



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 316 025**

51 Int. Cl.:
A23L 1/212 (2006.01)
A23L 1/24 (2006.01)
A23L 2/02 (2006.01)
A23L 2/04 (2006.01)
A23L 1/03 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06291371 .0**
96 Fecha de presentación : **29.08.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1759594**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.03.2007**

54 Título: **Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico y productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico.**

30 Prioridad: **31.08.2005 JP 2005-251213**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2009

73 Titular/es: **Kagome Co., Ltd**
14-15 Nishiki 3-chome
Naka-ku, Nagoya-shi, Aichi-ken, JP

72 Inventor/es: **Monma, Go y**
Hayakawa, Kiro

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 316 025 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

Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico y productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico.

5

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico y más particularmente se refiere a un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas que contienen una concentración elevada de ácido γ -aminobutírico sin añadir ácido glutámico o sales del mismo, y productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico.

15 Se reivindica la prioridad respecto a la solicitud de patente japonesa nº 2005-251213, presentada el 31 de agosto de 2005, el contenido de la cual se incorpora a la presente memoria como referencia.

Descripción de la técnica relacionada

20 El ácido γ -aminobutírico es un aminoácido no proteico ampliamente distribuido en el mundo biológico y es conocido que funciona como neurotransmisor inhibitor en animales superiores (documento no de patente nº 1). Además, el ácido γ -aminobutírico en la actualidad es conocido que presenta diversas funciones fisiológicas y se ha informado de efectos hipotensores (documento no de patente nº 2), efectos de mejora del funcionamiento cerebral (documento no de patente nº 3), efectos atarácicos (documento no de patente nº 4) y similares.

25

Aunque el ácido γ -aminobutírico es uno de los aminoácidos naturales contenidos en productos alimenticios tales como el arroz pardo, el beni-koji, el té y determinadas verduras y frutas, únicamente se encuentran presentes cantidades traza de los mismos en dichos alimentos y no se ha informado de productos alimenticios que contengan una dosis eficaz para expresar las funciones fisiológicas de los mismos (documento no de patente nº 4). Se han estudiado diversos procedimientos para incrementar el contenido de ácido γ -aminobutírico en productos alimenticios y son conocidas técnicas tales como aquéllas proporcionadas a continuación.

30

(i) Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas caracterizado porque el ácido glutámico contenido en productos tratados de tomates maduros se convierte parcialmente en ácido γ -aminobutírico, permitiendo que el ácido glutámico descarboxilasa actúe sobre los productos tratados de tomates maduros (documento de patente nº 1). (ii) Procedimiento de producción de bebidas de tomate caracterizado porque se introducen tomates, o tomates y otras verduras y/o frutas, en una atmósfera anóxica y se Trituran o se exprimen tras convertir parcialmente el ácido γ -aminobutírico contenido en ellos en ácido γ -aminobutírico (documento de patente nº 2). (iii) Procedimiento de producción de productos alimenticios y bebidas o condimentos, con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico fermentado por bacterias del ácido láctico caracterizado porque la fermentación por bacterias del ácido láctico se lleva a cabo mediante la adición de ácido glutámico o materiales que contienen ácido glutámico y cepas de bacterias del ácido láctico con capacidad para producir γ -aminobutírico a ingredientes de productos alimenticios y bebidas o condimentos (documento de patente nº 3).

45 [documento no de patente nº 1] Seibutsu Kogaku Kaishi 75:239-244, 1997.

[documento no de patente nº 2] Japanese Pharmacology & Therapeutics (Yakuri a Chiryō) 28:529-53, 2000.

[documento no de patente nº 3] procesamiento alimentario actualizado (Shokuhin a Kaihatsu) 36(6):4-6, 2001.

50

[documento no de patente nº 4] Journal of the Japanese Society of Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi) 47:596-603, 2000.

[documento de patente nº 1] solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación nº Hei 3-224467.

55

[documento de patente nº 2] solicitud de patente japonesa no examinada, primera publicación nº Hei 4-51878.

[documento de patente nº 3] solicitud de patente japonesa abierta al público nº 2004-215529.

