estevia (120 ppm)
<i>Ingredientes SECOS</i>		
Sacarosa	12.3722	12.3682
Harina de todo uso	17.6434	17.6434
Harina de trigo integral	5.8763	5.8763
Semillas de amapola	1.0648	1.0648
Maltodextrina - 10DE	2.1368	2.1368
Fibersol2 (ADM/Matsutani)	1.0648	1.0648
Alidón modificado - Inscosity 656	1.0648	1.0648
Sabor limón - Firmenich	0.8860	0.8860
Sal (cloruro de sodio)	0.7479	0.7479
Levadura química	1.0648	1.0648
Bicarbonato	0.3205	0.3205
Glucósido de esteviol	0.0400	0.0400

Ingredientes	Glucósido de esteviol (400 ppm) Control	Glucósido de esteviol con extracto de estevia (120 ppm)
Extracto de estevia (PCS-5001)		0.0120
<i>Ingredientes húmedos</i>		
Leche, 2%	27.2444	27.2444
Aceite de soja	11.7525	11.7525
Huevos enteros	8.5473	8.5473
Agua	5.3420	5.3420
Yogur, natural desnatado	1.6026	1.6026
Zumo de limón, 100%	0.6410	0.6410
Extracto de vainilla	0.5342	0.5342
	100	100

5 La figura 8 muestra la modificación de los perfiles de sabor y dulzor causados por la adición de extracto de estevia (PCS-5001). El panel encontró que la adición de extracto de estevia proporcionaba un aumento en nota tostada que la muestra control sin extracto de estevia (a confianza del 90%).

Ejemplo 8: Efecto de extracto de estevia (PCS-5001) sobre la modificación de sabor de aplicaciones con sodio reducido

10 Se desarrolló una formulación de chips de tortilla reducida en sal un 30% para determinar el efecto de modificación de sabor de extracto de estevia (PCS-5001) en aplicaciones reducidas en sal. Para probar la contribución de PCS-5001 en una aplicación reducida en sal, chips de tortilla con sabor a queso cheddar se recubrieron con una formulación de sal control, y una formulación reducida en sal un 30% con extracto de estevia (PCS-5001) como una muestra de prueba como se muestra en la tabla 15. Un panel de consumidores de dieciséis miembros evaluó dos muestras de chips de tortilla con sabor a queso cheddar para diferentes atributos (intensidad dulce, salado, sabor a queso, notas lácteas, sabor a maíz, amargor, y regusto dulce & amargo).

15 La figura 9 muestra la modificación de sabor y percepción de sal causada por la adición de extracto de estevia (PCS-5001). El panel encontró que la adición de extracto de estevia en una formulación reducida en sal un 30% proporcionaba un aumento en la percepción de sal, paridad con el control con sodio total. Además, el extracto de estevia proporcionaba un aumento en la intensidad de dulzor y nota láctea mayor que la muestra control son extracto de estevia (a confianza del 95%).

20 **Tabla 15: Chips de tortilla con queso cheddar y 30% menos sodio**

	Control	30% menos sal
Chips de maíz	78	78.33
Condimento de queso	10	10.04
Aceite vegetal	11	11.05
Sal añadida	1	0.57
PCS-5001		0.01
Peso total (g)	100	100.00

25 **Ejemplo 9: Efecto de extracto de estevia (PCS-5001) sobre la modificación de sabor de aplicaciones de carne seca**

30 Se desarrolló una formulación de cecina de vacuno para determinar el efecto de modificación de sabor de extracto de estevia (PCS-5001) en aplicaciones de carne seca. Para probar la contribución de PCS-5001 en una aplicación de carne seca, se marinó filete de falda con una formulación control de azúcar reducido, y una formulación de azúcar reducido un 30% con glucósidos de esteviol y extracto de estevia (PCS-5001) como una muestra de prueba como se muestra en la tabla 16. Un panel de consumidores de veinte miembros evaluó dos muestras de cecina de vacuno para

diferentes atributos (intensidad de dulzor, salado, pimienta negra, sabor a teriyaki, intensidad de tipo grasa, sabor a vacuno y regusto dulce).

5 La figura 10 muestra la modificación del sabor y percepción de sal causada por la adición de extracto de estevia (PCS-5001). El panel encontró que la adición de extracto de estevia en una formulación con azúcar reducido un 30% proporcionaba un aumento en la percepción de sal.

