

(19) OFICIUL DE STAT
PENTRU INVENȚII ȘI MARCI
București

ROMÂNIA



(11) **120165 B1**
(51) Int.Cl.⁷ A 23 L 1/23;
A 23 L 1/238

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **97-01536**

(22) Data de depozit: **14.08.1997**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **28.10.2005** BOPI nr. **10/2005**

(30) Prioritate:
19.08.1996 EP 96202309.9

(73) Titular:
• **SOCIETE DES PRODUITS NESTLE S.A.**,
AVENUE NESTLE 55, CH-1800, VEVEY, CH

(72) Inventatori:
• **BAENSCH JOHANNES**, LE PRE AUX
MIEUX, LE BREUIL EN AUGUE, FR;
• **GAIER WALTER**, CH. DE L HAUT BOZON
NR. 2, LE MONT, CH;

• **KHOO HAZEL GEOK NEO**, CHEMIN DES
GLYCINES 1, LAUSANNE, CH;
• **LAI HOWE LING**, BLK 29 HAVELOCK RD.
08-659, SINGAPORE, SG;
• **LIM BEE GIM**, BLK 426 JURONG WEST
AVENUE NR. 1, 12-336, SINGAPORE, SG

(74) Mandatar:
ROMINVENT S.A., STR. ERMIL
PANGRATTI NR. 35, SECTOR 1,
BUCUREȘTI

(56) Documente din stadiul tehnicii:
EP 0640294, 0829205

(54) PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI CONDIMENT

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unui condiment, care constă în prepararea unei proteine koji fermentată, dintr-un material conținând proteine și un carbohidrat, urmată de hidrolizarea proteinei koji fermentate, la o temperatură de 15...60°C și un pH de 4,5...10, timp de 6 h până la 28 zile, care constă în aceea că inocularea cu o cultură de bacterii producătoare de acid lactic, la o densitate de inoculare de

10³ ...10⁷ CFU/g a proteinei koji fermentată este realizată înainte, la începutul sau în orice moment în timpul procesului de fermentație koji, sau în etapa de hidroliză, fără prepararea unui moromi și în care prima etapă de hidroliză este urmată de o a doua hidroliză, la o temperatură de 2...20°C, timp de 12 h până la 25 zile.

Revendicări: 8

Examinator: ing. CERNAT DANIELA



Orice persoană interesată are dreptul să formuleze în scris și motivat, la OSIM, o cerere de revocare a hotărârii de acordare a brevetului de invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii acesteia

RO 120165 B1

RO 120165 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unui condiment, în parti-
cular, la obținerea unui condiment prin hidroliza biologică a unui material proteic.

3 Proteinele hidrolizate sunt utilizate, de secole, drept condimente alimentare, în Orien-
tul îndepărtat, sub forma "sosului de soia", care a fost preparat în mod tradițional prin hidro-
5 liză enzimatică, necesitând o perioadă lungă de timp, de obicei câteva luni, pentru preparare.
Pentru obținerea sosului de soia, materialele conținând proteine vegetale, cum ar fi fasolea
7 soia gătită sau făina de soia, degresată, împreună cu carbohidrați sunt inoculate cu *Asper-*
gilli, iar cultura solidă este fermentată timp de 2 zile, pentru a se obține koji fermentat, în
9 acest timp fiind produse enzime capabile să hidrolizeze proteinele și carbohidrații în etapa
de preparare a unui moromi. Produsul koji fermentat este amestecat cu o soluție de sare de
11 bucătărie, pentru a obține moromi, care la rândul său este fermentat timp de 4...8 luni prin
activitatea unor microorganisme, cum ar fi bacteriile producătoare de acid lactic sau fermenții
13 din soia, sosul de soia fiind obținut prin îndepărtarea particulelor (părților) solide din moromi
fermentat.

15 În urmă cu aproximativ 100 de ani, a fost pus la punct un procedeu de hidrolizare a
proteinelor pentru obținerea condimentelor care utilizează acid clorhidric și pentru care timpul
17 de preparare necesar este de numai câteva ore. Totuși, în ultimii ani utilizarea proteinelor
vegetale hidrolizate cu acid (HPP) în aplicații culinare a fost criticată, datorită prezenței unor
19 compuși ai clorului rezultați în urma acidifierii. Prin urmare, s-au făcut încercări de înlocuire
a proteinelor vegetale hidrolizate cu acid, în aplicațiile culinare, sosul de soia fiind un bun
21 înlocuitor. Totuși, datorită diferențelor dintre materiile prime și metodele de preparare utili-
zate, cele două produse (HPP și sosul de soia) prezintă diferențe în ceea ce privește compo-
23 ziția chimică și gustul. Cantitatea de sos de soia, care poate fi utilizată drept înlocuitor al
HPP este limitată, datorită gustului său de "fermentat". Diferențele dintre cele două procedee
25 determină și diferențele între gradele de hidrolizare ale materialului proteic în aminoacizi.
Sosul de soia prezintă un conținut mai scăzut decât HPP, ceea ce determină o consistență
27 semnificativ mai scăzută a sosului de soia față de HPP.

