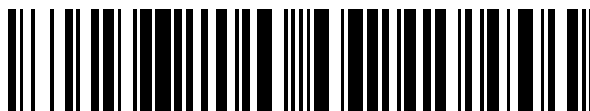


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 923**

51 Int. Cl.:

**A23G 9/40** (2006.01)

**A23L 1/00** (2013.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2007** **E 11159520 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016** **EP 2366293**

54 Título: **Modulación del gusto y del sabor en productos lácteos mediante biotransformación**

30 Prioridad:

**23.10.2006 EP 06022153**

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

**09.03.2016**

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**

**ES 2 562 923 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 gusto y del sabor en productos lácteos mediante biotransformación

## 5 Campo de la invención

La presente invención se relaciona con un método para promover gustos y sabores naturales en productos a base de leche, con un método para la fabricación de dichos productos lácteos y con los productos así obtenibles.

## 10 Antecedentes de la invención

Tradicionalmente, en la producción de productos lácteos tales como queso, mantequilla, etc., los sabores característicos se desarrollan durante la fermentación de la fuente láctea con bacterias.

15 En los últimos años, se han desarrollado nuevos agentes saborizantes que pueden añadirse a los productos lácteos para la mejora del sabor. Estos agentes saborizantes se obtienen tradicionalmente mediante el tratamiento de una fuente láctea con enzimas, microorganismos, etc. Por ejemplo, una serie de publicaciones describen la fermentación de una fuente láctea con microorganismos y enzimas tales como lipasas, proteasas, etc., para producir aromas que pueden aislarse y usarse en la fabricación de productos lácteos saborizados tales como queso, leche, leche fermentada, etc. Entre estas publicaciones están 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 20 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 sabores así obtenidos se describen como sabores "lácteos" y actúan, por tanto, como potenciadores del sabor de los productos lácteos.

Sin embargo, hay publicaciones limitadas sobre el uso de un proceso similar al descrito anteriormente, a fin de proporcionar sabores distintos de los sabores "lácteos", tales como, por ejemplo, chocolate, sabores frutales, etc.

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

35 El documento WO 02/00845 describe una forma de obtener productos fermentados con sabor a chocolate mediante la fermentación de una fuente láctea con un cultivo mixto de microorganismos. Este método es, sin embargo, de un alcance limitado en cuanto a los sabores obtenidos y en cuanto a las aplicaciones.

40 La patente de EE.UU. 6.902.749 describe un proceso para producir queso, análogos de queso y productos derivados del queso. El proceso comprende la puesta en contacto de dichos quesos, análogos o productos con una célula de *Kluyveromyces lactis* o una enzima procedente de la misma.

45 Un documento de Kilpi y cols. (International Dairy Journal, 2007, vol. 17, N.º 8, págs. 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 y cols. describe estudios del sistema proteolítico de *Lactobacillus helveticus*, el cual tiene un papel crucial en la liberación de péptidos bioactivos durante la fermentación de la leche. El documento de Kilpi y cols. describe un impacto de la actividad general de la aminopeptidasa (PepN) y la X-prolil-dipeptidil amino peptidasa (PepX) de *L. helveticus* sobre el nivel de actividad inhibitoria de la enzima convertora de angiotensina I (ECA) en la leche fermentada.

50 El documento EP 1186244 describe un sistema natural saborizante del queso generado biológicamente, que puede usarse para preparar quesos muy diferentes que tienen perfiles de sabor deseados. De forma más específica, el sistema saborizante del queso comprende un componente de sabor a cheddar azufrado, un componente de sabor cremoso mantecoso y un componente de sabor a queso. Cada uno de estos componentes saborizados puede como elemento saborizante base con sus propios perfiles y/o características de sabor específicos. Usando diversas combinaciones de los componentes saborizados, pueden producirse quesos con una amplia variedad de sabores. Los componentes saborizados se preparan por separado a partir de un sustrato lácteo muy concentrado usando composiciones (p. ej., enzimas, cultivos, y aditivos específicos) y condiciones del proceso diseñadas para proporcionar los componentes saborizados que tienen perfiles y/o características de sabor específicos. Estos 55 concentrados de sabor pueden usarse en el procesado de queso, procesado de productos del tipo del queso, u otros quesos para producir quesos muy diferentes con perfiles de sabor deseados. Los concentrados de sabor también pueden usarse como un sistema saborizante natural en otros productos alimentarios.

65 Un documento de Gummalla (Journal of Dairy Science, 1999, vol. 80, N.º. 10, págs. 2070-2077) se titula "Tryptophan catabolism by *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus helveticus* cheese flavour adjuncts". El documento de Gummalla describe el catabolismo de Trp por *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus helveticus* adjuntos saborizantes del queso en

condiciones de privación de carbohidratos (pH 6,5, 30 o 37 °C, sin azúcar) y cercanas a la maduración del queso (NaCl al 4 %, 15 °C, sin azúcar).

5 A fin de lograr una variedad de sabores distintos y definidos, normalmente suelen añadirse a los productos lácteos saborizantes artificiales sintéticos. El uso de saborizantes artificiales está ligado bastante a menudo a una impresión negativa por parte de los consumidores.

10 Hay, por tanto, una necesidad de proporcionar una amplia variedad de sabores de una forma natural, que puede usarse en una amplia gama de alimentos, y que evita, por tanto, el uso de saborizantes artificiales.

Sumario

15 Por consiguiente, el presente objeto se logra por medio de de los aspectos de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan más la idea central de la invención.

La presente invención propone en un primer aspecto un sabor no sabroso obtenible mediante:

- 20 a) adición de al menos un aminoácido a una fuente láctea, en la que al menos un aminoácido se selecciona de entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y mezclas de los mismos,  
b) adición de al menos un microorganismo a la fuente láctea, en la que el microorganismo produce al menos una enzima capaz de convertir el aminoácido,  
25 c) fermentación de la fuente láctea, en la que al menos una enzima reacciona con el al menos un aminoácido presente en la mezcla de fermentación para proporcionar productos directos o indirectos de conversión que son responsables de un sabor concreto, en la que el sabor concreto es un sabor no sabroso,  
d) adición de una lipasa y una lactasa en forma de preparaciones enzimáticas o en forma de enzimas inmovilizadas, antes de y/o durante y/o después de la fermentación.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un uso del sabor no sabroso en un producto alimentario.