Tabla 16: Cecina de vacuno reducida en azúcar un 30%

	Control (%)	Extracto de estevia
Filete de falda	75.44	75.44
Vinagre balsámico	10.15	10.15
Sal	2.46	2.46
Pimienta	0.83	0.83
Azúcar	6.88	6.88
Humo líquido	0.86	0.86
Agua		
Ajo en polvo	0.44	0.44
Cebolla en polvo	0.44	0.44
Glucósido de esteviol	0.018	0.018
PCS-5001 (extracto de estevia)		0.0100
Salsa Worcestershire	2.46	2.46
	100	100

10 **Ejemplo 10: Efecto de extracto de estevia (PCS-5001) en la modificación de sabor de aplicaciones de sodio reducido en salsa de carne marrón**

15 Se desarrolló una formulación de salsa de carne marrón reducida en sodio un 30% para determinar el efecto de modificación de sabor de extracto de estevia (PCS-5001) en aplicaciones reducidas en sal. Para probar la contribución de PCS-5001 en una aplicación reducida en sal, una formulación de salsa de carne marrón reducida en sodio un 30% y una formulación reducida en sodio un 30% con extracto de estevia (PCS-5001) como una muestra de prueba. Un panel de consumidores de treinta miembros evaluó dos muestras de salsa de carne marrón para diferentes atributos (intensidad de dulzor, salado, pimienta negra, sabor a vacuno, y notas de cebolla/salado, amargor y regusto dulce & amargo).

20 La figura 11 muestra la modificación de sabor y percepción de sal causada por la adición de extracto de estevia (PCS-5001). El panel encontró que la adición de extracto de estevia en una formulación reducida en sal un 30% proporcionaba un aumento en la percepción de sal comparada con un control reducido en sodio un 30%. Además, el extracto de estevia proporcionó un aumento en nota salada y a pimienta negra mayor que la muestra control sin extracto de estevia (a confianza del 95%). También hubo un descenso en el regusto amargo.

25 **Ejemplo 11: Efecto de extracto de estevia sobre la modificación de sabor de producto lácteo**

30 Para evaluar la contribución de PCS-1015 (MLD-1), un extracto de estevia, a un producto lácteo, se prepararon dos muestras de leche con chocolate con azúcar reducido un 50% y fueron probadas por un panel de consumidores de 30 empleados de la empresa. El panel de consumidores evaluó esas dos muestras de leche con chocolate para aceptación global e intensidades de atributos (sabor a chocolate, notas lácteas, dulzor, amargor y regusto) en dos sesiones. En la sesión uno, las dos muestras incluían: 1) una muestra control con azúcar reducido un 50% que contenía PureCircle Alpha (edulcorante de glucósidos de esteviol) y 2) una muestra de prueba con azúcar reducido un 50% que contenía PureCircle Alpha y PCS-1015 (MLD-1) 70 ppm. En la sesión dos, las dos muestras incluían: 1) una muestra control con azúcar reducido un 50% que contenía PureCircle Alpha (edulcorante de glucósidos de esteviol) y 2) una muestra de prueba con azúcar reducido un 50% que contenía PureCircle Alpha y PCS-1015 (MLD-1) 80 ppm. La tabla 17 muestra la fórmula de las muestras control y de prueba de azúcar reducido un 50%.

40

Tabla 17: Leche con chocolate reducida en azúcar un 50% con PCS-1015

Fórmula láctea	Reducción de azúcar total del 50% con PureCircle Alpha	Reducción de azúcar total del 50% con PC Alpha & PCS-1015	Reducción de azúcar total del 50% con PC Alpha & PCS-1015
Leche reducida en grasa al 2%	96.5803	96.5743	96.5753
Azúcar	2.40	2.40	2.40
Cacao en polvo 10/12	0.80	0.80	0.80
Palsgaard 150 ChoMilk	0.20	0.20	0.20
PureCircle Alpha	0.0197	0.0197	0.0197
PCS-1015 (MLD-1)		0.0070	0.0080
Total	100	100	100

La tabla 18 muestra los resultados sensoriales con las dos muestras de prueba. Ambas muestras de prueba mostraron el impacto del extracto de estevia (PCS 1015) sobre las notas de sabor a chocolate y nota láctea. A nivel de uso de 80 ppm, la muestra de leche con chocolate mostró mejor perfil de dulzor y agrado global que la muestra control. La figura 12 muestra la comparación del perfil de sabor entre el control y la muestra de prueba con extracto de estevia PCS 1015 80 ppm.

Tabla 18: Resumen de la aceptación global y resultados de intensidad de atributo media para cada muestra de leche con chocolate con azúcar reducido ensayado por 30 miembros de panel.

Resumen de puntuaciones medias, Valores P, y significancia Código resultado de prueba - leche con chocolate con MLD-1 70 ppm				
Atributo	197 ppm de Alpha solo (Control)	70 ppm de MLD-1 con PC Alpha	Valor P	Sig
Intensidad dulce	8.85	8.89	0.8555	NS
Sabor a chocolate	6.82 b	7.70 a	0.0482	***
Nota láctea	3.61 b	4.19 a	0.1934	*
Amargor	0.84	0.83	0.9500	NS
Regusto amargo	0.74	0.70	0.6096	NS
Regusto dulce	3.02	3.15	0.7232	NS
Agrado global	7.12	7.42	0.5114	NS
Resumen de puntuaciones medias, Valores P, y significancia Código resultado de prueba - leche con chocolate con MLD-1 80 ppm				
Atributo	197 ppm de Alpha solo (Control)	80 ppm de MLD-1 con PC Alpha	Valor P	Sig
Intensidad dulce	8.90 b	9.05 a	0.1557	*
Sabor a chocolate	6.89 b	7.53 a	0.0048	***
Nota láctea	4.12 b	4.44 a	0.1470	*
Amargor	0.49	0.35	0.2473	NS
Regusto amargo	0.71 a	0.55 b	0.1824	*
Regusto dulce	2.66	2.82	0.5177	NS
Agrado global	6.49 b	6.89 a	0.1908	*