În **EP 0640294** este descris un procedeu de obținere a unui condiment, bazat pe
29 modificarea tehnologiei standard de obținere a sosului de soia prin care koji fermentat este
tratată, înainte de formarea de moromi, prin hidroliză la temperatură scăzută, pentru a se
31 obține un condiment cu o consistență mai mare decât un sos de soia standard. În acest
procedeu, proteina koji fermentată preparată dintr-un material proteic și un carbohidrat este
33 tratată prin hidrolizarea la o temperatură între 2°C și 25°C și un pH între 4,5 și 10 pentru o
perioadă între 6 h și 28 de zile. În vederea îmbunătățirii proprietăților organoleptice și de
35 culoare ale condimentului produs, sunt adăugate sare și fermenți la produsul koji fermentat,
în condiții aerobe sau anaerobe pentru o perioadă de 1...6 săptămâni, de preferință între
37 2...4 săptămâni.

În **EP 0829205**, este descris un procedeu similar celui prezentat în **EP 0640294**, în
39 care în timpul hidrolizei proteinei koji fermentate este incorporat un ferment și fermentul este
incorporat astfel, încât etapa ulterioară de preparare a unui moromi nu mai este necesară.
41 Avantajul procedurii este că timpul total de producție este scurtat cu cel puțin o săptămână.
De asemenea, cantitatea de sare din condimentul produs poate fi variată după dorință, de
43 exemplu, între 0 și 100 % în greutate în raport cu proteina koji fermentată.

În timpul hidrolizei la rece, la temperaturi cuprinse între 2...25°C, numărul micro-
45 organismelor este stabil sau redus. Când hidroliza la rece este realizată în absența sării
cantitatea de acid glutamic produs este maximă. Deși temperaturile peste 25°C accelerează
47 viteza hidrolizei, există riscul de creștere a microorganismelor nedorite, în special, când
hidroliza este realizată în absența sării. S-a constatat că prin inocularea proteinei koji

RO 120165 B1

fermentate cu o cultură de bacterii producătoare de acid lactic la o densitate de $10^3...10^7$ CFU/g (unități formatoare de colonii per gram) în timpul hidrolizei, proteina fermentată koji este protejată împotriva dezvoltării microorganismelor nedorite.	1 3
Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unui condiment prin prepararea unei proteine koji fermentate dintr-un material conținând proteine și un carbohidrat, urmată de hidrolizarea proteinei koji fermentate la o temperatură de $15...60^{\circ}\text{C}$ și un pH de $4,5...10$, timp de 6 h până la 28 zile, care constă în aceea că inocularea cu o cultură de bacterii producătoare de acid lactic la o densitate de inoculare de 10^3-10^7 CFU/g a proteinei koji fermentate este realizată înainte, la începutul sau în orice moment în timpul procesului de fermentație koji, sau în etapa de hidroliză, fără prepararea unui moromi și în care prima etapă de hidroliză este urmată de o a doua hidroliză, la o temperatură de $2...20^{\circ}\text{C}$, timp de 12 h până la 25 zile.	5 7 9 11
Hidroliza proteinei koji fermentate, în prima etapă de hidroliză, este realizată în prezență sau în absență de sare.	13
Atunci când sarea este prezentă, cantitatea de sare este de până la 100 % în greutate față de greutatea proteinei koji fermentate.	15
În timpul etapei de hidroliză, este prezentă o drojdie.	17
Drojdia este adăugată fie la începutul, fie în timpul, fie după prima etapă de hidroliză sau la începutul, sau în timpul celei de a doua etapă de hidroliză.	19
Cantitatea de drojdie prezentă este de 1..50 % în greutate față de proteina koji fermentată.	21
După hidroliză, proteina koji fermentată hidrolizată împreună cu cultura de bacterii lactice acide și drojdia, dacă aceasta este prezentă, este presată în vederea separării părții lichide de reziduul solid, pentru a obține un condiment lichid.	23
Condimentul lichid este transformat în pulbere prin concentrare, urmată de uscare până la un conținut scăzut de umiditate și, în final, de măcinare până la starea de pulbere, pentru a rezulta un condiment solid.	25 27
Exemple nelimitative de bacterii producătoare de acid lactic care pot fi utilizate sunt <i>Lactobacillus sake</i> (<i>L. sake</i>), <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. johnsonii</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. alimentarius</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. farciminis</i> , <i>L. acidophilus</i> și alte specii de <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> și <i>Tetragenococcus halophilus</i> , etc. Pot fi, de asemenea, folosite amestecuri de două sau mai multe specii de microorganisme.	29 31 33
Proteina koji fermentată este preparată conform procedurii convențional de obținere a sosului de soia, care include inocularea unui material proteic și a unui carbohidrat cu o cultură de <i>Aspergillus oryzae</i> și/sau <i>Aspergillus sojae</i> pe un pat de cultură pentru a obține koji fermentat. Materialul proteic este în mod avantajos un material ce conține proteine vegetale, de exemplu, fasole soia, gluten de porumb sau de orez, de preferință, gluten de grâu. Materialul conținând proteine vegetale este gătit și este, de preferință, utilizat sub formă de particule solide, pentru a se permite creșterea mușcăiurilor <i>Aspergillus oryzae</i> și/sau <i>Aspergillus sojae</i> pe suprafața particulelor și eventual penetrarea lor. Produsul koji este, de obicei, fermentat în formă solidă. Când inocularea cu o cultură de bacterii producătoare de acid lactic este realizată în etapa proteinei koji fermentate, inocularea poate fi făcută înainte, la începutul sau în orice moment, în timpul procesului de fermentare.	35 37 39 41 43 45
Hidroliza proteinei koji fermentate în prezența apei poate fi realizată în absența sau în prezența sării de bucătărie și în mod avantajos prin agitație continuă. Când se adaugă sare, cantitatea folosită poate fi până la 100 % din greutatea proteinei fermentate koji.	47