60 El documento de patente japonesa nº 04 05 1878 (solicitud nº 02 158395) da a conocer la preparación de una bebida de tomate que presenta un contenido elevado de γ -aminobutírico y que es bueno para la salud, mediante la utilización de tomate, una mezcla de tomate y otras verduras y/o frutas o los zumos de las mismas como materia prima y el mantenimiento del material en una atmósfera gaseosa libre de oxígeno.

65 Sin embargo, con las técnicas descritas en el documento de patente nº 1, se han producido problemas tales como una eficiencia de conversión reducida a ácido γ -aminobutírico de aproximadamente 40% como máximo (Ejemplo 2) y también dificultades en la adición de fuentes de enzima de manera aséptica, resultando en un elevado riesgo de contaminación bacteriana y/o fúngica durante la conversión del ácido glutámico en ácido γ -aminobutírico. Con las técnicas

descritas en el documento de patente 2, el ácido glutámico se convierte en ácido γ -aminobutírico en los tomates debido a cambios en las rutas metabólicas al introducir los tomates en condiciones anóxicas. Sin embargo, de manera similar, también se han producido problemas tales como una eficiencia de conversión reducida, de aproximadamente 40% (Ejemplo 6), y también dificultades para obtener condiciones libres de oxígeno de manera aséptica, resultando en un elevado riesgo de contaminación bacteriana y/o fúngica durante la conversión del ácido glutámico en ácido γ -aminobutírico. Con las técnicas descritas en el documento de patente nº 3, debido a que la fermentación no tiene lugar sin la adición de ácido glutámico para producir ácido γ -aminobutírico, se han producido problemas económicos y el etiquetado desfavorable de las descripciones de los ingredientes.

10 Sumario de la invención

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas que contienen una concentración elevada de ácido γ -aminobutírico que presenta una elevada eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico sin necesidad de añadir ingredientes adicionales y que resulta sencillo y fácil, y productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico obtenido a partir de dicho procedimiento de producción.

Como resultado del comentario de un procedimiento para convertir el ácido glutámico presente en los tomates en ácido γ -aminobutírico con elevada eficiencia, los presentes inventores se centraron en el grado de coloración de un filtrado de tomate. A continuación, se descubrió que mediante la fermentación de los tomates, el grado de coloración de los cuales se encuentra comprendido dentro de un intervalo específico con bacterias del ácido láctico, el ácido glutámico puede convertirse en ácido γ -aminobutírico con elevada eficiencia. Además, dicho procedimiento se descubrió que no requería la adición adicional de ingredientes, presenta un riesgo reducido de contaminación bacteriana y/o fúngica durante la producción, y resulta sencillo y fácil para completar la presente invención.

En otras palabras, la presente invención proporciona un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico, caracterizado porque somete productos de tomate tratados el filtrado de los cuales presenta un grado de coloración comprendido en un intervalo de entre 0,02 y 0,2 tras ajustar el contenido de azúcar al 3%, a la fermentación con bacterias del ácido láctico. Además, la presente invención proporciona un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de γ -aminobutírico en los que 60% o más del ácido glutámico o de las sales del mismo presentes en los productos de tomate tratados se convierte en ácido γ -aminobutírico. Además, la presente invención proporciona un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un contenido elevado de ácido γ -aminobutírico en el que los productos de tomate tratados se someten a fermentación con bacterias del ácido láctico tras ajustar el contenido de azúcar de los mismos en un intervalo comprendido entre 3% y 15%. Además, la presente invención proporciona un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico en el que la fermentación por bacterias del ácido láctico se lleva a cabo tras ajustar el contenido de sólidos insolubles presentes en los productos de tomate tratados a 5% en volumen o menos. Adicionalmente, la presente invención proporciona productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico obtenidos con dichos procedimientos de producción.

Según la presente invención, un procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas que contienen una elevada concentración de ácido γ -aminobutírico que presenta una elevada eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico sin necesidad de añadir ningún ingrediente adicional, y que resulta sencillo y fácil, y pueden obtenerse productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico obtenidos a partir de dichos procedimientos de producción.

