(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 557 160**

(51) Int. Cl.:

A23L 1/23 (2006.01)
A23C 9/13 (2006.01)
A23C 9/12 (2006.01)
A23C 9/123 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2006** **E 06022153 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.11.2015** **EP 1915913**

(54) Título: **Modulación del aroma y el sabor mediante biotransformación en productos lácteos**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.01.2016

(73) Titular/es:

NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH

(72) Inventor/es:

BRAUN, MARCEL

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 557 160 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

Modulación del aroma y el sabor mediante biotransformación en productos lácteos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para estimular los sabores y aromas naturales en productos de base láctea, a un método para fabricar dichos productos lácteos y a los productos que pueden obtenerse de esa forma.

Antecedentes de la invención

De manera tradicional, en la producción de productos lácteos tales como queso, mantequilla, etc., los aromas característicos se desarrollan durante la fermentación de la fuente láctea por bacterias.

En años recientes, se han desarrollados novedosos agentes aromatizantes que se pueden añadir a los productos lácteos para mejorar el sabor. Estos agentes aromatizantes se obtienen tradicionalmente tratando una fuente láctea con enzimas, microorganismos, etc. Por ejemplo, varias publicaciones describen la fermentación de una fuente láctea con microorganismos y enzimas tales como lipasas, proteasas etc. para producir aromas que se pueden aislar y utilizar en la fabricación de productos lácteos aromatizados tales como queso, leche, leche fermentada, etc. Entre estas publicaciones se encuentran los documentos CA 1220075, EP 137536, JP 2003-250482, JP 3127962, JP 5049385, JP 2002-142713, JP 5091851, JP 58043755, JP 6125733, JP 64002549, EP 1053689, EP 1186244, US 3858492, JP 74015785, JP 2004-267126, JP 6319448, US 6635303 B1, JP 80043742, JP 2005-151895, JP 30120942, JP 74015784, JP 3175978, JP 2004-236638, JP 4169166, JP 9037735, US 3975544, WO 0147366. Los aromas así obtenidos se describen como aromas "lácteos" y por tanto actúan como potenciadores del aroma de productos lácteos.

Sin embargo, existen informes limitados acerca de un proceso similar al anteriormente descrito para proporcionar aromas diferentes de los aromas "lácteos" tales como, por ejemplo, chocolate, aromas frutales, etc.

El documento DE 23 62 998 describe un proceso que implica la proteólisis de un producto lácteo con enzimas o microorganismos seguido opcionalmente de la fermentación del producto lácteo usando bacterias tales como *Lactobacillus* o *Streptococcus*. Este producto lácteo pretratado se calienta después en presencia de cisteína y el producto resultante contiene una elevada concentración de agente aromatizante y se puede secar o utilizar en forma de una solución de pasta.

El documento EP 1186244 describe un sistema aromatizante de queso natural biogenerado que se puede utilizar para preparar quesos muy diferentes que tengan perfiles de aroma deseados. Más específicamente, el sistema aromatizante de queso comprende un componente con aroma de cheddar-sulfurado, un componente con aroma de nata-mantequilla, y un componente con aroma de queso. Cada uno de estos componentes aromatizados se puede utilizar como componentes básicos del aroma con sus propios perfiles y/o características de aroma específicos. Mediante el uso de diversas combinaciones de los componentes aromatizados se pueden producir quesos que tienen una amplia variedad de aromas. Los componentes aromatizados se preparan por separado a partir de un sustrato lácteo muy concentrado usando composiciones (por ejemplo, enzimas específicas, cultivos y aditivos) y condiciones de proceso diseñadas para proporcionar componentes aromatizados que tienen perfiles y/o características de aroma específicos. Los concentrados de aroma se pueden usar en queso procesado, productos de tipo queso procesado, u otros quesos para producir quesos muy diferentes con los perfiles de aroma deseados. También se pueden utilizar concentrados de aroma como sistema aromatizante natural en otros productos alimenticios.

El documento WO 02/00845 describe una forma de obtener productos fermentados con aroma de chocolate fermentando una fuente de leche con un cultivo mixto de microorganismos. Este método, sin embargo, tiene un alcance limitado en lo que respecta a los aromas obtenidos y en lo que respecta a las aplicaciones.

El documento 4.675.193 (también CA 1220075) describe un proceso en dos etapas para producir una sustancia con aroma de queso. Un medio de desarrollo del aroma se fermenta con una fuente de lipasa/proteasa; la fuente de lipasa/proteasa está inactivada, y el medio de desarrollo del aroma se fermenta mediante al menos un microorganismo productor de ácido láctico que posteriormente se desactiva. La fuente de lipasa/proteasa es preferentemente un microorganismo, especialmente *Candida lypolitica* ATCC 20234. También se describen la sustancia con aroma de queso producida mediante el proceso y los alimentos que contienen la sustancia con aroma de queso producida mediante el proceso.

El documento US 5.385.743 describe un proceso para la preparación de un aroma de yogur. El proceso comprende la fermentación de un medio de suero lácteo que comprende agua y sólidos de suero lácteo con un fermento bacteriano de yogur convencional.

El documento 3.858.492 describe que el aroma de los alimentos lácteos queda potenciado con un buen aroma lácteo de una forma sencilla y en un tiempo más corto poniendo en contacto el alimento con una sustancia que contiene enzimas derivada de un microorganismo que pertenece al grupo de los basidiomicetos.

Un documento de Al-Ruqaie *et al.* (Journal of Dairy Research, Vol. 54, número 03, agosto de 1987, pp 429-435) se titula "Improvement in the quality of the dried fermented milk product, oggtt". El documento de Al-Ruqaie *et al.* describe la preparación de un producto de leche fermentada desecado en el que una leche pasteurizada se fermenta usando un fermento de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*. La fermentación se finaliza hirviendo o añadiendo sal, y el producto se seca hasta un contenido en humedad inferior al 10 %. El producto final puede comprender la adición de un componente de aroma.