RO 120165 B1

Cantitatea de sare adăugată poate fi variată după dorință, de exemplu în funcție de speciile de bacterii producătoare de acid lactic folosite. Unele specii de bacterii producătoare de acid lactic pot rezista numai la o cantitate mică de sare sau nu pot rezista deloc, astfel că în asemenea cazuri este preferată adăugarea unei cantități mici de sare sau absența acesteia. Când inocularea cu o cultură de bacterii producătoare de acid lactic este realizată în etapa de hidrolizare, inocularea poate fi făcută înaintea, la începutul sau în orice moment în timpul hidrolizei.

Temperatura la care are loc hidroliza amestecului de apă și de proteină koji fermentată este între 20...55°C, de preferință 30...45°C.

În mod avantajos, hidroliza proteinei koji fermentate poate fi urmată de o a doua etapă de hidrolizare, în prezența sau în absența sării. Cea de-a doua etapă de hidrolizare este realizată, în mod avantajos, la o temperatură mai scăzută decât prima etapă, la o temperatură între 2...20°C, între 12 h și 25 de zile, de preferință între 3...15°C între 18 h și 22 de zile, în special între 4 și 10°C pentru o perioadă de 24 h până la 20 de zile.

În timpul etapei de hidroliză poate fi adăugat un ferment. Dacă se realizează și o a doua hidrolizare, fermentul poate fi adăugat la începutul, în timpul sau după prima etapă de hidrolizare sau la începutul ori în timpul celei de a doua etape de hidrolizare.

Cantitatea de ferment poate varia între 1...50 %, de preferință între 2,5 și 40 % și în special între 5 și 30 % din greutatea proteinei koji fermentate. Poate fi utilizat un ferment uscat cu acțiune rapidă, de exemplu *Saccharomyces cerevisiae*. Dacă se adaugă sare, fermentul utilizat este de preferință rezistent la sare, de exemplu *Candida versatilis* sau *Debaryomyces hansenii*.

În mod avantajos, amestecului de proteină koji fermentată și fermenți i se poate adăuga o glucozoxidază, pentru a reduce conținutul de glucoză (de obicei între 2...2,5 %) de exemplu sub 1 %, de preferință sub 0,75 % și în special sub 0,5 %. Reducerea conținutului în glucoză permite obținerea unui produs finit mai stabil cu o perioadă de garanție mai lungă și o stabilitate mai bună a culorii și gustului. Glucozoxidaza poate fi adăugată înainte, în timpul sau după hidroliza proteinei fermentate koji.

