(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 662 586**

(51) Int. CI.:

A23D 7/005	(2006.01)	***A23L 5/41***	(2006.01)
A23D 9/013	(2006.01)	***A23L 33/185***	(2006.01)
A23J 3/22	(2006.01)	***A23L 13/40***	(2006.01)
A23L 27/26	(2006.01)		
A23L 2/66	(2006.01)		
C12G 3/06	(2006.01)		
C12C 5/02	(2006.01)		
A23L 29/238	(2006.01)		
A23L 7/109	(2006.01)		
A23L 27/10	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.01.2014 PCT/US2014/011347**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.07.2014 WO14110532**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.01.2014 E 14737766 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 2943072**

(54) Título: **Métodos y composiciones para afectar al perfil de sabor y aroma de productos de consumo**

(30) Prioridad:

11.01.2013 US 201361751816 P
12.07.2013 US 201313941211
25.11.2013 US 201361908634 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.04.2018

(73) Titular/es:

IMPOSSIBLE FOODS INC. (100.0%)
525 Chesapeake Drive
Redwood City, CA 94063, US

(72) Inventor/es:

FRASER, RACHEL;
BROWN, PATRICK O'REILLY;
KARR, JESSICA;
HOLZ-SCHIETINGER, CELESTE y
COHN, ELYSIA

(74) Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

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

Métodos y composiciones para afectar al perfil de sabor y aroma de productos de consumo

Campo técnico

Esta invención se refiere a productos alimenticios y más particularmente, a productos alimenticios que incluyen un anillo heterocíclico altamente conjugado complejado a hierro tal como un cofactor hemo y dos o más moléculas precursoras de sabor.

Antecedentes

Los alimentos son cualquier sustancia que o bien ingiere o bien bebe cualquier animal, incluyendo seres humanos, para nutrición o por placer. Habitualmente es de origen vegetal o animal, y puede contener nutrientes esenciales, tales como hidratos de carbono, grasas, proteínas, vitaminas o minerales. La sustancia la ingiere un organismo y la asimilan las células del organismo en un esfuerzo por producir energía, mantenerse con vida y estimular el crecimiento.

Los alimentos normalmente tienen su origen en un organismo fotosintético, tal como una planta. Algunos alimentos se obtienen directamente de plantas, pero incluso los animales que se usan como fuentes de alimentos se crían alimentándolos con alimentos que se derivan normalmente de plantas.

En la mayoría de los casos, se fracciona la fuente de alimentos vegetal planta o animal para dar una variedad de diferentes partes, dependiendo del propósito de los alimentos. A menudo, determinadas partes de la planta, tales como las semillas o los frutos, son más apreciadas por los seres humanos que otras y estas se seleccionan para el consumo humano, mientras que otras partes menos deseadas, tales como los tallos de hierbas, se usan normalmente para alimentar a los animales.

Los sucedáneos de carne de base vegetal actuales han fracasado en gran medida a la hora de provocar un cambio a una dieta vegetariana. Las composiciones de sucedáneo de carne normalmente son mezclas extruidas de soja/cereales que fracasan en gran medida a la hora de reproducir la experiencia de cocinar y comer carne. Las limitaciones habituales de los productos sucedáneos de carne de base vegetal son una textura y sensación en boca que son más homogéneas que las de productos cárnicos equivalentes. Además, como estos productos deben venderse en gran medida precocinados, con sabores y aromas artificiales incorporados previamente, fracasan a la hora de reproducir los aromas, sabores y otras características clave, tales como textura y sensación en boca, asociadas con la carne cocinada o cocida. Como resultado, estos productos son atractivos principalmente para una base limitada de consumidores que ya está comprometida con el vegetarianismo/veganismo, pero que han fracasado a la hora de resultar atractivos para el mayor segmento de consumidores acostumbrados a comer carne. Resultaría útil disponer de sucedáneos de carne de base vegetal mejorados que reproduzcan de mejor manera los aromas y sabores de la carne, particularmente durante y/o después del cocinado.
El documento WO 2013/010042 da a conocer una composición de sucedáneo de carne de base vegetal que comprende proteína, en el que dicha composición de sucedáneo de carne imita de manera exacta el gusto, la textura o el color de un producto cárnico derivado de fuentes animales.

El documento US 2009/0274817 da a conocer un mejorador del gusto con cuerpo que comprende un ácido graso altamente insaturado de cadena larga y/o un éster del mismo como componente principal y un componente de aumento del gusto con cuerpo, que es α-tocoferol y/o un componente de hierro.

Calquins *et al*. (Meat Science 2007, vol. 77, n.º 1, páginas 63-80) describen un estudio de los factores que influyen en el sabor de la carne.

Sumario

La presente invención está definida por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Se proporcionan en el presente documento métodos y composiciones para modular el perfil de sabor y/o aroma de productos alimenticios de consumo, incluyendo productos alimenticios de base animal o no animal (por ejemplo, vegetal), o mezclas de productos alimenticios de base animal y no animal. En algunas realizaciones, los métodos y las composiciones son útiles para modular el perfil de sabor y/o aroma de un producto alimenticio de consumo durante y/o después del proceso de cocinado. En algunas realizaciones, los métodos y las composiciones se usan para generar uno o más compuestos químicos que modulan el perfil de sabor y/o aroma del producto alimenticio de consumo durante y/o después del proceso de cocinado.

Tal como se proporciona en el presente documento, y sin querer limitarse por la teoría, se cree que determinados sabores y/o aromas a carne característicos (por ejemplo, a carne de vacuno, a beicon, umami, sabrosos, a sangre, a caldo, a salsa, metálicos, similares al caldo; véanse las tablas 2, 7 y 11), incluyendo uno o más compuestos

químicos específicos asociados con los mismos (véanse las tablas 3, 8, 9, 12, 14, 16 ó 17), se producen durante el proceso de cocinado de un producto alimenticio de consumo mediante reacción química de una o más composiciones o moléculas precursoras de sabor catalizada por la presencia de un anillo heterocíclico altamente conjugado complejado a un ion de hierro (por ejemplo, un resto hemo; o una porfirina; un porfirinógeno; una corrina; un corrinoide; una clorina; una bacterioclorofila; una corfina; una clorofilina; una bacterioclorina; o un resto de isobacterioclorina complejado a un ion de hierro). Tales restos heterocíclicos altamente conjugados incluyen anillos heterocíclicos aromáticos que se componen de una o más (2, 3 ó 4 más) subunidades de pirrol, similares a pirrol y/o pirrolina. El anillo heterocíclico altamente conjugado complejado a un ion de hierro se denomina en el presente documento complejo de hierro. En algunos casos, el resto hemo puede ser un cofactor hemo tal como un resto hemo unido a una proteína; un resto hemo unido a un polímero no proteico; un resto hemo unido a un soporte sólido; o un resto hemo encapsulado en un liposoma. En algunos casos, los sabores y/o aromas no se generan en ausencia del complejo de hierro (por ejemplo, en ausencia de una clorina ferrosa) o no se generan en ausencia de un cofactor hemo (por ejemplo, en ausencia de una proteína que contiene grupo hemo). Por consiguiente, tal como se describe en el presente documento, los complejos de hierro tales como complejos de clorinirona aislados o cofactores hemo (por ejemplo, proteínas que contienen grupo hemo) pueden usarse para generar sabores y/o aromas a carne en una variedad de productos alimenticios, tal como durante el proceso de cocinado.

La combinación de uno o más complejos de hierro tales como un cofactor hemo (por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo, incluyendo, por ejemplo una proteína con grupo hemo derivada de plantas tal como una leghemoglobina (legH) vegetal), con una o más composiciones o moléculas precursoras de sabor (véanse, por ejemplo, la tabla 1 o la tabla 13) puede generar o proporcionar una gama de aromas y gustos sabrosos y a carne (véanse, por ejemplo, las tablas 2, 7 y/o 11) en un producto alimenticio de consumo cocinado. Pueden añadirse composiciones o moléculas precursoras de sabor al producto alimenticio no cocinado en forma purificada y/o pueden derivarse de ingredientes en el producto alimenticio no cocinado de consumo que contienen y/o están enriquecidos con uno o más de las composiciones o precursores de sabor particulares, incluyendo, por ejemplo, extracto de levadura, aceite vegetal, aceite de maíz, aceite de soja, aceite del fruto de la palma, aceite de palmiste, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de nabina, aceite de girasol, aceite de coco, aceite de mango o un aceite de algas. El perfil de sabor y/o aroma resultante puede modularse mediante el tipo y la concentración de los precursores de sabor, el pH de la reacción, la duración del cocinado, el tipo y la cantidad de complejo de hierro (por ejemplo, un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo), la temperatura de la reacción, y la cantidad de actividad de agua en el producto, entre otros factores.

Pueden añadirse una o más composiciones o moléculas precursoras de sabor junto con un complejo de hierro (por ejemplo, clorofilina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo), a un producto alimenticio no cocinado, antes de y/o durante el proceso de cocinado, para proporcionar al producto alimenticio de consumo cocinado un gusto y olor a carne particulares, por ejemplo, el gusto y el olor de la carne de vacuno, beicon, carne de cerdo, carne de cordero o carne de pollo. Los productos alimenticios de consumo pueden ser productos alimenticios de base animal o no animal (por ejemplo, vegetal), o combinaciones de un producto alimenticio de base animal y uno de base no animal. Por ejemplo, una hamburguesa vegetariana de base vegetal o una hamburguesa de base animal, tal como una hamburguesa de carne de pollo, puede modificarse con las composiciones y los métodos de la presente divulgación para dar como resultado una hamburguesa que tiene un perfil de sabor y/o aroma cocinado que es más similar al de la carne, por ejemplo, similar a la carne de vacuno, similar a la carne de cordero, similar a la carne de cerdo, similar a la carne de pavo, similar a la carne de pato, similar a la carne de ciervo, similar a la carne de yak, similar a la carne de bisonte u otro sabor a carne deseable.

Los productos alimenticios para su uso en la presente divulgación incluyen los que tienen un complejo de hierro (por ejemplo, un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo), y una o más moléculas precursoras de sabor incluidos en el mismo. El complejo de hierro tal como un cofactor hemo (por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo) y la una o más moléculas precursoras de sabor pueden incluirse de manera homogénea o de manera heterogénea en los productos alimenticios. Una proteína con grupo hemo puede aislarse y purificarse antes de la inclusión en el producto alimenticio. Los ejemplos no limitativos de productos alimenticios de consumo que pueden incluir un complejo de hierro tal como un cofactor hemo (por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo) y una o más moléculas precursoras de sabor incluyen productos alimenticios de base animal o no animal (por ejemplo, de base vegetal), o combinaciones de productos alimenticios de base animal y no animal, en forma de perritos calientes, hamburguesas, carne picada, salchichas, bistecs, filetes, asados, pechugas, muslos, alitas, albóndigas, pastel de carne, beicon, tiras, palitos (*fingers)*, pepitas (*nuggets*), chuletas o dados.

Los productos alimenticios de consumo para su uso en la presente divulgación pueden ser composiciones de aditivo de sabor, por ejemplo, para la adición a otro producto alimenticio de consumo antes de, durante o después de su proceso de cocinado. Una composición de aditivo de sabor puede incluir un complejo de hierro tal como un cofactor hemo (por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo), y uno o más precursores de sabor.

Una composición de aditivo de sabor puede incluir una proteína con grupo hemo, por ejemplo, una proteína con grupo hemo aislada y purificada; una composición de aditivo de sabor de este tipo puede usarse para modular el perfil de sabor y/o aroma de un producto alimenticio de consumo que comprende una o más composiciones o

moléculas precursoras de sabor. Una composición de aditivo de sabor pueden incluir una o más composiciones o moléculas precursoras de sabor; una composición de aditivo de sabor de este tipo puede usarse para modular el perfil de sabor y/o aroma de un producto alimenticio de consumo que comprende la proteína con grupo hemo, por ejemplo, una proteína con grupo hemo aislada y purificada.

Una composición de aditivo de sabor puede estar en forma de, pero no limitarse a, bases de estofado o sopa, caldo, por ejemplo, en polvo o dados, sobres de saborizante o sobres de condimento o sobres para agitar. Tales composiciones de aditivo de sabor pueden usarse para modular el perfil de sabor y/o aroma para una variedad de productos alimenticios de consumo, y pueden añadirse a un producto alimenticio de consumo antes de, durante o después del cocinado del producto alimenticio de consumo.

En algunos casos, una composición de aditivo de sabor tal como una que incluye un complejo de hierro (por ejemplo, clorina ferrosa o una proteína con grupo hemo) y uno o más precursores de sabor pueden hacerse reaccionar (por ejemplo, *in vitro*) con calentamiento para generar un perfil de sabor y/o aroma particular de interés y la mezcla producto resultante puede añadirse al producto alimenticio de consumo de interés, que luego puede ingerirse tal cual o puede modificarse adicionalmente, por ejemplo, mediante cocinado adicional. En algunos casos, puede retirarse el complejo de hierro de la mezcla producto resultante antes de añadir la mezcla producto al producto alimenticio de consumo de interés. Por ejemplo, puede retirarse el complejo de hierro de la mezcla producto usando técnicas cromatográficas tales como cromatografía en columna, por ejemplo, una columna que contiene clorina de hierro o grupo hemo.

En algunos casos, el complejo de hierro tal como un cofactor hemo, por ejemplo, una proteína con grupo hemo, y la una o más composiciones de aditivo de sabor precursoras de sabor pueden estar libres de soja, libres de trigo, libres de levadura, libres de MSG y libres de productos de la hidrólisis de proteínas, y pueden tener un gusto a carne, altamente sabroso y sin olores o sabores desagradables.

Este documento describe un producto alimenticio que incluye un complejo de hierro tal como un resto hemo o una porfirina, un porfirinógeno, una corrina, un corrinoide, una clorina, una bacterioclorofila, una corfina, una clorofilina, una bacterioclorina o un resto de isobacterioclorina complejado a un ion de hierro y una o más moléculas precursoras de sabor seleccionadas del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, inositol, maltosa, sacarosa, maltodextrina, glucógeno, azúcares unidos a nucleótidos, melaza, un fosfolípido, una lecitina, inosina, inosina monofosfato (IMP), guanosina monofosfato (GMP), pirazina, adenosina monofosfato (AMP), ácido láctico, ácido succínico, ácido glicólico, tiamina, creatina, pirofosfato, aceite vegetal, aceite de algas, aceite de maíz, aceite de soja, aceite del fruto de la palma, aceite de palmiste, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de nabina, aceite de oliva, un ácido graso libre, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina, glutatión, un derivado de aminoácido, un hidrolizado de proteína, un extracto de malta, un extracto de levadura y una peptona. El resto hemo puede ser una proteína que contiene grupo hemo, un resto hemo unido a un polímero no peptídico; o un resto hemo unido a un soporte sólido. La proteína que contiene grupo hemo puede ser una proteína que contiene grupo hemo vegetal, de mamífero, de una levadura o un hongo filamentoso o bacteriana. El producto alimenticio puede incluir de dos a cien, de dos a cincuenta precursores de sabor, de dos a cuarenta precursores de sabor, de dos a treinta y cinco precursores de sabor, de dos a diez precursores de sabor, o de dos a seis precursores de sabor. En algunos casos, la una o más moléculas precursoras de sabor se seleccionan del grupo que consiste en glucosa, ribosa, cisteína, un derivado de cisteína, tiamina, alanina, metionina, lisina, un derivado de lisina, ácido glutámico, un derivado de ácido glutámico, IMP, GMP, ácido láctico, maltodextrina, creatina, alanina, arginina, asparagina, aspartato, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ácido linoleico, y mezclas de los mismos. La proteína que contiene grupo hemo puede ser una hemoglobina o una leghemoglobina no simbiótica (por ejemplo, una leghemoglobina vegetal tal como una de soja, alfalfa, altramuz, guisante, caupí o altramuz azul). La proteína que contiene grupo hemo puede incluir una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80% con un polipéptido expuesto en SEQ ID NO:1-26. La proteína que contiene grupo hemo puede aislarse y purificarse. El producto alimenticio puede incluir además un aceite de calidad alimentaria, un agente de condimento, un agente saborizante, una proteína, un concentrado de proteína, un emulsionante, un agente gelificante o una fibra. El producto alimenticio puede ser un sucedáneo de carne, una base de sopa, base de estofado, apetitivo, caldo en polvo, cubito de caldo, un sobre de saborizante o un producto alimenticio congelado. Cualquiera de los productos alimenticios puede estar libre de productos animales. El producto alimenticio puede sellarse dentro de un sobre o sobre para agitar.

En un aspecto, la invención se refiere a un sucedáneo de carne que comprende

a) una proteína que contiene grupo hemo; y

b) al menos dos moléculas precursoras de sabor seleccionadas del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, maltosa, galactosa, lactosa, xilosa, sacarosa, maltodextrina, tiamina, cisteína, cistina, un sulfóxido de cisteína, alicina, selenocisteína, metionina, isoleucina,

leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, 5-hidroxitriptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina;

en el que se proporciona un gusto y olor a carne al sucedáneo de carne durante el proceso de cocinado.