*= IC del 80%, ** = IC del 90%, ***= IC del 95%

Ejemplo 12: Efecto de extracto de estevia sobre postres (crema de vainilla)

Para evaluar la contribución del extracto de estevia, PCS-1015 en gelatina y pudines, se probaron dos muestras de crema de vainilla reducidas en calorías un 30%: 1) edulcorada con PureCircle Alpha, un edulcorante de estevia de PureCircle, 2) edulcorada con PureCircle Alpha y PCS-1015 (MDL-1). La tabla 19 muestra la formulación de las muestras control y de prueba. Un panel de 30 panelistas entrenados con extensa experiencia en perfil de atributos sensoriales cató ambas muestras.

Para preparar la muestra, mezclar el PureCircle Alpha y el ingrediente de prueba (PCS-1015) con los ingredientes secos. Añadir los ingredientes secos a la leche usando buena agitación. Calentar a fuego bajo hasta que todos los ingredientes se disuelvan. Calentar a 95°C durante 10 minutos para cocinar los almidones. Añadir sabores, agitarlo, enfriar, agitarlo antes de colocarlo en la nevera. Servir frío en tazas de 1 oz.

5

Tabla 19: Postre de azúcar reducido (crema de vainilla) con PCS-1015

	Control con PureCircle Alpha	Prueba con PureCircle Alpha con extracto de estevia
Leche (1% de grasa)	94.27	94.27
Sacarosa	4.00	4.00
Almidón Perma Flo Tate & Lyle	1.25	1.25
Carragenano TIC	0.09	0.09
Sal	0.06	0.06
Beta caroteno ROHA	0.05	0.05
Sabor vainilla francesa UV 420-066-7	0.15	0.15
Glucósido de esteviol	0.0166	0.0166
Extracto de estevia	-	0.0080
Total	100	100

10

El panel entrenado encontró que la muestra de prueba tenía intensidad dulce más fuerte, vainilla, notas de sabor lácteo y agrado global a confianza del 80%. La muestra que contenía extracto de estevia también tuvo nota de huevo significativamente mayor a confianza del 95%. La figura 13 muestra la interpretación pictórica de la diferencia sensorial entre las muestras control y de prueba.

15

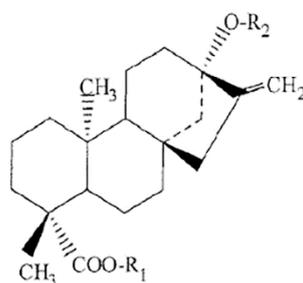
Tabla 20: Resumen de la aceptación global y resultados de intensidad de atributo media para postre con azúcar reducido (crema de vainilla) con PCS-1015

Atributo	166 ppm de Alpha solo (Control)	70 ppm de MLD-1 con Alpha	Valor P	Sig
Intensidad dulce	7.01 a	7.13 b	0.1095	*
Sabor a vainilla	3.22 a	3.5 b	0.1299	*
Nota de huevo	1.22 a	1.56 b	0.0497	***
Lácteo/Creosidad	3.04 a	3.22 b	0.1164	*
Amargor	0.43	0.5	0.3001	NS
Regusto amargo	0.36	0.38	0.7692	NS
Regusto dulce	2.23	2.24	0.8794	NS
Agrado global	6.49 a	6.87 b	0.1149	*

