



372185

REGISTRACION
C-12 A23
SOLICITANTE K D

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un.a

PATENTE DE INTRODUCCION

SOLICITANTE: UNILEVER N.V.

RESIDENCIA: Museumpark 1, ROTTERDAM, Holanda

ENUNCIADO: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION
DE UNA COMPOSICION CON AROMA A QUESO".

Prioridad: Patente n.º del.....

372185



1

Este invento se refiere a la preparación de una sustancia saborizante, especialmente a la preparación de una composición con aroma a queso.

5

El presente invento proporciona un procedimiento para la preparación de una composición que tiene aroma a queso, en la cual se cultivan en un medio muy graso los microorganismos capaces de producir el aroma a queso.

10

El micro-organismo empleado puede ser cualquier micro-organismo lipolítico no patógeno capaz de producir un aroma semejante al del queso. En especial, se obtienen buenos sabores con Penicillium sp. (especialmente Penicillium roqueforti), Candida lipolytica, Oidium lactis, Cladosporium sp. (especialmente Cladosporium butyri), Micrococcus sp. y Lipomyces sp.

15

El medio de alto contenido en grasas seleccionado para la producción del aroma a queso debe contener adecuadamente entre 30 % y 80 % de grasa, preferiblemente entre 40 % y 60 % de la misma.

20

La grasa puede ser de origen animal, por ejemplo la separada de la leche o de origen vegetal, por ejemplo aceite de coco o aceite de soja. La grasa preferida para uso de acuerdo con el invento es la obtenida a partir de la leche de vaca o de búfalo.

25

El medio alto en grasas debe contener, además de la grasa, hidratos de carbono, proteínas, sales minerales, elementos traza, vitaminas y otros factores del crecimiento en la cantidad que sea necesaria para sostener el crecimiento del micro-organismo empleado. Un medio alto en grasas especialmente adecuado, que en general cumple estos requisitos en lo que se refiere al contenido en grasas y en otros agen

30



1 tes nutritivos, es la nata de vaca o de búfalo.

El medio alto en grasas debe ser inoculado transfiriendo al mismo células jóvenes en desarrollo activo del micro-organismo elegido, preferiblemente después de haber sido sub-cultivadas en un medio de sub-cultivo líquido o sólido adecuado.

El medio de sub-cultivo líquido conteniendo las células en crecimiento activo puede ser agregado directamente al medio alto en grasas o bien las células pueden ser separadas del líquido que sobrenada, opcionalmente lavadas y después agregadas al medio alto en grasas. En el último caso las células pueden ser separadas, por ejemplo, por centrifugación.

15 Cuando se emplea un medio de sub-cultivo sólido, las células pueden ser cultivadas convenientemente sobre la superficie del medio, separadas raspando esta superficie cuando se encuentran en un estado de activo crecimiento, opcionalmente lavadas y después transferidas al medio alto en grasas.

20 Un medio de sub-cultivo especialmente adecuado para la preparación de células jóvenes en crecimiento activo, adaptado para la producción posterior de un intenso aroma a queso en el medio alto en grasas, es aquél con un bajo contenido en proteínas. Es conveniente que el medio de sub-cultivo contenga de 0,1 a 3,0 % en proteínas, preferiblemente de 1,0 % a 2,0 %. Hemos observado que pueden producirse natas pútridas indeseables con medios de sub-cultivo que contengan más del 3 % de proteínas.

30 El pH del medio de sub-cultivo puede ser ajustado a cualquier valor en el que los micro-organismos puedan desa-

372 185



9 OCT. 1938

1 rrollarse, pero preferiblemente el pH se ajusta a un valor
comprendido entre 4,0 y 5,0. Un medio de sub-cultivo espe-
cialmente adecuado es el caldo de suero a un pH de 4,5.

5 El medio de sub-cultivo puede ser incubado a una tem-
peratura óptima para el desarrollo del micro-organismo se-
leccionado. En general, esta se encuentra entre 20° y 40°C.
Normalmente es necesario incubar este medio durante un pe-
riodo de tiempo no superior a 7 días, siendo un tiempo es-
pecialmente adecuado el de unas 48 horas.

10 Cuando se utiliza un medio de sub-cultivo líquido,
puede ser incubado sin agitación, pero hemos encontrado
que es preferible agitar y airear con objeto de obtener un
cultivo de activo crecimiento adecuado para la producción
de un intenso aroma a queso después de la transferencia al
15 medio alto en grasas.

Quando se emplea un medio de sub-cultivo sólido, es
preferible utilizar una incubación aerobia.