Este documento también describe un método para producir un compuesto con sabor. El método puede incluir combinar un complejo de hierro (por ejemplo, un resto hemo, una porfirina, un porfirinógeno, una corrina, un corrinoide, una clorina, una bacterioclorofila, una corfina, una clorofilina, una bacterioclorina o una isobacterioclorina complejada a hierro) y una o más moléculas precursoras de sabor para formar una mezcla, seleccionándose la una o más moléculas precursoras de sabor del grupo que consiste en glucosa, fructosa, arabinosa, ribosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, inositol, maltosa, sacarosa, maltodextrina, glucógeno, azúcares unidos a nucleótidos, melaza, un fosfolípido, una lecitina, inosina, inosina monofosfato (IMP), guanosina monofosfato (GMP), pirazina, adenosina monofosfato (AMP), ácido láctico, ácido succínico, ácido glicólico, tiamina, creatina, pirofosfato, aceite vegetal, aceite de algas, aceite de maíz, aceite de soja, aceite del fruto de la palma, aceite de palmiste, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de algodón, aceite de nabina, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de linaza, aceite de coco, aceite de mango, un ácido graso libre, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina, glutatión, un derivado de aminoácido, un hidrolizado de proteína, un extracto de malta, un extracto de levadura, y una peptona; y calentar la mezcla para formar uno o más compuestos con sabor seleccionados del grupo que consiste en fenilacetaldehído, 1-octen-3-ona, 2-n-heptilfurano, 2-tiofenocarboxaldehído, 3-tiofenocarboxaldehído, butirolactona, 2-undecenal, metil-pirazina, furfural, 2-decanona, pirrol, 1-octen-3-ol, 2-acetiltiazol, (E)-2-octenal, decanal, benzaldehído, (E)-2-nonenal, pirazina, 1-hexanol, 1-heptanol, trisulfuro de dimetilo, 2-nonanona, 2-pentanona, 2-heptanona, 2,3-butanodiona, heptanal, nonanal, 2-octanona, 1-octanol, 3-etilciclopentanona, 3-octen-2-ona, (E,E)-2,4-heptadienal, (Z)-2-etilheptenal, 6-metil-2-heptanona, (Z)-4-heptenal, (E,Z)-2,6-nonadienal, 3-metil-2-butenal, 2-pentil-furano, tiazol, (E,E)-2,4-decadiena, ácido hexanoico, 1-etil-5-metilciclopenteno, (E,E)-2,4-nonadienal, (Z)-2-decenal, dihidro-5-pentil-etil-2(3H)-furanona, trans-3-nonen-2-ona, (E,E)-3,5-octadien-2-ona, (Z)-2-octen-1-ol, 5-etildihidro-2(3H)-furanona, 2-etilbutenal, 1-penten-3-ol, (E)-2-hexenal, éster heptílico del ácido fórmico, 2-pentil-tiofeno, (Z)-2-nonenal, 2-hexil-tiofeno, (E)-2-decenal, 2-etil-5-metil-pirazina, 3-etil-2,5-dimetil-pirazina, 2-etil-1-hexanol, tiofeno, 2-metil-furano, piridina, butanal, 2-etil-furano, 3-metil-butanal, triclorometano, 2-metil-butanal, metacroleína, 2-metil-propanal, propanal, acetaldehído, 2-propil-furano, dihidro-5-propil-2(3H)-etilfuranona, 1,3-hexadieno, 4-decino, pentanal, 1-propanol, ácido heptanoico, trimetil-etanotiol, 1-butanol, 1-penten-3-ona, sulfuro de dimetilo, 2-etil-furano, 2-pentil-tiofeno, 2-propenal, 2-tridecen-1-ol, 4-octeno, 2-metil-tiazol, metil-pirazina, 2-butanona, 2-pentil-furano, 2-metilpropanal, butirolactona, 3-metil-butanal, metil-tiirano, 2-hexil-furano, butanal, 2-metil-butanal, 2-metil-furano, furano, octanal, 2-heptenal, 1-octeno, éster heptílico del ácido fórmico, 3-pentil-furano y 4-penten-2-ona. El resto hemo puede ser una proteína que contiene grupo hemo, un resto hemo unido a un polímero no peptídico; o un resto hemo unido a un soporte sólido. El método puede incluir combinar cisteína, ribosa, ácido láctico, lisina y/o tiamina con la proteína que contiene grupo hemo.

Este documento también describe un método para producir un compuesto con sabor. El método incluye combinar un complejo de hierro, tal como una proteína que contiene grupo hemo, y una o más moléculas precursoras de sabor para formar una mezcla, seleccionándose la una o más moléculas precursoras de sabor del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, inositol, maltosa, sacarosa, maltodextrina, glucógeno, azúcares unidos a nucleótidos, melaza, un fosfolípido, una lecitina, inosina, IMP, GMP, pirazina, AMP, ácido láctico, ácido succínico, ácido glicólico, tiamina, creatina, pirofosfato, aceite vegetal, aceite de algas, aceite de maíz, aceite de soja, aceite del fruto de la palma, aceite de palmiste, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de nabina, aceite de linaza, aceite de coco, aceite de mango, un ácido graso libre, metionina, cisteína, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina, glutatión, un derivado de aminoácido, un hidrolizado de proteína, un extracto de malta, un extracto de levadura, y una peptona; y calentar la mezcla para formar uno o más compuestos con sabor expuestos en las tablas 3, 8 ó 9. Por ejemplo, los precursores de sabor pueden incluir cisteína, un azúcar, y uno o más de otros precursores.

Este documento también describe un método para conferir un sabor similar al de la carne (por ejemplo, similar a la carne de vacuno, similar a la carne de pollo, similar a la carne de cerdo, similar a la carne de cordero, similar a la carne de pavo, similar a la carne de pato, similar a la carne de ciervo o similar a la carne de bisonte) a un producto alimenticio. El método incluye poner en contacto el producto alimenticio con una composición saborizante, la composición saborizante que comprende i) un complejo de hierro, tal como un resto hemo (por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo); y ii) una o más moléculas precursoras de sabor seleccionadas del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, inositol, maltosa, sacarosa, maltodextrina, glucógeno, azúcares unidos a nucleótidos, melaza, un fosfolípido, una lecitina, inosina, IMP, GMP, pirazina, AMP, ácido láctico, ácido succínico, ácido glicólico, tiamina, creatina, pirofosfato, aceite vegetal, aceite de algas, aceite de maíz, aceite de soja, aceite del fruto de la palma, aceite de palmiste, aceite de cártamo, aceite de linaza, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de nabina, aceite de linaza, aceite de coco, aceite de mango, un ácido graso libre, cisteína, metionina,

isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina, glutatión, un derivado de aminoácido, un hidrolizado de proteína, un extracto de malta, un extracto de levadura, y una peptona; en el que después de calentar conjuntamente el producto alimenticio y la composición saborizante, se confiere un sabor similar al de la carne (por ejemplo, similar a la carne de vacuno, similar a la carne de pollo, similar a la carne de cerdo, similar a la carne de cordero, similar a la carne de pavo, similar a la carne de pato, similar a la carne de ciervo o similar a la carne de bisonte) al producto alimenticio. En algunos casos, se retira el complejo de hierro del producto alimenticio. La composición saborizante puede incluir además un agente de condimento, un agente saborizante, una proteína, un concentrado de proteína o un emulsionante. La composición saborizante puede sellarse dentro de un sobre o sobre para agitar.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para conferir un sabor similar a carne de vacuno a un sucedáneo de carne que comprende poner en contacto dicho sucedáneo de carne con una composición saborizante, comprendiendo dicha composición saborizante: i) una proteína que contiene grupo hemo; y ii) al menos dos moléculas precursoras de sabor seleccionadas del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, maltosa, galactosa, lactosa, xilosa, sacarosa, maltodextrina, tiamina, cisteína, cistina, un sulfóxido de cisteína, alicina, selenocisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, 5-hidroxitriptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina; en el que después de calentar conjuntamente dicho sucedáneo de carne y dicha composición saborizante, se confiere un sabor similar a carne de vacuno a dicho sucedáneo de carne.

Este documento también describe un método de preparación de un producto alimenticio. El método incluye combinar una proteína que contiene grupo hemo aislada y una o más moléculas precursoras de sabor para formar una mezcla, seleccionándose la una o más moléculas precursoras de sabor del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-etilfosfato, fructosa-1,6-difosfato, inositol, maltosa, sacarosa, maltodextrina, glucógeno, azúcares unidos a nucleótidos, melaza, un fosfolípido, una lecitina, inosina, IMP, GMP, pirazina, AMP, ácido láctico, ácido succínico, ácido glicólico, tiamina, creatina, pirofosfato, aceite de girasol, aceite de coco, aceite de nabina, aceite de linaza, aceite de mango, un ácido graso libre, cisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina, glutatión, un derivado de aminoácido, un hidrolizado de proteína, un extracto de malta, un extracto de levadura, y una peptona; y calentar la mezcla.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la técnica a la que se refiere esta invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento para poner en práctica la invención, se describen a continuación métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones.

Se exponen los detalles de una o más realizaciones de la invención en los dibujos adjuntos y la siguiente descripción. Otras características, objetos y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y de las reivindicaciones. El término “que comprende” en las reivindicaciones puede reemplazarse por “que consiste esencialmente en” o por “que consiste en”, según la práctica convencional en la legislación de patentes.

Descripción de los dibujos

La figura 1 contiene secuencias de aminoácidos de proteínas que contienen grupo hemo a modo de ejemplo.

La figura 2 es un gráfico de barras de la clasificación del grado de sabor a carne de vacuno del sustituto de carne con o sin Magic Mix, ambas muestras por triplicado con el 1% p/v de proteína LegH. Los degustadores clasifican el grado de sabor a carne de vacuno en una escala de 1-7, siendo 1 que no parece carne de vacuno en absoluto y siendo 7 que parece exactamente igual que carne picada de vacuno.

Descripción detallada

Este documento se basa en métodos y materiales para modular el perfil de gusto y/o aroma de productos alimenticios. Tal como se describe en el presente documento, pueden usarse composiciones que contienen uno o más precursores de sabor y uno o más anillos heterocíclicos altamente conjugados complejados a hierro (denominado en el presente documento complejo de hierro) para modular el perfil de gusto y/o aroma de productos alimenticios. Tales complejos de hierro incluyen restos hemo u otros anillos heterocíclicos altamente conjugados complejados a un ion de hierro (denominado complejo de hierro). “Hemo” se refiere a un grupo prostético unido a hierro (Fe^{2+} o Fe^{3+}) en el centro de un anillo de porfirina. Por tanto, un complejo de hierro puede ser un resto hemo o una porfirina, un porfirinógeno, una corrina, un corrinoide, una clorina, bacterioclorofila, corfina, clorofilina, bacterioclorina o un resto de isobacterioclorina complejado a un ion de hierro. El resto hemo que puede usarse para modular el perfil de gusto y/o aroma de productos alimenticios puede ser un cofactor hemo tal como una proteína

que contiene grupo hemo; un resto hemo unido a un polímero no peptídico u otra macromolécula tal como un liposoma, un polietilenglicol, un hidrato de carbono, un polisacárido, una ciclodextrina, una polietilenimina, un poliacrilato, o derivados de los mismos; un sideróforo (es decir, un compuesto quelante de hierro); o un resto hemo unido a un soporte sólido (por ejemplo, perlas) que se compone de una resina para cromatografía, celulosa, grafito, carbón vegetal o tierra de diatomeas.

En algunos casos, los complejos de hierro catalizan algunas reacciones y producen precursores de sabor sin calentamiento o cocinado. En algunos casos, el complejo de hierro se desestabiliza tras calentamiento o cocinado y libera el hierro, por ejemplo, se desnaturaliza la proteína, de modo que pueden generarse precursores de sabor.

Los precursores de sabor adecuados incluyen azúcares, alcoholes de azúcar, derivados de azúcar, aceites (por ejemplo, aceites vegetales), ácidos grasos libres, alfa-hidroxiácidos, ácidos dicarboxílicos, aminoácidos y derivados de los mismos, nucleósidos, nucleótidos, vitaminas, péptidos, hidrolizados de proteína, extractos, fosfolípidos, lecitina y moléculas orgánicas. Se proporcionan ejemplos no limitativos de tales precursores de sabor en la tabla 1.

TABLA 1

Moléculas precursoras de sabor

Azúcares, alcoholes de azúcar, azúcar ácidos, y derivados de azúcar: glucosa, fructosa, ribosa, sacarosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, inositol, maltosa, melaza, maltodextrina, glucógeno, galactosa, lactosa, ribitol, ácido glucónico y ácido glucurónico, amilosa, amilopectina o xilosa
Aceites: aceite de coco, aceite de mango, aceite de girasol, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de salvado de arroz, manteca de cacao, aceite del fruto de la palma, aceite de palma, aceite de soja, aceite de nabina, aceite de maíz, aceite de sésamo, aceite de nuez, linaza, aceite de jojoba, ricino, aceite de pepita de uva, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de algas, aceite de bacterias u hongos
Ácidos grasos libres: ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linolénico, ácido gamma-linolénico, ácido araquídico, ácido araquidónico, ácido behénico o ácido erúcico
Aminoácidos y derivados de los mismos: cisteína, cistina, un sulfóxido de cisteína, alicina, selenocisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, 5-hidroxitriptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina o tirosina
Nucleósidos y Nucleótidos: inosina , inosina monofosfato (IMP), guanosina, guanósido monofosfato (GMP), adenosina, adenosina monofosfato (AMP)
Vitaminas: tiamina, vitamina C, vitamina D, vitamina B6 o vitamina E
Varios: fosfolípido, lecitina, pirazina, creatina, pirofosfato
Ácidos: ácido acético, alfa-hidroxiácidos tales como ácido láctico o ácido glicólico, ácidos tricarboxílicos tales como ácido cítrico, ácidos dicarboxílicos tales como ácido succínico o ácido tartárico
Péptidos e hidrolizados de proteína: glutatión, hidrolizados de proteína vegetal, hidrolizados de proteína de soja, hidrolizados de proteína de levadura, hidrolizados de proteína de alga, hidrolizados de proteína de carne
Extractos: un extracto de malta, un extracto de levadura, y una peptona

En algunos casos, se usan un precursor de sabor o combinaciones de dos a cien precursores de sabor, de dos a noventa, de dos a ochenta, de dos a setenta, de dos a sesenta o de dos a cincuenta precursores de sabor. Por ejemplo, pueden usarse combinaciones de dos a cuarenta precursores de sabor, de dos a treinta y cinco precursores de sabor, de dos a diez precursores de sabor, o de dos a seis precursores de sabor con el uno o más complejos de hierro (por ejemplo, cofactores hemo tales como una proteína que contiene grupo hemo). Por ejemplo, el uno o más precursores de sabor pueden ser glucosa, ribosa, cisteína, un derivado de cisteína, tiamina, lisina, un derivado de lisina, ácido glutámico, un derivado de ácido glutámico, alanina, metionina, IMP, GMP, ácido láctico, y mezclas de los mismos (por ejemplo, glucosa y cisteína; cisteína y ribosa; cisteína, glucosa o ribosa, y tiamina; cisteína, glucosa o ribosa, IMP y GMP; cisteína, glucosa o ribosa, y ácido láctico). Por ejemplo, el uno o más precursores de sabor pueden ser alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, triptófano, tirosina, valina, glucosa, ribosa, maltodextrina, tiamina, IMP, GMP, ácido láctico y creatina.

Tal como se usa en el presente documento, el término “proteína que contiene grupo hemo” puede usarse indistintamente con “polipéptido que contiene grupo hemo” o “proteína con grupo hemo” o “polipéptido con grupo hemo” e incluye cualquier polipéptido que puede unirse de manera covalente o no covalente a un resto hemo. En algunas realizaciones, el polipéptido que contiene grupo hemo es una globina y puede incluir un plegamiento de globina, que comprende una serie de siete a nueve hélices alfa. Las proteínas de tipo globina pueden ser de cualquier clase (por ejemplo, clase I, clase II o clase III), y en algunas realizaciones, pueden transportar o almacenar oxígeno. Por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo puede ser un tipo no simbiótico de hemoglobina o una

leghemoglobina. Un polipéptido que contiene grupo hemo puede ser un monómero, es decir, una única cadena de polipéptido, o puede ser un dímero, un trímero, tetrámero y/u oligómeros de orden superior. La vida del estado de Fe^{2+} oxigenado de una proteína que contiene grupo hemo puede ser similar a la de mioglobina o puede superarla en el 10%, el 20%, el 30% el 50%, el 100% o más en condiciones en las que el producto de consumo que contiene proteína con grupo hemo se fabrica, almacena, manipula o prepara para el consumo. La vida del estado de Fe^{2+} no oxigenado de una proteína que contiene grupo hemo puede ser similar a la de mioglobina o puede superarla en el 10%, el 20%, el 30%, el 50%, el 100% o más en condiciones en las que el producto de consumo que contiene proteína con grupo hemo se fabrica, almacena, manipula o prepara para el consumo

Los ejemplos no limitativos de polipéptidos que contienen grupo hemo pueden incluir una androglobina, una citoglobina, una globina E, una globina X, una globina y, una hemoglobina, una mioglobina, una eritrocruorina, una beta-hemoglobina, una alfa-hemoglobina, una protoglobina, una cianoglobina, una citoglobina, una histoglobina, una neuroglobina, una clorocruorina, una hemoglobina truncada (por ejemplo, HbN o HbO), una globina truncada 2/2, una hemoglobina 3 (por ejemplo, Glb3), un citocromo o una peroxidasa.