El documento GB 823556 describe una leche en polvo con aroma a chocolate fácilmente dispersable en agua fabricada mediante la mezcla mecánica de un polvo o concentrado de leche desnatada o leche entera y un polvo con aroma a chocolate. La preparación contiene preferentemente un agente edulcorante, por ejemplo, sacarosa, dextrosa, fructosa, maltosa o sacarina, incorporada durante la mezcla, o después. También se pueden incorporar almidones, gomas, carboximetilcelulosa, y lecitina.

El documento JP 2002 306062 describe un método para producir una leche en polvo que tiene sabor a caramelo llevando a cabo una reacción de Maillard en las proteínas lácteas de leche de vaca, leche condensada o mantequilla con un aceite y grasa vegetal, un azúcar, etc.

El documento JP 2002 034449 describe un método para fabricar material alimenticio en polvo que tiene un estado pulverulento, comprendiendo el método las etapas: los azúcares se calientan para fabricar caramelo; al caramelo resultante, se añade un producto de leche primario para preparar una solución láctea de partida; la solución láctea de partida preparada se calienta hasta su pardeamiento; la solución se enfría y se somete a secado por pulverización para obtener un polvo secado por pulverización. El material alimenticio pulverulento obtenido puede transmitir eficazmente sabor a caramelo a diferentes alimentos cuando se utiliza como materia prima de diversos alimentos.

El documento WO 2006/079420 describe un proceso para preparar un producto nutritivo que contiene un hidrato de carbono deshidratado. El proceso comprende preparar un concentrado líquido con un contenido reducido en hidratos de carbono, pulverizar el concentrado líquido en un secador mediante pulverización e incorporar el resto del contenido de hidratos de carbono en el producto nutritivo mediante el soplado de partículas sólidas de hidratos de carbono en el secador mediante pulverización y extraer el producto nutritivo que incluye hidratos de carbono del secador mediante pulverización. El proceso reduce sustancialmente el problema del ensuciamiento del secador mediante pulverización.

El documento CN 1506108 describe un polvo de leche compuesta que se prepara mediante la obtención de zumo de, o por trituración de materiales vegetales, animales y minerales, incluyendo frutas y verduras; su mezcla con leche animal; la adición de vitaminas, elementos traza, aminoácidos, nucleótidos, quitina y sus derivados, glucosa y miel; concentración, esterilización, secado por pulverización, tamizado, enfriado y envasado. El polvo de leche compuesta es comestible, y se convierte en una mascarilla facial para un efecto de belleza.

El documento GB 1070400 describe un producto lácteo de valor nutritivo mejorado que se obtiene mediante adición a la leche de uno o más aminoácidos esenciales, seleccionados entre leucina, isoleucina, valina, treonina, lisina, fenilalanina, triptófano y metionina, para mejorar el valor nutritivo, y glutamato monosódico junto con uno o más aminoácidos seleccionados entre glicina, calamina, serina, y treonina, para mejorar el aroma y el olor. La leche se puede condensar o desecar. El documento DE 148419 describe un proceso para obtener extractos de tipo cárnico a partir de leche mediante el uso de enzimas para escindir los enlaces peptídicos de la leche.

El documento WO 2005/041675 describe el uso de al menos una bacteria que produce una bacteriocina y que pertenece al género *Pediococcus* para aromatizar un producto lácteo.

El documento WO 01/32905 describe un proceso para preparar un producto que contiene péptidos antihipertensivos mediante la fermentación de un material de partida que contiene caseína con bacterias acidolácticas. El documento WO 01/32905 describe además el producto obtenido y su uso como producto funcional como tal o como un ingrediente o aditivo de sustancias comestibles.

Un documento de Kilpi *et al.* (International Dairy Journal, 2007, vol. 17, Nº 8, pp. 976-984) se titula "Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in milk fermented by wild-type and peptidase-deletion derivatives of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32". El documento de Kilpi *et al.* describe estudios del sistema proteolítico de *Lactobacillus helveticus*, que tiene un papel fundamental en la liberación de péptidos bioactivos durante la fermentación de la leche. El documento de Kilpi *et al.* describe el impacto de la actividad aminopeptidasa general (PepN) y X-prolil dipeptidil aminopeptidasa (PepX) de *L. helveticus* sobre el nivel de actividad inhibidora de la enzima convertidora de la angiotensina I (ACE) en leche fermentada.

Un documento de Gummalla (Journal of Dairy Science, 1999, vol. 80, Nº 10, pp. 2070-2077) se titula "Tryptophan catabolism by Lactobacillus casei and Lactobacillus helveticus cheese flavor adjuncts". El documento de Gummalla describe el catabolismo del Trp por adjuntos de aroma a queso *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus helveticus* en condiciones de privación de hidratos de carbono (pH 6,5, 30 o 37 ºC, sin azúcar) y casi maduración del queso (pH 5,2, NaCl al 4 %, 15 ºC, sin azúcar).

Para conseguir una gama de distintos aromas diferenciados, normalmente se añaden aromatizantes sintéticos artificiales a los productos lácteos. El uso de aromatizantes artificiales suele estar vinculado a una impresión negativa de los consumidores.

Por tanto, existe la necesidad de proporcionar una amplia diversidad de aromas de forma natural que se puedan utilizar en una amplia gama de alimentos, y que evite por tanto el uso de aromatizantes artificiales.

Sumario

En consecuencia, el presente objeto se consigue mediante las características de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan adicionalmente la idea central de la invención.