20 Como alternativa, puede omitirse el uso de un medio
de sub-cultivo y el medio alto en grasas puede ser inoculado
con células o esporas del organismo seleccionado que no es-
tán necesariamente en un estado activo de crecimiento. Así,
pueden transferirse directamente unas células o esporas en
repose o durmientes al medio alto en grasas, incubando en
condiciones adecuadas para la producción del deseado aroma
25 a queso, sin recurrir a un medio de sub-cultivo. No obstan-
te, la calidad del aroma a queso obtenido empleando este
procedimiento, aunque es adecuada para la mayor parte de
los fines, puede no ser tan buena como la obtenida cuando
se emplea un medio de sub-cultivo para acondicionar un cul-
30 tivo de células en activo crecimiento para la transferencia

372185



1 al medio alto en grasas.

5 El medio alto en grasas inoculado se incuba adecuadamente a una temperatura comprendida entre 25°C y 40°C, preferiblemente a unos 28-32°C. Aunque la incubación puede realizarse sin agitación, generalmente se prefiere aplicar agitación con aireación, con objeto de desarrollar un buen aroma a queso exento de olores secundarios. La incubación debe proseguirse hasta que se obtiene un intenso aroma a queso. Esto se consigue generalmente después de unas 48 ho-
10 ras, pero puede ser necesario variar el tiempo de incubación, según la temperatura, velocidad de agitación y de aireación y vigor de las variedades seleccionadas de microorganismos.

15 La composición intensamente aromática así obtenida puede ser esterilizada, por ejemplo calentando y después agregada directamente al producto alimenticio sin ningún otro tratamiento. Si no se requiere para uso inmediato, puede ser secada, por ejemplo mediante secado por atomización.

20 Los siguientes ejemplos se incluyen para ilustrar el invento.

EJEMPLO 1

Preparación del Inoculum

25 Se inocula un medio de caldo de suero (pH 4,5) con un cultivo en intenso crecimiento de Candida lipolytica previamente cultivada durante 48 horas en agar de triptona y tomate. A cada 50 ml de medio de caldo de suero se agregan aproximadamente 30 millones de células de este cultivo. Este caldo se incuba a 24-26°C en condiciones de agitación constante y aireación. Para este último fin, se introduce
30 aire esterilizado en la vasija de fermentación a razón de

372195



1 1,2 litros de aire por minuto. Para controlar la formación de espuma, se agrega 0,05 % de aceite de silicona.

Al cabo de 24 horas de incubación, se añade una cantidad de caldo de suero estéril, fresco, suficiente para compensar las pérdidas debidas a la evaporación. Se permite que la fermentación transcurra durante 24 horas más, con un tiempo de fermentación total de 48 horas.

Preparación de composiciones saborizantes

Se utilizan aproximadamente $2,15 \times 10^{10}$ células de Candida lipolytica cultivadas en el caldo para inocular 200 g de nata estéril de búfalo conteniendo 50 % de grasas. La nata inoculada se sacude y se airea a 37°C. Al cabo de 48 horas, la nata inoculada ha adquirido un intenso aroma a queso y es utilizada como materia básica para la preparación de ghee (mantequilla india semi-fluída).

EJEMPLO 2

Se repite el procedimiento del Ejemplo 1 a excepción de que el micro-organismo empleado es el Oidium lactis y la temperatura de incubación del caldo de suero y de los cultivos de nata está comprendida entre 24°C y 40°C.

EJEMPLO 3

Se repite el procedimiento del Ejemplo 1 a excepción de que el micro-organismo empleado es Cladosporium butyri y el cultivo de caldo de suero se incuba a unos 25°C durante 72 horas. Se obtiene un intenso aroma a queso.

EJEMPLO 4

Se repite el procedimiento del Ejemplo 1 a excepción de que el micro-organismo empleado es Micrococcus sp. que es utilizado para inocular el medio del caldo de suero. Este cultivo es incubado durante 4 días a una temperatura com