Las proteínas que contienen grupo hemo que pueden usarse en las composiciones y los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden proceder de mamíferos (por ejemplo, animales de granja tales como vacas, cabras, ovejas, cerdos, bueyes o conejos), aves, plantas, algas, hongos (por ejemplo, levaduras u hongos filamentosos), ciliados o bacterias. Por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo puede proceder de un mamífero tal como un animal de granja (por ejemplo, una vaca, cabra, oveja, un cerdo, buey o conejo) o un ave tal como un pavo o pollo. Las proteínas que contienen grupo hemo pueden proceder de una planta tal como *Nicotiana tabacum* o *Nicotiana silvestris* (tabaco); *Zea mays* (maíz), *Arabidopsis thaliana,* una legumbre tal como *Glycine max* (soja), *Cicer arietinum* (garbanzo o chícharo), *Pisum sativum* (guisante) variedades tales como guisantes de huerta o tirabeques, *Phaseolus vulgaris* variedades de judías comunes tales como judías verdes, fríjoles negros, judías blancas, fríjoles blancos o judías pintas, variedades de *Vigna unguiculata* (caupís), *Vigna radiata* (fríjoles mung), *Altramuzus albus* (altramuz) o *Medicago sativa* (alfalfa); *Brassica napus* (nabina); *Triticum sps.* (trigo, incluyendo granos de trigo y espelta); *Gossypium hirsutum* (algodón); *Oryza sativa* (arroz); *Zizania sps.* (arroz salvaje); *Helianthus annuus* (girasol); *Beta vulgaris* (remolacha azucarera); *Pennisetum glaucum* (mijo perla); *Chenopodium sp.* (quinoa); *Sesamum sp.* (sésamo); *Linum usitatissimum* (lino); *o Hordeum vulgare* (cebada). Pueden aislarse proteínas que contienen grupo hemo de hongos tales como *Saccharomyces cerevisiae, Pichia pastoris, Magnaporthe oryzae, Fusarium graminearum, Aspergillus oryzae, Trichoderma reesei, Myceliopthera thermophile, Kluyvera lactis o Fusarium oxisporum.* Pueden aislarse proteínas que contienen grupo hemo de bacterias tales como *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium, Synechocistis sp*., *Aquifex aeolicus, Methylacidiphilum infernorum* o bacterias termófilas tales como *Thermophilus.* Se conocen las secuencias y la estructura de numerosas proteínas que contienen grupo hemo. Véanse, por ejemplo, Reedy, *et al*., Nucleic Acids Research, 2008, vol. 36, Database issue D307-D313 y la Base de datos sobre proteínas con grupo hemo disponible en la web en http://hemeprotein.info/heme.php.

Por ejemplo, una hemoglobina no simbiótica puede proceder de una planta seleccionada del grupo que consiste en soja, soja germinada, alfalfa, lino dorado, fríjol negro, judía de careta, fríjol blanco, garbanzo, judía mung, caupíes, judías pintas, guisantes de vaina, quinoa, sésamo, girasol, granos de trigo, espelta, cebada, arroz salvaje o arroz.

Cualquiera de las proteínas que contienen grupo hemo descritas en el presente documento que pueden usarse para producir productos alimenticios puede tener una identidad de secuencia de al menos el 70% (por ejemplo, al menos el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 97%, el 98%, el 99% o el 100%) con la secuencia de aminoácidos de la proteína que contiene grupo hemo de tipo natural correspondiente o fragmentos de la misma que contienen un motivo de unión a grupo hemo. Por ejemplo, una proteína que contiene grupo hemo puede tener una identidad de secuencia de al menos el 70% con una secuencia de aminoácidos expuesta en la figura 1, incluyendo una hemoglobina no simbiótica tal como la procedente de *Vigna radiata* (SEQ ID NO:1), *Hordeum vulgare* (SEQ ID NO:5), *Zea mays* (SEQ ID NO:13 *Oryza sativa subsp. japonica (arroz)* (SEQ ID NO:14) o *Arabidopsis thaliana* (SEQ ID NO:15), una globina de la puerta del infierno I tal como la procedente de *Methylacidiphilum infernorum* (SEQ ID NO:2), una flavohemoproteína tal como la procedente de *Aquifex aeolicus* (SEQ ID NO:3), una leghemoglobina tal como la procedente de *Glycine max* (SEQ ID NO:4), *Pisum sativum* (SEQ ID NO:16) o *Vigna unguiculata* (SEQ ID NO:17), una peroxidasa dependiente de grupo hemo tal como de *Maghaporthe oryzae,* (SEQ ID NO:6) o *Fusarium oxisporum* (SEQ ID NO:7), una citocromo c peroxidasa de *Fusarium graminearum* (SEQ ID NO:8), una hemoglobina truncada de *Chlamydomonas moewusii* (SEQ ID NO:9), *Tetrahymeha piriformis* (SEQ ID NO:10, grupo I truncado), *Paramecium caudatum* (SEQ ID NO:11, grupo I truncado), una hemoglobina de *Aspergillus niger* (SEQ ID NO:12) o una proteína mioglobina de mamífero tal como la mioglobina de *Bos taurus* (SEQ ID NO:18), mioglobina de *Sus scrofa* (SEQ ID NO:19), mioglobina de *Equus caballus* (SEQ ID NO:20), una proteína con grupo hemo de *Nicotiana benthamiana* (SEQ ID NO:21), *Bacillus subtilis* (SEQ ID NO:22), *Corynebacterium glutamicum* (SEQ ID NO:23), *Synechocystis* PCC6803 (SEQ ID NO:24), *Synechococcus* sp. PCC 7335 (SEQ ID NO:25) o *Nostoc commune* (SEQ ID NO:26).

El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos puede determinarse tal como sigue. En primer lugar, las secuencias de aminoácidos se alinean usando el programa BLAST 2 Sequences (B12seq) de la versión autónoma de BLASTZ que contiene BLASTP versión 2.0.14. Esta versión autónoma de BLASTZ puede obtenerse

del sitio web de Fish & Richardson (por ejemplo, www.fr.com/blast/) o el sitio web del Centro Nacional para la Información Biotecnológica del gobierno estadounidense (www.ncbi.nlm.nih.gov). Pueden hallarse instrucciones que explican cómo usar el programa B12seq en el archivo Léame que acompaña a BLASTZ. B12seq realiza una comparación entre dos secuencias de aminoácidos usando el algoritmo BLASTP. Para comparar dos secuencias de aminoácidos, se establecen las opciones de B12seq tal como sigue: -i se establece en un archivo que contiene la primera secuencia de aminoácidos que va a compararse (por ejemplo, C:\seq1.txt); -j se establece en un archivo que contiene la segunda secuencia de aminoácidos que va a compararse (por ejemplo, C:\seq2.txt); -p se establece en blastp; -o se establece en cualquier nombre de archivo deseado (por ejemplo, C:\output.txt); y todas las opciones se dejan en sus ajustes por defecto. Por ejemplo, puede usarse el siguiente comando para generar un archivo de salida que contiene una comparación entre dos secuencias de aminoácidos: C:\B12seq -i c:\seq1.txt -j c:\seq2.txt -p blastp -o c:\output.txt. Si las dos secuencias comparadas comparten homología, entonces el archivo de salida designado presentará esas regiones de homología como secuencias alineadas. Si las dos secuencias comparadas no comparten homología, entonces el archivo de salida designado no presentará secuencias alineadas. Pueden seguirse procedimientos similares para secuencias de ácido nucleico excepto que se usa blastn.

Una vez alineadas, se determina el número de coincidencias contando el número de posiciones en las que se presenta un residuo de aminoácido idéntico en ambas secuencias. Se determina el porcentaje de identidad dividiendo el número de coincidencias entre la longitud de la secuencia de aminoácidos del polipéptido de longitud completa seguido por multiplicar el valor resultante por 100. Se indica que el valor de porcentaje de identidad se redondea a la décima más próxima. Por ejemplo, 78,11, 78,12, 78,13 y 78,14 se redondean hacia abajo a 78,1, mientras que 78,15, 78,16, 78,17, 78,18 y 78,19 se redondean hacia arriba a 78,2. También se indica que el valor de longitud siempre será un número entero.

Se apreciará que varios ácidos nucleicos pueden codificar para un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos particular. La degeneración del código genético se conoce bien en la técnica; es decir, para muchos aminoácidos, existe más de un triplete de nucleótido que sirve como codón para el aminoácido. Por ejemplo, pueden modificarse codones en la secuencia codificante para una enzima dada de tal manera que se obtenga la expresión óptima en una especie particular (por ejemplo, bacteria u hongo), usando tablas de sesgo de codones apropiadas para esa especie.

Pueden extraerse proteínas que contienen grupo hemo del material fuente (por ejemplo, extraerse de tejido animal, o biomasa vegetal, fúngica, de algas o bacteriana, o del sobrenadante de cultivo para proteínas secretadas) o de una combinación de materiales fuente (por ejemplo, múltiples especies de planta). La leghemoglobina está fácilmente disponible como subproducto no usado de cultivos básicos de leguminosas (por ejemplo, soja, alfalfa o guisante). La cantidad de leghemoglobina en las raíces de estos cultivos en los Estados Unidos supera el contenido de mioglobina de toda la carne roja consumida en los Estados Unidos.

En algunos casos, los extractos de proteínas que contienen grupo hemo incluyen una o más proteínas no que contienen grupo hemo del material fuente (por ejemplo, otras proteínas animales, vegetales, fúngicas, de algas o bacterianas) o de una combinación de materiales fuente (por ejemplo, diferentes animales, plantas, hongos, algas o bacterias).

En algunos casos, se aíslan y se purifican proteínas que contienen grupo hemo de otros componentes del material fuente (por ejemplo, otras proteínas animales, vegetales, fúngicas, de algas o bacterianas). Tal como se usa en el presente documento, el término “aislada y purificada” indica que la preparación de proteína que contiene grupo hemo es pura en al menos el 60%, por ejemplo, pura en más del 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95% o el 99%. Sin querer limitarse por la teoría, el aislamiento y la purificación de proteínas puede permitir que se preparen los productos alimenticios con mayor consistencia y mayor control sobre las propiedades del producto alimenticio ya que se elimina material no deseado. Pueden separarse proteínas basándose en su peso molecular, por ejemplo, mediante cromatografía de exclusión molecular, ultrafiltración a través de membranas o centrifugación por densidad. En algunos casos, las proteínas pueden separarse basándose en su carga de superficie, por ejemplo, mediante precipitación isoeléctrica, cromatografía de intercambio aniónico o cromatografía de intercambio catiónico. También pueden separarse proteínas basándose en su solubilidad, por ejemplo, mediante precipitación con sulfato de amonio, precipitación isoeléctrica, tensioactivos, detergentes o extracción con disolventes. También pueden separarse proteínas mediante su afinidad a otra molécula, usando, por ejemplo, cromatografía de interacción hidrófoba, colorantes reactivos o hidroxiapatita. La cromatografía de afinidad también puede incluir usar anticuerpos que tienen una afinidad de unión específica por la proteína que contiene grupo hemo, níquel-NTA para proteínas recombinantes con cola de His, lectinas para unirlas a restos de azúcar en una glicoproteína, u otras moléculas que se unan específicamente a la proteína.

También pueden producirse de manera recombinante proteínas que contienen grupo hemo usando técnicas de expresión de polipéptidos (por ejemplo, técnicas de expresión heteróloga usando células bacterianas, células de insecto, células fungicas tales como de levadura, células vegetales tales como tabaco, soja o *Arabidopsis,* o células de mamífero). En algunos casos, pueden usarse técnicas de síntesis de polipéptidos convencionales (por ejemplo, técnicas de síntesis de polipéptidos en fase líquida o técnicas de síntesis de polipéptidos en fase sólida) para producir proteínas que contienen grupo hemo a través de síntesis. En algunos casos, pueden usarse técnicas

transcripción-translación *in vitro* para producir proteínas que contienen grupo hemo.

La proteína usada en el producto de consumo puede ser soluble en una disolución. En algunos casos, las proteínas aisladas y purificadas son solubles en disolución a más de 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 150, 200 ó 250 g/l.

En algunos casos, la proteína aislada y purificada está sustancialmente en su plegamiento nativo y es soluble en agua. En algunos casos, la proteína aislada y purificada está en más del 50, el 60, el 70, el 80 o el 90% en su plegamiento nativo. En algunos caso, la proteína aislada y purificada es en más del 50, el 60, el 70, el 80 o el 90% soluble en agua.

Modulación del perfil de sabor y/o aromas

Tal como se describe en el presente documento, pueden usarse diferentes combinaciones de precursores de sabor con uno o más complejos de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa, un complejo de clorina-hierro o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo o grupo hemo unido a un polímero no peptídico tal como polietilenglicol o a un soporte sólido) para producir diferentes perfiles de sabor y aroma cuando los precursores de sabor y complejos de hierro se calientan conjuntamente (por ejemplo, durante el cocinado). El perfil de sabor y/o aroma resultante puede modularse mediante el tipo y la concentración de los precursores de sabor, el pH de la reacción, la duración del cocinado, el tipo y la cantidad de complejo de hierro (por ejemplo, un cofactor hemo tal como proteína que contiene grupo hemo, grupo hemo unido a macromolécula o polímero no peptídico, o grupo hemo unido a un soporte sólido), la temperatura de la reacción, y la cantidad de actividad de agua en el producto, entre otros factores. En casos en los que se une un resto hemo a un soporte sólido tal como celulosa o una resina para cromatografía, grafito, carbón vegetal o tierra de diatomeas, el soporte sólido (por ejemplo, perlas) puede incubarse con azúcares y/o uno o más de otros precursores de sabor para generar sabores, y luego el soporte sólido con el resto hemo unido puede volver a usarse, es decir, incubarse de nuevo con azúcares y/o uno o más de otros precursores de sabor para generar sabores.

La tabla 2 proporciona ejemplos no limitativos de tipos de sabor que pueden generarse combinando uno o más precursores de sabor y uno o más cofactores hemo (por ejemplo, proteínas que contienen grupo hemo). Véanse también las tablas 7 y/o 11.

TABLA 2

Tipos de sabor

Tipos de sabor	
carne de vacuno	caldo de carne de vacuno
jugo de carne de vacuno	a queso
fiambre	calabacín
beicon	intenso
a carne	afrutado
a caldo	floral
ramen	a moho
huevo	alimento frito
a malta	caramelo
a pan	barbacoa
azufre	chocolate
pollo frito	dulce
dorado	patata
pretzel	tostada francesa
a grasa	corteza de pan
a sangre	setas
brócoli	pollo
a caldo	comino
a mantequilla	umami
metálico	pasa
a levadura	a cabra
caldo vegetal	

Se crean perfiles de sabor y aroma mediante diferentes compuestos químicos formados mediante reacciones químicas entre el cofactor hemo (por ejemplo, proteína que contiene grupo hemo) y precursores de sabor. Puede usarse cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) para separar e identificar los diferentes compuestos químicos en una muestra de prueba. Por ejemplo, pueden aislarse productos químicos volátiles de la cámara anterior después de calentar una proteína que contiene grupo hemo y uno o más precursores de sabor.

La tabla 3 proporciona ejemplos no limitativos de compuestos que pueden producirse. Véanse también las tablas 8, 9, 12 y/o 14.

TABLA 3

Compuestos producidos

fenilacetaldehído	2-etil-2-butenal	1,3-hexadieno
1-octen-3-ona	acetonitrilo	4-decino
2-n-heptilfurano		pentanal
2-tiofenocarboxaldehído	(E)-2-Hexenal	1-propanol
3-tiofenocarboxaldehído	4-etil-fenol,	ácido heptanoico
1-octeno	3-octanona	etanotiol
butirolactona	estireno	2-metil-1-hepteno
2-undecenal	3-pentil-furano	(E)-4-octeno
propil-ciclopropano	éster heptílico del ácido fórmico	2-metil-2-hepteno
metil-pirazina	(E)-2-Heptenal	ácido pentanoico
1-hidroxi-propanona	6-metil-5-hepten-2-ona	ácido nonanoico
ácido acético	éster vinílico del ácido n-caproico	1,3-dimetil-benceno
furfural	2-etil-2-hexenal	
2-decanona	1-hepten-3-ol	tolueno
pirrol	1-etil-1-metilciclopentano	1-butanol
1-octen-3-ol	3-etil-2-metil-1,3-hexadieno	2,3,3-trimetil-pentano
2-acetiltiazol	2-pentil-tiofeno	alcohol isopropílico
(E)-2-octenal	(Z)-2-nonenal	2,2,4,6,6-pentametil-heptano
decanal	2-n-octilfurano	fenol
benzaldehído	2-hexil-tiofeno	1-penten-3-ona
(E)-2-Nonenal	4-ciclopenteno-1,3-diona	sulfuro de dimetilo
pirazina	1-nonanol	tiirano
1-pentanol	(E)-2-decenal	(E)-2-octen-1-ol
trans-2-(2-pentenil)furano	4-etil-benzaldehído	2,4-dimetil-1-hepteno
1-hexanol	1,7-octadien-3-ol	1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benceno
1-heptanol	ácido octanoico	heptano
trisulfuro de dimetilo	2-etil-5-metil-pirazina	4,7-dimetil-undecano
2-nonanona	3-etil-2,5-dimetil-pirazina	acetofenona
2-pentanona	1,3,5-cicloheptatrieno	tridecano
2-heptanona	2-etil-1-hexanol	éster s-metílico de tiofosforamida
2,3-butanodiona	ácido 4-metil-octanoico	2-metil-tiazol
heptanal	m-aminofenilacetileno	3-(1-metiletoxi)-propanonitrilo,
nonanal	benceno	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol
2-octanona	tiofeno	3-etil-2,2-dimetil-pentano
2-butanona	2-metil-furano	3-etil-pentano
octanal	piridina	2,3,4-trimetil-pentano
1-octanol	furano	2,4,6-trimetil-octano
3-etilciclopentanona	butanal	2,6-dimetil-nonano
8-metil-1-undeceno	2-etil-furano	2-hexil-furano
3-octen-2-ona	disulfuro de carbono	4-metil-5-tiazol-etanol
(E,E)-2,4-Heptadienal,	2-hexil-:2-furano	4-penten-2-ona
(Z)-2-heptenal	3-metil-butanal	4-metiltiazol
6-metil-2-heptanona	2-metil-butanal	2-metil-3-pentanona
(Z)-4-heptenal	metacroleína	2,3-pentanodiona
(E,Z)-2,6-nonadienal	octano	(E)-2-tridecen-1-ol
3-metil-2-butenal	etanol	2-tiofenometanamina
2-pentil-furano	2-metil-propanal	(Z)-2-nonenal,
tiazol	acetona	tiolacetato de metilo
(E,E)-2,4-decadienal	propanal	etanoato de metilo
ácido hexanoico	metil-tiirano	isotiazol
1-etil-5-metilciclopenteno	acetaldehído	3,3-dimetil-hexano
(E,E)-2,4-nonadienal	2-propenal	4-metil-heptano
(Z)-2-decenal	2-propil-furano	2,4-dimetil-heptano
dihidro-5-pentil-2(3h)-furanona	dihidro-5-propil-2(3 H)-furanona	2,3,4-trimetil-heptano
trans-3-nonen-2-ona	dihidro-3-(2H)-tiofenona	2-metil-heptano
(E,E)-3,5-octadien-2-ona	2,2,6-trimetil-decano	2-metil-3-furanotiol