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición modificadora de gusto y sabor que comprende los principales glucósidos de esteviol que comprende Reb A, Reb C, Reb D y esteviósido, y moléculas vegetales derivadas de diterpeno glucosiladas, derivadas de una planta *Stevia rebaudiana*, en donde el contenido de cada uno de los cuatro principales glucósidos de esteviol varía entre el 1% al 25% de la composición.
- 10 2. La composición modificadora de gusto y sabor de la reivindicación 1, en donde el contenido en Reb A es entre el 5% al 20%, el contenido de Reb C entre el 1% al 25%, el contenido en Reb D entre el 1% al 20%, y el contenido el esteviósido del 2% al 15%.
- 15 3. La composición modificadora de gusto y sabor de la reivindicación 1, que comprende además glucósidos de esteviol minoritarios y derivados diterpénicos glucosilados que comprenden rebaudiósidos E, N y O; en donde el contenido de cada uno de estos glucósidos de esteviol minoritarios y sus derivados es menor del 10% de la composición.
- 20 4. La composición modificadora de gusto y sabor de la reivindicación 1, que comprende además otros glucósidos de esteviol minoritarios y derivados que comprenden esteviolbíosido, rubusósido, dulcósido, y rebaudiósidos B, F, G, H, K, L, M; en donde el contenido de cada uno de estos glucósidos de esteviol minoritarios y sus derivados es menor del 5% de la composición.
- 25 5. Un alimento o producto para beber que tiene un perfil de gusto y sabor intenso, que comprende la composición modificadora de gusto y sabor de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 a concentraciones que varían entre 1 a 1000 ppm, preferiblemente de 5 a 250 ppm, para proporcionar modificación de sabor y gusto con potenciación de dulzor limitada o no significativa.
- 30 6. El alimento o producto para beber de la reivindicación 5, seleccionado del grupo que consiste en: un refresco carbonatado, un zumo de frutas, una bebida alcohólica, un alimento lácteo, una bebida láctea, un postre, un producto horneado, un producto de cereal, un confite, una salsa, una salda de carne, un aliño, un producto cárnico, un aderezo & condimento, un producto para picar y un edulcorante de mesa.
- 35 7. El alimento o producto para beber de la reivindicación 5, en donde el perfil intenso de gusto y sabor está más potenciado que un perfil comparativo de gusto y sabor de un alimento o producto para beber comparativo que no incluye la composición modificadora de gusto y sabor.
- 40 8. El alimento o producto para beber de la reivindicación 5, en donde la sensación en boca, la percepción dulce, salada o de gusto global de dicho alimento o producto para beber está mejorada en relación a una sensación en boca, percepción dulce, salada o de gusto global de un alimento o producto para beber comparativo que no incluye la composición modificadora de gusto y sabor.
- 45 9. Un método de
 - (i) aumentar una intensidad de gusto y sabor de un alimento o producto para beber, o
 - (ii) mejorar una percepción de sal y reducir un contenido de sodio de un alimento o producto para beber, que comprende un aliño, un producto cárnico, un producto de picar, una salsa o una salsa de carne
 que comprende la etapa de añadir la composición modificadora de gusto y sabor de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 a un alimento o producto para beber.
- 50 10. Un método para hacer una composición modificadora de gusto y sabor de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende las etapas de:
 - a. extraer extracto de estevia que contiene glucósidos de esteviol de hojas de una planta de *Stevia rebaudiana*; y
 - 55 b. eliminar los glucósidos de esteviol en exceso.

FIG. 1



Nombre del compuesto	R ₁ (C-19)	R ₂ (C-13)
1. Esteviol	H	H
2. Esteviolmonósido	H	β-Glc
3. Rubusósido	β-Glc	β-Glc
4. Esteviolbiósido	H	β-Glc-β-Glc(2→1)
5. Esteviósido	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1)
6. Rebaudiósido A	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
7. Rebaudiósido B	H	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
8. Rebaudiósido C (Dulcósido B)	β-Glc	β-Glc-α-Rha(2→1) β-Glc(3→1)
9. Rebaudiósido D	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1) β-Glc(3→1)
10. Rebaudiósido E	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1)
11. Rebaudiósido F	β-Glc	β-Glc-β-Xyl(2→1) β-Glc(3→1)
12. Dulcósido A	β-Glc	β-Glc-α-Rha(2→1)