După hidrolizare, produsul koji fermentat împreună cu cultura bacteriană producătoare de acid lactic, eventual și cu fermentul adăugat, pot fi presate în vederea separării sosului lichid de reziduu solid. Sosul lichid este, în mod avantajos, pasteurizat, de exemplu, la o temperatură cuprinsă între 60 și 120°C pentru o perioadă cuprinsă între 1 și 60 min și apoi filtrat pentru a obține condimentul lichid. După dorință, sosul lichid poate fi transformat într-o pudră prin concentrare, apoi uscat sub vid pentru reducerea marcată a conținutului în apă și în final măcinat pentru obținerea unui condiment solid pulverizat.

Prin procedeul conform invenției se obține un grad mai ridicat al eliberării aminoacizilor față de procedeele convenționale pentru obținerea sosului de soia. Condimentul obținut în formă lichidă sau solidă prezintă un conținut mai ridicat în aminoacizi decât sosul de soia preparat prin procedeele convenționale. Datorită conținutului mai ridicat în aminoacizi, condimentul obținut conform prezentei invenții este mai consistent decât sosul de soia obținut prin procedee convenționale. Condimentul preparat conform prezentei invenții prezintă o stabilitate organoleptică excelentă. În plus, deoarece etapa moromi este eliminată, timpul total de producție poate fi scrutat cu 1...6 săptămâni.

Cultura de bacterii producătoare de acid lactic conferă un pronunțat gust de carne. Utilizarea unei combinații între bacteriile producătoare de acid lactic și un ferment conferă o aromă de carne mai puțin acidă. Atât bacteriile producătoare de acid lactic, cât și fermentul pot reduce nivelul zahărului conținut. Hidroliza în două etape asigură obținerea eficientă a componentelor ce conferă savoarea și un produs mai ușor, cu un conținut scăzut în sare sau nesărat.

RO 120165 B1

Se dau, în continuare, exemple de realizare a invenției, în care proporțiile și procentele sunt exprimate în funcție de greutate.	1
Exemplul 1. Glutenul din grâu a fost extrudat printr-un extruder Clextral în particule având un diametru mediu de 5 mm și o structură poroasă.	3
65 kg de extrudat au fost înmuiate în 65 kg apă la 75°C, timp de 5 min. Extrudatul a fost apoi încălzit la 100°C și menținut la această temperatură 10 min, fiind apoi răcit sub 40°C prin vidare. A urmat etapa pasteurizării în vederea eliminării contaminării secundare după etapa extrudării. În final extrudatul fiert a fost amestecat cu 28 kg de grâu prăjit și 20 kg TKJ (inocul de <i>Aspergillus oryzae</i>) pentru a se obține koji din gluten de grâu care a fost fermentat timp de 42 h printr-un procedeu similar celui convențional pentru producerea sosului de soia. Produsul koji din gluten de grâu obținut nu conține sare.	5 7 9 11
În timpul celor 42 h de fermentare, pentru produsul koji, în patul de cultură au fost menținute următoarele profile de temperatură:	13
0...25 h 30°C	
25...42 h 27°C.	15
Ca și în procedeul convențional de obținere a sosului de soia koji a fost amestecat în a 18 a și a 25 oră pentru a se asigura o ventilație bună a patului de cultură.	17
55 kg produs koji din gluten de grâu fermentat au fost amestecate cu 150 kg apă la 37°C în prealabil sterilizată prin fierbere urmată de răcire. 11 kg de cultură în bulion de <i>Lactobacillus sake</i> au fost adăugate la produsul koji fermentat din gluten de grâu, iar amestecul a fost hidrolizat timp de 24 h într-un vas închis prin al cărui înveliș circulă apă rece pentru a se menține temperatura dorită. Amestecul a fost agitat continuu, în timpul hidrolizei. După aceea, produsul koji hidrolizat a fost supus unei a doua hidrolize la 10°C timp de 14 zile.	19 21 23
În final, amestecul hidrolizat a fost presat pentru a separa sosul de gluten din grâu de rezidul solid. Sosul de gluten din grâu a fost tratat la 90°C timp de 20 de minute. Sosul lichid a fost concentrat prin evaporare. Concentratul obținut a fost uscat într-un cuptor cu vid și apoi măcinat sub formă de pulbere.	25 27
Pentru evaluarea proprietăților organoleptice, 10 g de sos lichid au fost diluate cu 250 ml de apă fiartă sau 3,5 g pulbere au fost diluate în același mod. În ambele cazuri condimentul s-a dovedit a fi mai consistent și a prezentat o savoare mai rafinată decât sosul de soia convențional.	29 31
Condimentul sub formă de pulbere a prezentat o garanție la 30°C mai mult de 12 luni într-un ambalaj rezistent la umiditate (plicuri laminate cu aluminiu), precum și o stabilitate excelentă a culorii. Condimentul s-a dovedit a fi stabil din punctul de vedere microbiologic. Numărul bacililor coliformi a fost semnificativ redus în comparație cu un procedeu similar la care hidroliza s-a realizat în absența unei culturi în bulion de <i>Lactobacillus sake</i> .	33 35 37
Exemplul 2. A fost utilizat un procedeu similar celui descris în exemplul 1 cu excepția faptului că a fost eliminată a doua hidroliză a produsului koji fermentat din gluten de grâu la 10°C timp de 14 zile.	39
Condimentul s-a dovedit a fi mai consistent și cu o savoare mai rafinată decât sosul de soia convențional. Condimentul a fost stabil din punct de vedere microbiologic, ca în exemplul 1, prezentând o excelentă stabilitate a culorii la prepararea sub formă de pulbere. Numărul de bacili coliformi a fost semnificativ redus în comparație cu un procedeu similar la care hidroliza s-a realizat în absența unei culturi în bulion de <i>Lactobacillus sake</i> .	41 43 45