Descripción detallada de la invención

Los medios de procesamiento de tomates para obtener productos de tomate tratados utilizados en la presente invención no se encuentran particularmente limitados. Entre los ejemplos de dichos medios se incluyen el exprimido, el molido, la trituración y el troceado de tomates, el secado o la concentración de tomates tratados de dichas maneras, obteniendo un sobrenadante de los productos de tomate tratados mediante centrifugación, o la clarificación en los productos de tomate tratados.

En la presente invención, el grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados necesita encontrarse en el intervalo comprendido entre 0,02 y 0,2 tras ajustar el contenido de azúcar de los mismos a 3%, resultando preferido el intervalo comprendido entre 0,02 y 0,15. En el caso de que el grado de coloración del filtrado exceda 0,2, se reduce rápidamente la eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico, aunque continúa la fermentación del ácido láctico. Aunque la causa de esta observación no es necesariamente evidente, se supone que se debe a la producción de sustancias que inhiben la conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico. Además, en el caso de que el grado de coloración del filtrado sea inferior a 0,02, el contenido del ácido glutámico mismo sería excesivamente reducido, resultando en la producción insuficiente de ácido γ -aminobutírico.

Los tomates crudos presentan un grado de coloración del filtrado en el intervalo comprendido entre 0,02 y 0,2 en el caso de que el contenido de azúcar sea del 3%. De acuerdo con lo expuesto anteriormente, los productos de tomate tratados, que todavía no se han calentado, presentan un grado de coloración del filtrado en un intervalo comprendido entre 0,02 y 0,2 en el caso de que el contenido de azúcar sea del 3%. Además, los productos de tomate tratados que se han calentado también presentan un grado de coloración del filtrado de 0,02 o superior en el caso de que el contenido

ES 2 316 025 T3

de azúcar sea del 3%. Incluso en el caso de que los productos de tomate tratados con un grado de coloración del filtrado superior a 0,2 con un contenido de azúcar del 3% se decoloren utilizando una resina de intercambio iónico o similar, o se diluyan con agua, por ejemplo, para ajustar el grado de coloración del filtrado a un intervalo comprendido entre 0,02 y 0,2, la eficiencia de conversión posterior de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico debida a la fermentación es reducida y no se obtiene el efecto de la presente invención.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, y considerando los puntos anteriores, los productos de tomate tratados utilizados en la presente invención en los que el grado de coloración del filtrado se encuentra comprendido entre 0,02 y 0,2 con un contenido de azúcar del 3%, pueden obtenerse mediante la utilización de productos de tomate tratados no calentados, o mediante el calentamiento, en caso apropiado, productos de tomate tratados no calentados, de manera que el grado de coloración del filtrado de los mismos se encuentra comprendido entre 0,02 y 0,2. Debido a que la proliferación de diversas bacterias y/o hongos, y la generación de productos por enzimas resultan altamente improbables durante el procedimiento de fermentación posterior con bacterias del ácido láctico al utilizar productos de tomate tratados no calentados, resulta preferente calentar, en caso apropiado, los productos de tomate tratados no calentados de manera que el grado de coloración del filtrado de los mismos se encuentre comprendido entre 0,02 y 0,2 para llevar a cabo la pasteurización y la activación de los enzimas. Tras el calentamiento, en caso apropiado, de los productos de tomate tratados no calentados de manera que el grado de coloración del filtrado de los mismos se encuentre comprendido entre 0,02 y 0,2, resulta posible diluir, en caso apropiado, lo resultante con agua o similar de manera aséptica con la condición de que el grado de coloración del filtrado de los mismos se encuentre comprendido en el intervalo de entre 0,02 y 0,2.

El grado de coloración del filtrado con un contenido de azúcar del 3% es de, por ejemplo, 0,03 en líquido no calentado obtenido mediante el exprimido de tomates, 0,1 en el líquido de tomates exprimidos que se ha calentado a 120°C durante 10 minutos, y 0,25 en el líquido de tomates exprimidos que se ha calentado a 130°C durante 30 minutos.