FIGURA 2

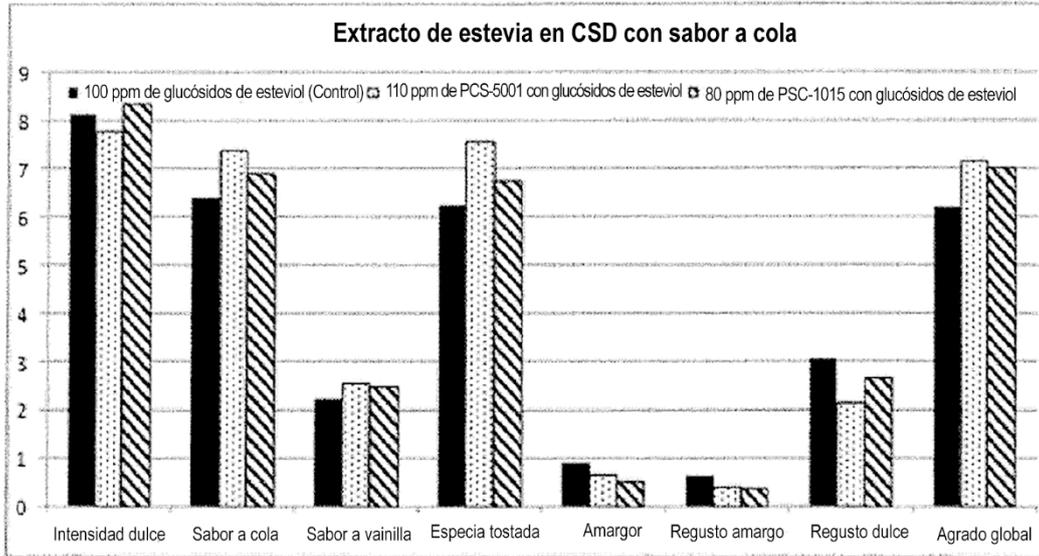


FIGURA 3

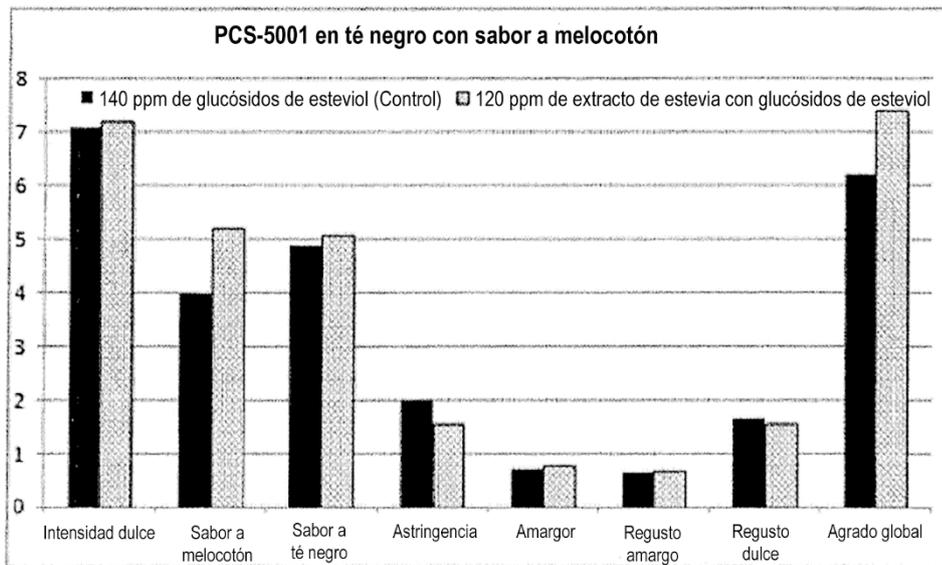


FIGURA 4

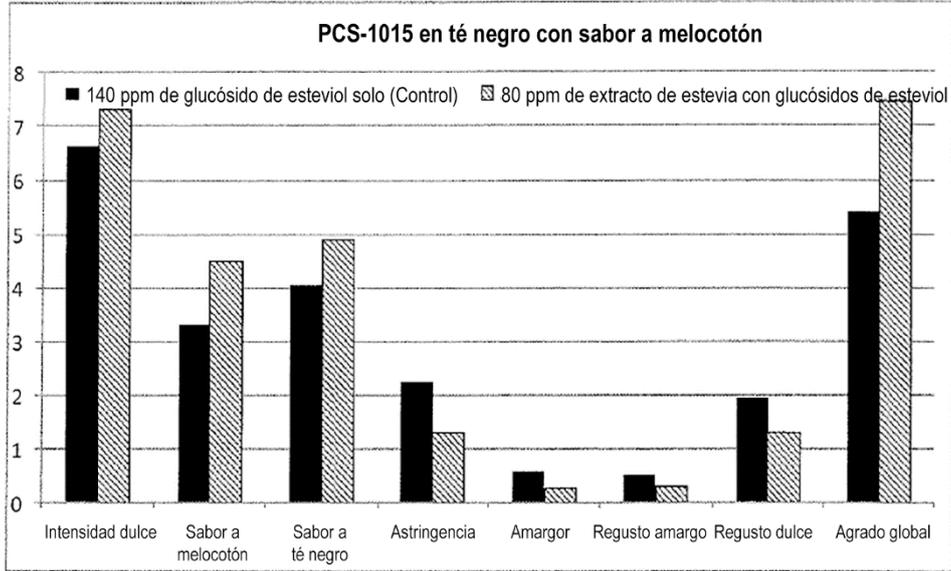