(Z)-2-octen-1-ol	3,3'-ditiobis[2-metil-furano	4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-carbonitrilo
5-etildihidro-2(3H)-furanona	1-hepteno	1,2-bencisotiazol-3(2H)-ona
2-butenal	1,3-octadieno	2-acetil-propen-2-ol,
1-(etiltio)-2-(metiltio)-buta-1,3-dieno		

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento se calienta en presencia de carne picada de pollo, para aumentar componentes volátiles saborizantes y odorizantes específicos normalmente elevados en la carne de vacuno. Por ejemplo, pueden aumentarse propanal, butanal, 2-etil-furano, heptanal, octanal, trans-2-(2-pentenil)furano, (Z)-2-heptenal, (E)-2-octenal, pirrol, 2,4-dodecadienal, 1-octanal, (Z)-2-decenal o 2-undecenal en presencia de la proteína que contiene grupo hemo, lo que puede conferir un sabor más similar a carne de vacuno a la carne de pollo.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento se calienta en presencia de cisteína y glucosa u otras combinaciones de precursores de sabor para proporcionar un perfil diferente de odorizantes volátiles que cuando se usa individualmente cualquier subconjunto de los tres componentes. Los componentes de sabor volátiles que se aumentan en estas condiciones incluyen pero no se limitan a furano, acetona, tiazol, furfural, benzaldehído, 2-piridincarboxaldehído, 5-metil-2-tiofenocarboxaldehído, 3-metil-2-tiofenocarboxaldehído, 3-tiofenometanol y decanol. Véanse, por ejemplo, las tablas 8 y 9. En estas condiciones, cisteína y glucosa solas o en presencia de sales de hierro tales como glucanato ferroso produjeron un olor a azufre, pero la adición de proteínas que contienen grupo hemo redujo el olor a azufre y lo reemplazaron por sabores incluyendo pero sin limitarse a caldo de pollo, setas quemadas, melaza y pan.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento se calienta en presencia de cisteína y ribosa para proporcionar un perfil diferente de odorizantes volátiles. El calentamiento en presencia de ribosa creó algunos compuestos adicionales en comparación con cuando se calentaron conjuntamente una proteína que contiene grupo hemo y glucosa. Véanse las tablas 8 y 9.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorofilina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento puede calentarse en presencia de tiamina y un azúcar para afectar a la formación de 5-tiazol-etanol, 4-metil-furano, 3,3'-ditiobis[2-metil-furano] y/o 4-metiltiazol. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y tienen notas de gusto a carne de vacuno, a carne.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento puede calentarse en presencia de un nucleótido tal como inosina monofosfato y/o guanosina monofosfato para controlar la formación de compuestos con sabor tales como (E)-4-octeno, 2-etil-furano, 2-pentanona, 2,3-butanodiona, 2-metil-tiazol, metil-pirazina, tridecano, (E)-2-octenal, 2-tiofenocarboxaldehído y/o 3-tiofenocarboxaldehído. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y tienen notas de sabor a carne de vacuno, a carne, a mantequilla o sabroso.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento puede calentarse en presencia de lisina, un azúcar tal como ribosa, y cisteína para controlar la formación de compuestos con sabor tales como trisulfuro de dimetilo, nonanal, 2-pentil-tiofeno, 2-nonenal, furfural, 1-octanol, 2-nonenal, tiazol, 2-acetiltiazol, fenilacetaldehído y/o 2-acetiltiazol. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y algunos tienen un sabor a carne de vacuno, a carne o sabroso.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento puede calentarse en presencia de ácido láctico, un azúcar tal como ribosa, y cisteína para controlar la formación de los compuestos con sabor nonanal, tiazol, 2-acetiltiazol y/o 8-metil-1-undeceno. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y tienen notas a carne de vacuno, sabrosas, a dorado, a pan y a malta.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento puede calentarse en presencia de aminoácidos, azúcares tales como glucosa, ribosa, y maltodextrina, ácido láctico, tiamina, IMP, GMP, creatina, y sales tales como cloruro de potasio y cloruro de sodio, para controlar la formación de compuestos con sabor tales como 1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benceno, 2-metilo 3-furantiol y/o sulfuro de bis(2-metil-4,5-dihidro-3-furilo). Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y tienen notas a carne de vacuno. Véase también la tabla 14.

En algunos casos, se elige un tipo particular de proteína que contiene grupo hemo para controlar la formación de compuestos con sabor. Véanse, por ejemplo, los resultados de la tabla 9, que muestran que la adición de diferentes

tipos de proteínas con grupo hemo (LegH, cebada, *B. myoglobin o A. aeolicus*) en mezclas de reacción de formación de sabor que contienen uno o más compuestos precursores de sabor da como resultado muchos de los mismos sabores a carne clave, incluyendo pero sin limitarse a pentanona, 3-metil-butanal, 2-metil-butanal, 2-heptenal, 1-octeno, nonanal, 2-propenal, 2-decenal, 2-nonanona, 2-octanona, 2-tridecen-1-ol, 2-octanona, 2-octenal, 4-metil-2-heptanona, octanal, 2-undecenal, butirolactona, 1-octen-3-ona, acetato de 3-metilheptilo y 2-pentil-tiofeno. Estas diferencias en compuestos con sabor pueden cambiar el perfil de gusto global.

En algunos casos, un complejo de hierro (por ejemplo, una clorina ferrosa o un cofactor hemo tal como una proteína que contiene grupo hemo) descrito en el presente documento y uno o más precursores de sabor pueden hacerse reaccionar (por ejemplo, *in vitro*) con calentamiento para generar un perfil de sabor y/o aroma particular de interés y puede añadirse la composición de aditivo de sabor resultante al producto alimenticio de consumo de interés, que luego puede ingerirse tal cual o puede modificarse adicionalmente, por ejemplo, mediante cocinado adicional.

En algunos casos, puede minimizarse cualquier sabor no deseado mediante desodorización con carbón vegetal activado o mediante la retirada de enzimas tales como lipoxigenasas (LOX), que pueden estar presentes en cantidades traza cuando se usan preparaciones de proteínas vegetales, y que pueden convertir triacilglicéridos insaturados (tales como ácido linoleico o ácido linolénico) en moléculas más pequeñas y más volátiles. LOX están presentes de manera natural en legumbres tales como guisantes, sojas y cacahuetes, así como arroces, patatas y aceitunas. Cuando se fraccionan harinas de legumbres en fracciones de proteína independientes, LOX pueden actuar como “bombas de relojería” no deseadas que pueden provocar sabores no deseados con su envejecimiento o almacenamiento. Pueden someterse composiciones que contienen proteínas vegetales (por ejemplo, a partir de semillas vegetales molidas) a purificación para retirar LOX usando, por ejemplo, una resina de afinidad que se une a LOX y las retira de la muestra de proteína. La resina de afinidad puede ser ácido linoleico, ácido linolénico, ácido esteárico, ácido oleico, galato de propilo o galato de epigalocatequina unido a un soporte sólido tal como una perla o resina. Véase, por ejemplo, el documento WO2013138793. Además, dependiendo del componente proteico del producto alimenticio, pueden usarse determinadas combinaciones de antioxidantes y/o inhibidores de LOX como agentes eficaces para minimizar la generación de olores desagradables u olores desagradables especialmente en presencia de grasas y aceites. Tales compuestos pueden incluir, por ejemplo, uno o más de β-caroteno, α-tocoferol, ácido cafeico, galato de propilo o galato de epigalocatequina.

En algunos casos, pueden aislarse y purificarse compuestos con sabor específicos, tales como los descritos en las tablas 3, 8, 9, 12, 14, 16 ó 17 de la composición de aditivo de sabor. Estos compuestos aislados y purificados pueden usarse como ingrediente para crear sabores útiles para la industria de los alimentos y las fragancias.

Una composición de aditivo de sabor puede estar en forma de, pero no limitarse a, bases de estofado o sopa, caldo, por ejemplo, en polvo o dados, sobres de saborizante o sobres de condimento o sobres para agitar. Tales composiciones de aditivo de sabor pueden usarse para modular el perfil de sabor y/o aroma para una variedad de productos alimenticios, y puede añadirse a un producto alimenticio de consumo antes de, durante o después del cocinado del producto alimenticio.

Productos alimenticios

Los productos alimenticios que contienen uno o más precursores de sabor y una o más proteínas que contienen grupo hemo pueden usarse como base para formular una variedad de productos alimenticios adicionales, incluyendo sucedáneos de carne, bases de sopa, bases de estofado, apetitivos, caldos en polvo, cubitos de caldo, sobres de saborizante o productos alimenticios congelados. Los sucedáneos de carne pueden formularse, por ejemplo, como perritos calientes, hamburguesas, carne picada, salchichas, bistecs, filetes, asados, pechugas, muslos, alitas, albóndigas, pastel de carne, beicon, tiras, palitos, pepitas, chuletas o dados.

Además, los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden usarse para modular el perfil de gusto y/o aroma de otros productos alimenticios (por ejemplo, sustitutos de carne, sucedáneos de carne, tofu, pato falso u otro producto vegetal basado en gluten, proteína vegetal texturizada tal como proteína de soja texturizada, productos de carne de cerdo, carne de pescado, carne de cordero o carne de aves de corral tales como productos de carne de pollo o carne de pavo) y pueden aplicarse al otro producto alimenticio antes de o durante el cocinado. El uso de los productos alimenticios descritos en el presente documento puede proporcionar un gusto y olor a carne particulares, por ejemplo, el gusto y el olor de la carne de vacuno o beicon, a un producto no cárnico o a un producto de carne de ave de corral.

Los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden envasarse de diversos modos, incluyendo sellándose dentro de sobres o sobres para agitar individuales, de tal manera que la composición puede espolvorearse o extenderse sobre un producto alimenticio antes de o durante el cocinado.

Los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden incluir ingredientes adicionales incluyendo aceites de calidad alimentaria tales como aceite de nabina, maíz, girasol, soja, oliva o coco, agentes de condimento tales como sales comestibles (por ejemplo, cloruro de sodio o potasio) o hierbas (por ejemplo, romero, tomillo, albahaca, salvia o menta), agentes saborizantes, proteínas (por ejemplo, aislado de proteína de soja, gluten de trigo,

vicilina de guisante y/o legumina de guisante), concentrados de proteína (por ejemplo, concentrado de proteína de soja), emulsionantes (por ejemplo, lecitina), agentes gelificantes (por ejemplo, k-carragenanos o gelatina), fibras (por ejemplo, fibra de bambú o inulina) o minerales (por ejemplo, yodo, zinc y/o calcio).

Los productos alimenticios descritos en el presente documento también pueden incluir un agente colorante natural tal como cúrcuma o zumo de remolacha o un agente colorante artificial tal como colorantes azoicos, trifenilmetanos, xantenos, quininas, indigoides, dióxido de titanio, rojo n.º 3, rojo n.º 40, azul n.º 1 o amarillo n.º 5.

Los productos alimenticios descritos en el presente documento también pueden incluir agentes de ampliación de la vida útil de la carne tales como monóxido de carbono, nitritos, metabisulfito de sodio, Bombal, vitamina E, extracto de romero, extracto de té verde, catequinas y otros antioxidantes.

Los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden estar libres de productos animales (por ejemplo, proteínas animales que contienen grupo hemo u otros productos animales).

En algunos casos, los productos alimenticios pueden estar libres de soja, libres de trigo, libres de levadura, libres de MSG y/o libres de productos de la hidrólisis de proteínas, y pueden tener un gusto a carne, altamente sabroso y sin olores o sabores desagradables.

Evaluación de productos alimenticios

Los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden evaluarse usando panelistas humanos entrenados. Las evaluaciones pueden implicar inspección visual y táctil, masticación y degustación del producto para valorar el aspecto, color, integridad, textura, sabor y sensación en boca del producto, etc. Los panelistas pueden servirse de muestras bajo luz roja o bajo luz blanca. A las muestras pueden asignarse al azar números de tres dígitos y hacer rotaciones en la posición de votación para impedir el sesgo. Las valoraciones sensoriales pueden clasificarse según una escala para “aceptación” o “probabilidad” o usar terminología especial. Por ejemplo, pueden usarse escalas de letras (A para excelente, B para bueno, C para malo) o escalas numéricas (1 = aversión, 2 = regular, 3 = bueno; 4 = muy bueno; 5 = excelente). Puede usarse una escala para clasificar la aceptabilidad o calidad global del producto alimenticio o atributos de calidad específicos tales como el grado de sabor a carne de vacuno, la textura y el sabor. Puede alentarse a los panelistas a que se enjuaguen la boca con agua entre muestras, y darles la oportunidad de comentar sobre cada muestra.

En algunos casos, un producto alimenticio descrito en el presente documento puede compararse con otro producto alimenticio (por ejemplo, carne o sucedáneo de carne) basándose en lecturas de olfatómetro. En diversos casos, el olfatómetro puede usarse para evaluar la concentración de olores y los umbrales de olor, supraumbrales de olor con una comparación con un gas de referencia, puntuaciones de escalas hedónicas para determinar el grado de apreciación o la intensidad relativa de olores.

En algunos casos, un olfatómetro permite el entrenamiento y la evaluación automática de paneles de expertos. En algunos casos, un producto alimenticio descrito en el presente documento provoca lecturas de olfatómetro similares o idénticas. En algunos casos, las diferencias entre los sabores generados usando los métodos de la invención y la carne son suficientemente pequeñas como para estar por debajo del umbral de detección de la percepción humana.

En algunos casos, pueden evaluarse productos químicos volátiles identificados usando CG-EM. Por ejemplo, un ser humano puede clasificar la experiencia de oler el producto químico responsable de un determinado pico. Esta información podría usarse para afinar adicionalmente el perfil de compuestos con sabor y aroma producidos usando una proteína que contiene grupo hemo y uno o más precursores de sabor.

Los componentes de sabor y fragancia característicos se producen principalmente durante el proceso de cocinado por moléculas de reacciones químicas incluyendo aminoácidos, grasas y azúcares que se encuentran en las plantas así como en la carne. Por tanto, en algunos casos, se degusta un producto alimenticio para determinar su similitud con la carne durante o después del cocinado. En algunos casos, se usan clasificaciones por seres humanos, evaluación por seres humanos, lecturas de olfatómetro o mediciones de CG-EM, o combinaciones de las mismas, para crear un mapa olfativo del producto alimenticio. De manera similar, puede crearse un mapa olfativo del producto alimenticio, por ejemplo, un sustituto de carne. Estos mapas pueden compararse para evaluar cómo de similar es el producto alimenticio cocinado a la carne.

En algunos casos, el mapa olfativo del producto alimenticio durante o después del cocinado es similar a o indistinguible del de la carne cocinada o cocida. En algunos casos, la similitud es suficiente para estar más allá del umbral de detección de la percepción humana. El producto alimenticio puede crearse de modo que sus características sean similares a un producto alimenticio después del cocinado, pero el producto alimenticio no cocinado puede tener propiedades que son diferentes de las del producto alimenticio mencionado antes del cocinado.

Estos resultados demostrarán que las composiciones de la invención se valoran como aceptablemente equivalentes

a productos cárnicos reales. Adicionalmente, estos resultados pueden demostrarse que se prefieren composiciones de la invención por panelistas con respecto a otros sucedáneos de carne disponibles comercialmente. Así, en algunas realizaciones la presente invención se prevén productos de consumo que son significativamente similares a las carnes tradicionales y son más similares a la carne que alternativas a la carne conocidas previamente.

La invención se describirá adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrito en las reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1: La adición de proteína con grupo hemo aumenta las cualidades similares a carne de vacuno de sustitutos de hamburguesa

Se prepararon sustitutos de hamburguesa que contenían los ingredientes en la tabla 4 y los precursores de sabor cisteína (10 mM), ácido glutámico (10 mM), glucosa (10 mM) y tiamina (1 mM). Se añadió agua para componer el resto. Véase, por ejemplo, la solicitud de patente estadounidense provisional n.º 61/751.816, presentada el 11 de enero de 2013. Se prepararon hamburguesas de control como en la tabla 4 con los precursores cisteína (10 mM), ácido glutámico (10 mM), glucosa (10 mM) y tiamina (1 mM) excepto que se omitió LegH.