30 Figuras

La presente invención se describe más de aquí en adelante con referencia a algunas de sus realizaciones o ejemplos de referencia, respectivamente, que se muestran en los dibujos adjuntos en los cuales:

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

35

Descripción detallada de la invención

La presente invención trata de la producción de sabores naturales que pueden usarse en una serie de aplicaciones alimentarias.

40

Por tanto, la invención se relaciona, en un primer aspecto, con un método para promover un sabor no sabroso en un producto alimentario. Por sabor "no sabroso" se quiere decir un sabor que no es sabroso, es decir, no salado, picante, fuerte, etc. Un sabor sabroso típico sería un sabor a queso, a carne, o salado. Sin embargo, la invención no se relaciona con dichos sabores sino con sabores "no sabrosos". Los sabores de la presente invención incluyen, por tanto sabores "dulces", cremosos, etc. Además, los sabores de la invención no incluyen, preferentemente, sabores a yogur.

45

En una realización preferida, el sabor se selecciona de entre miel, caramelo, cacao, malta, crema de caramelo, crema dulce de miel, crema de cacao, café, nata, mantequilla, vainilla, nuez, chocolate y cualquier combinación o subcombinación de los mismos.

50

Dicho método para promover dicho sabor no sabroso en un producto alimentario implica, en una primera etapa, la adición de al menos un aminoácido a una fuente láctea.

En la presente invención, las enzimas pueden proporcionarse de por sí, en forma de preparaciones enzimáticas o en forma de enzimas inmovilizadas.

El aminoácido se selecciona de entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y mezclas de las mismas.

5 El aminoácido puede añadirse a la fuente láctea en una cantidad de 0,01 to 5 % en peso, preferentemente 0,01-2 % en peso, más preferentemente en una cantidad de 0,03-1,0 % en peso, más preferentemente 0,05-0,3 % en peso, en materia seca.

10 En una realización preferida, también puede añadirse 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 usa alfa cetoglutarato. Estos compuestos de aparición natural ayudan a contribuir a la ruta enzimática del aminoácido, como ocurre en las etapas posteriores en el presente método.

15 De forma opcional, también pueden añadirse a la fuente láctea cofactores para mejorar la eficacia de la fermentación, tales como sales de manganeso o magnesio.

20 La fuente láctea puede estar tratada mediante UHT, pasteurizada o no pasteurizada. Puede seleccionarse de entre leche (entera, desnatada o semidesnatada), leche cruda, leche recombinada, nata, suero de mantequilla, suero de leche, leche con grasa vegetal, etc. y cualquier mezcla de los mismos. Puede usarse cualquier tipo de leche, tal como leche de vaca, oveja, cabra o búfala, o cualquier mezcla de las mismas.

25 Si la fuente láctea no está pasteurizada, la mezcla de fuente láctea y aminoácidos puede pasteurizarse o tratarse a temperatura ultra alta, o esterilizarse en condiciones típicas en el intervalo de 70 °C a 150 °C por encima de 2 s hasta 20 min, p. ej., 125 °C para 20 s. De forma alternativa, la fuente láctea puede tratarse primero con calor, antes de la adición de aminoácidos, o antes del tratamiento con una proteasa y/o una peptidasa.

De forma opcional, puede añadirse L-ramnosa a la fuente láctea.

30 Después, en una segunda etapa, se añade a la fuente láctea al menos un microorganismo, en la que el microorganismo se selecciona para producir al menos una enzima capaz de modificar el aminoácido.

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

40 Dichas enzimas son, típicamente, enzimas transamidadas, descarboxilasas, deshidrogenasas. También pueden producirse otras enzimas tales como aldolasa. De forma opcional, pueden añadirse junto con los microorganismos aditivos tales como proteasa y/o peptidasa.

45 Los microorganismos usados en el presente método pueden seleccionarse de entre un grupo que consiste en *Betacoccus*, *Lactobacillus*, propionibacterias, *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*, y más preferentemente es un *Lactococcus lactis*, que incluye subespecies. Más preferentemente, es un *Lactococcus lactis* subsp *lactis* y/o *Lactococcus lactis* subsp *lactis* biovar *diacetylactis*. Puede añadirse en forma de un inóculo microbiológico vivo o en forma de un cultivo microbiológico después de la lisis celular, o de una mezcla de ambos.

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

55 En condiciones de fermentación, el microorganismo produce al menos algunas enzimas capaces de convertir el aminoácido en más componentes. Dichos microorganismos son capaces de producir enzimas tales como enzimas transamidadas y/o descarboxilasas y/o deshidrogenasas, que actuarán sobre el(los) aminoácido(s) presentes en el caldo de fermentación. El microorganismo también puede producir aldolasa.

60 Por tanto, en una realización alternativa, el microorganismo puede sustituirse o complementarse con enzimas o mezclas de enzimas que actúan sobre el aminoácido para producir el carácter de sabor deseado. Además, pueden usarse lisados celulares de forma adicional para modificar el aminoácido.

La lipasa y la lactosa se añaden al caldo de fermentación al principio de la fermentación o en una etapa posterior. Se añaden en forma de preparaciones enzimáticas. Por tanto, se añaden una lipasa y una lactasa antes de y/o durante y/o después de la fermentación. Esto es ventajoso para la modulación adicional del sabor obtenido.

65

Después se fermenta la mezcla. En condiciones de fermentación, las enzimas liberadas reaccionarán con el(los) aminoácido(s) presentes en la mezcla de fermentación para proporcionar productos directos o indirectos de conversión que son responsables de aromas concretos. Estos son, por ejemplo, del grupo de 3-metil-butanal, 2-metil-butanal, 2-metil-1-propanal, 2-fenilacetaldehído, 2,3-butandiona (diacetilo), 3-hidroxi-2-butanona (acetoina), 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-octanolido), delta-decalactona (5-decanólido), delta-dodecalactona (5-dodecanólido), ácido butanóico, ácido hexanóico, ácido octanóico, ácido decanóico, ácido dodecanóico, 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furanol). Por fenilaldehídos (C10-16) se quiere decir fenilaldehídos que tienen una cadena carbonada de 10 a 16 átomos de carbono.

En este contexto, las figuras 3, 4 y 5 ilustran rutas de reacción que pueden conducir a algunos compuestos responsables del sabor a miel, del sabor a cacao y a malta, o del sabor a cacao/café, respectivamente. Está claro para la persona experta que las figuras 3 a 5 no son ilustrativas del proceso completo, ni de todas las reacciones que se producen cuando se llevan a cabo los métodos de la invención. También está claro que pueden producirse otras reacciones durante la fermentación y que pueden producirse otros compuestos que proporcionen modulación adicional de los sabores.