La presente invención propone en un primer aspecto un método para fabricar un producto de tipo leche en polvo, comprendiendo el método las siguientes etapas:

a. añadir al menos un aminoácido a una fuente láctea en la que el al menos un aminoácido se selecciona entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y sus mezclas,

b. añadir al menos un microorganismo a la fuente láctea en la que el microorganismo produce en condiciones de fermentación al menos una enzima que puede convertir el aminoácido,

c. fermentar la fuente láctea, en el que se añaden las enzimas adicionales lipasa y lactasa al principio de la fermentación o en una etapa posterior, en el que la enzima o enzimas producidas por el microorganismo convierten el o los aminoácidos en componentes adicionales y

d. desecar la fuente láctea fermentada con el fin de producir un producto de tipo leche en polvo.

Figuras

La presente invención se describe adicionalmente en lo sucesivo en el presente documento con referencia a algunas de sus realizaciones mostradas en los dibujos adjuntos en los que:

- La Fig. 1 es un diagrama de flujo que muestra las etapas del método en la producción de una leche en polvo con aroma a miel dulce.
- La Fig. 2 es un diagrama de flujo que muestra las etapas del método en la producción de una leche en polvo con aroma a miel dulce y mantequilla de nata
- La Fig. 3 es un diagrama de flujo que muestra las etapas del método en la producción de una leche en polvo con aroma a malta y chocolate.
- La Fig. 4 es un diagrama de flujo que muestra las etapas del método en la producción de una leche en polvo con aroma a malta, chocolate y miel.
- La Fig 5 representa gráficamente una serie de reacciones químicas que pueden conducir a compuestos responsables del aroma a miel.
- La Fig 6 representa una serie de reacciones químicas que pueden conducir a compuestos responsables del aroma a cacao y malta.
- La Fig 7 representa una reacción química que puede conducir a compuestos responsables del aroma a cacao/café.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a productos de tipo leche en polvo. Por productos de tipo leche en polvo se entienden productos que tienen el mismo aspecto y consistencia de la leche en polvo, están basados en leche, pero están fabricados de una manera diferente.

El método para producir el producto de tipo leche en polvo de acuerdo con la invención comprende, en una primera etapa, la adición de al menos un aminoácido a una fuente láctea. Como aminoácido se puede utilizar cualquier aminoácido. El aminoácido también se puede añadir a la fuente láctea en una cantidad de 0,01 a 2 % en peso, preferentemente en una cantidad de 0,03-1,0 % en peso, más preferentemente 0,05-0,2 % en peso de materia seca.

La fuente láctea puede estar tratada con UHT, pasteurizada o no pasteurizada. Se puede seleccionar entre leche (entera, desnatada o semidesnatada), leche fresca, leche reconstituida, nata, suero de mantequilla, suero de leche, leche que contiene grasa vegetal, etc., y cualquier mezcla de los mismos.

Si la fuente láctea no está pasteurizada, la fuente láctea y la mezcla de aminoácidos se pueden pasteurizar o tratar a temperatura ultraelevada o esterilizarse en las condiciones típicas en el intervalo de 70 ºC a 150 ºC durante de 2 s a 20 min, por ejemplo 125 ºC durante 20 s. Como alternativa, la fuente láctea se puede calentar primero antes de añadir los aminoácidos, o antes del tratamiento con una proteasa y/o peptidasa para obtener al menos un aminoácido de la proteína láctea.

Opcionalmente, se puede añadir L-ramnosa a la fuente láctea.

A continuación, se añade a la fuente láctea, en una segunda etapa, al menos un microorganismo, en el que el microorganismo se ha seleccionado para producir al menos una enzima que pueda modificar el aminoácido. Dichas enzimas son, típicamente, las enzimas transamidasa, decarboxilasa, deshidrogenasa. También se pueden producir otras enzimas tales como la aldolasa. Opcionalmente, se pueden añadir aditivos tales como proteasa y/o peptidasa junto con los microorganismos.

Los microorganismos utilizados en el presente método se pueden seleccionar del grupo que consiste en *Betacoccus, Lactobacillus, Propionibacteria, Streptococcus, Bifidobacterium, Penicillium, Brevibacterium, Arthrobacter, Corynebacterium, Saccharomyces, Debaromyces, Lactococcus* y cualquier mezcla de los mismos y/o mezclas de diferentes cepas del mismo microorganismo. Preferentemente, es un *Lactococcus lactis.* Más preferentemente, es un *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y/o *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. Se puede añadir en forma de un fermento microbiano vivo o en forma de un cultivo microbiano tras lisis celular, o una mezcla de ambos.

Las cepas de *Lactococcus lactis* que están comercialmente disponibles y que son adecuadas para su uso en la presente invención son, por ejemplo, *Lactococcus lactis* ATCC 29146, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* DSM 4366, o incluso un cultivo aromático mesófilo (mezcla), tipo LD, F-DVS XT-313-eXact, Chr. Hansen.

En condiciones de fermentación, el microorganismo produce al menos algunas enzimas que pueden convertir el aminoácido en componentes adicionales. Se añaden las enzimas adicionales lipasa y lactasa al caldo de fermentación al principio de la fermentación o en una etapa posterior. Normalmente, se deja que la fermentación transcurra durante aproximadamente 3-24 horas a una temperatura entre 8 y 50 ºC. Preferentemente, la fermentación se lleva a cabo durante aproximadamente 6 horas a aproximadamente 30 ºC. Tras la fermentación, el caldo de fermentación opcionalmente se puede neutralizar y/o inactivar y/u homogenizar por métodos conocidos en la técnica.

Opcionalmente, si la fuente láctea contiene L-ramnosa, se puede calentar. Esta etapa de calentamiento se diferencia de la etapa de pasteurización y la etapa de inactivación en que se lleva típicamente a cabo durante aproximadamente 90 minutos a aproximadamente 90 ºC, para desarrollar un aroma de tipo caramelo en la mezcla. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se cree que las fuentes de azúcar en la base láctea (lactosa, ramnosa etc.) experimentan varias reacciones (ruta de reacción de Maillard) que son responsables del aroma de tipo caramelo. Esta etapa de calentamiento se puede llevar a cabo antes o después de la fermentación.