Después de cocinar durante 5 minutos a 150ºC, se evaluaron los sustitutos de hamburguesa por un panel sensorial entrenado. Los panelistas se sirvieron de muestras bajo luces rojas y cada panelista evaluó individualmente las muestras. A las muestras se les asignó un número de tres dígitos al azar y se hicieron rotaciones de la posición de votación para impedir el sesgo. Se pidió a los panelistas que evaluaran muestras cocinadas de sustituto de hamburguesa con respecto a múltiples atributos de sabor, aroma, gusto, textura y aspecto incluyendo pero sin limitarse a: el grado de sabor a carne de vacuno, la calidad del sabor a sangre, la calidad del sabor sabroso y la aceptabilidad global usando una escala de 7 puntos desde 1 = aversión extrema, hasta 7 = agrado extremo. Se alentó a los panelistas a que se enjuagasen la boca con agua entre muestras, y a que rellenasen una encuesta para registrar su evaluación de cada muestra.

Cuando se compararon sustitutos de hamburguesa que contenían LegH con los sustitutos de hamburguesa de control sin LegH, se clasificaron las muestras que contenían LegH con un grado de sabor a carne de vacuno significativamente mayor, más sabor a sangre, más sabor sabroso y se prefirieron de manera global en comparación con los que no incluyeron LegH. Véase la tabla 5.

TABLA 4

Ingredientes de sustituto de hamburguesa

Sustituto de hamburguesa	% precocinado p/p
Vicilina de guisante	3,86
Concentrado de proteína de soja (SPC)	2,52
Fibra de bambú	0,34
NaCl	0,54
Legumina de guisante	2
Aislado de proteína de soja (SPI)) (Solae, St. Louis, MO)	4,68
Gluten de trigo	4,68
Aceite de coco	15
Lecitina de soja	0,1
k-carragenanos	1
LegH	1

TABLA 5

Evaluación sensorial de sustituto de hamburguesa con grupo hemo

Atributo	Carne de vacuno 20/80	Sin grupo hemo	1% de grupo hemo
Grado de sabor a carne de vacuno			
media	5,33	1,30	3,20
DE	1,58	0,67	0,79
Sabor a sangre			
media	4,00	1,10	2,78
DE	1,32	0,32	1,64
Sabor sabroso			

media	4,67	3,00	5,10
DE	1,22	1,63	0,57

Ejemplo 2: Sustitutos de hamburguesa con una mezcla de precursores de sabor con gusto a carne de vacuno y a sangre

Se prepararon sustitutos de hamburguesa que contenían una mezcla de precursores de sabor de glucosa, cisteína, tiamina y ácido glutámico y el 1% de LegH precocinada p/p (véase la tabla 4) tal como se describe en el ejemplo 1, y se evaluaron por un panel sensorial entrenado después de cocinarse las hamburguesas durante 5 minutos a 150ºC. Las hamburguesas de control incluían LegH y todos los demás ingredientes excepto por la mezcla de precursores de sabor.

Se pidió a los panelistas que evaluaran las muestras con respecto a la mejora global en el gusto y analizaran de manera descriptiva cada muestra usando una escala de 5 puntos desde 1 = aversión extrema, hasta 5 = agrado extremo. Se alentó a los panelistas a que se enjuagasen la boca con agua entre muestras, y a que rellenasen una encuesta para registrar su evaluación de cada muestra. Los sustitutos de hamburguesa que incluían LegH y la mezcla de precursores de sabor se describieron como que tenían notas de caldo, a salsa, a carne, a sangre, sabrosas y a carne de vacuno en el gusto, y se prefirieron a los mismos sustitutos de hamburguesa con LegH pero sin mezcla de precursores de sabor añadida. Véase, la tabla 6.

TABLA 6

Mejora del gusto global con precursores añadidos a las hamburguesas con LegH

	con precursores	sin precursores
Promedio	3,5	1,8
DE	0,6	0,5

Ejemplo 3: Sustitutos de hamburguesa con mezcla de precursores de sabor que da como resultado un gusto a beicon

Se cocinaron sustitutos de hamburguesa (véase la tabla 4) con diferentes mezclas de precursores (véase la tabla 7) y el 1% de LegH y se evaluaron por un panel sensorial entrenado después de cocinarse las hamburguesas durante 5 minutos a 150ºC. Las hamburguesas de control contenían LegH y todos los demás ingredientes excepto por los precursores de sabor. Se pidió a los panelistas que evaluaran cada muestra y analizaran de manera descriptiva cada muestra. escala de 5 puntos desde 1 = aversión extrema, hasta 5 = agrado extremo. Se alentó a los panelistas a que se enjuagasen la boca con agua entre muestras, y a que rellenasen una encuesta para registrar su evaluación de cada muestra. Un sustituto de hamburguesa con una mezcla de precursores de glucosa 10 mM, ribosa 10 mM, cisteína 10 mM, tiamina 1 mM, ácido glutámico 1 mM, GMP 1 mM y LegH se describió como que tenía un aroma y gusto a beicon, y grado de sabor a carne global, la calidad del sabor sabroso, una calidad de sabor a umami muy buena, calidad de sabor a caldo y ligeras notas a carne de vacuno. Véase la tabla 7 para un resumen de la descripción de sabor para las diversas combinaciones de precursores de sabor y proteínas que contienen grupo hemo.

TABLA 7

Sabores generados mediante la adición de precursores a LegH (1%)

Concentración de precursores						Descripción del sabor
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)				alguna clase de fiambre
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)			IMP (2 mM)	corteza de pan con jugo de carne, dulce, a grasa, umami
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)			ácido láctico (1 mM)	a pan, a malta, dorado, corteza de pan
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)			lisina (5 mM)	sabroso, a carne de vacuno, un poco a grasa, a caldo, a pan
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)			alanina (5 mM)	sabroso, débil a carne de vacuno, a caldo, un poco sabor metálico
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)			I+G (2 mM)	sabroso, débil a carne de vacuno, a caldo, dulce
	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)			metionina	a patata cocida
	ribosa	cisteína		ácido glutámico		un poco a carne, pretzel, a caldo,

	(10 mM)	(10 mM)		(5 mM)		sabroso, dulce, chocolate
glucosa (10 mM)	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)		ligero a carne de vacuno, dorado, a grasa,
glucosa (10 mM)	ribosa (10 mM)	cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)	IMP (2 mM)	a beicon, mucho umami, sabroso, a caldo, ligero a carne de vacuno
glucosa (10 mM)		cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)		a cecina de carne de vacuno, a sangre, a carne, a caldo
glucosa (10 mM)		cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)	ácido láctico (1 mM)	sabroso, a carne de vacuno, a sangre, a carne, sabroso, a salsa
glucosa (10 mM)		cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)	lisina (5 mM)	a rosbif
glucosa (10 mM)		cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)	alanina (5 mM)	a carne de vacuno hervida, dulce
glucosa (10 mM)		cisteína (10 mM)	tiamina (2 mM)	ácido glutámico (5 mM)	I+G (2 mM)	a carne de vacuno con una nota a azufre
glucosa (10 mM)		cisteína (10 mM)			I+G (2 mM)	dulce, a malta, umami, a carne
glucosa (10 mM)					I+G (2 mM)	sabroso, a rosbif, a grasa
glucosa (10 mM)				ácido glutámico (5 mM)		umami, sabroso, a carne, dulce, fermentado

Ejemplo 4: El tipo de azúcar modula los compuestos con sabor creados en presencia de proteína con grupo hemo

La adición de diferentes azúcares a mezclas de reacción de formación de sabor que contenían una proteína con grupo hemo y uno o más compuestos precursores de sabor dio como resultado diferencias distintivas en los compuestos con sabor generados y el perfil de sabor global. Se mezcló la proteína con grupo hemo LegH al 1% precocinada p/p con cisteína (10 mM) y glucosa (20 mM) a pH 6 en tampón fosfato para formar una mezcla de reacción de formación de sabor y se calentó hasta 150ºC durante 3 minutos; esta reacción creó compuestos con sabor que se sabe que están presentes en la carne; véase la tabla 8. De manera similar, una mezcla de reacción de formación de sabor preparada cuando se mezcló la proteína con grupo hemo LegH al 1% con cisteína (10 mM) y ribosa (20 mM) a pH 6 y se calentó hasta 150ºC durante 3 minutos creó compuestos con sabor que se sabe que están en la carne; véase la tabla 8.

Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado cuando las moléculas precursoras de sabor reaccionaron con la proteína con grupo hemo. La cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) es un método que combina las características de cromatografía de gases-líquidos y la espectrometría de masas para separar e identificar diferentes sustancias dentro de una muestra de prueba. Se evaluaron las muestras mediante CG-EM para identificar los compuestos con sabor generados después de calentar y también se evaluaron para determinar sus perfiles sensoriales. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de las reacciones de formación de sabor. Se muestra el perfil de los productos químicos volátiles en la cámara anterior alrededor de las mezclas de reacción de formación de sabor en la tabla 8. En particular, el uso de ribosa creó algunos compuestos adicionales en comparación con glucosa, tal como se muestra en la tabla 8.

En particular, las mezclas de control de cisteína con ribosa o glucosa calentadas en ausencia de la proteína con grupo hemo LegH no generaron el mismo conjunto de compuestos con sabor. También se evaluaron las mezclas de reacción de formación de sabor que contenían LegH por un panel sensorial entrenado ciego, que describió las muestras con ribosa como que tienen notas a carne de vacuno, sabrosas, a caldo y similares a salsa, y las muestras con glucosa como con notas sabrosas, a sangre, metálicas, a carne cruda y similares al caldo.

TABLA 8

Compuestos con sabor generados con cisteína, LegH, y o bien glucosa o bien ribosa en la mezcla de reacción de formación de sabor.

LegH al 1%		
Compuestos creados	cisteína (10 mM), glucosa (20 mM)	cisteína (10 mM), ribosa (20 mM)

benzaldehído	X	X
2-butanona	X	X
trisulfuro de dimetilo	X	X
2-pentil-furano	X	X
2-metil-propanal	X	X
tiazol	X	X
butirolactona	X	X
2-acetiltiazol	X	X
pentanal	X	X
3-metil-butanal	X	X
metil-tiirano	X	X
nonanal	X	X
heptanal	X	X
2,3-butanodiona	X	X
1,3,5-cicloheptatrieno	X	X
propil-ciclopropano	X	X
2-hexil-furano	X	X
butanal	X	X
2-metil-butanal	X	X
2-etil-furano		X
2-octanona	X	X
propanal	X	X
triclorometano	X	
2-metil-furano	X	X
furano	X	X
pirazina	X	X
tiofeno	X	X
1,3-dimetil-benceno	X	X
octano		X
octanal	X	X
tiazol	X	X
2-pentanona		X
furfural	X	X
2-nonanona	X	X
(Z)-2-heptenal	X	X
(E)-2-heptenal	X	X
1-octeno	X	X
éster heptílico del ácido fórmico	X	X
2-pentil-tiofeno		X
1-octen-3-ona	X	X
3-pentil-furano	X	X
2-propenal		X
(E)-2-tridecen-1-ol		X
benceno		X
(E)-4-octeno		X
1-penten-3-ona		X
4-penten-2-ona	X	X
2-metil-tiazol		X
metil-pirazina		X
trans-2-(2-pentenil)furano		X
3-etilciclopentanona		X
pirrol	X	X
2-tiofenocarboxaldehído		X
3-tiofenocarboxaldehído		X

Ejemplo 5: La proteína con grupo hemo en presencia de tiamina afecta a la producción de determinados compuestos con sabor

La adición de tiamina en mezclas de reacción de formación de sabor con una proteína con grupo hemo y otros precursores de sabor afectó a la formación de 5-tiazol-etanol, 4-metil-furano, 3,3'-ditiobis[2-metil-tiazol y 4-metiltiazol. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y tienen notas de gusto a carne de vacuno, a carne.

Se prepararon mezclas de reacción de formación de sabor a pH 6 que contenían LegH (1%), cisteína (10 mM),

tiamina (1 mM), o bien glucosa o bien ribosa (20 mM), y con o sin ácido glutámico (10 mM) y posteriormente se calentaron hasta 150ºC durante 3 minutos. Luego se evaluaron estas muestras de reacción de formación de sabor mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados y se evaluaron por un panel entrenado para determinar sus perfiles sensoriales. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de las reacciones de formación de sabor. CG-EM mostró que se crearon los compuestos 4-metil-5-tiazol-etanol, 3,3'-ditiobis[2-metil]-furano y 4-metiltiazol mediante una mezcla de LegH con tiamina, un azúcar (o bien glucosa o bien ribosa) y cisteína. Las mismas mezclas de reacción de formación de sabor sin tiamina no generaron estos compuestos; adicionalmente estos compuestos no se generaron cuando no estaban presentes proteínas con grupo hemo en las mezclas de reacción de formación de sabor.

También se evaluaron las muestras de reacción de formación de sabor por un panel sensorial entrenado ciego, que describieron las muestras con la adición de tiamina como de gusto más complejo y con más sabor a carne de vacuno, a carne y sabroso.

Ejemplo 6: Las proteínas con grupo hemo con nucleótidos controlan la producción de compuesto con sabor particulares.

La adición de inosina monofosfato y guanosina monofosfato en mezclas con proteína con grupo hemo y otros precursores controló la formación de los compuestos con sabor (E)-4-octeno, 2-etil-furano, 2-pentanona, 2,3-butanodiona, 2-metil-tiazol, metil-pirazina, tridecano, (E)-2-octenal, 2-tiofenocarboxaldehído y 3-tiofenocarboxaldehído. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y tienen notas de sabor a carne de vacuno, a carne, a mantequilla o sabrosas.

Se prepararon reacciones que contenían proteína con grupo hemo al 1% (LegH) con cisteína (10 mM) y glucosa (20 mM), IMP 1 mM y GMP 1 mM, a pH 6,0 y se calentaron hasta 150ºC durante 3 minutos. Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado en el que los precursores reaccionan con proteínas con grupo hemo. Se evaluaron estas muestras mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados y se evaluaron para determinar la experiencia sensorial. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de la reacción de formación de sabor y se identificaron usando CG-EM, creándose un perfil de los productos químicos volátiles en la cámara anterior alrededor de la mezcla de reacción de formación de sabor. CG-EM mostró que se crearon los compuestos 4-octeno, 2-etil-furano, 2-pentanona, 2,3-butanodiona, 2-metil-tiazol, metil-pirazina, tridecano, 2-octenal, 2-tiofenocarboxaldehído, 3-tiofenocarboxaldehído mediante una mezcla de la proteína con grupo hemo LegH con IMP, GMP, glucosa y cisteína. Las mismas muestras sin IMP y GMP no generaron estos compuestos, adicionalmente tampoco se crearon estos compuestos cuando no estaban presentes proteínas con grupo hemo, sólo moléculas precursoras. La evaluación sensorial por panelistas entrenados enmascarados halló que las muestras con la adición de inosina y guanosina tal como se describe tienen un gusto más complejo y más sabor a carne de vacuno, a carne, a caldo y sabroso. La figura 2 muestra la abundancia de los compuestos con sabor novedosos creados con proteína con grupo hemo al 1% en una reacción a pH 6, con cisteína (10 mM) y glucosa (20 mM), IMP (1 mM) y GMP (1 mM) y se detectaron mediante microextracción en fase sólida (SPME) y luego se detectaron mediante CG-EM.

Ejemplo 7: Generación de sabor con la adición de un ácido orgánico particular

La adición de ácido láctico en mezclas con proteína con grupo hemo, ribosa y cisteína controló la formación de los compuestos con sabor nonanal, tiazol, 2-acetiltiazol y 8-metil-1-undeceno. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne.

Se prepararon reacciones que contenían proteína con grupo hemo al 1% de, cisteína (10 mM) y ribosa (20 mM) y ácido láctico (1mM), pH 6,0, y se calentaron hasta 150ºC durante 3 minutos. Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado cuando los precursores reaccionan proteínas con grupo hemo. Se evaluaron estas muestras mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados y se evaluaron para determinar la experiencia sensorial. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de la reacción de formación de sabor y se identificaron usando CG-EM, creándose un perfil de los compuestos generados. Se crearon los compuestos nonanal, tiazol, 2-acetiltiazol y 8-metil-1-undeceno mediante una mezcla de LegH con ácido láctico, ribosa y cisteína. Las mismas muestras sin ácido láctico no generaron estos compuestos, adicionalmente no se crearon estos compuestos en ausencia de proteínas con grupo hemo.

La evaluación sensorial por panelistas entrenados enmascarados halló que las muestras con la adición de ácido láctico se describieron como con sabor a carne de vacuno, sabroso, dorad, a pan y que tienen notas a malta. La muestra con todo excepto ácido láctico se clasificó con menor puntuación en las notas doradas, a pan y a malta.

Ejemplo 8: Sabor generado con la adición de un aminoácido particular.

La adición de lisina en mezclas con proteína con grupo hemo ribosa y cisteína controló la formación de los compuestos con sabor trisulfuro de dimetilo, nonanal, 2-pentil-tiofeno, furfural, 2-nonenal, 1-octanol, 2-nonenal,

tiazol, 2-acetiltiazol, fenilacetaldehído, 2-acetiltiazol. Se sabe que estos compuestos están presentes en la carne y algunos tienen un sabor a carne de vacuno, a carne o sabroso.