A fin de modular el sabor del caldo de fermentación, el aminoácido usado puede elegirse como corresponde.

Por ejemplo, se ha encontrado que cuando el aminoácido seleccionado es fenilalanina, los productos directos o indirectos de conversión son responsables de un sabor similar a la miel cuando se someten a enzimas transamidadas y/o descarboxilasas y/o deshidrogenasas.

Cuando el aminoácido se selecciona de entre L-leucina, L-isoleucina, L-valina o mezclas de los mismos, los sabores concretos obtenidos son los de malta y cacao.

Cuando se usa ramnosa de forma opcional en la base láctea de partida, y la mezcla se calienta antes o después de la fermentación durante alrededor de 90 minutos a alrededor de 90 °C, el sabor resultante es el de caramelo.

Por tanto, los sabores tales como miel, caramelo, cacao, malta, crema de caramelo, crema dulce de miel, crema de cacao, café, nata, mantequilla, vainilla, nuez, chocolate, etc., y cualquier combinación o subcombinación de los mismos también pueden obtenerse mediante el método de la invención. Además, los gustos obtenidos mediante el método de la invención pueden ser gustos cremosos, que recubren la boca, duraderos.

Típicamente, se permite que la fermentación tenga lugar durante alrededor de entre 2 y 24 horas, preferentemente entre 3 y 12 horas, más preferentemente alrededor de 6 horas a temperatura entre 8 y 50 °C. Preferentemente, la fermentación se lleva a cabo durante alrededor de 6 horas a alrededor de 30 °C.

Después de un periodo de tiempo suficiente para producir los compuestos deseados, el caldo de fermentación puede enfriarse para producir un concentrado líquido de sabor. Un concentrado líquido de sabor obtenible mediante las etapas descritas anteriormente es parte de la presente invención. De forma alternativa, puede deshidratarse, preferentemente deshidratarse por pulverización, a fin de producir un producto similar a la leche en polvo que tiene un perfil modulado de sabor.

Después de la fermentación, el caldo de fermentación puede neutralizarse y/o inactivarse y/o homogeneizarse de forma opcional, mediante métodos conocidos en la técnica.

De forma opcional, puede calentarse si la fuente láctea contiene L-ramnosa. Esta etapa de calentamiento difiere de la etapa de pasteurización y de la etapa de inactivación en que se lleva a cabo típicamente durante alrededor de 90 minutos a alrededor de 90 °C, a fin de desarrollar en la mezcla un sabor similar al caramelo. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se piensa que las fuentes de azúcar en la base láctea (lactosa, ramnosa, etc.) experimentan una serie de reacciones (ruta de reacción de Maillard) que son responsables del sabor similar al caramelo. Esta etapa de calentamiento puede llevarse a cabo antes o después de la fermentación.

De forma opcional, la mezcla fermentada puede tratarse enzimáticamente con una lipasa y una lactasa. Esto puede llevarse a cabo a fin de facilitar la etapa de deshidratación y/o para modular más el gusto y el sabor del producto final.

Por ejemplo, el tratamiento enzimático adicional puede proporcionar un sabor avainillado cremoso que confiere un gusto cremoso, que recubre la boca, duradero al producto final. Además, el tratamiento enzimático puede mejorar más las propiedades de deshidratación de la mezcla fermentada.

De forma alternativa, el caldo de fermentación también puede combinarse con más ingredientes. Esto puede hacerse antes de la deshidratación o del almacenamiento en frío para las aplicaciones líquidas, a fin de proporcionar, con o sin deshidratación, un producto terminado.

Como otra alternativa, puede añadirse al caldo de fermentación una fuente láctea tratada en paralelo. La mezcla fermentada puede enfriarse después, y el producto líquido puede almacenarse a baja temperatura para su uso posterior. Dichas temperaturas están típicamente entre 0 y 10 °C. El producto fermentado puede usarse después como un concentrado líquido de sabor en la fabricación de productos alimentarios.

De forma alternativa, la mezcla fermentada se deshidrata después, preferentemente mediante deshidratación por pulverización, para dar un producto similar a leche en polvo. Mediante productos similares a leche en polvo se quiere decir productos que tienen la misma apariencia y consistencia que la leche en polvo, son a base de leche, pero se producen de una forma diferente. Por tanto, la presente invención también trata de productos similares a leche en polvo.

De acuerdo con la invención, se proporciona un producto similar a leche en polvo que comprende, por kg de producto, 1-20000 mg, preferentemente 10-500 mg de ácido butanóico, 10-10000 mg, preferentemente 100-3000 mg de ácido hexanóico, 10-6000 mg, más preferentemente 100-3000 mg de ácido octanóico, 2-13000 mg, preferentemente 50-1000 mg de ácido decanóico.

En una realización, el producto similar a leche en polvo comprende además, por kg de producto, 0,1-10 mg, preferentemente 0,1-3 mg, más preferentemente 0,3-1 mg de 3-metil-butanal, 0,1-100 mg, preferentemente 0,1-5 mg, más preferentemente 0,5-2,5 mg de 2-fenilacetaldehído, 0,1-1000 mg, preferentemente 0,1-10 mg, más preferentemente 1-5 mg de diacetilo, 0,5-1000 mg, preferentemente 0,5-20 mg, más preferentemente 1-10 mg de acetoina, 1-300 mg, preferentemente 1-100 mg, más preferentemente 10-70 mg de 2,3,5,6-tetrametil pirazina, 0,01-50 mg, preferentemente 0,01-20 mg, más preferentemente 0,01-15 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,05-50 mg, preferentemente 0,05-10 mg, más preferentemente 0,1-8 mg de 2-fenil-2-butenal y otros fenil aldehídos (C10-C16), 0,1-50 mg, preferentemente 0,1-10 mg, más preferentemente 0,5-8 mg de benzaldehído. Preferentemente, el polvo comprende 100-400 mg de ácido butanóico, 500-2000 mg de ácido hexanóico, 500-1500 mg de ácido octanóico, 100-700 mg de ácido decanóico, por kg de producto. Dicho producto similar a leche en polvo tiene un sabor concreto a crema de miel.