El grado de coloración del filtrado se correlaciona con la historia de calentamiento y cuanto más se ha calentado a temperatura elevada durante un tiempo prolongado, más se incrementa el grado de coloración del filtrado. Además, cuanto más elevado sea el grado de concentración de los productos de tomate tratados en el momento del calentamiento, más se incrementa el grado de coloración del filtrado. Aunque el calentamiento del líquido de tomate exprimido para la pasteurización no contribuye mucho a un incremento del grado de coloración del filtrado, debido a que los productos de tomate tratados altamente concentrados se calientan a temperatura elevada durante un tiempo prolongado en el momento de la concentración, el incremento del grado de coloración del filtrado es marcada. De acuerdo con lo expuesto anteriormente, los tomates sometidos a concentración en vacío o los productos secos de los mismos obtenidos mediante el secado adicional de los mismos presentan, en muchos casos, un grado de coloración del filtrado superior a 0,2 con un contenido de azúcar del 3%, y de esta manera resultan difíciles de utilizar como los productos de tomate tratados de la presente invención. Por otra parte, el zumo de tomate no tratado que se obtiene mediante prensado y exprimido de tomates con calentamiento, esterilización y enfriamiento simultáneos, o aquellos sometidos a concentración con membrana mediante la utilización de ultrafiltración, filtración de ósmosis inversa o similar pueden utilizarse como los productos de tomate tratados en la presente invención debido a que no se han calentado a temperatura elevada durante un tiempo prolongado.

El grado de coloración del filtrado se mide mediante el procedimiento posterior en la presente invención. En primer lugar, los productos de tomate tratados se ajustan con agua o similar de manera que el contenido de azúcar de los mismos sea 3%. En segundo lugar, lo resultante se filtra utilizando un papel de filtro (n° 5A fabricado por ADVANTEC). Un filtro de vidrio de tipo embudo (36060FNL3G4 fabricado por ASAHI TECHNO GLASS CORPORATION) con Hyflo super-cel (fabricado por Celite Co. y distribuido por Wako Pure Chemical Industries, Ltd., catálogo n° 534-2315) situado de manera que el grosor del mismo es aproximadamente 5 mm se recubre previamente con agua destilada. Los productos de tomate tratados filtrados anteriormente indicados se pasan a través de este filtro de vidrio de tipo embudo y se filtran adicionalmente con un filtro de membrana (DISMIC-25CS045AN fabricado por ADVANTEC) con un tamaño de poro de 0,45 μ m. Se mide la absorbancia a 450 nm utilizando un espectrofotómetro (U-3310, fabricado por HITACHI, LTD.) de los productos de tomate tratados obtenidos, y el valor obtenido se define como el grado de coloración del filtrado.

El contenido de azúcar de los productos de tomate tratados se encuentra preferentemente comprendido entre 3% y 15% y particularmente preferentemente entre 3% y 5%. En el caso de que el contenido de azúcar se encuentre comprendido entre 3% y 15%, la fermentación por bacteria del ácido láctico transcurre suficientemente y la eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico mejora adicionalmente. En el caso de que se utilicen productos de tomate tratados con un contenido de azúcar inferior a 3%, en primer lugar se mide el grado de coloración del filtrado con un contenido de azúcar del 3%, y después puede utilizarse agua estéril o similar para la dilución hasta obtener el contenido de azúcar diana. Además, el contenido de sólidos insolubles en los productos de tomate tratados preferentemente son de 5% en volumen o menos. En el caso de que el contenido de sólidos insolubles sea de 5% en volumen o menos, la fermentación por las bacterias del ácido láctico transcurre suficientemente y la eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico mejora adicionalmente. El ajuste del contenido de sólidos insolubles puede llevarse a cabo mediante filtración, tal como la filtración normal, la microfiltración y la ultrafiltración o la centrifugación.

El contenido de sólidos insolubles se mide mediante el procedimiento de la presente invención, posteriormente. Se introducen 10 ml de productos de tomate tratados en un tubo de centrifugación de 105 mm de longitud y se mide la

ES 2 316 025 T3

proporción de volumen de sedimento respecto al volumen total tras centrifugar el tubo bajo condiciones en las que el radio efectivo de giro es de 14,5 cm, el número de revoluciones es de 3.000 rpm y el tiempo de centrifugación es de 10 minutos, y el valor obtenido se define como el contenido de sólidos insolubles.