Se prepararon reacciones que contenían proteína con grupo hemo al 1% de, cisteína (10 mM) y ribosa (20 mM) y lisina (1mM), a pH 6,0, y se calentaron hasta 150ºC durante 3 minutos. Se evaluaron estas muestras mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados y se evaluaron para determinar la experiencia sensorial. Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado cuando podrían reaccionar los precursores con la proteína con grupo hemo. Se evaluaron estas muestras mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados y se evaluaron para determinar la experiencia sensorial. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de la reacción de formación de sabor. Se crearon los compuestos trisulfuro de dimetilo, nonanal, 2-pentil-tiofeno, furfural, 2-nonenal, 1-octanol, 2-nonenal, tiazol, 2-acetiltiazol, fenilacetaldehído, 2-acetiltiazol mediante una mezcla de LegH con ácido láctico, ribosa y cisteína. Las mismas muestras sin ácido láctico no generaron estos compuestos, adicionalmente no se crearon estos compuestos cuando no estaban presentes proteínas con grupo hemo, sólo moléculas precursoras. La evaluación sensorial por panelistas entrenados enmascarados halló que las muestras con la adición de lisina tal como se describe como a asado de carne de vacuno, sabroso y dorado. La adición de lisina aumentó las notas de sabor a asado y dorado.

Ejemplo 9 - Compuesto con producción de sabor mediante diferentes proteínas con grupo hemo

La adición de diferentes tipos de proteínas con grupo hemo (LegH, cebada, *B. myoglobin o A. aeolicus*) en mezclas de reacción de formación de sabor que contienen uno o más compuestos precursores de sabor da como resultado muchos de los mismos sabores a carne clave, incluyendo pero sin limitarse a 2-pentil-furano, 2,3-butanodiona, tiofeno, 2-metil-tiazol, pirazina, furano, pirrol, 2-metilfurano y diferencias distintivas en los compuestos con sabor, incluyendo pero sin limitarse a 2-pentil-tiofeno, nonanal, 2-nonanona y 1-octen-3-ona. Estas diferencias en los compuestos con sabor pueden cambiar el perfil de gusto global. Los diferentes tipos de proteína con grupo hemo fueron LegH, cebada, *B. myoglobin o A. aeolicus* usadas al 1% de p/p en una reacción mezclada con cisteína (10 mM) y ribosa (10 mM) a pH 6. Se calentó la premezcla de reacción hasta 150ºC durante 3 minutos; esta reacción creó compuestos con sabor que se sabe que están presentes en la carne; véase la tabla 9. Los componentes de sabor y fragancia característicos se producen principalmente durante el proceso de cocinado en el que las moléculas precursoras de sabor reaccionan con la proteína con grupo hemo. Se evaluaron las muestras mediante CG-EM para identificar los compuestos con sabor generados después de calentar y también se evaluaron para determinar sus perfiles sensoriales. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de las reacciones de formación de sabor. La tabla 9 muestra la similitud y las diferencias en compuestos con sabor volátiles creados mediante los diferentes tipos de proteínas con grupo hemo.

TABLA 9

Compuestos con sabor creados mediante diferentes proteína con grupo hemo cuando se calientan con ribosa y cisteína.

Nombre	LegH	Cebada	*B. myoglobin*	*A. aeolicus*
furano	x	x	x	x
tiazol	x	x	x	x
benzaldehído	x	x	x	x
2-acetiltiazol	x	x	x	x
2-metil-propanal	x	x	x	x
furfural	x	x	x	x
2,3-butanodiona	x	x	x	x
2-pentil-furano	x	x	x	x
2-pentanona	x	x		
pirazina	x	x	x	x
trisulfuro de dimetilo	x	x	x	x
3-metil-butanal	x	x		x
2-metil-tiazol	x	x	x	x
pentanal	x	x	x	x
1,3,5-cicloheptatrieno	x	x	x	x
metacroleína	x	x	x	x
heptanal	x	x	x	x
2-metil-butanal	x	x		x
isotiazol	x	x	x	x
tiofeno	x	x	x	x
propanal	x	x	x	x
2-heptenal	x		x	x
metil-pirazina	x	x	x	x

1-octeno	x		x	x
butanal	x	x	x	x
2-acetil-propen-2-ol	x	x	x	x
pirrol	x	x	x	x
2-metil-furano	x	x	x	x
nonanal		x	x	x
2-propenal		x	x	x
2-decenal		x	x	x
2-nonanona		x		x
2-octanona		x	x	x
2-tridecen-1-ol,			x	x
2-octanona			x	
2-octenal			x	x
4-metil-2-heptanona			x	x
octanal			x	x
2-undecenal				x
butirolactona				x
1-octen-3-ona				x
acetato de 3-metilheptilo				x
2-pentil-tiofeno				x

Ejemplo 10 - Generación sabores a carne a partir de diferentes lípidos

Se sometieron a prueba varias muestras diferentes que incluían aceites (aceite de nabina o aceite de coco), ácidos grasos libres (AGL) (ácido linoleico (C18:2), ácido oleico (C18:1), ácido esteárico (C18:0) o ácido mirístico (C14:0)) y fosfolípidos (PL) (extractos de lípidos polares de corazón de vacuno, Biolipon95 (de Perimond) o NatCholinePC40 (de Perimond)) para determinar su capacidad para producir sabor a carne de vacuno en ausencia y en presencia de otros precursores. Se añadieron aceites, AGL y PL tampón fosfato de potasio 50 mM (PPB) pH 6,0 o una mezcla de reacción de Maillard (MRM) que contenía fosfato de potasio 50 mM pH 6,0, cisteína 5 mM, glucosa 10 mM, tiamina 0,1 mM y el 0,1% (p/v) de leghemoglobina. Se diseñaron los lípidos en combinación con MRM para capturar las reacciones cruzadas de degradación de lípidos y producciones de reacción de Maillard mientras que los lípidos en tampón fosfato funcionaron como control de lípido. Se añadieron los aceites al 3% del volumen total de 1 ml de disolución mientras que se añadieron los AGL y PL al 1% de los volúmenes totales de 1 ml. Se cocinaron todas las muestras a 150ºC durante 3 min, se enfriaron hasta 50ºC y luego se analizaron usando CG-EM (toma de muestras de fibra de SPME de la cámara anterior). Después de analizarse todas las muestras mediante CG-EM, se retiraron las tapas y un científico de sabores entrenado olió las muestras y registró los aromas.

Tabla 10

Leyenda que muestra los componentes de cada muestra

Nombre de muestra	Disolución	Aditivos
MRM_Ninguno	Mezcla de reacción de Maillard	Ninguno
MRM_Ácido linoleico	Mezcla de reacción de Maillard	1% de ácido linoleico
MRM_Ácido oleico	Mezcla de reacción de Maillard	1% de ácido oleico
MRM_C14	Mezcla de reacción de Maillard	1% de ácido graso libre C14:0
MRM_C18	Mezcla de reacción de Maillard	1% de ácido graso libre C18:0
MRM_Nabina	Mezcla de reacción de Maillard	3% de aceite de nabina
MRM_Coco	Mezcla de reacción de Maillard	3% de aceite de coco
MRM_Corazón de vacuno	Mezcla de reacción de Maillard	1% de extracto de lípidos polares de corazón de vacuno
MRM_Biolipon95	Mezcla de reacción de Maillard	1% de Biopolin95 (emulsionante)
MRM_NatCholinePC40	Mezcla de reacción de Maillard	1% de NatCholinePC40 (emulsionante)
MRM_Ácido linoleico	PPB, pH 6	1% de ácido linoleico
MRM_Ácido oleico	PPB, pH 6	1% de ácido oleico
MRM_C14	PPB, pH 6	1% de ácido graso libre C14:0
MRM_C18	PPB, pH 6	1% de ácido graso libre C18:0
MRM_Nabina	PPB, pH 6	3% de aceite de nabina
MRM_Coco	PPB, pH 6	3% de aceite de coco
MRM_Corazón de vacuno	PPB, pH 6	1% de extracto de lípidos polares de corazón de vacuno
MRM_Biolipon95	PPB, pH 6	1% de Biopolin95 (emulsionante)
MRM_NatCholinePC40	PPB, pH 6	1% de NatCholinePC40 (emulsionante)

La tabla 11 contiene las descripciones de aromas y la tabla 12 contiene los datos de CG-EM de las muestras más interesantes analizadas. Muchos de los lípidos introdujeron un aroma “a grasa” en el MRM que si no estaba ausente. Las combinaciones de ácido linoleico o NatCholinePC40 en MRM produjeron la mayor abundancia de compuestos grasos, sugiriendo que estos lípidos pueden mejorar la percepción de sabor de sebo de vacuno. El ácido linoleico y NatCholinePC40 también mostraron alta abundancia de aromas a tierra-setas. La adición de lípidos a MRM aumentó significativamente la abundancia de aromas “a nueces y a tostado”. Los compuestos con aroma “a verde” menos deseables fueron los más destacados en muestras con ácidos grasos libres insaturados (ácido linoleico o ácido oleico) o fosfolípidos. En general, la adición de lípidos aumentó significativamente el número de compuestos con sabor a carne de vacuno objetivo producidos.

TABLA 11

Descripciones de aromas de cada muestra después de cocinarse.

Nombre de muestra	Descripciones de aromas
MRM_Solo	a caldo, a malta, a estofado de carne de vacuno
KPhos6_Corazón de vacuno	graso, a nata, a sebo de vacuno, ligeramente dulce, ligeramente a tostado, a nueces
MRM_Corazón de vacuno	graso, a sebo de vacuno, a carne pasada, a setas
KPhos6_Biolipon95	graso, fresco
MRM_Biolipon95	graso, a caldo, a heno, a malta, a verde
KPhos6_NatCholinePC40	ligeramente graso, fresco
MRM_NatCholinePC40	graso, a sebo de vacuno, a caldo
K-Phos6_C14	ligera/débilmente a plástico/a cera
MRM_C14	a caldo, a carne de vacuno, a menta, fresco
K-Phos6_C18	ligera/débilmente a plástico/a cera
MRM_C18	a carne de vacuno con aroma a pepino y/o pimiento
K-Phos6_Nabina	fresco, a pepino
MRM_Nabina	graso, a caldo, a aceite, a nueces tostadas
K-Phos6_Coco	nada
MRM_Coco	a caldo, a carne de vacuno, ligeramente graso, a galletas saladas
K-Phos6_Ácido oleico	fresco, a pepino, similar a alcanfor/a menta
MRM_Ácido oleico	herbal, a plástico, ligeramente a queso, a caldo
K-Phos6_Ácido linoleico	ligeramente a plástico
MRM_Ácido linoleico	graso, ligeramente a cera, a caldo, herbal

Tabla 12

Lista de compuestos aromáticos que se encuentran en carne de vacuno mediante CG-EM y un diagrama que muestra cuáles se detectaron en cada muestra de lípido más MRM.

Compuestos en carne de vacuno	MRM solo	MRM_Corazón de vacuno	MRM_NatCholine PC40	MRM_Ácido linoleico
(y)-lactato de isopropilo	N	N	N	N
1-etil-5-metilciclopenteno	S	S	S	S
1-heptanol	N	S	N	N
1-hepten-3-ol	N	S	S	S
1-hepteno	N	S	S	S
2-metil-1-hepteno	N	N	N	N
1-hexanol	N	S	S	S
2-etil-1-hexanol	N	N	N	N
1-nonanol	N	N	S	N
1-noneno	N	S	S	N
1-octanol	N	S	S	N
1-octen-3-ol	N	S	S	S
1-octen-3-ona	S	S	S	S
1-octeno	N	N	N	N
1-pentanol	N	S	S	S
1-penten-3-ol	N	S	S	N

1-propanol	N	N	N	N
8-metil-1-undeceno	N	S	S	S
1,3-hexadieno	N	N	N	S
3-etil-2-metil-1,3-hexadieno	N	S	S	S
1,3-octadieno	S	N	N	S
1,3,5-cicloheptatrieno	N	N	N	N
2,3-dihidro-5,6-dimetil-1,4-dioxina	N	N	N	N
1,7-octadien-3-ol	N	S	N	N
1H-pirrol-2-carboxaldehído	N	N	N	N
2-metil-1H-pirrol	N	N	N	N
2-acetil-2-tiazolina	S	N	N	N
2-acetiltiazol	S	S	S	S
2-butanona	N	S	S	S
2-butenal	N	S	S	S
2-etil-2-butenal	N	N	N	S
3-metil-2-butenal	N	N	S	S
3-metil-2-ciclohexen-1-ona	N	N	N	N
2-decanona	S	S	S	N
(E)-2-decenal	N	N	N	N
(Z)-2-decenal	S	S	S	S
2-furanmetanol	N	N	N	N
2-heptanona	S	S	S	S
6-metil-2-heptanona	N	N	S	N
(E)-2-heptenal	N	S	S	S
(Z)-2-heptenal	N	N	N	S
(E)-2-hexenal	N	S	S	S
2-etil-2-hexenal	N	N	N	N
2-metil-2-hepteno	S	N	N	N
2-n-heptilfurano	S	N	N	N
2-n-octilfurano	S	S	S	N
2-nonanona	N	S	S	N
(E)-2-nonenal	S	S	S	S
(Z)-2-nonenal	N	N	N	S
2-octanona	S	S	S	S
(Z)-2-octen-1-ol	S	S	S	S
(E)-2-octenal	N	S	S	S
2-pentanona	N	S	S	N
1-propoxi-2-propanol	N	N	N	N
1-(acetiloxi)-2-propanona	S	N	N	N
1-hidroxi-2-propanona	S	N	N	N
2-propenal	N	N	N	S
2-tiofenocarboxaldehído	S	S	S	S
2-undecenal	N	S	S	S
2,3-butanodiona	N	N	N	S
2,3-pentanodiona	N	N	N	N
(E,E)-2,4-decadienal	N	S	S	S
2,4-decadienal	N	N	N	S
(E,E)-2,4-heptadienal	N	S	S	S
(E,E)-2,4-nonadienal	N	S	S	S
2,6-dimetilpirazina	N	N	N	N
(E,Z)-2,6-nonadienal	N	N	S	N
5-etildihidro-2(3H)-furanona	N	S	S	S
5-metil-2(3H)-furanona	N	N	N	N
dihidro-5-pentil-2(3H)-furanona	N	N	S	S
dihidro-5-propil-2(3H)-furanona	N	N	N	N
2(5H)-furanona	N	N	N	N
tetrahidro-6-metil-2Hpiran-2-ona	N	N	N	N
3-etilciclopentanona	N	S	S	S
3-hexanona	N	N	N	N
3-metil-2-tiofenocarboxaldehído	N	N	N	N
3-octanona	S	S	N	S
3-octen-2-ona	N	S	S	S
3-tiofenocarboxaldehído	N	S	S	S

(E,E)-3,5-octadien-2-ona	N	N	S	S
dihidro-2-metil-3(2H)-furanona	N	N	N	N
4-cianociclohexeno	N	N	N	N
4-ciclopenteno-1,3-diona	N	N	S	N
4-decino	N	S	N	N
(Z)-4-heptenal	N	S	S	S
ácido 4-metiloctanoico	N	N	N	N
(E)-4-octeno	N	N	N	N
2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4(H)-piran-4-ona	S	N	N	N
6-metil-5-hepten-2-ona	S	N	N	N
acetaldehído	N	N	N	S
ácido acético	N	N	N	N
éster etenílico del ácido acético	S	N	N	N
acetoína	S	N	N	N
acetona	S	N	N	S
acetonitrilo	N	N	N	S
benzaldehído	S	S	S	S
4-etil-benzaldehído	N	S	S	N
benceno	S	N	N	N
hidrazida del ácido benzoico	S	N	N	N
butanal	S	N	N	S
2-metil-butanal	N	N	N	N
3-metil-butanal	S	N	N	N
ácido butanoico	N	N	N	N
butirolactona	S	S	N	S
caprolactama	N	N	N	N
disulfuro de carbono	N	N	N	S
1-etil-1-metil-ciclopentano	S	S	S	S
propil-ciclopropano	N	N	S	S
decanal	N	S	S	N
dihidro-3-(2H)-tiofenona	N	N	N	N
Sulfuro de dimetilo	S	N	N	N
dimetilsulfona	N	N	N	N
trisulfuro de dimetilo	S	S	N	N
etanotiol	N	N	N	N
etanol	N	N	N	S
1-(1(H)-pirrol-2-il)-etanona	N	N	N	N
1-(2-furanil)-etanona	N	N	N	N
etosuximida	S	N	N	N
éster heptílico del ácido fórmico	S	S	N	N
furano	S	N	N	S
2-etil-furano	S	N	N	N
2-hexil-furano	S	N	N	S
2-metil-furano	N	N	N	S
2-pentil-furano	N	S	S	S
2-propil-furano	N	N	S	S
3-metil-furano	S	N	N	N
3-pentil-furano	S	S	S	S
furfural	N	S	S	S
heptanal	N	S	S	S
ácido heptanoico	N	N	N	S
2-metil-hex-2-in-4-ona	N	N	N	N
ácido hexanoico	N	N	N	S
sulfuro de hidrógeno	N	N	N	N
m-aminofenilacetileno	N	N	N	N
anhídrido maleico	N	N	N	N
metacroleína	N	N	N	N
metanotiol	N	N	N	N
etanoato de metilo	N	N	N	N
metil isobutil cetona	S	N	N	N
éster vinílico del ácido n-caproico	N	S	S	N
nonanal	N	S	S	S

3-metil-nonano	S	N	N	N
ácido nonanoico	S	N	N	N
octanal	N	S	S	S
octano	N	N	N	S
ácido octanoico	N	N	N	S
éster isobutílico y pentílico del ácido oxálico	S	N	N	N
p-cresol	N	N	N	N
pentanal	N	N	N	S
ácido pentanoico	S	N	N	S
4-etil-fenol	N	S	S	N
fenilacetaldehído	S	S	S	S
ácido (p-hidroxifenil)-fosfónico	S	N	N	N
propanal	N	N	N	S
2-metil-propanal	N	N	N	N
ácido propanoico	N	N	N	N
ácido 2-metil-propanoico	S	N	N	N
éster etenílico del ácido propanoico	N	N	N	N
pirazina	N	S	N	S
2-etil-5-metil-pirazina	N	N	N	N
2-etil-6-metil-pirazina	N	N	N	N
2,3-dimetil-pirazina	N	N	N	N
2,5-dimetil-pirazina	N	N	N	N
3-etil-2,5-dimetilpirazina	S	N	N	N
etil-pirazina	N	N	N	N
metil-pirazina	N	N	N	N
trimetil-pirazina	S	N	N	N
piridina	S	N	S	N
pirrol	S	S	S	S
estireno	S	N	S	N
tiazol	S	S	S	S
metil-tiirano	N	N	N	N
tiofeno	N	N	N	S
2-hexil-tiofeno	S	N	S	N
2-pentil-tiofeno	N	S	N	N
trans-2-(2-pentenil)furano	N	S	S	N
trans-3-nonen-2-ona	N	S	S	S
ácido undecanoico	N	N	N	N
N.º total de compuestos Detectados:	54	63	66	76

En muestras que tiene aromas a grasa o a nata, se detectaron 2,4-decadienal, (E,E)-2,4-nonadienal, (E,E)-2,4-heptadienal y/o (E,E)-2,4-decadienal en las muestras KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_Corazón de vacuno, MRM_BioLipon95, MRM_NatCholinePC40, Kphos6_Nabina, MRM_Nabina, KPhos6_Ácido oleico, KPhos6_Ácido linoleico y MRM_Ácido linoleico. Para (E,E)-2,4-decadienal, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_NatCholinePC40, seguido por las muestras MRM_Ácido linoleico, KPhos6_Ácido linoleico, MRM_Corazón de vacuno, MRM_BioLipon95, KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_Ácido oleico y KPhos6_Ácido oleico. Para (E,E)-2,4-heptadienal, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_NatCholinePC40 seguido por la muestra MRM_Nabina. También se detectó (E,E)-2,4-heptadienal en las muestras MRM_BioLipon95, MRM_Corazón de vacuno y MRM_Ácido linoleico. Para (E,E)-2,4-nonadienal, la mayor intensidad de señal fue en las muestras MRM_Nabina y MRM_Ácido linoleico. (También se detectó E,E)-2,4-nonadienal en las muestras Kphos6_Nabina, MRM_NatCholinePC40, MRM_BioLipon95, MRM_Corazón de vacuno y KPhos6_Ácido linoleico. Para 2,4-decadienal, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_Ácido linoleico. También se detectó 2,4-decadienal en las muestras KPhos6_Ácido linoleico, MRM_Nabina y KPhos6_Ácido oleico.