De acuerdo con otra realización, el producto similar a leche en polvo comprende además, por kg de producto, 0,1-1000 mg, preferentemente 0,1-50 mg, más preferentemente 1-3 mg de diacetilo, 0,5-1000 mg, preferentemente 0,5-50 mg, más preferentemente 1-20 mg de acetoina, 1-300 mg, preferentemente 1-100 mg, más preferentemente 15-80 mg de 2,3,5,6-tetrametil pirazina, 0,01-50 mg, preferentemente 0,01-20 mg, más preferentemente 0,01-15 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,1-10 mg, preferentemente 0,5-8 mg de benzaldehído. Preferentemente, el polvo comprende 50-300 mg de ácido butanóico, 500-2000 mg de ácido hexanóico, 400-2500 mg de ácido octanóico y 100-700 mg de ácido decanóico por kg de producto. Dicho producto similar a leche en polvo tiene un sabor concreto a crema de mantequilla.

De acuerdo con otra realización, el producto similar a leche en polvo comprende además, por kg de producto, 0,1-100 mg, preferentemente 0,1-10 mg, más preferentemente 0,5-5 mg de 3-metil-butanal, 0,05-100 mg, preferentemente 0,05-10 mg, más preferentemente 0,1-5 mg de 2-metil-butanal, 0,05-20 mg, preferentemente 0,1-2 mg, más preferentemente 0,1-1 mg de 2-metil-propanal, 0,1-500 mg, preferentemente 0,1-10 mg, más preferentemente 1-8 mg de diacetilo, 0,5-500 mg, preferentemente 0,5-20 mg, más preferentemente 1-10 mg de acetoina, 1-500 mg, preferentemente 1,5-300 mg de 2,3,5,6-tetrametil pirazina, 0,01-20 mg, preferentemente 0,01-15 mg de 2,4,5-trimetil oxazol, 0,05-10 mg, más preferentemente 0,1-8,5 mg de 2-fenil-2-butenal y otros fenil aldehídos (C10-C16), 0,1-10 mg, preferentemente 0,5-8,5 mg de benzaldehído. Preferentemente, el polvo comprende 50-350 mg de ácido butanóico, 400-2000 mg de ácido hexanóico, 400-2000 mg de ácido octanóico y 100-800 mg de ácido decanóico por kg de producto. Dicho producto similar a leche en polvo tiene un sabor concreto a crema de cacao y crema de malta.

De acuerdo con otra realización, el producto similar a leche en polvo comprende además, por kg de producto, 0,1-20 mg, preferentemente 0,1-10 mg, más preferentemente 0,5-8 mg de 4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona. Preferentemente, el polvo comprende 20-400 mg de ácido butanóico, 300-2000 mg de ácido hexanóico, 300-2000 mg de ácido octanóico y 100-800 mg de ácido decanóico por kg de producto. Dicho producto similar a leche en polvo tiene un sabor concreto a crema de caramelo.

Las concentraciones de compuestos saborizantes pueden determinarse mediante adsorción del espacio de cabeza a 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 saborizantes está relacionada con las cantidades conocidas de los patrones internos valerato de etilo (compuestos neutros) y ácido 4-metiloctanóico (compuestos ácidos). Está, por tanto, claro para la persona experta que estos valores no son valores absolutos y pueden variar ligeramente dependiendo del tipo de determinación usada.

Los productos similares a leche en polvo de la invención comprenden típicamente 1-40 g, preferentemente 1-20 g de diglicéridos y 0,2-30 g, preferentemente 0,2-20 g de monoglicéridos por 100 g de producto.

Los productos similares a leche en polvo obtenibles mediante el presente método pueden usarse, de por sí, por ejemplo, para proporcionar bebidas lácteas de sabores.

La fuente láctea fermentada puede estar, por tanto, en forma de un concentrado líquido o un polvo.

5 Estos productos similares a leche en polvo o el producto líquido de la fermentación pueden usarse, de acuerdo con la presente invención, en la fabricación de productos alimentarios.

Por tanto, en una etapa final, la fuente láctea fermentada, bien como líquido o bien como polvo, se añade al producto alimentario. Típicamente, la fuente láctea fermentada se añade al producto alimentario en una cantidad de 0,05-10  
10 % en peso sobre una base de materia seca. El producto alimentario se selecciona preferentemente de entre helado, leche en polvo, producto a base de chocolate, producto lácteo, sustituto lácteo, bebida de cacao producto culinario, fórmula infantil o producto sanitario.

En una realización preferida, los productos similares a leche en polvo de gusto y sabor modulados se añaden en cantidades relativamente pequeñas a los productos alimentarios, por ejemplo, 0,05-10 % en peso para productos  
15 líquidos, sólidos o en polvo.

En realización particular de la presente invención, la fuente láctea fermentada se añade a una leche en polvo o a un precursor de leche en polvo. La fuente láctea fermentada puede estar en de concentrado líquido o de polvo. Por  
20 tanto, La fuente láctea fermentada puede añadirse en la forma de polvo a una leche en polvo y proporcionar así una leche en polvo de sabores. Dependiendo de la cantidad añadida, el producto resultante puede tener un sabor intenso o un sabor más sutil.

En una realización aún más preferida, el producto similar a leche en polvo producido mediante la presente invención se añade a una leche en polvo en una cantidad de alrededor de 0,05-10 % en peso, más preferentemente 1-8 % en  
25 peso de dicha leche en polvo.

De forma alternativa, la fuente láctea fermentada puede añadirse a un precursor de leche en polvo y deshidratarse por pulverización posteriormente para dar la leche en polvo de sabores. Por "precursor de leche en polvo" hay que  
30 entender una composición convencional de leche líquida antes de la deshidratación por pulverización.

Los productos resultantes pueden proporcionarse, por tanto, con una percepción sutil, subliminal, definida del sabor.

En otra realización de la presente invención, la fuente láctea fermentada se añade a una mezcla congelada para postre. La fuente láctea fermentada puede, otra vez, estar en forma de un concentrado líquido o un polvo. Puede  
35 añadirse a la mezcla congelada para postre en cualquier etapa de la fabricación del postre congelado. Esto da como resultado un postre congelado, preferentemente un helado, que tiene un sabor natural sutil.

Los métodos presentes ofrecen la ventaja de que permiten una gran variación en cuanto a los componentes presentes en la fuente láctea fermentada, que puede usarse después para su adición a una amplia variedad de  
40 productos alimentarios. Combina aspectos de los métodos de maduración alimentaria conocidos en la técnica, y la adapta a un nuevo campo, de forma notable, el de los polvos de sabor natural o el concentrado líquido de sabor natural. Los polvos o los concentrados líquidos así obtenibles pueden usarse en cualquier aplicación alimentaria, tal como bebidas lácteas, helado, chocolate, sopas, producto lácteo, producto culinario, fórmulas infantiles, productos  
45 sanitarios, etc.