372185



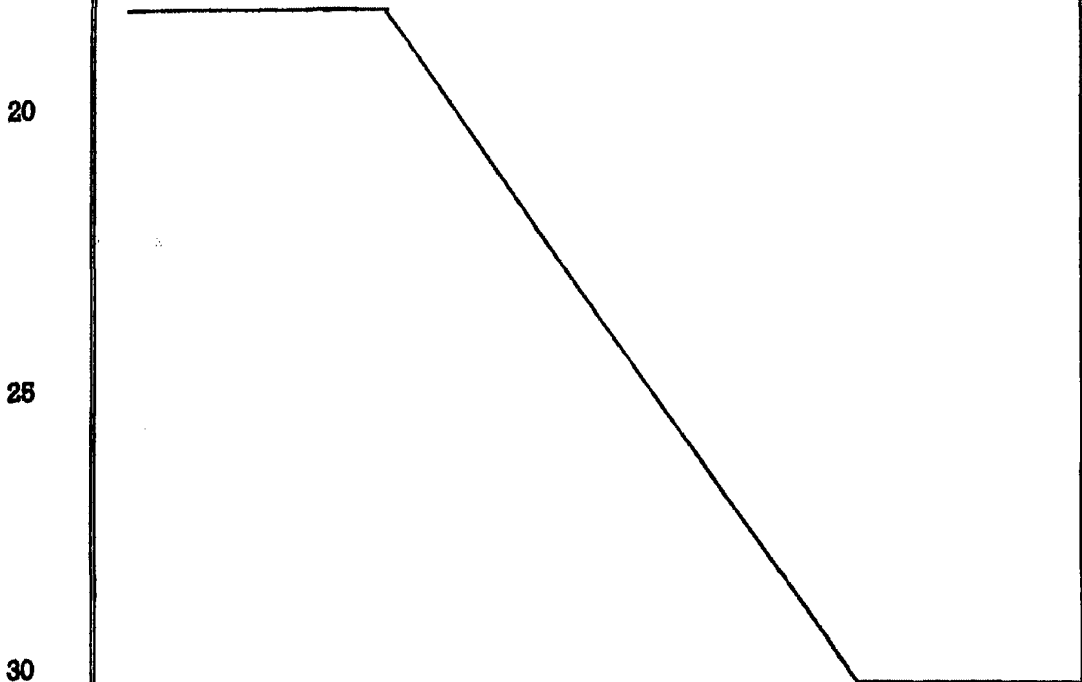
1 prendida entre 30°C y 37°C aproximadamente.

EJEMPLO 5

5 Este ejemplo ilustra el uso de Penicillium roqueforti en combinación con Candida lipolytica para la producción de un aroma del tipo de queso azul.

Se inoculan directamente unas células de Candida lipolytica procedente de cultivos de ágar inclinado en nata estéril y se incuba a 30°C durante 48 horas con la aireación acostumbrada. Transcurrido este tiempo, la nata se calienta a 80°C durante 30 minutos. A continuación se enfría a 40°C y se añaden esporas de Penicillium roqueforti (aproximadamente 30 millones por 100 g de nata). La nata se incuba de nuevo durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se ha producido un intenso aroma a queso azul y la nata se seca por atomización y se almacena.

15 En resumen, la Patente de Introducción que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:



372⁸185
REIVINDICACIONES

Nº 372.185



1

1. Un procedimiento para la preparación de una composición con aroma a queso, caracterizado por las etapas siguientes:

5

a) inocular en un medio de sub-cultivo un micro-organismo lipolítico seleccionado entre el grupo formado por Penicillium Candida lipolytica, Oidium lactis, Cladosporium sp., Micrococcus sp., y Lipomyces sp.,

10

b) incubar el medio de sub-cultivo a una temperatura de crecimiento apropiada para el micro-organismo seleccionado a fin de proporcionar células del micro-organismo que crecen activamente.

15

c) inocular en un medio de cultivo que contiene de 30-80% de grasa con células del micro-organismo que crecen activamente tomadas del medio de sub-cultivo, conteniendo el medio de cultivo otros nutritivos los cuales, junto con la grasa, son capaces de mantener un crecimiento adicional del micro-organismo, y

20

d) incubar el medio de cultivo inoculado a una temperatura de crecimiento apropiada para el organismo seleccionado, para obtener de esta forma la composición con aroma a queso.

25

2. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado porque el medio de sub-cultivo contiene de 0,1 a 3,0 %, preferiblemente de 1,0 a 2,0 % de proteínas.

30

3. Un procedimiento de acuerdo con las Reivindicaciones 1 ó 2, caracterizado porque el medio de sub-cultivo tiene un pH de 4,0 a 5,0.

4. Un procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 3, caracterizado porque el medio de sub-cultivo es cal

372185



1

do de suero con un pH de 4,5 aproximadamente.

5. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el medio de cultivo contiene de 40 a 60 % de grasa.

5

6. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-5, caracterizado porque la grasa es grasa de leche.

10

7. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el medio de cultivo es nata de leche de vaca.

8. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-6, caracterizado porque el medio de cultivo es nata de leche de búfalo.

15

9. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones 1-5, caracterizado porque la grasa es grasa vegetal.

20

10. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la composición con aroma a queso se seca por secado por atomización.

11. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Introducción que se solicita:
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION CON AROMA A QUESO.

25

30

372185



1

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de diez páginas mecanografiadas.

5

Madrid 3 de Octubre de 1.969

BERNARDO UNGRIA

P.P.

10

15

20

25

30