5 Dichos productos de tomate tratados se fermentan con bacterias del ácido láctico en la presente invención. Se prefiere *Lactobacillus brevis* como la bacteria del ácido láctico y resultan particularmente preferentes las cepas de *Lactobacillus brevis* IFO3345, *Lactobacillus brevis* IFO3960, *Lactobacillus brevis* IFO12005 y *Lactobacillus brevis* IFO 12520. Todas dichas cepas bacterianas pueden obtenerse del NITE Biological Resource Enter (NBRC), Japón. Estas cepas bacterianas pueden utilizarse por sí solas o combinando dos o más cepas en la presente invención.

10 Para cultivar las bacterias del ácido láctico, resulta preferida la adición de producto precultivado, que se obtiene mediante la adición de bacterias del ácido láctico a productos de tomate ya pasteurizados y cultivándolos previamente, resulta preferente desde las perspectivas de la eficiencia de producción y la estabilidad. Respecto a las condiciones de preparación de productos de tomate tratados pasteurizados al preparar el producto precultivado, resultan preferidas 15 temperaturas comprendidas entre 80°C y 110°C durante un periodo de 1 a 20 minutos, aunque no existe ninguna limitación particular. Para las condiciones de precultivo de las bacterias, resulta preferido cultivarlas a la temperatura óptima de las bacterias del ácido láctico que deben utilizarse, por ejemplo entre 25°C y 42°C durante un periodo de 8 a 48 horas, aunque no existe ninguna limitación particular. El número de células de bacterias del ácido láctico en el producto precultivado preferentemente se encuentra comprendido entre 10^7 y 10^9 cfu/ml.

20 La proporción añadida del producto precultivado de las bacterias del ácido láctico anteriormente indicadas respecto a los productos de tomate tratados preferentemente se encuentra comprendida entre 0,1 y 20% en masa y resulta particularmente preferido que se encuentre comprendida entre 0,1 y 10% en masa. Respecto a las condiciones de fermentación, resulta preferida la temperatura óptima para las bacterias del ácido láctico que deben utilizarse, de entre 25°C y 42°C durante 12 a 96 horas.

El producto fermentado de las bacterias del ácido láctico obtenido tal como se ha descrito anteriormente presenta una elevada eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico, de por lo menos 60%, o superior, y contiene una concentración elevada de ácido γ -aminobutírico. Mediante la fermentación con bacterias del ácido 30 láctico, puede alcanzarse una eficiencia de conversión más elevada de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico en comparación con el caso en el que se utilizan enzimas específicos o fuentes de enzima que contienen los enzimas específicos. Además, la conversión de ácido glutámico en ácido γ -aminobutírico con elevada eficiencia puede conseguirse sin la adición de ácido glutámico aparte del originado en los tomates. Además, la eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico se calcula con la ecuación siguiente.

[Ecuación 1]

$$40 \quad \text{Eficiencia de conversión (\%)} = \frac{[GABA]}{[GABA]_{\max}} = \frac{[GABA] - [GABA]_0}{[Glu]_0 \times \frac{103.1}{147.1}} \times 100$$

45 GABA se refiere en la presente memoria a ácido γ -aminobutírico [GABA] y es la concentración de ácido γ -aminobutírico tras completar la fermentación. $[GABA]_{\max}$ describe la concentración de ácido γ -aminobutírico en el caso en que la totalidad del ácido glutámico antes de la fermentación se ha convertido a ácido γ -aminobutírico mediante fermentación y $[GABA]_0$ es la concentración de ácido γ -aminobutírico en el momento de iniciarse la fermentación. $[Glu]_0$ es la concentración de ácido glutámico en el momento de iniciarse la fermentación y 147,1 y 103,1 son pesos 50 moleculares del ácido glutámico y del ácido γ -aminobutírico, respectivamente.