El método permite, además, "adaptar" los sabores obtenidos después de la fermentación, tanto como sea posible una modulación del gusto del producto similar a leche en polvo, del concentrado líquido o del producto alimentario  
50 final.

Por tanto, la presente invención proporciona muchas opciones para la variación y modulación de un producto similar a leche en polvo, por medio de las cuales puede obtenerse la variación mediante cualquier combinación de aminoácidos y/o condiciones de procesamiento como se ha descrito anteriormente. La variedad de sabores  
55 obtenible mediante el método de la presente invención se presta, por tanto, a una gama de aplicaciones más amplia.

En relación con las figuras 1, 2 y 5, que representan algunas realizaciones de los métodos de la presente invención, puede verse que se pueden obtener diversos sabores, en dichos casos a mantequilla dulce de miel, de miel y nata, malta y chocolate, y leche, chocolate y miel. Los parámetros que pueden alterarse en cada caso pueden ser los  
60 aminoácidos, el(los) microorganismo(s) y/o la cantidad de los mismos, por ejemplo, más de una fuente, el orden del procesamiento, etc.

Las leches en polvo u otros productos alimentarios obtenibles mediante métodos de la presente invención, presentan la ventaja de que están libres de aditivos y los productos resultantes son, por tanto, productos de "etiqueta limpia". Esto está en contraposición con los lácteos en polvo tradicionales, que requieren la adición de saborizante artificial a  
65 fin de modular su aroma.

Además, los sabores proceden de procesos biológicos, p. ej., enzimáticos, microbiológicos, y son, por tanto, compuestos saborizantes generados de forma natural, o "biosaborizantes". También está dentro de la presente invención modificar ciertos componentes, o mezclas de componentes cuando se llevan a cabo los procesos de la invención a fin de obtener diferencias organolépticas perceptibles en los concentrados finales en polvo o en líquido.

5 Se incluye en esta aplicación cualquier combinación de leche en polvo o concentrados líquidos o en polvo de sabor modulado mediante mezcla o combinaciones de procesos.

10 Por ejemplo, el uso de una mezcla de los aminoácidos fenilalanina, leucina, isoleucina y valina, puede obtenerse sabor a chocolate, malta y miel. Asimismo, puede ocurrir que mediante la adición de una fuente de ramnosa y fenilalanina a la fuente láctea, y el calentamiento de la mezcla antes o después de la fermentación, antes de la deshidratación se pueda obtener un sabor a miel y caramelo.

15 De forma opcional, los compuestos saborizantes pueden añadirse principalmente como aditivos que complementan a la fuente láctea fermentada. Sin embargo, esto no es necesario, ya que la presente invención proporciona una amplia gama de saborizantes que son completamente naturales.

Además, también se proporciona un método para saborizar un producto alimentario, método que es similar al descrito anteriormente, excepto en que no requiere una etapa de fermentación.

20 Este método desvelado posteriormente comprende la primera etapa de adición de al menos un aminoácido a una fuente láctea o adición de una proteasa y/o peptidasa a la fuente láctea a fin de obtener al menos un aminoácido a partir de una proteína de leche.

25 De forma opcional, puede añadirse L-ramnosa a la fuente láctea.

A la fuente láctea se añade después, en una segunda etapa, una lipasa y/o lactasa. Estas enzimas pueden ser como se ha descrito anteriormente.

30 La fuente láctea se trata después con calor. Después del tratamiento con calor, la fuente láctea puede deshidratarse de forma opcional. Estos son procedimientos convencionales conocidos por una persona experta.

Finalmente, la fuente láctea deshidratada o la fuente láctea líquida pueden añadirse al producto alimentario a fin de saborizarlo. La gama de productos alimentarios, las cantidades, son como se ha descrito anteriormente.

35 Por tanto, en este método desvelado posteriormente, la etapa de fermentación como se ha descrito anteriormente puede omitirse y la formación del sabor puede centrarse en los pasos de tratamiento enzimático y térmico.

Por tanto, son posibles variaciones ilimitadas y están dentro de la comprensión de una persona experta.

40 La presente invención se ilustra más de aquí en adelante por medio de ejemplos no limitantes.

Ejemplos de referencia

45 Ejemplo de referencia 1: Producto lácteo similar a leche en polvo con sabor a crema dulce de miel

Se recombinan con agua 100 kg de leche entera en polvo hasta una concentración final de 35 % de materia seca. Se añade 0,1 kg de L-fenilalanina, el valor de pH se ajusta a 6,7 con solución de hidróxido potásico y la mezcla se precalienta a 80 °C y se trata mediante UHT a 125 °C durante 20 s. Después de enfriar a 30 °C, se añaden 3 kg de inóculo de *Lactococcus lactis* y 0,07 kg de preparación comercial de enzima lipasa para comenzar la fermentación. Después de 10 horas a 30 °C, el pH se ajusta a 6,7 con solución de hidróxido potásico y se añaden 0,9 kg de preparación comercial de enzima lactasa y se incuba durante 3 horas. Después de enfriar a 15 °C para el almacenamiento intermedio, la mezcla se trata con calor a 80 °C durante 80 s, se homogeneiza y se deshidrata por pulverización.

55 Ejemplo de referencia 2: Producto lácteo similar a leche en polvo con sabor crema de cacao

Se recombinan con agua 100 kg de leche entera en polvo hasta una concentración final de 35 % de materia seca. se añaden 0,1 kg de L-fenilalanina, 0,1 kg de ácido alfa-cetoglutarico, 0,1 kg de L-leucina, 0,1 kg de L-isoleucina, 0,1 kg de L-valina, el valor de pH se ajusta a 6,7 con solución de hidróxido potásico y la mezcla se precalienta a 80 °C y se trata mediante UHT a 125 °C durante 20 s. Después de enfriar a 30 °C, se añaden 3 kg de inóculo de una mezcla de cepas de *Lactococcus lactis* y 0,03 kg de preparación comercial de enzima lipasa para comenzar la fermentación. Después de 12 horas a 30 °C, el pH se ajusta a 6,7 con solución de hidróxido potásico. Después de enfriar a 15 °C para el almacenamiento intermedio, la mezcla se trata con calor a 80 °C durante 80 s, se homogeneiza y se deshidrata por pulverización.