FIGURA 5

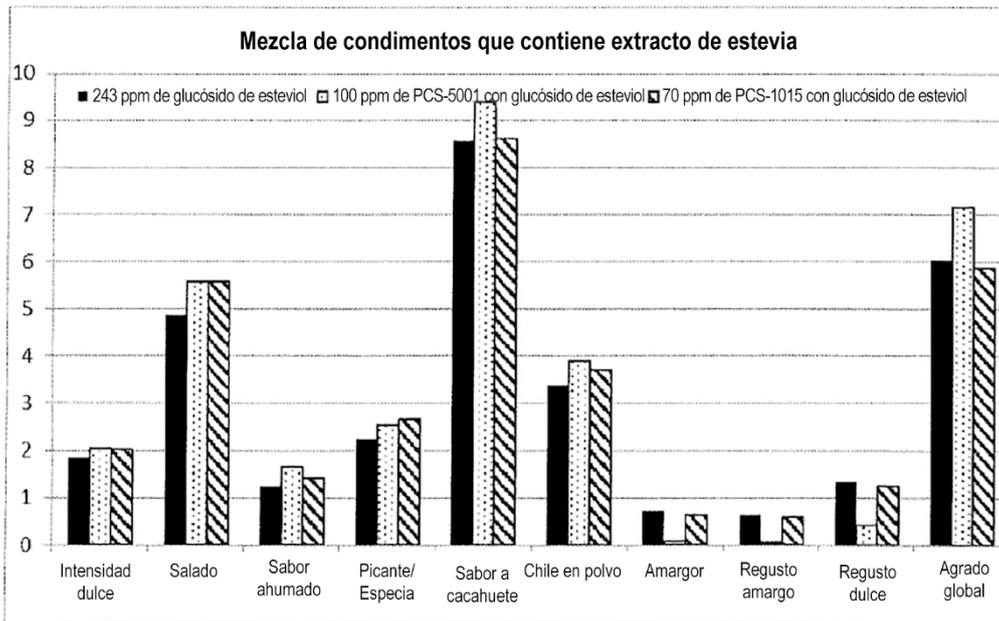


Figura 6

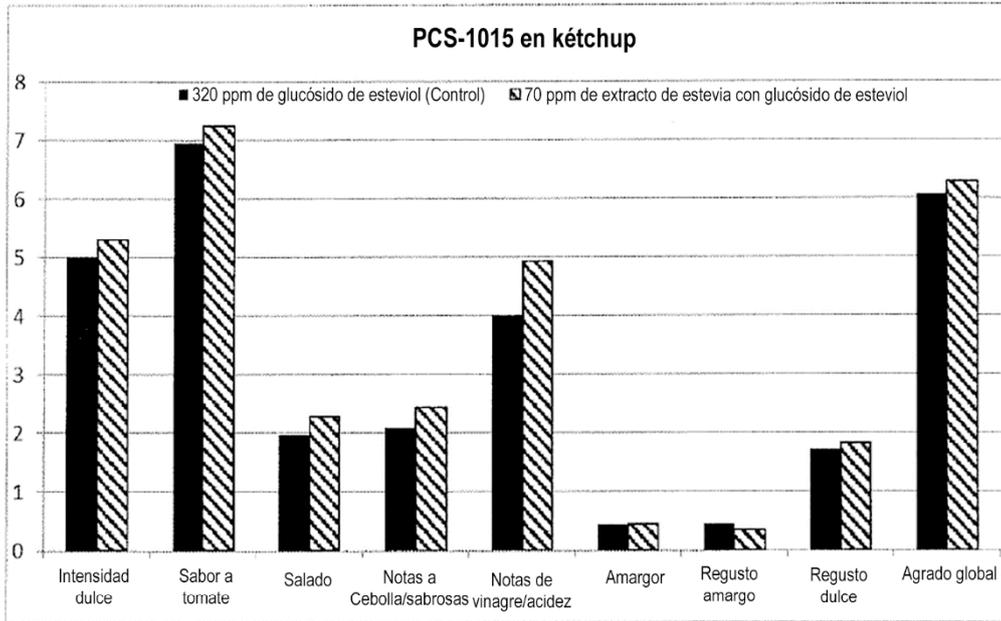


FIGURA 7

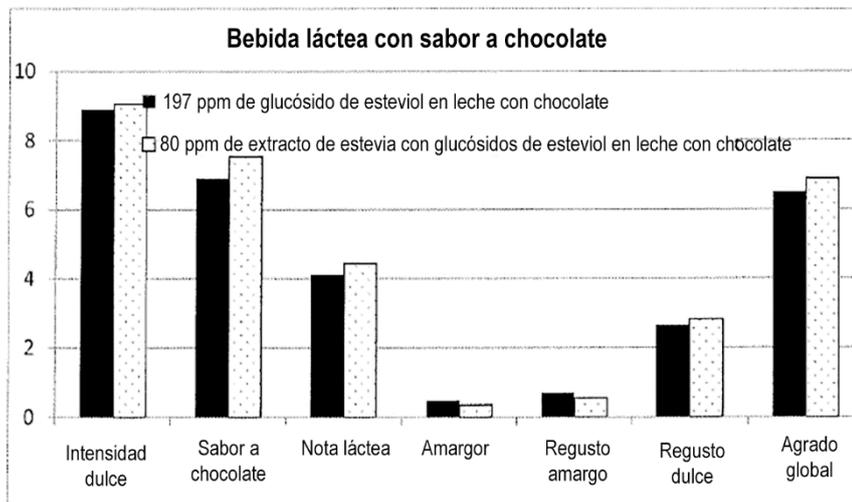