Exemplul 3. A fost utilizat un procedeu similar celui descris în exemplul 1, însă koji fermentat din gluten de grâu a fost hidrolizat în prezența a 11 kg de inocul reprezentat de o suspensie de ferment uscat cu acțiune rapidă rehidratat, adăugat culturii în bulion de *Lactobacillus sake*.

Condimentul obținut a prezentat o consistență mai bună și o savoare mai rafinată decât un sos de soia convențional. Condimentul a fost stabil din punct de vedere microbiologic, ca și în exemplul 1, prezentând o excelentă stabilitate a culorii la prepararea sub formă de pulbere. Numărul bacililor coliformi a fost semnificativ redus în comparație cu un procedeu similar la care hidroliza s-a realizat în absența culturii în bulion de *Lactobacillus sake* și a inoculului reprezentat de suspensia de ferment uscat cu acțiune rapidă rehidratat.

Exemplul 4. A fost utilizat un procedeu similar celui descris în exemplul 1, însă koji fermentat din gluten de grâu a fost hidrolizat în prezența a 10 kg sare. Condimentul obținut a fost stabil din punct de vedere microbiologic, ca în exemplul 1, prezentând o excelentă stabilitate a culorii la prepararea sub formă de pulbere. Numărul de bacili coliformi a fost semnificativ redus în comparație cu un procedeu similar la care hidroliza s-a realizat în absența culturii în bulion de *Lactobacillus sake*.

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unui condiment, constând în prepararea unei proteine koji fermentate dintr-un material conținând proteine și un carbohidrat, urmată de hidrolizarea proteinei koji fermentate la o temperatură de 15...60°C și un pH de 4,5...10, timp de 6 h până la 28 zile, **caracterizat prin aceea că** inocularea cu o cultură de bacterii producătoare de acid lactic la o densitate de inoculare de 10^3 - 10^7 CFU/g a proteinei koji fermentate este realizată înainte, la începutul sau în orice moment în timpul procesului de fermentație koji, sau în etapa de hidroliză, fără prepararea unui moromi și în care prima etapă de hidroliză este urmată de o a doua hidroliză la o temperatură de 2...20°C, timp de 12 h până la 25 zile.

2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** hidroliza proteinei koji fermentate în prima etapă de hidroliză este realizată în prezență sau în absență de sare.

3. Procedeu conform revendicării 2, **caracterizat prin aceea că** atunci când sarea este prezentă, cantitatea de sare este de până la 100 % în greutate față de greutatea proteinei koji fermentate.

4. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, în timpul etapei de hidroliză, este prezentă o drojdie.

5. Procedeu conform revendicării 4, **caracterizat prin aceea că** drojdia este adăugată fie la începutul, fie în timpul fie după prima etapă de hidroliză sau la începutul sau în timpul celei de a doua etapă de hidroliză.

6. Procedeu conform revendicării 4, **caracterizat prin aceea că**, cantitatea de drojdie prezentă este de 1..50 % în greutate față de proteina koji fermentată.

7. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, după hidroliză, proteina koji fermentată hidrolizată împreună cu cultura de bacterii lactice acide și drojdia, dacă aceasta este prezentă, este presată în vederea separării părții lichide de reziduul solid, pentru a obține un condiment lichid.

8. Procedeu conform revendicării 7, **caracterizat prin aceea că**, condimentul lichid este transformat în pulbere prin concentrare, urmată de uscare până la un conținut scăzut de umiditate și în final de măcinare până starea de pulbere pentru a rezulta un condiment solid.