A continuación, la mezcla fermentada se seca, preferentemente mediante secado por pulverización, para proporcionar un producto de tipo leche en polvo. Opcionalmente, antes del secado, la mezcla fermentada se puede tratar enzimáticamente con una lipasa, lactasa etc. Esto se puede llevar a cabo para facilitar la etapa de secado y/o para modular adicionalmente el aroma y el sabor del producto final. Como alternativa, también, el caldo de fermentación se puede combinar con otros ingredientes antes del secado para proporcionar, tras el secado, un producto terminado.

El presente método ofrece la ventaja de que permite muchas variaciones entre los componentes presentes en el producto de tipo leche en polvo final. Combina aspectos de los métodos de maduración de alimentos conocidos en la técnica, y los adapta a un campo nuevo, especialmente el de polvo. El polvo que se puede obtener de este modo se puede utilizar en cualquier aplicación con alimentos, tales como bebidas lácteas, helados, chocolate, sopas, productos de leche, productos culinarios, fórmulas para bebés, productos para el cuidado de la salud, etc.

Otra faceta de la invención se refiere a un método para estimular un aroma particular en un producto de tipo leche en polvo. El método es similar al que se ha descrito anteriormente. Permite además "adaptar" los aromas obtenidos tras la fermentación, de forma que es posible modular el sabor del producto de tipo leche en polvo.

En el presente método, el microorganismo se selecciona de forma particular por su capacidad para producir una enzima, cuya acción, dependiendo de los sustratos, produce los productos de conversión directos o indirectos que son responsables del aroma concreto.

Por tanto, en una primera etapa, se añade un aminoácido a una fuente láctea. Análogamente al otro método de la presente invención, el aminoácido se selecciona entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y sus mezclas. El aminoácido puede estar presente en la fuente láctea en una cantidad entre 0,01 y 2 % en peso de la fuente láctea, preferentemente en una cantidad de 0,03-1,0 % en peso, más preferentemente 0,05-0,2 % en peso de materia seca.

En una realización preferida, también se puede añadir a la fuente láctea una fuente de alfa-cetoácido, tal como alfa-cetoglutarato, alfa-cetoisocaproato, alfa-cetoisovalerato, aceptores de amino similares o mezclas de los mismos. Preferentemente, se utiliza el alfa-cetoglutarato. Estos compuestos de origen natural ayudan a contribuir a la ruta enzimática del aminoácido, que se produce en las etapas posteriores del presente método.

La fuente láctea puede estar pasteurizada o no pasteurizada. Se puede seleccionar entre leche (entera, desnatada o semidesnatada), leche fresca, leche reconstituida, nata, suero de mantequilla, suero de leche, leche que contiene grasa vegetal etc. y cualquier mezcla de los mismos.

Si la fuente láctea no está pasteurizada, la fuente láctea y la mezcla de aminoácidos, que opcionalmente puede también incluir alfa-cetoglutarato, se puede pasteurizar o tratar a temperatura ultraelevada o esterilizarse en las condiciones de pasteurización típicas, en el intervalo de 70 ºC a 150 ºC durante 2 s a 20 min, por ejemplo 125 ºC durante 20 s. Alternativamente, la fuente láctea se puede calentar primero antes de añadir los aminoácidos, o antes del tratamiento con una proteasa y/o peptidasa para obtener al menos un aminoácido de la proteína láctea.

Opcionalmente, se puede añadir L-ramnosa a la fuente láctea.

A continuación, a la fuente láctea se añade al menos un microorganismo, en el que el microorganismo se ha seleccionado para producir al menos una enzima que pueda convertir el aminoácido, proporcionando productos de conversión directa o indirecta un aroma concreto. Opcionalmente, se pueden añadir aditivos tales como proteasa y/o peptidasa junto con los microorganismos.

Los microorganismos utilizados en el presente método se pueden seleccionar del grupo que consiste en *Betacoccus, Lactobacillus, Propionibacteria, Streptococcus, Bifidobacterium, Penicillium, Brevibacterium, Arthrobacter, Corynebacterium, Saccharomyces, Debaromyces, Lactococcus* y cualquier mezcla de los mismos y/o mezclas de diferentes cepas del mismo microorganismo. Preferentemente, el microorganismo es un *Lactococcus lactis.* Más preferentemente, es un *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* subsp. *lactis* y/o *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis.* Se puede añadir en forma de un fermento microbiano vivo o en forma de un cultivo microbiano tras lisis celular, o una mezcla de ambos.

Dichos microorganismos pueden producir enzimas tales como las enzimas transamidasa y/o decarboxilasa y/o deshidrogenasa, que actúan sobre el(los) aminoácido(s) presente(s) en el caldo de fermentación. El microorganismo también puede producir la aldolasa.

El caldo de fermentación contiene además las enzimas lipasa y lactasa.

En condiciones de fermentación, las enzimas liberadas reaccionarán con el(los) aminoácido(s) presente(s) en la mezcla de fermentación para proporcionar productos de la conversión directos o indirectos que son responsables del aroma concreto. Son, por ejemplo, del grupo del 3-metil-butanal, 2-metil-butanal, 2-metil-1-propanal, 2-fenilacetaldehído, 2,3-butanodiona (diacetilo), 3-hidroxi-2-butanona (acetoína), 2-fenil-2-butenal y otros fenilaldehídos (C10-16), benzaldehído, 5-metil-2-fenil-cis-2-hexenal (cocal), 2,3,5,6-tetrametil pirazina, 2,4,5-trimetil oxazol, delta-octalactona (5-octanólido), delta-decalactona (5-decanólido), delta-dodecalactona (5-dodecanólido), ácido butanoico, ácido hexanoico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido dodecanoico, 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaniol). Por fenilaldehídos (C10-16) se entienden fenilaldehídos que tienen una cadena de carbono de 10 a 16 átomos de carbono.