65 Ejemplo de referencia 3: Análisis de los compuestos saborizantes



5 Se pesan 1,80 g de NaCl en un vial para encapsular de 20 ml y se añade una barra agitadora magnética. Se añaden 5,50 g de solución de muestra que contiene 12,5 % de materia seca. Se añaden 50 µl de patrón interno de solución de valerato de etilo (45 µl de valerato de etilo en 100 ml de agua) y 50 µl de patrón interno de solución de ácido 4-metiloctanóico (75 µl de ácido 4-metiloctanóico en 250 ml de agua), seguido del cierre del vial. El vial se coloca después en un baño de agua a 65 °C usando un agitador magnético con placa calefactora con termómetro de contacto a un intervalo de velocidad de alrededor de 870 rpm. Después de un tiempo de equilibrado de 30 min, el conjunto de la fibra (2 cm de conjunto de fibra para MEFS -en inglés SPME, microextracción en fase sólida- de DVB/CAR/PDMS StableFlex de 50/30 mm montado en soporte, ambos fabricados por SUPELCO Bellefonte, EE.UU.) se inserta mediante la perforación de los septos (calibrador de profundidad a 20 mm) y mediante la exposición completa de la fibra al espacio de cabeza por encima de la solución de muestra. Después de un tiempo de sorción de 30 min, la fibra se retrae y se retira dentro del conjunto de la fibra y fuera del vial.

15 El conjunto de la fibra se inyecta inmediatamente dentro del inyector de CG (calibrador de profundidad a 30 mm) y la separación se inicia mediante la exposición de la fibra al mismo tiempo. Después de 5 min, la fibra se retrae y se retira del inyector.

20 Los compuestos saborizantes se separan mediante cromatografía de gases sobre una columna capilar FFAP (50 m, 0,2 mm de diámetro interno, 0,3 µm de recubrimiento, Agilent Technologies EE.UU.) usando helio como gas portador y un gradiente de temperatura de 40 °C a 250 °C. Los compuestos separados se detectan e identifican mediante espectrometría de masas. La cuantificación relativa se realiza mediante el cálculo de la respuesta de los compuestos saborizantes en relación con las cantidades conocidas de los patrones internos de valerato de etilo (compuestos neutros) y ácido 4-metiloctanóico (compuestos ácidos).

25 Ejemplo de referencia 4:

A 98 kg de mezcla de helado, se le añaden 3 kg de mezcla fermentada o 1 kg de leche en polvo fermentada. La mezcla final de helado se pasteuriza después a 80 °C durante 80 s, seguido de homogeneización, enfriamiento a 3 °C, envejecimiento, congelación y envasado del helado.

**REIVINDICACIONES**

1. Sabor no sabroso obtenible mediante
  - 5 a. adición de al menos un aminoácido a una fuente láctea, en la que al menos un aminoácido se selecciona de entre fenilalanina, leucina, isoleucina, valina y mezclas de los mismos,
  - b. adición de al menos un microorganismo a la fuente láctea, en la que el microorganismo produce al menos una enzima capaz de convertir el aminoácido,
  - 10 c. fermentación de la fuente láctea, en la que al menos una enzima reacciona con el al menos un aminoácido presente en la mezcla de fermentación para proporcionar productos directos o indirectos de conversión que son responsables de un sabor concreto, en la que el sabor concreto es un sabor no sabroso,
  - d. adición de una lipasa y una lactasa en forma de preparaciones enzimáticas o en forma de enzimas inmovilizadas, antes de y/o durante y/o después de la fermentación.
- 15 2. Sabor de acuerdo con la reivindicación 1, en la que se añade entre 0,05 y 2 % en peso del aminoácido a la fuente láctea.
3. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la fuente láctea se selecciona de entre leche entera, leche desnatada, leche semidesnatada, leche cruda, leche recombinada, nata, suero de
  - 20 mantequilla, suero de leche, leche que contiene grasa vegetal y cualquier mezcla de los mismos.
4. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que un alfa cetoácido seleccionado de entre alfa cetoglutarato, alfa cetoisocaproato, alfa cetoisovalerato, aceptores similares o mezclas de los mismos se añade a la fuente láctea.
  - 25 5. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que antes de la adición del microorganismo se lleva a cabo una etapa de pasteurización.
- 30 6. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el microorganismo se selecciona para producir al menos las enzimas transamidasa y/o descarboxilasa y/o deshidrogenasa.
7. Sabor de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el microorganismo produce la enzima aldolasa.
8. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el microorganismo se selecciona de entre *Betacoccus*, *Lactobacillus*, propionibacterias, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Penicillium*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Saccharomyces*, *Debaromyces*, *Lactococcus* y cualquier mezcla de los mismos y/o mezclas de diferentes cepas del mismo microorganismo.
  - 35 9. Sabor de acuerdo con la reivindicación 8, en la que el microorganismo es un *Lactococcus lactis*.
- 40 10. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que se añade L-ramnosa a la fuente láctea.
- 45 11. Sabor de acuerdo con la reivindicación 10, en la que antes o después de la fermentación se lleva a cabo una etapa de calentamiento.
- 50 12. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, el cual es miel, caramelo, cacao, malta, crema de caramelo, crema dulce de miel, crema de cacao, café, nata, mantequilla, vainilla, nuez, chocolate y cualquier combinación o subcombinación de los mismos.
- 55 13. Sabor de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, el cual está en forma de un concentrado líquido o de un polvo.
14. Uso de un sabor no sabroso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en un producto alimentario, preferentemente en una cantidad de 0,05-10 % en peso sobre la base de materia seca.
15. Uso de acuerdo con la reivindicación 14, en la que el producto alimentario es helado, producto a base de chocolate, producto lácteo, sustituto lácteo, bebida de cacao, producto culinario, fórmula infantil o producto sanitario.