FIGURA 8

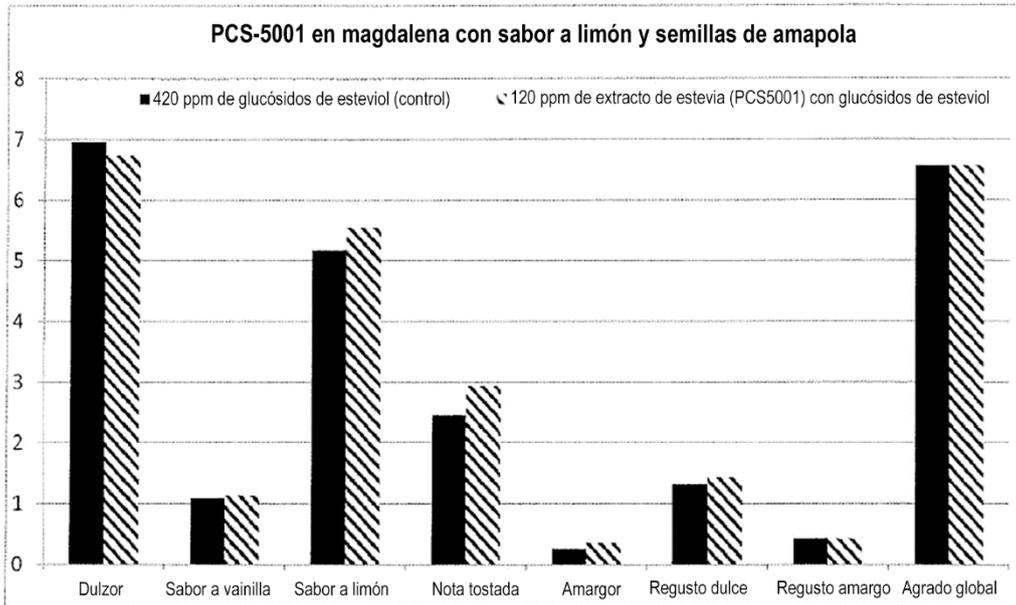


Figura 9

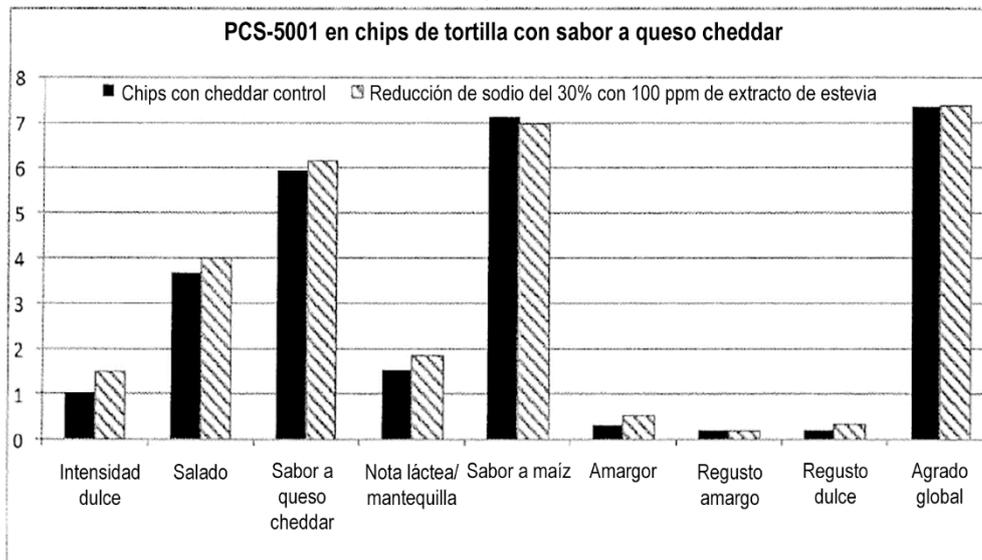


Figura 10