Pueden prepararse productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico producido mediante el procedimiento de la presente invención en formas tales como zumo de tomate, puré de tomate y salsa de tomate. Además, dichos productos pueden añadirse a productos alimenticios tales como frutas y verduras diferentes 55 de tomates, zumos de fruta, zumos de verdura, leche de soja, mosto de cerveza, leche, yogur y otros. A continuación, se describe la presente invención en más detalle mediante ejemplos, aunque la presente invención no se encuentra limitada por los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1

60 El líquido obtenido mediante el exprimido de tomates se concentró hasta que el contenido de azúcar era de 20% utilizando una membrana de ósmosis inversa (AFC99, fabricado por PCI) y a continuación se diluyó con agua hasta que el contenido de azúcar era de 5% (en lo sucesivo denominado "producto de tomate diluido al 5%"). Se introdujeron 10 ml del producto de tomate diluido al 5% en una probeta de 18 mm \varnothing y se pasteurizó mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos. Se añadieron bacterias del ácido láctico (cepa *Lactobacillus brevis* IFO3960) obtenidas de 65 NBRC a lo anterior y se precultivaron a 30°C durante 18 horas (producto precultivado). Separadamente de lo anterior, se introdujeron 200 ml del producto de tomate diluido al 5% en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 1). El grado de coloración del

ES 2 316 025 T3

filtrado de los productos de tomate tratados 1 tras ajustar el contenido de azúcar a 3% era de 0,13. La muestra 1 se obtuvo mediante la adición de 2 ml del producto precultivado a los productos de tomate tratados 1 y se cultivó lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este tiempo era de 20% en volumen.

5 Ejemplo 2

Se concentró el líquido obtenido mediante el exprimido de tomates hasta que el contenido de azúcar era de 20% utilizando una membrana de ósmosis inversa (AFC99, fabricada por PCI) y después se diluyó con agua hasta que el contenido de azúcar era de 3% (en lo sucesivo denominado “producto de tomate diluido al 3%”). Se introdujeron 200 ml del producto de tomate diluido al 3% en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 2). El grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados 2 era de 0,12. La muestra 2 se obtuvo mediante la adición de 2 ml del producto precultivado de los productos de tomate tratados 2 y cultivando lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este momento era de 15% en volumen.

15 Ejemplo 3

Se concentró el líquido obtenido mediante el exprimido de tomates hasta alcanzar un contenido de azúcar de 20% utilizando una membrana de ósmosis inversa (AFC99, fabricada por PCI) y después se diluyó con agua hasta que el contenido de azúcar era de 3% y lo resultante se centrifugó durante 10 minutos a 3800Xg utilizando una centrífuga (CR20, fabricada por HITACHI, LTD.) y se recogió el sobrenadante (en lo sucesivo denominado “producto sobrenadante diluido al 3%”). Se introdujeron 200 ml del producto sobrenadante diluido al 3% en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó a 95°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 3). El grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados 3 era de 0,11. Se obtuvo la muestra 3 mediante la adición de 2 ml del producto precultivado a los productos de tomate tratados 3 y cultivando lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este momento era de 1% en volumen.

Ejemplo 4

Se concentró el líquido obtenido mediante el exprimido de tomates hasta un contenido de azúcar de 20% utilizando una membrana de ósmosis inversa (AFC99, fabricada por PCI) y después se diluyó con agua hasta un contenido de azúcar de 5% y lo resultante se centrifugó durante 10 minutos a 3.800Xg utilizando una centrífuga (CR20, fabricada por HITACHI, LTD.) y el sobrenadante se recogió (en lo sucesivo denominado “producto sobrenadante diluido al 5%”). Se introdujeron 200 ml del producto sobrenadante diluido al 5% en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 4). El grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados 4). El grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados 4 tras ajustar el contenido de azúcar a 3% era de 0,14. La muestra 4 se obtuvo mediante la adición de 2 ml del producto precultivado a los productos de tomate tratados 4 y cultivando lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este momento era de 2% en volumen.