En este contexto, las figuras 5, 6 y 7 representan rutas de reacción que pueden conducir a compuestos responsables del aroma a miel, del aroma a cacao y malta, o del aroma a cacao/café, respectivamente. Es evidente para el experto en la técnica que las figuras 5 a 7 no son ilustrativas de la totalidad del proceso, y que todas las reacciones se producen cuando se llevan a cabo los métodos de la invención. Es también evidente que pueden producirse otras reacciones durante la fermentación, y que se pueden producir otros compuestos que proporcionan una modulación adicional de los aromas.

Tras un periodo de tiempo suficiente para producir los compuestos deseados, típicamente entre 2 y 24 horas, preferentemente entre 3 y 12 horas, más preferentemente de aproximadamente 6 horas, el caldo de fermentación se puede desecar, preferentemente mediante secado por pulverización, para producir un producto de tipo leche en polvo que tiene un perfil de aroma modulado. Como alternativa, el caldo de fermentación se puede combinar con otros ingredientes antes del secado para proporcionar, tras el secado, un producto terminado.

Opcionalmente, antes del secado, si la fuente láctea contiene L-ramnosa, se puede calentar. Esta etapa de calentamiento se diferencia de la etapa de pasteurización y la etapa de inactivación en que se lleva a cabo durante

un periodo de tiempo más prolongado. Normalmente, la mezcla se calienta durante aproximadamente 90 minutos a aproximadamente 90 ºC, para desarrollar un aroma de tipo caramelo en la mezcla. Esta etapa de calentamiento se puede llevar a cabo antes o después de la fermentación.
Además, antes del secado, el caldo de fermentación opcionalmente también se puede neutralizar y/o inactivar y/u homogenizar por métodos conocidos en la técnica.

El tratamiento enzimático también se puede llevar a cabo opcionalmente antes de desecar la mezcla fermentada. De hecho, se pueden añadir enzimas tales como lipasa, lactasa etc. con el fin de modular adicionalmente el aroma. Por ejemplo, un tratamiento enzimático adicional puede proporcionar un sabor cremoso a vainilla que transmite un sabor cremoso, que recubre la boca, duradero, al producto final. Además, el tratamiento enzimático puede mejorar adicionalmente las propiedades de secado de la mezcla fermentada.

Para modular el aroma del producto de tipo leche en polvo, se puede seleccionar en consecuencia el aminoácido utilizado.

Por ejemplo, se ha descubierto que cuando el aminoácido seleccionado es fenilalanina, los productos de la conversión directos o indirectos cuando se someten a una enzima transamidasa y/o decarboxilasa y/o deshidrogenasa son los responsables del aroma a miel.

Cuando el aminoácido se selecciona entre L-leucina, L-isoleucina, L-valina o sus mezclas, el aroma concreto obtenido es el de la malta y el cacao.

Cuando se utiliza opcionalmente ramnosa en la base láctea de partida, y la mezcla antes o después de la fermentación se calienta durante aproximadamente 90 minutos a aproximadamente 90 ºC, el aroma resultante es el del caramelo.

De esta forma, los aromas tales como miel, caramelo, cacao, malta, flan, crema de miel dulce, crema de cacao, café, nata, mantequilla, vainilla, nueces, chocolate etc. y cualquier combinación o subcombinación de los mismos también se pueden obtener por el método de la invención. Además, los sabores obtenidos con el método de la invención pueden ser sabores duraderos, cremosos, de recubrimiento de la boca.

Por tanto, la presente invención proporciona muchas opciones para la variación y la modulación del producto de tipo leche en polvo, por lo que se puede obtener variación mediante cualquier combinación de aminoácido y/o condiciones de procesamiento, como se ha descrito anteriormente. La variedad de aromas que se pueden obtener con el método de la presente invención se presta, de esta forma, a una gama más amplia de aplicaciones.

En referencia a las Figuras 1 a 2, que representan algunas realizaciones de los métodos de la presente invención, puede observarse que se pueden obtener varios aromas, en tales casos miel dulce, miel dulce y crema de mantequilla, malta y chocolate, y leche, chocolate y miel, respectivamente. Los parámetros que se pueden alterar en cada caso pueden ser los aminoácidos, el(los) microorganismo(s) y/o la cantidad de los mismos, por ejemplo, más de una fuente, el orden de procesamiento etc.

La leche en polvo que se puede obtener por métodos de la presente invención tiene la ventaja de que está exenta de aditivos y que los productos de tipo leche en polvo resultantes son, de este modo, productos de "etiquetado limpio". Esto se diferencia de la leche en polvo tradicional que requiere la adición de aromatizantes artificiales para modular su aroma.

Además, los aromas se han derivado de procesos biológicos, por ejemplo, enzimáticos, microbiológicos, y se trata, por tanto, de compuestos de aroma generados de forma natural, o "bioaromas".

De acuerdo con la invención, se proporciona un producto de tipo leche en polvo que tiene un aroma a crema de miel que contiene 0,1-3 mg de 3-metil-butanal, 0,1-5 mg de 2-fenil-acetaldehído, 0,1-10 mg de diacetilo, 0,5-20 mg de acetoína, 1-100 mg de 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 0,01-20 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,05-10 mg de 2-fenil-2-butenal y otros fenilaldehídos (C10-16), 0,1-10 mg de benzaldehído, 10-500 mg de ácido butanoico, 100-3000 mg de ácido hexanoico, 100-3000 mg de ácido octanoico y 50-1000 mg de ácido decanoico por kg de producto.

Preferentemente, el producto de tipo leche en polvo que tiene un aroma a crema de miel contiene 0,3-1,0 mg de 3-metil-butanal, 0,5-2,5 mg de 2-fenil-acetaldehído, 1,0-5,0 mg de diacetilo, 1,0-10 mg de acetoína, 10-70 mg de 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 0,01-15 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,1-8 mg de 2-fenil-2-butenal y otros fenilaldehídos (C10-16), 0,5-8,0 mg de benzaldehído, 100-400 mg de ácido butanoico, 500-2000 mg de ácido hexanoico, 500-1500 mg de ácido octanoico, 100-700 mg de ácido decanoico por kg de producto.