En muestras que tienen aromas a tierra o a setas, se detectaron 3-octen-2-ona, 1-octen-3-ona, 3-octanona y/o 1-octen-3-ol en las muestras KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_Corazón de vacuno, Kphos_BioLipon95, MRM_BioLipon95, Kphos_NatCholinePC40, MRM_NatCholinePC40, MRM_Nabina, KPhos6_Ácido oleico, MRM_Ácido oleico, KPhos6_Ácido linoleico y MRM_Ácido linoleico. Para 1-octen-3-ol, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_Ácido linoleico, seguido por las muestras MRM_NatCholinePC40, KPhos6_Ácido linoleico, MRM_Corazón de vacuno, KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_Nabina, MRM_BioLipon95, KPhos6_Ácido oleico y MRM_Ácido oleico. Se detectó 3-octanona en las muestras MRM_Ácido oleico, KPhos6_Ácido linoleico y MRM_Ácido linoleico. Para 1-octen-3-ona, la mayor intensidad de señal fue en las muestras MRM_Ácido linoleico y

MRM_Corazón de vacuno, seguido por las muestras KPhos6_Ácido linoleico, MRM_NatCholinePC40, KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_BioLipon95, MRM_Ácido oleico y KPhos6_Ácido oleico. Para 3-octen-2-ona, la mayor intensidad de señal fue en la muestra KPhos6_Ácido linoleico, seguido por las muestras MRM_Ácido linoleico, MRM_NatCholinePC40, KPhos6_Corazón de vacuno, KPhos6_Ácido oleico, MRM_Ácido oleico, MRM_Corazón de vacuno, MRM_BioLipon95, MRM_Nabina, Kphos_BioLipon95 y Kphos_NatCholinePC40. Se detectó pirazina en las muestras MRM_Coco, MRM_C18, MRM_C14 y MRM_BioLipon95.

En muestras que tienen un aroma a nueces y a tostado, tiazol y 2-acetiltiazol fueron los compuestos más abundantes detectados, junto con pirazina, metil-pirazina, trimetil-pirazina y 3-etil-2,5-dimetilpirazina. Se detectó 2-acetiltiazol en todas las muestras con MRM y fue el más abundante en muestras con MRM_Corazón de vacuno, MRM_biolipon95, MRM_Nabina y MRM_coco. Se creó tiazol en muestras con MRM-Coco, MRM_Corazón de vacuno, MRM_Biolipon95, MRM_C14, MRM_C18, MRM_Nabina, MRM_Ácido oleico y MRM_Ácido linoleico y MRM_NatCholinePC40. Estaba presente pirazina en la mayor cantidad en muestras con MRM-Coco, seguido por las muestras MRM_Corazón de vacuno, MRM_Biolipon95, MRM_C14, MRM_C18, MRM_Nabina que tienen aproximadamente igual cantidad, las muestras MRM_Ácido oleico y MRM_Ácido linoleico tenían incluso menos. Estaba presente metil-pirazina en MRM_Biolipon95 y MRM_Coco. 3-etil-2,5-dimetil-pirazina y trimetil-pirazina, estaban presentes solo sin fosfolípidos en la MRM.

En muestras que tienen aromas a verde, vegetales o hierbas, se detectaron 1-heptanol, 1-hepten-3-ol, 1-hexanol, (E)-2-heptenal, (Z)-2-heptenal, (E)-2-hexenal, 2-pentil-furano y/o heptanal en las muestras KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_Corazón de vacuno, Kphos_BioLipon95, MRM_BioLipon95, Kphos_NatCholinePC40, MRM_NatCholinePC40, Kphos_C14, MRM_C14, Kphos_C18, MRM_C18, MRM_Nabina, MRM_Coco, KPhos6_Ácido oleico, MRM_Ácido oleico, KPhos6_Ácido linoleico y MRM_Ácido linoleico. Para 2-pentil-furano, la mayor intensidad de señal fue en la muestra KPhos6_Corazón de vacuno, seguido por las muestras KPhos6_Ácido linoleico, MRM_BioLipon95, MRM_Ácido linoleico, MRM_Corazón de vacuno, MRM_Ácido oleico, MRM_NatCholinePC40, MRM_Nabina, KPhos6_Ácido oleico y Kphos_NatCholinePC40. Para (E)-2-heptenal, la mayor intensidad de señal fue en las muestras MRM_Corazón de vacuno, MRM_Nabina, MRM_Ácido oleico y KPhos6_Ácido linoleico, seguido por las muestras KPhos6_Ácido oleico, MRM_BioLipon95, KPhos6_Corazón de vacuno, MRM_Ácido linoleico, MRM_NatCholinePC40, Kphos_BioLipon95 y Kphos_NatCholinePC40. Para (Z)-2-heptenal, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_Ácido linoleico. También se detectó MRM_Ácido linoleico en la muestra KPhos6_Ácido linoleico. Para heptanal, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_Ácido oleico, seguido por las muestras KPhos6_Ácido oleico, MRM_C14, MRM_C18, MRM_Nabina, MRM_Corazón de vacuno, MRM_NatCholinePC40, MRM_Ácido linoleico y KPhos6_Corazón de vacuno. Para, (E)-2-hexenal, la mayor intensidad de señal fue en la muestra MRM_Ácido linoleico, seguido por las muestras MRM_NatCholinePC40, KPhos6_Ácido linoleico y MRM_Ácido oleico.

Ejemplo 11 - Creación de los sabores a carne de vacuno usando mezclas complejas de precursores

Se preparó una formulación (la “Magic Mix” (mezcla mágica), véase la tabla 13 que contiene las concentraciones estimadas de aminoácidos, azúcares y otras moléculas pequeñas en carne de vacuno basándose en sus valores notificados en la bibliografía. La Magic Mix se probó para verificar su capacidad para producir sabores a carne en presencia de leghemoglobina (LegH). Se añadieron la Magic Mix y el 1% de LegH p/v al sustituto de carne, pH 6,0 (véase la tabla 4) y se horneó en un horno de convección durante 7 minutos a 160ºC. Se preparó una muestra de control añadiendo el 1% de LegH p/v al sustituto de carne, pH 6,0 y horneando en un horno de convección durante 7 minutos a 160ºC.

Se comparó la muestra de sustituto de carne que contenía solo LegH con la muestra de sustituto de carne que contenía la Magic Mix y LegH por un panel sensorial y análisis mediante CG-EM. Cinco degustadores clasificaron los sustitutos de carne saborizados para el grado de sabor a carne de vacuno, grado de amargor y niveles de sabores sabrosos y sabores desagradables. Se clasificó cada propiedad en una escala de 7 puntos en la que 7 era la mayor cantidad de la propiedad especificada (por ejemplo, una carne picada de vacuno 80:20 convencional se clasificaría como 7 en la escala de sabor a carne de vacuno). Se calificó el sabor de la Magic Mix un punto mayor en cuanto a la característica de sabor a carne de vacuno que la muestra solo de LegH (figura 1).

Para determinar qué productos químicos se produjeron tras calentar, se preparó una disolución de Magic Mix con el 1% de LegH p/v a pH 6,0. Se cocinaron las muestras con agitación a 150ºC durante tres minutos, luego se realizó microextracción en fase sólida (SPME) durante doce minutos a 50ºC para extraer los compuestos volátiles por encima de la cámara anterior de la reacción. Se usó un algoritmo de búsqueda para analizar el tiempo de retención e información de huella dactilar de masas de los compuestos volátiles y se asignaron nombres químicos a los picos. La tabla 14 muestra los compuestos identificados tanto en muestras de Magic Mix + LegH (MM, promedio de dos muestras) como de LegH sola en tampón (LegH, promedio de cinco muestras). Los compuestos en la tabla 14 se enumeran en orden de tiempo de retención (T. R., en segundos), y se designan como que tienen un área de pico cero (0) o un área de pico promedio pequeña (S), media (M) o grande (L). Se identificaron cientos de compuestos entre las muestras, muchos de los cuales son característicos del aroma a carne de vacuno, incluyendo pero sin limitarse a 1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benceno, 2-metil-3-furantiol y disulfuro de bis(2-metil-4,5-dihidro-3-furilo), que aumentaron en las muestras que contenían Magic Mix y LegH.

Tabla 13

Entidades químicas añadidas a Magic Mix

Entidad química	mM
Alanina	5,6
Arginina	0,6
Asparagina	0,8
Aspartato	0,8
Cisteína	0,8
Ácido glutámico	3,4
Glutamina	0,7
Glicina	1,3
Histidina	0,6
Isoleucina	0,8
Leucina	0,8
Lisina	0,7
Metionina	0,7
Fenilalanina	0,6
Prolina	0,9
Treonina	0,8
Triptófano	0,5
Tirosina	0,6
Valina	0,9
glucosa	5,6
Ribosa	6,7
Maltodextrina	5,0
Tiamina	0,5
GMP	0,24
IMP	0,6
Ácido láctico	1,0
Creatina	1,0
NaCl	10
KCl	10
Kphos pH 6,0	10

TABLA 14

Compuestos identificados con análisis mediante CG-EM en muestras con MM y LegH o LegH sola (promedio de cinco muestras)

T.R. (s)	Nombre	MM con LegH	LegH sola
248	acetaldehído	L	S
256,3	disulfuro de carbono	L	S
264,3	sulfuro de dimetilo	S	0
265	éster isobutílico y pentílico del ácido oxálico	M	0
268,1	2,3,4-trimetil-pentano	M	0
269,2	metanotiol	S	0
283,4	propanal	M	0
285,4	octano	M	0
287,1	furano	M	0
295,3	2-metil-propanal	L	S
297,6	acetona	L	S
319,3	2-propenal	M	S
338,1	2-metil-furano	M	S
342,1	butanal	L	S
344,2	2,4-dimetil-1-heptene	M	0
346,3	metacroleína	M	0
357,4	metil-tiirano	L	0
360,2	3-metil-furano	S	0

363,7	butanona	L	S
368,9	2,3-dihidro-5-metil-furano	M	S
376,4	2-metil-butanal	L	M
381,1	3-metil-butanal	L	M
390,6	alcohol isopropílico	0	S
399,6	etanol	L	M
406,2	éster metílico del ácido 2-propenoico	M	0
408,2	benceno	S	0
414,4	metil vinil cetona	M	0
416,4	2,2,4,6,6-pentametil-heptano	M	0
422,6	2-etil-furano	S	0
438,4	2-etilacroleína	M	0
449,9	2-pentanona	S	0
453,2	pentanal/2,3-butanodiona	L	0
453,8	2,3-butanodiona	L	M
472,8	4,7-dimetil-undecano	M	S
485,9	2-metil-pentanal	M	0
492,6	2-metil-1-penten-1-ona	S	0
496,6	(E)-3-penten-2-ona	M	0
508,6	1-penten-3-ona	M	0
510,6	triclorometano	M	M
520,4	p-ditiano-2,5-diol	M	0
525,5	3-metil-pentanal	M	0
535,1	(E)-5-deceno	M	0
536,5	tolueno	M	S
537,9	2-butenal	M	S
543,8	4-penten-2-ona	M	0
550,8	tiolacetato de metilo	M	0
683,7	p-xileno	S	0
727,4	dimetil-selenona	M	0
738,3	disulfuro de metilo e isopropilo	M	0
755	2-heptanona	M	0
758,7	heptanal	L	0
781,9	1,3-diisopropoxi-1,3-dimetil-1,3-disilaciclobutano	S	M
789,4	3-metil-2-butenal	M	0
793,4	4-metil-2-heptanona	M	0
810,4	pirazina	M	0
818,8	isotiazol	S	0
827,1	acetil-valerilo	M	0
831,8	2-pentil-furano	L	0
851	2-metil-tiazol	S	0
853,3	isotiocianato-metano	S	0
870,9	tiazol	L	0
879,2	estireno	M	0
890,7	1-(metiltio)-propano	M	0
895,6	metil-pirazina	M	0
910,5	éster metílico del ácido tiociánico	S	0
918,6	4-metiltiazol	M	0
921,4	2-octanona	M	0
923,9	2-metil-ciclopentanona	M	0
927,9	octanal	L	S
934,3	tridecano	M	0
948,8	trans-2-(2-pentenil)furano	S	0
961,9	1-hidroxi-2-propanona	M	0
974,5	(E)-2-heptenal	M	0
987,4	5-metil-1-undeceno	M	0
993,8	2-hexil-furano	M	0
1007,8	7-metil-(E)-5-undeceno	M	0
1024,1	2-metil-5-(metiltio)-furano,	S	0
1058,6	2-butil-1-deceno	M	0
1079,3	trisulfuro de dimetilo	L	S
1085,3	2-nonanona	M	0
1093,2	Nonanal	L	M

1142,3	1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benceno	M	0
1149,6	(E)-2-octenal	M	0
1164,5	1-heptanol	M	0
1193,5	metional	L	0
1198,8	ácido acético	M	S
1207,2	furfural	M	0
1242,1	2-decanona	M	0
1250,8	decanal	M	0
1265,2	1-decen-3-ona	M	0
1283,3	pirrol	M	0
1292,6	5-etenil-4-metil-tiazol	M	0
1294,3	benzaldehído	L	M
1303,7	2-n-octilfurano	M	0
1305,6	(E)-2-nonenal	M	0
1341,4	1-octanol	M	0
1361,1	2-metil-1(H)-pirrol	S	0
1391,7	2-undecanona	M	0
1401,2	(E)-2-octen-1-ol	M	0
1448	butirolactona	S	S
1456,3	(E)-2-decenal	M	0
1462,4	fenilacetaldehído	L	S
1466,3	2-acetiltiazol	L	0
1471,3	acetofenona	M	S
1475,4	1-nonanol	M	0
1487	disulfuro de metilo y (metiltio)metilo	M	0
1497,1	5-(2-cloroetil)-4-metiltiazol	L	0
1497,5	1-(etiltio)-2-(metiltio)-buta-1,3-dieno	L	S
1512	3-tiofenocarboxaldehído	M	0
1518,8	2-nonen-4-ona	M	0
1531,7	2-tiofenocarboxaldehído	S	0
1543,9	dodecanal	M	0
1551,6	4-etil-2-metil-pirrol	S	0
1558,2	3-(metiltio)-propanonitrilo	S	0
1561,2	3-decen-2-ona	M	0
1613,1	disulfuro de bis(2-metil-4,5-dihidro-3-furilo)	M	0
1615,6	1,10-undecadieno	M	0
1619,5	2-undecenal	S	0
1668,9	2-fenilpropenal	M	0
1692,3	acetato de (Z)-3-decen-1-ol	M	0
1733,1	3-fenil-furano	S	0
1739,7	éster 4-nitrofenílico del ácido 2-tiofenocarboxílico	S	0
1741,2	5-formil-4-metiltiazol	M	0
1749,7	éster isobutílico del ácido 2,2,4-trimetil-3-hidroxi-pentanoico	M	0
1765,5	alcohol bencílico	S	0
1774,2	éster isobutílico del ácido 2,2,4-trimetil-3-hidroxi-pentanoico	S	0
1796,9	dodecanal	M	0
1806,1	(1-etil-1-propenil)-benceno	S	0
1825,6	1-undecanol	M	S
1827,9	2-metil-3-furantiol	M	0
1828,3	2-metil-3-(metiltio)furano	M	0
1836,1	4-cloro-2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	S	0
1844,1	fenol	S	S
1845,3	[(metilsulfonil)metil]-benceno	S	0
1850,3	(e)-2-tridecen-1-ol	M	0
1859,9	1-heptil-1,2,3,4-tetrahidro-4-metilnaftaleno	S	0
1863,2	2,4-decadienal	S	0
1905,1	3,3'-ditiobis[2-metil]-furano	M	0
1906,9	ácido 3,5-di-terc-butilbenzoico	S	0
1909,6	éster etílico del ácido 4-etoxi-benzoico	S	0
1921,5	3-(fenilmetil)-2,5-piperazindiona	S	0

1944,5	9-octadecenal	M	0
1959,7	3,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	M	S
1968,4	4-metil-5-tiazol-etanol	M	S
2007,8	1,1'-(1,2-ciclobutanodiil)bis-cis-benceno	S	0
2019,8	ácido benzoico	S	S
2026,4	4-quinolincarboxaldehído	S	0
2027,8	m-aminofenilacetileno	M	0

Ejemplo 12 – La clorina ferrosa cataliza la producción de la compuestos con sabor similar a carne

Se añadieron espinacas verdes frescas (10 lb) a 500 ml de agua y se trituró finamente en una batidora Vitamix para producir 2 l de suspensión de color verde. Se añadió acetona (8 l) con mezclado y se permitió que se extrajera el material durante 1 hora. Se filtró el material a través de papel de filtro de Whatman y se eliminó la acetona en un evaporador rotatorio (Buchi). A la suspensión de color verde residual (500 ml) se le añadieron 2 ml de HCl 10 M, haciendo que la suspensión se volviese de color marrón. A esta se le añadió 1 g de $FeCl_2.4H_2O$ en 10 ml de H_2O. Se agitó la disolución, luego se dejó a 4ºC durante 16 horas. Se extrajo esta suspensión con dietil éter (3x50 ml) dando una fase orgánica de color verde brillante, se lavaron los extractos orgánicos combinados con disolución saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dejar una pasta negra (1,1 g). Se disolvió el sedimento en cloroformo para fraccionamiento.