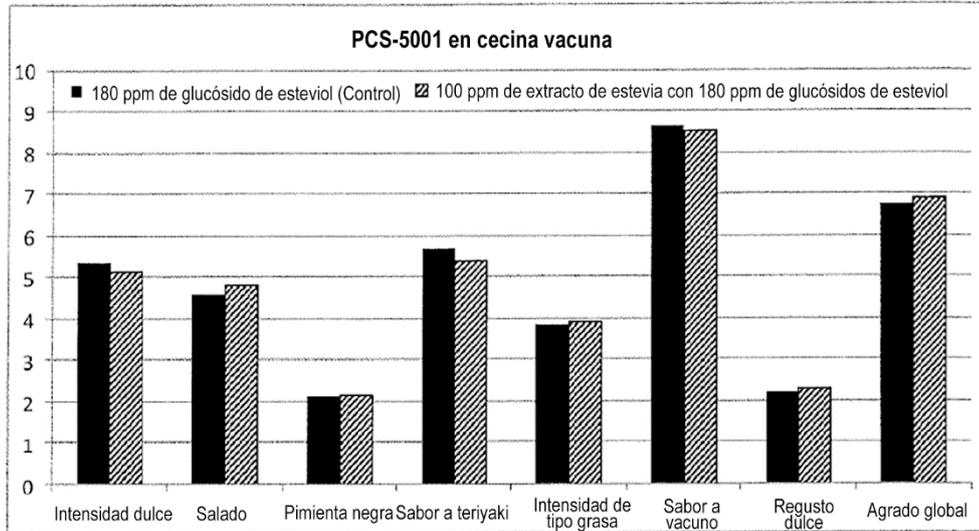


Figura 11

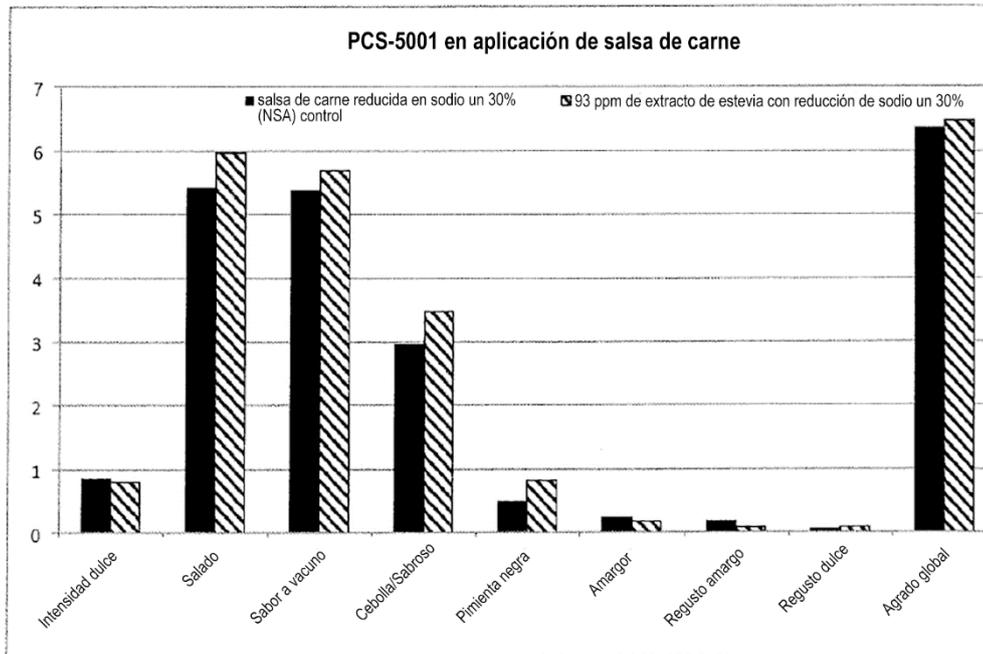


Figura 12

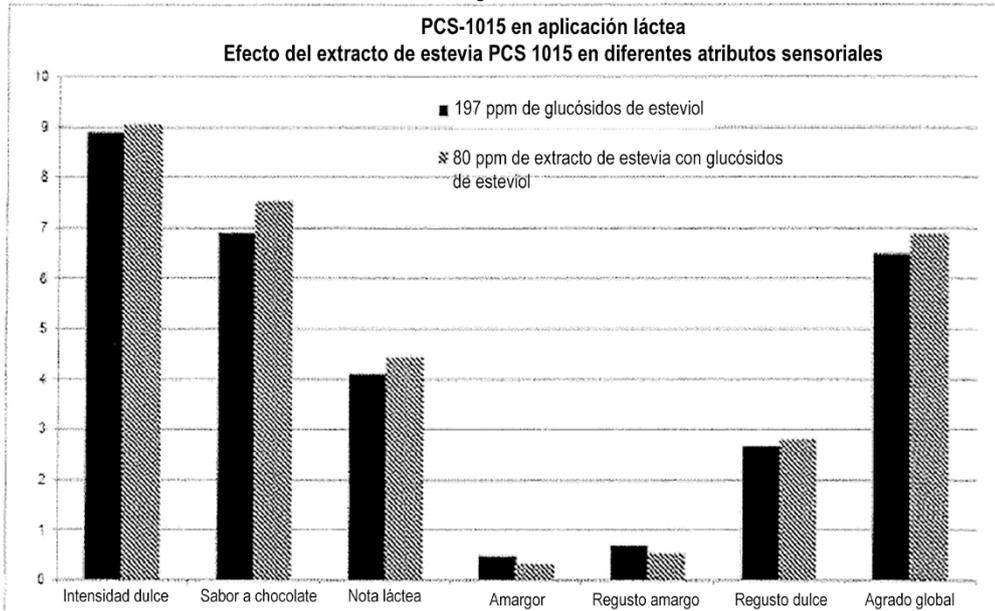


Figura 13