También se proporciona un producto de tipo leche en polvo que tiene un aroma a crema-mantequilla que contiene 0,1-50 mg de diacetilo, 0,5-20 mg de acetoína, 1-100 mg de 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 0,01-20 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,1-10 mg de benzaldehído, 10-500 mg de ácido butanoico, 100-3000 mg de ácido hexanoico, 100-3000 mg de ácido octanoico y 50-1000 mg de ácido decanoico por kg de producto. Preferentemente, contiene 1,0-30 mg de

diacetilo, 1,0-10 mg de acetoína, 15-80 mg de 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 0,01-15 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,5-8 mg de benzaldehído, 50-300 mg de ácido butanoico, 500-2000 mg de ácido hexanoico, 4,00-2500 mg de ácido octanoico y 100-700 mg de ácido decanoico por kg de producto.
De manera similar, se proporciona un producto de tipo leche en polvo que tiene un aroma a crema de cacao y crema de malta que contiene 0,1-10 mg de 3-metil-butanal, 0,05-10 mg de 2-metil-butanal, 0,1-10 mg de diacetilo, 0,5-20 mg de acetoína, 1-500 mg de 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 0,01-20 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,05-10 mg de 2-fenil-2-butenal y otros fenilaldehídos (C10-16), 0,1-10 mg de benzaldehído, 10-500 mg de ácido butanoico, 100-3000 mg de ácido hexanoico, 100-3000 mg de ácido octanoico y 50-1000 mg de ácido decanoico por kg de producto. Preferentemente, comprende 0,5-5.0 mg de 3-metil-butanal, 0,1-5,0 mg de 2-metil-butanal, 1-8 mg de diacetilo, 1,0-10 mg de acetoína por kg de producto, 1,5-300 mg de 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 0,01-15 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,1-8,5 mg de 2-fenil-2-butenal y otros fenilaldehídos (C10-16), 0,5-8,5 mg de benzaldehído, 50-350 mg de ácido butanoico, 400-2000 mg de ácido hexanoico, 400-2000 mg de ácido octanoico y 100-800 mg de ácido decanoico por kg de producto.

Se proporciona un producto de tipo leche en polvo que tiene un aroma a flan que contiene 0,1-10 mg de 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona, 10-500 mg de ácido butanoico, 100-3000 mg de ácido hexanoico, 100-3000 mg de ácido octanoico y 50-1000 mg de ácido decanoico por kg de producto. Preferentemente, comprende 0,5-8 mg de 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona, 20-400 mg de ácido butanoico, 300-2000 mg de ácido hexanoico, 300-2000 mg de ácido octanoico y 100-800 mg de ácido decanoico por kg de producto.

Los productos de tipo leche en polvo de la invención comprenden típicamente 1-20 g de diglicéridos y 0,2-20 g de monoglicéridos por 100 g de producto.

Las concentraciones de los compuestos de aroma se pueden determinar mediante adsorción en el espacio de cabeza en fibras de microextracción en fase sólida, separación mediante cromatografía de gases y detección e identificación mediante espectrometría de masas. Para la cuantificación relativa, la respuesta de los compuestos de aroma está relacionada con las cantidades conocidas de los patrones internos etilvalerato (compuestos neutros) y ácido 4-metiloctanoico (compuestos ácidos). Por tanto, es evidente para el experto en la materia que estos valores no son valores absolutos y pueden variar ligeramente dependiendo del tipo de medición utilizada.

Está también comprendida en la presente invención la modificación de determinados componentes, o mezclas de componentes cuando se llevan a cabo los procesos de la invención para obtener diferencias organolépticas perceptibles en el polvo final. Se incluye en la presente solicitud cualquier combinación de leche en polvo modulada en su aroma y sabor mediante mezcla o combinaciones de procesos.

Por ejemplo, mediante el uso de una mezcla de los aminoácidos fenilalanina, leucina, isoleucina y valina, se puede obtener un aroma a chocolate, malta y miel. Asimismo, se puede pensar que añadiendo una fuente de ramnosa y fenilalanina a la fuente láctea, y calentando la mezcla antes o después de la fermentación antes del desecado se proporcionará un aroma a miel-caramelo.

Por tanto, son posibles variaciones ilimitadas que están comprendidas en los conocimientos de una persona experta.

Los productos de tipo leche en polvo que se pueden obtener con los presentes métodos se pueden usar tal cual, por ejemplo, para proporcionar bebidas lácteas aromatizadas.

Además, se pueden utilizar en la producción de otros productos alimenticios, tales como helado, leche en polvo, productos chocolateados, productos de leche, cremas, bebidas de cacao, productos culinarios, fórmulas para bebés, productos para el cuidado de la salud etc. En realizaciones preferidas, los productos de tipo leche en polvo con modulación del aroma y el sabor se añaden en cantidades relativamente pequeñas a los productos alimenticios, por ejemplo 0,05 - 10 % en peso para productos líquidos, sólidos o pulverulentos.

En una realización preferida, se pueden utilizar en la producción de leche en polvo, añadiendo un producto de tipo leche en polvo de acuerdo con la invención a una leche en polvo. Dependiendo de la cantidad añadida, el producto resultante puede tener un aroma intenso o un aroma más sutil.

En una realización incluso más preferida, el producto de tipo leche en polvo de acuerdo con la invención se añade a una leche en polvo en una cantidad de aproximadamente 0,05-10 % en peso, más preferentemente 1-8 % en peso de dicha leche en polvo.

Los productos resultantes pueden estar provistos de una percepción sutil, subliminal y distintiva del aroma.