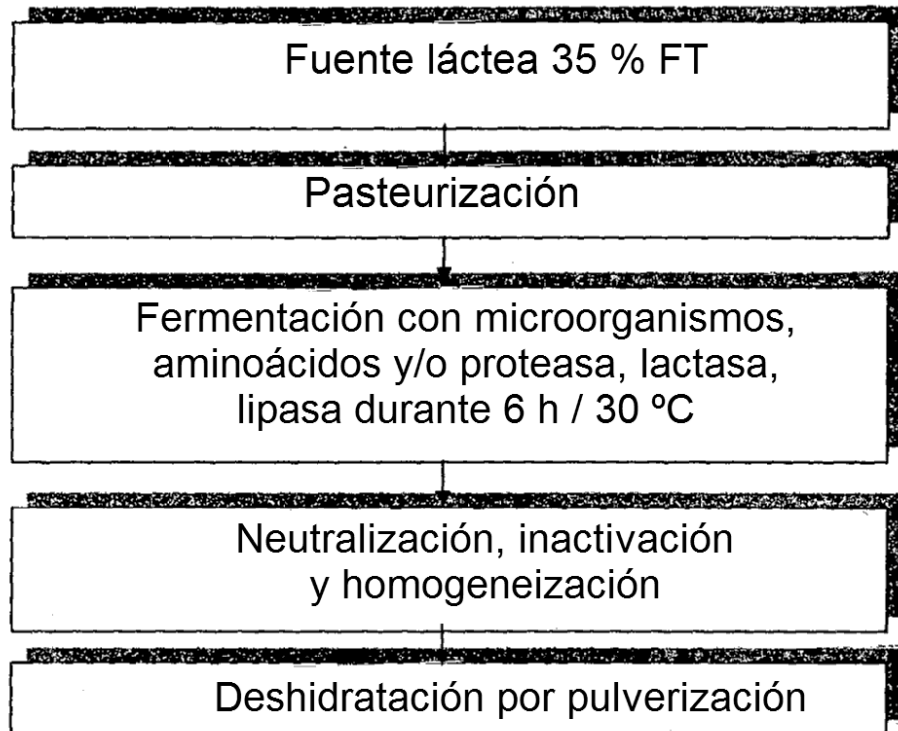


Figura 1

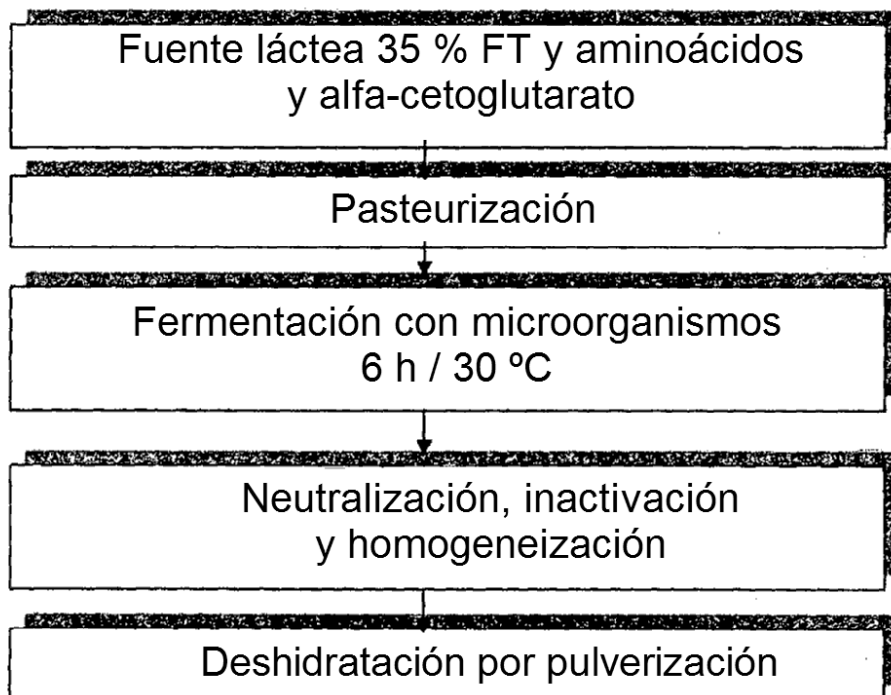


Figura 2



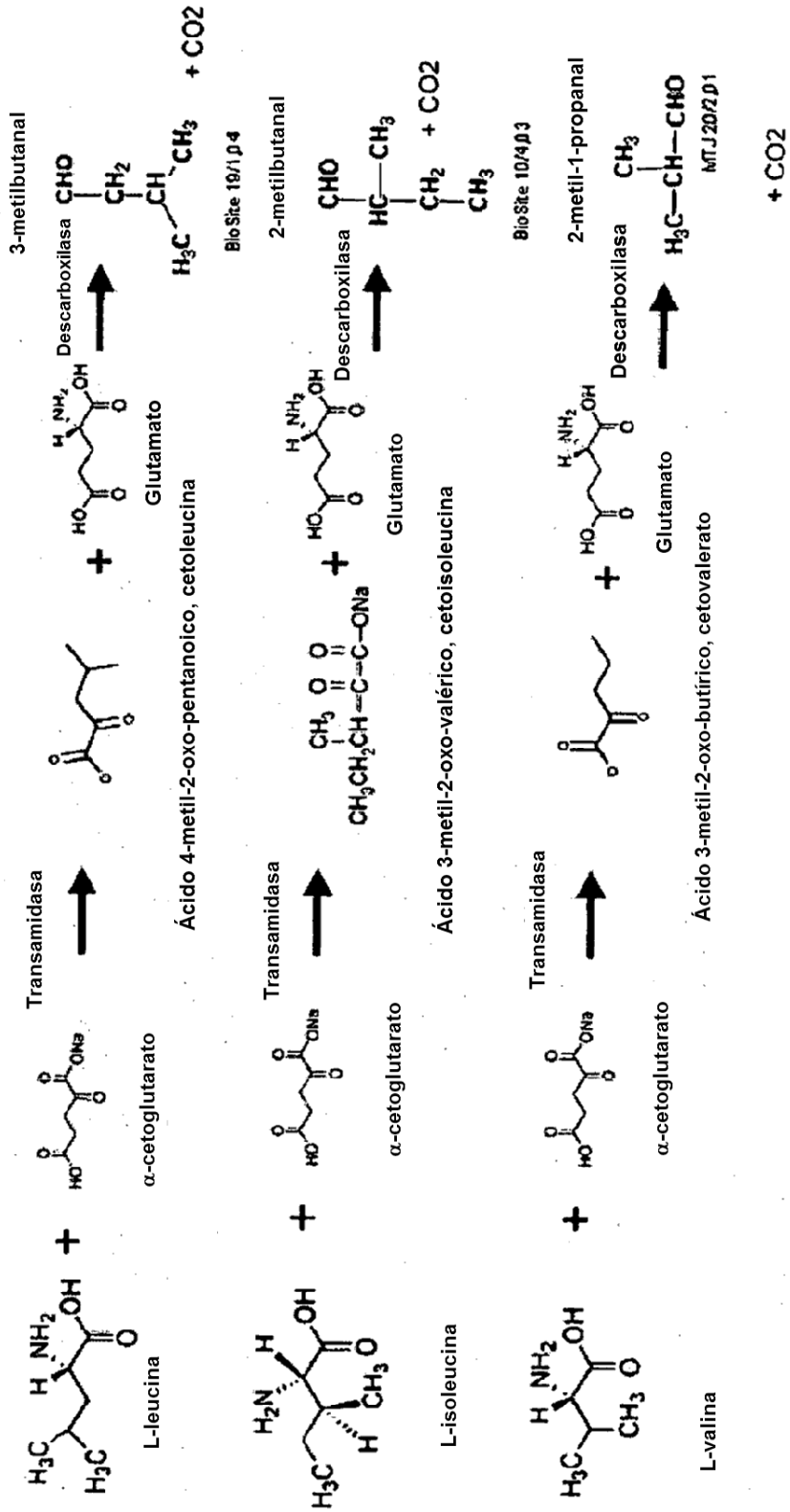