40 Ejemplo 5

Se concentró el líquido obtenido mediante el exprimido de tomates hasta alcanzar un contenido de azúcar de 20% utilizando una membrana de ósmosis inversa (AFC99, fabricada por PCI) y después se diluyó con agua hasta un contenido de azúcar de 10% y lo resultante se centrifugó durante 10 minutos a 3.800Xg utilizando una centrífuga (CR20, fabricada por HITACHI, LTD.) y se recogió el sobrenadante (en lo sucesivo denominado “producto sobrenadante diluido al 10%”). Se introdujeron 200 ml del producto sobrenadante diluido al 10% en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 5). El grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados 5 tras ajustar el contenido de azúcar a 3% era de 0,14. Se obtuvo la muestra 5 mediante la adición de 2 ml del producto precultivado a los productos de tomate tratados 5 y cultivando lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este momento era de 4% en volumen.

Ejemplo de ensayo 1

55 Los muestras anteriores 1 a 4 y la muestra 5 se diluyeron (en volumen) 10 veces y 20 veces, respectivamente, con ácido 5-sulfosalicílico acuoso al 3% y las diluciones resultantes se filtraron utilizando un filtro de membrana (DISMIC-25CS045AN, fabricado por ADVANTEC) y se midieron sus cantidades de ácido γ -aminobutírico utilizando un autoanizador de aminoácidos (L-8800A, fabricado por HITACHI, LTD.). Se calcularon las cantidades de ácido γ -aminobutírico a partir de una curva de calibración preparada utilizando ácido γ -aminobutírico (fabricado por ACROS ORGANICS). Además, las cantidades de ácido glutámico en los productos de tomate tratados anteriores 1 a 5 se midieron utilizando el autoanizador de aminoácidos anterior. Posteriormente, se calculó la eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico de acuerdo con la ecuación 1 anteriormente indicada. Se muestran los resultados en la Tabla 1.

65

ES 2 316 025 T3

TABLA 1

Ejemplo	Grado de coloración del filtrado con un contenido de azúcar de 3%	[Glu] ₀ (g/l)	[GABA] ₀ (g/l)	[GABA] (g/l)	Eficiencia de conversión (%)
Ejemplo 1	0,13	2,4	0,28	1,3	61
Ejemplo 2	0,12	1,4	0,20	0,90	71
Ejemplo 3	0,11	1,3	0,20	0,91	78
Ejemplo 4	0,14	2,3	0,29	1,7	87
Ejemplo 5	0,14	4,5	0,64	2,7	65

Tal como se pone de manifiesto a partir de la Tabla 1, todas las muestras de los Ejemplos 1 a 5 presentaban una elevada eficiencia de conversión de ácido γ -aminobutírico superior a 60%.

Ejemplo comparativo 1

Se introdujeron 200 ml del producto de tomate diluido al 5% en un matraz Erlenmeyer de 300 μ l y se pasteurizó a 125°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 6). El grado de coloración de filtrado de los productos de tomate tratados 6 tras ajustar el contenido de azúcar a 3% era de 0,27. Se obtuvo la muestra 6 mediante la adición de 2 ml del producto precultivado a los productos de tomate tratados 6 y el cultivo de lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este momento era de 20% en volumen.

Ejemplo comparativo 2

Se introdujeron 200 ml del producto sobrenadante diluido al 5% en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó mediante calentamiento a 125°C durante 10 minutos (productos de tomate tratados 7). El grado de coloración del filtrado de los productos de tomate tratados 7 tras ajustar el contenido de azúcar a 3% era de 0,24. Se obtuvo la muestra 7 mediante la adición de 2 ml del producto precultivado a los productos de tomate tratados 7 y el cultivo de lo resultante a 30°C durante 72 horas. El contenido de sólidos insolubles en este momento era de 2% en volumen.

Ejemplo comparativo 3

Se molió y se exprimió 1 kg de la parte comestible de la calabaza, obteniendo 0,7 kg de líquido exprimido. Se obtuvo la muestra 8 mediante la adición de 100 g del líquido exprimido anterior a 200 ml de los productos de tomate tratados 1 anteriores y se mantuvo a 30°C durante 4 horas.