La presente invención se ilustra adicionalmente a partir de ahora en el presente documento mediante ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo: producto de tipo leche en polvo con aroma a crema de miel dulce

Se recombinaron 100 kg de leche entera en polvo con agua hasta una concentración final del 35 % de materia seca. Se añadieron 0,1 kg de L-fenilalanina, el valor del pH se ajustó a 6,7 con una solución de hidróxido de potasio, y la mezcla se precalentó a 80 ºC y se trató por UHT a 125 ºC durante 20 s. Tras enfriar a 30 ºC, se añadieron 3 kg de fermento de *Lactococcus lactis* y 0,07 kg de una preparación de enzima lipasa comercial al inicio de la fermentación. Tras 10 horas a 30 ºC, el pH se ajustó a 6,7 con una solución de hidróxido de potasio, se añadieron 0,9 kg de una preparación de enzima lactasa comercial, y se incubó durante 3 horas. Tras enfriar a 15 ºC para almacenamiento intermedio, la mezcla se trató térmicamente a 80 ºC durante 80 s, se homogeneizó y se secó mediante pulverización.

Ejemplo de referencia 1: producto de tipo leche en polvo con aroma a crema de cacao

Se recombinaron 100 kg de leche entera en polvo con agua hasta una concentración final del 35 % de materia seca. Se añadieron 0,1 kg de L-fenilalanina, 0,1 kg de ácido alfa-cetoglutárico, 0,1 kg de L-leucina, 0,1 kg de L-isoleucina, 0,1 kg de L-valina, el valor del pH se ajustó a 6,7 con una solución de hidróxido de potasio, y la mezcla se precalentó a 80 ºC y se trató por UHT a 125 ºC durante 20 s. Tras enfriar a 30 ºC, se añadieron 3 kg de una mezcla de cepas de fermento de *Lactococcus lactis* y 0,03 kg de una preparación de enzima lipasa comercial al inicio de la fermentación. Tras 12 horas a 30 ºC, el pH se ajustó a 6,7 con una solución de hidróxido de potasio. Tras enfriar a 15 ºC para almacenamiento intermedio, la mezcla se trató térmicamente a 80 ºC durante 80 s, se homogeneizó y se secó mediante pulverización.

Ejemplo de referencia 2: análisis de los compuestos de aroma

Se pesaron 1,80 g de NaCl en un vial de 20 ml provisto de tapón mecánico y se incorporó una barrita magnética agitadora. Se añadieron 5,50 g de solución de muestra que contenía un 12 % de materia seca. Se añadieron 50 ml de solución de etilvalerato como patrón interno (45 µl de etilvalerato en 100 ml de agua) y 50 µl de solución de ácido 4-metiloctanoico como patrón interno (75 µl de ácido metiloctanoico en 250 ml de agua), seguido por el cierre del vial. A continuación, el vial se introdujo en un baño de agua a 65 ºC usando una placa calefactora agitadora magnética provista de termómetro de contacto a un intervalo de velocidades de aproximadamente 870 rpm. Tras un tiempo de equilibrado de 30 min el montaje de fibra (SPME Fibre Assembly, 2 cm, 50/30 µm DVB/CAR/PDMS StableFlex montado en un soporte, ambos fabricados por SUPELCO Bellefonte, EE.UU.) se introdujo perforando el septo (calibrador de profundidad a 20 mm) y la fibra quedó completamente expuesta al espacio de cabeza por encima de la solución de muestra. Tras un tiempo de sorción de 30 min, la fibra se retrajo y se retiró al interior del montaje de la fibra, y se sacó del vial.

El montaje de fibra se inyectó inmediatamente en el inyector del GC (calibrador de profundidad a 30 mm) y la separación se inició con exposición de la fibra al mismo tiempo. Tras 5 min, la fibra se retrajo y se retiró del inyector.

Los compuestos de aroma se separaron mediante cromatografía de gases en una columna capilar FFAP (50 m, 0,2 mm diámetro interno, 0,3 µm de revestimiento, Agilent Technologies EE.UU.) usando helio como gas portador y un gradiente de temperatura de 40 ºC a 250 ºC. Los compuestos separados se detectaron y se identificaron mediante espectrometría de masas. La cuantificación relativa se realizó por cálculo de la respuesta de los compuestos de aroma con respecto a las cantidades conocidas de los patrones internos etilvalerato (compuestos neutros) y ácido 4-metiloctanoico (compuestos ácidos).

REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar un producto de tipo leche en polvo, comprendiendo el método las siguientes etapas:

a. añadir al menos un aminoácido a una fuente láctea, en el que el al menos un aminoácido se selecciona entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y sus mezclas,
b. añadir al menos un microorganismo a la fuente láctea en la que el microorganismo produce en condiciones de fermentación al menos una enzima que puede convertir el aminoácido,
c. fermentar la fuente láctea, en el que se añaden las enzimas adicionales lipasa y lactasa al principio de la fermentación o en una etapa posterior, en el que la enzima o enzimas producidas por el microorganismo convierten el o los aminoácidos en componentes adicionales; y
d. desecar la fuente láctea fermentada, para producir un producto de tipo leche en polvo.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, para estimular un aroma concreto en dicho producto de tipo leche en polvo, en el que los productos de conversión directa o indirecta proporcionan dicho aroma concreto.

3. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el aminoácido se selecciona entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y sus mezclas.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en el que se añaden entre 0,05 y 2 % en peso del aminoácido a la fuente láctea.

5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la fuente láctea se selecciona entre leche entera, leche desnatada, leche semidesnatada, leche fresca, leche reconstituida, nata, suero de mantequilla, suero de leche, leche que contienen grasa vegetal y cualquier mezcla de los mismos.

6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que un alfa-cetoácido seleccionado entre alfa-cetoglutarato, alfa-cetoisocaproato, alfa-cetoisovalerato, aceptores de amino similares o sus mezclas se añade a la fuente láctea.