Figura 4

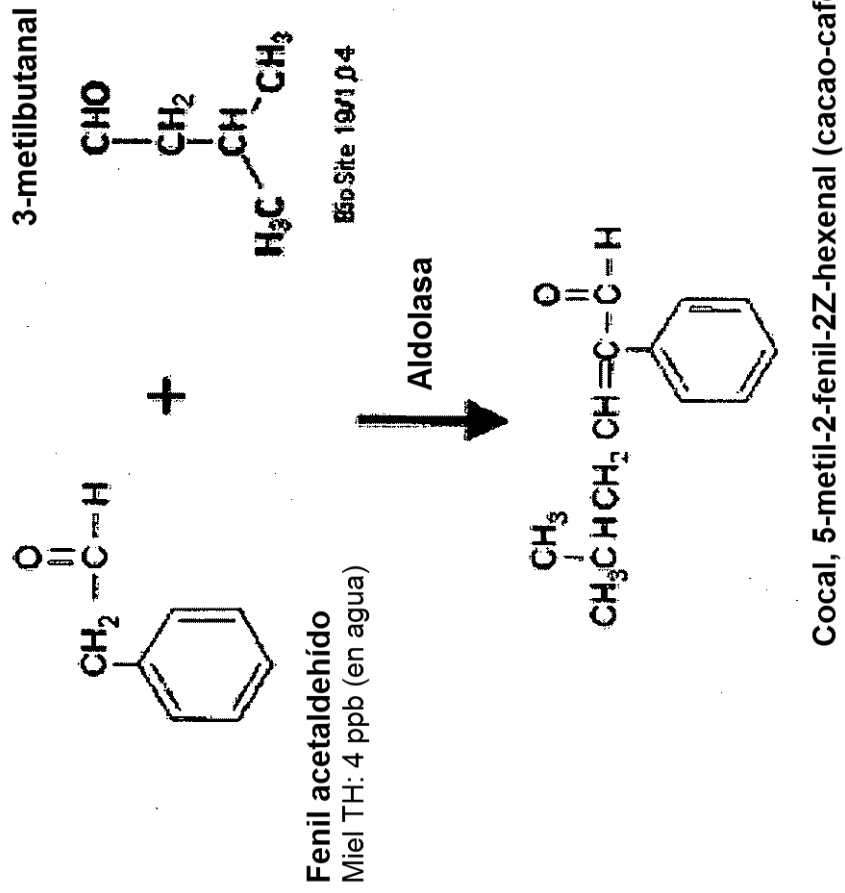


Figura 5

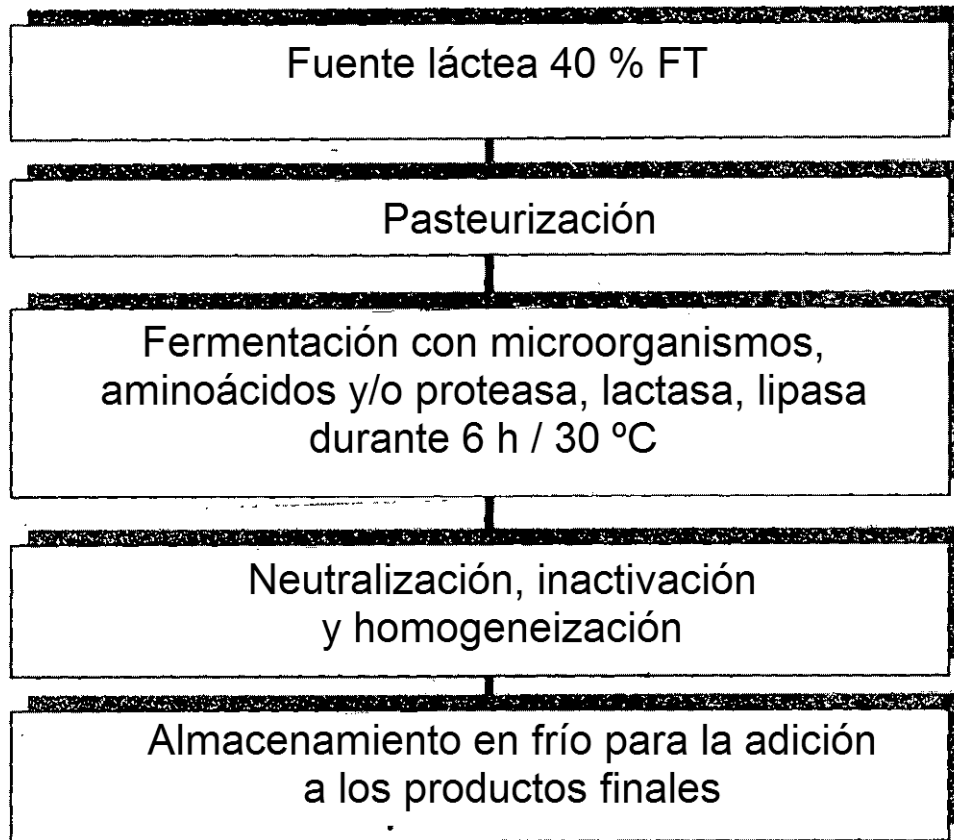


Figura 6