Ejemplo comparativo 4

Se diluyó paste de tomate disponible comercialmente (fabricada por KAGOME CO., LTD.) hasta un contenido de azúcar de 10% con agua y tras añadir 0,5% en masa de extracto de levadura (fabricado por DIFCO) a lo anterior se introdujeron 200 ml de lo resultante en un matraz Erlenmeyer de 300 ml y se pasteurizó mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos. Se añadió la cepa *Lactobacillus brevis* IFO3960 a los anterior y se cultivo a 30°C durante 72 horas, obteniendo la muestra 9. Además, tras diluir la pasta de tomate disponible comercialmente (fabricada por KAGOME CO., LTD.) hasta un contenido de azúcar del 10% con agua y pasteurizar mediante calentamiento a 95°C durante 10 minutos, el grado de coloración del filtrado del mismo tras ajustar el contenido de azúcar a 3% era de 0,24.

Ejemplo de ensayo 2

Las muestras anteriores 6 y 8 y la muestra 9 se diluyeron (volumen) 10 veces y 20 veces, respectivamente, con ácido 5-sulfosalicílico acuoso al 3% y los resultantes se filtraron utilizando un filtro de membrana (DISMIC-25CS045AN, fabricado por ADVANTEC) y se midieron las cantidades de ácido γ -aminobutírico utilizando un autoanalizador de aminoácidos (L-8800A, fabricado por HITACHI, LTD.). Se calcularon las cantidades de ácido γ -aminobutírico a partir de una curva de calibración realizada utilizando ácido γ -aminobutírico (fabricado por ACROS ORGANICS). Además, se midieron las cantidades de ácido glutámico en los productos de tomate tratados anteriores 1, 6 a 8 utilizando el autoanalizador de aminoácidos anterior. Posteriormente, se calculó la eficiencia de conversión de ácido glutámico a ácido γ -aminobutírico de acuerdo con la ecuación 1 anteriormente indicada. Se muestran los resultados en la Tabla 2.

ES 2 316 025 T3

TABLA 2

Ejemplo	Grado de coloración del filtrado con un contenido de azúcar de 3%	[Glu] ₀ (g/l)	[GABA] ₀ (g/l)	[GABA] (g/l)	Eficiencia de conversión (%)
Ejemplo comparativo 1	0,24	2,4	0,29	0,81	31
Ejemplo comparativo 2	0,27	2,3	0,30	0,87	35
Ejemplo comparativo 3	0,45	1,7	0,22	0,49	23
Ejemplo comparativo 4	0,24 (sin extracto de levadura)	4,3	0,70	1,6	30

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tal como se pone de manifiesto a partir de la Tabla 2, todas las muestras de los Ejemplos comparativos 1 a 4 presentaban una eficiencia de conversión reducida de ácido γ -aminobutírico inferior al 40%. Además, se propagaron diversas bacterias y hongos en la muestra 8 del Ejemplo comparativo 3.

La presente invención puede utilizarse especialmente en el campo de los productos alimenticios naturales.

Aunque se han descrito e ilustrado anteriormente las formas de realización preferidas de la invención, debe entenderse que éstas son ejemplares de la invención y no deben considerarse limitativas. De acuerdo con lo expuesto anteriormente, la invención no debe considerarse como limitada por la descripción anterior, y únicamente se encuentra limitada por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

ES 2 316 025 T3

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico, en el que los productos de tomate tratados, el filtrado de los cuales presenta un grado de coloración comprendido entre 0,02 y 0,2 cuando se ajusta el contenido de azúcar a 3%, se fermentan con bacterias del ácido láctico.

10 2. Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico según la reivindicación 1, en el que el 60% o más del ácido glutámico o sales del mismo presentes en los productos de tomate tratados se convierte en ácido γ -aminobutírico.

15 3. Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico según la reivindicación 1 ó 2, en el que los productos de tomate tratados se fermentan con bacterias del ácido láctico tras ajustar el contenido de azúcar de los mismos a entre 3% y 5%.

20 4. Procedimiento para producir productos alimenticios y bebidas con un elevado contenido de ácido γ -aminobutírico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que los productos de tomate tratados se fermentan con bacterias del ácido láctico tras ajustar el contenido de sólidos insolubles de los mismos al 5% en volumen o menos.

25

30

35

40

45

50

55

60

65