7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se lleva a cabo una etapa de pasteurización antes de añadir el microorganismo.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el microorganismo es un *Lactococcus lactis.*

9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se añade L-ramnosa a la fuente láctea.

10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se lleva a cabo una etapa de calentamiento antes o después de la fermentación.

11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el método la etapa de, antes del desecado, neutralizar y/o inactivar y/u homogenizar la fuente láctea fermentada.

12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de desecado se lleva a cabo mediante secado por pulverización.

13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15, en el que el aroma concreto es miel, caramelo, cacao, malta, flan, crema de miel dulce, crema de cacao, café, nata, mantequilla, vainilla, nueces, chocolate etc. y cualquier combinación o subcombinación de los mismos.

Figura 1

Figura 2

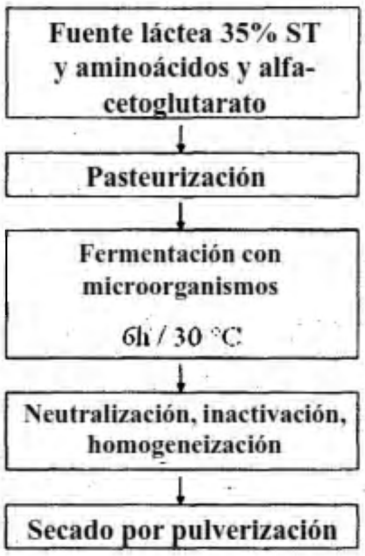

Figura 3

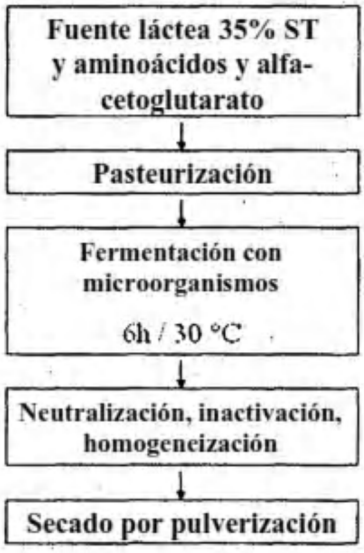

Figura 4

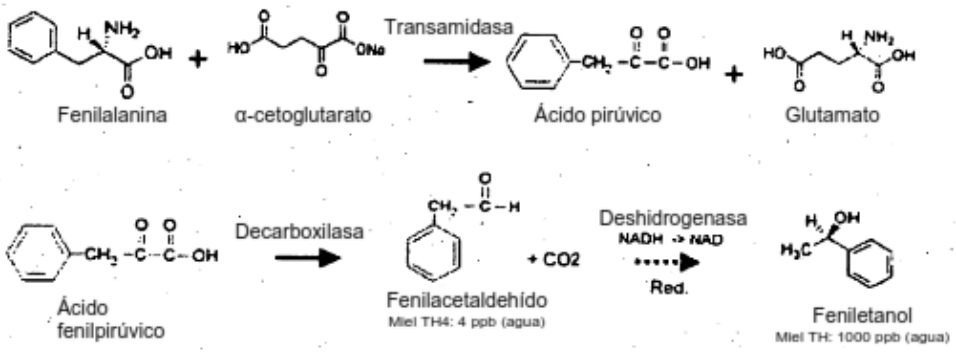

Figura 5

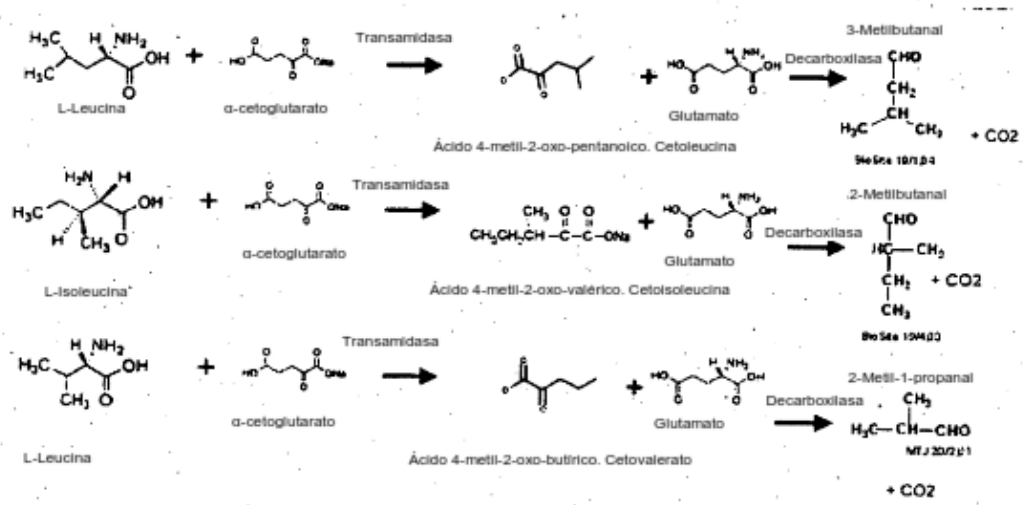

Figura 6

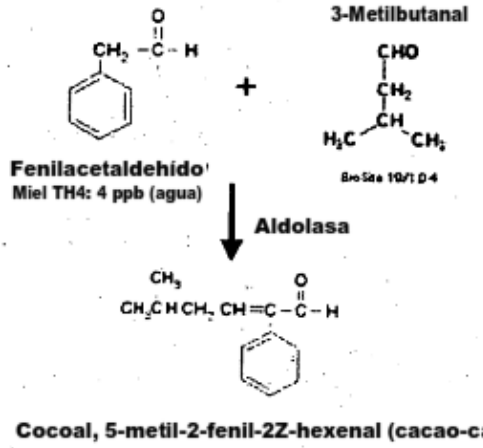

Figura 7