Se almacenaron las fracciones en bruto de clorofila y clorina ferrosa a -20ºC. Se fraccionaron los extractos en bruto mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa (RP-HPLC). Se exponen las condiciones de HPLC en la tabla 15. Se eluyeron de la columna tanto la clorofila como la clorofila ferrosa con un tiempo de retención de pico de 7,6 minutos. Se recogió el material eluido desde los 7,3 - 8,0 minutos. Se reunieron las fracciones recogidas y se almacenaron en hielo. Se cromatografiaron de nuevo las fracciones recogidas y mostraron un único pico con tiempo de retención de 7,6 minutos. Se reunieron las fracciones deseadas, luego se añadió aceite de girasol al 10%, se eliminó el metanol en un evaporador rotatorio (Buchi).

TABLA 15

Condiciones de HPLC para purificación de clorofila y clorina ferrosa a partir del extracto en bruto.

Muestra:	Clorofila o clorina de Fe (~ 2 mg/ml en $CHCl_3$)
Sistema:	Agilent 1100 con Chemstation
Columna:	Zorbax Bonus-RP (4,6 x 250 mm, 5 uM)
Fase móvil:	acetonitrilo, metanol, acetato de etilo (60:20:20), flujo isocrático
Temperatura:	30ºC
Velocidad de flujo:	1,0 ml per minuto
Volumen de inyección:	0,05 ml

Preparación de reacción de formación de sabor que contiene clorina ferrosa o leghemoglobina

Se mezcló una disolución de clorofila ferrosa con Magic Mix (tabla 13) hasta una concentración final del 0,35% de clorina ferrosa, el 1% de glicerol, el 0,005% de Tween-20, el 5% de aceite de girasol, NaCl 100 mM, fosfato 20 mM a pH 6. Se mezcló leghemoglobina (al 0,35%) a pH 6 en tampón fosfato (20 mM), NaCl 100 mM, con Magic Mix (tabla 13), el 1% de glicerol y el 0,005% de Tween-20. Se calentaron las mezclas de reacción de formación de sabor hasta 150ºC durante 3 minutos; esta reacción creó compuestos con sabor que se sabe que están presentes en la carne, creados por hemoglobina y también creado por clorina ferrosa; véase la tabla 16.

Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado cuando las moléculas precursoras de sabor reaccionaron con la proteína con grupo hemo o la clorofila ferrosa. Se evaluaron las muestras mediante CG-EM para identificar los compuestos con sabor generados después de calentar. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de las reacciones de formación de sabor. Se muestran los perfiles de los productos químicos volátiles en la cámara anterior alrededor de las mezclas de reacción de formación de sabor que eran similares entre proteína con grupo hemo y clorina ferrosa en la tabla 16. En particular, muchos de los compuestos creados por la clorina ferrosa son importantes en el sabor de la carne.

TABLA 16

Compuestos con sabor creados tanto por clorina ferrosa como por LegH con Magic Mix.

1-heptanol	acetona
1-hexanol	acetonitrilo
1-octanol	benzaldehído
1-octen-3-ol	butanal

1-octen-3-ona	2-metil-butanal
1-pentanol	trisulfuro de dimetilo
2-acetiltiazol	acetato de etilo
2-butenal	furano
3-metil-2-butenal,	2-etil-furano
(Z)-2-decenal	2-hexil-furano
6-metil-2-heptanona	2-pentil-furano
(E)-2-heptenal	furfural
(E)-2-hexenal	heptanal
2-metil-3-furantiol	aminofenilacetileno
(E)-2-nonenal	metacroleína
(E)-2-octenal	metional
2-pentanona	octanal
1-hidroxi-2-propanona	octano
2-tiofenocarboxaldehído	éster dialílico del ácido oxálico
2-undecenal	2,3-butanodiona
3-metil-3-buten-2-ona	2-metil-propanal
3-tiofenocarboxaldehído	pirazina
(E)-4-octeno,	2,3-dimetil-pirazina
metil-pirazina	2,5-dimetil-pirazina
Tiazol	

Ejemplo 13 - Creación de sabor por hemina inmovilizada

Preparación de CM Sepharose unida a hemina.

Se cargaron 200 mg de hemina bovina (Sigma Aldrich) en un vial para centelleo. Se añadieron una pequeña barra de agitación magnética, 800 µl de acetonitrilo, 64 µl de 4-metilmorfolina y 71 mg de N-hidroxisuccinimida en ese orden. Se puso el vial en un baño de hielo se enfrió bruscamente y luego se añadieron 118 mg de clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etil-carbodiimida con agitación, seguido por 845 µl de Jeffamine ED900. Esto se agitó mientras se permitía que la mezcla negra se calentase hasta la temperatura ambiente. Se añadió cloroformo (10 ml) a la mezcla seguido por agua (4 ml). Se usó una linterna para distinguir entre las fases orgánica y acuosa puesto que ambas eran negras y se retiró mediante pipeteo la fase orgánica y se concentró para dar un aceite de color negro oscuro. Se disolvió el aceite en una mezcla 4:1 de acetonitrilo y etanol para producir una disolución de una concentración de aproximadamente el 10% que era de color tinta negra.

Se hincharon 2 ml de agua y se equilibraron y se equilibró la CM Sepharose en una minicolumna de BioRad con 3 volúmenes de acetonitrilo. Se resuspendió la resina en 1 ml acetonitrilo y se pipeteó a un vial para centelleo. Esto estuvo seguido por 44 microlitros de 4-metilmorfolina, 23 mg de N-hidroxisuccinimida y 39 mg de clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etil-carbodiimida sólido. Se agitó la mezcla en vórtex vigorosamente y luego se agitó durante tres horas. A este sólido blanco se le añadieron 570 microlitros de diamina acoplada a hemina de concentración del de 20% de color tinta negra. Se agitó el sólido negro en vórtex y se agitó durante una hora. La suspensión se parecía enormemente al café turco. Se vertió la mezcla en una minicolumna de BioRad y se filtró, se lavó con acetonitrilo hasta que lo que salía ya no se parecía al café expreso, luego se cambió a agua desionizada y finalmente tampón carbonato de sodio 20 mM pH 9. Se lavó el sólido negro hasta que el efluente fluía claro y luego se resuspendió en 2 ml de tampón para almacenamiento hasta su uso.

Reacción de formación de sabor

Se creó la reacción de formación de sabor con proteína con grupo hemo (mioglobina equina - Sigma) al 0,35% en un tampón fosfato (20 mM) a pH 6,0 con NaCl 100 mM, se mezcló esto con Magic Mix (tabla 13). Se creó otra reacción de formación de sabor con hemina inmovilizada al 0,35% en un tampón fosfato (20 mM) a pH 6,0 con NaCl 100 mM, se mezcló esto con Magic Mix (tabla 13). Se calentaron las mezclas de reacción de formación de sabor hasta 150ºC durante 3 minutos; esta reacción creó compuestos con sabor que se sabe que están presentes en la carne.

Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado cuando las moléculas precursoras de sabor reaccionaron con la proteína con grupo hemo o la hemina inmovilizada. Se evaluaron las muestras mediante CG-EM para identificar los compuestos con sabor generados después de calentar. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de las reacciones de formación de sabor. Tal como puede observarse en la tabla 17, la hemina inmovilizada catalizó la producción de compuestos similares a aquellos cuya producción estaba catalizada por mioglobina libre en disolución. En particular, los perfiles de compuestos con sabor, medidos mediante CG-EM, producidos mediante cocinado de mezclas que contenían la hemina inmovilizada y la proteína con grupo hemo, respectivamente, eran muy similares.

TABLA 17

Compuestos con sabor producidos mediante cocinado de mezclas que contenían o bien mioglobina libre en disolución o bien hemina acoplada a un soporte sólido

Compuesto con sabor	mioglobina	hemina-ligador-resina
2-metil-5-(metiltio)-tiofeno	Bajo	
dihidro-5-propil-2(3H)-furanona	Bajo	
octano	Bajo	
pirrol	Bajo	Bajo
Metanotiol	Bajo	Bajo
2-tiofenocarboxaldehído	Bajo	Bajo
metil-pirazina	Bajo	Bajo
1-hidroxi-2-propanona	Bajo	Bajo
propanal	Bajo	Bajo
tiofeno	Bajo	medio
piridina	Bajo	Bajo
2-metil-furano	Bajo	medio
éster butílico y propílico del ácido oxálico	Bajo	Bajo
pirazina	medio	Bajo
éster dialílico del ácido oxálico	medio	medio
2-butenal	medio	grande
furfural	medio	medio
nonanal	medio	medio
2-etil-furano	medio	Bajo
etanol	medio	muy grande
terc-butanol	medio	
3,3'-ditiobis[2-metil]-furano	medio	medio
m-aminofenilacetileno	medio	medio
2,5-dihidro-3,4-dimetil-furano	medio	medio
2-acetiltiazol	medio	medio
ciclohexano	medio	
etil terc-butil éter	medio	
disulfuro de carbono	medio	medio
tiazol	medio	medio
acetonitrilo	medio	grande
2-pentil-furano	medio	Bajo
3-tiofenocarboxaldehído	medio	medio
2-metil-butanal	medio	medio
tiazol	medio	grande
2-metil-3-furantiol	grande	grande
2-propenal	grande	grande
3-metil-2-butenal	grande	medio
2-metil-3-(metiltio)furano	grande	grande
acetato de etilo	grande	medio
metacroleína	grande	medio
metil-tiirano	grande	grande
metional	grande	grande
alcohol metílico	grande	medio
2-butanona	grande	Bajo
2,3-butanodiona	grande	medio
acetona	grande	grande
furano	grande	medio
benzaldehído	grande	medio
tiolacetato de metilo	grande	medio
acetaldehído	muy grande	muy grande
2-metil-propanal	muy grande	muy grande
trisulfuro de dimetilo	muy grande	muy grande
3-metil-butanal	muy grande	muy grande
propil-ciclopropano		medio
(E)-2-octenal		medio
2-n-propilaziridina		medio
tiirano		medio

formiato de etilo		medio
metil vinil cetona		medio
éster etílico del ácido 2-propenoico		medio
1-nonanol		grande
1-octeno		grande
1-heptanol		grande
1-dodeceno		grande
forona		muy grande

Ejemplo 14.

La combinación de precursores con proteínas con grupo hemo dirige las reacciones de formación de sabor.

Se compararon tres muestras: mezcla de precursores sola, el 1% de proteína con grupo hemo sola y mezcla de precursores con el 1% de grupo hemo. La mezcla de precursores se componía de glucosa (20 mM), ribosa (20 mM), cisteína (10 mM), tiamina (1 mM) y ácido glutámico (1 mM). Se prepararon todas las reacciones a pH 6,0, y se calentaron hasta 150ºC durante 3 minutos. Estas tres muestras se aplicaron por duplicado. Se evaluaron estas muestras mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados. Los componentes de sabor y fragancia característicos se produjeron principalmente durante el proceso de cocinado en el que los precursores podían reaccionar la proteína con grupo hemo. Se evaluaron estas muestras mediante CG-EM para determinar los compuestos con sabor generados y se evaluaron para determinar la experiencia sensorial. Se aislaron los productos químicos volátiles de la cámara anterior alrededor de la reacción de formación de sabor. Se indican los compuestos con sabor creado en cada muestra en la tabla 18. Tal como se muestra, la mayor parte de las moléculas con sabor se crearon cuando se combinan los precursores con la proteína con grupo hemo.

Tabla 18

Moléculas con sabor creadas por la combinación de LegH y mezcla de precursores.

Compuesto	Mezcla de precursores	LegH	Mezcla de precursores + LegH
disulfuro de carbono	medio	medio	alto
alcohol isopropílico	medio	medio	bajo
2-metil-furano	bajo		bajo
butanal	bajo		medio
tiofeno	bajo		bajo
2,3-butanodiona	bajo	bajo	alto
furano	bajo		medio
2,4-dimetil-1-hepteno		alto	alto
acetona		alto	alto
trisulfuro de dimetilo		medio	medio
2-metil-heptano		medio	medio
2-pentanona		medio	
pentanal		medio	medio
2-pentil-furano		medio	medio
2-metil-propanal		bajo	alto
2-acetil-1-propeno		bajo	bajo
2-metil-butanal		bajo	medio
1,3-dimetil-benceno		bajo	bajo
octano		bajo	bajo
benceno		bajo	bajo
benzaldehído			muy alto
2-butanona			muy alto
furfural			muy alto
tiazol			alto
nonanal			alto
tiazol			alto
2-acetiltiazol			medio
3-metil-butanal			medio
(Z)-2-heptenal			medio
heptanal			medio
metil-tiirano			medio
3-etil-pentano			medio
fenilacetaldehído			medio

2-hexil-furano			medio
2-nonanona			medio
propanal			medio
pirazina			medio
(Z)-2-heptenal			medio
2-metil-1-hepteno			medio
2-etil-furano			medio
Octanal			medio
(E)-4-octeno			bajo
(E)-2-octenal			bajo
2-metil-tiazol			bajo
2-propenal			bajo
1-octen-3-ona			bajo
1-octeno			bajo
2-octanona			bajo
sulfuro de dimetilo			bajo
3-pentil-furano			bajo
2-n-octilfurano			bajo
2-pentil-tiofeno			bajo

REIVINDICACIONES

1. Sucedáneo de carne que comprende:

a) una proteína que contiene grupo hemo; y
b) al menos dos moléculas precursoras de sabor seleccionadas del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, maltosa, galactosa, lactosa, xilosa, sacarosa, maltodextrina, tiamina, cisteína, cistina, un sulfóxido de cisteína, alicina, selenocisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, 5-hidroxitriptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina;
en el que se proporciona un gusto y olor a carne al sucedáneo de carne durante el proceso de cocinado.

2. Sucedáneo de carne según la reivindicación 1, en el que la proteína que contiene grupo hemo es una proteína que contiene grupo hemo vegetal, una proteína que contiene grupo hemo de mamífero, una proteína que contiene grupo hemo de levadura u hongo filamentoso, o una proteína que contiene grupo hemo de bacteria o arquea.

3. Sucedáneo de carne según la reivindicación 1 o reivindicación 2, en el que la proteína que contiene grupo hemo es una leghemoglobina, opcionalmente una leghemoglobina de soja, alfalfa, altramuz, haba, guisante, caupí o altramuz azul.

4. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína que contiene grupo hemo se produce de manera recombinante, se sintetiza químicamente o se traduce *in vitro*.

5. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína que contiene grupo hemo comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80% con un polipéptido expuesto en SEQ ID NO: 1-26.

6. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína que contiene grupo hemo está aislada.

7. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína que contiene grupo hemo está aislada y purificada.

8. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un aceite de calidad alimentaria, un agente de condimento, un agente saborizante, una proteína, un concentrado de proteína, un emulsionante, un agente gelificante o una fibra.

9. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho sucedáneo de carne está libre de productos animales.

10. Sucedáneo de carne según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el gusto y el olor de la carne es el gusto y el olor de la carne de vacuno.

11. Método para conferir un sabor similar a carne de vacuno a un sucedáneo de carne, que comprende poner en contacto dicho sucedáneo de carne con una composición saborizante, comprendiendo dicha composición saborizante:

i) una proteína que contiene grupo hemo; y
ii) al menos dos moléculas precursoras de sabor seleccionadas del grupo que consiste en glucosa, fructosa, ribosa, arabinosa, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, fructosa-1,6-difosfato, maltosa, galactosa, lactosa, xilosa, sacarosa, maltodextrina, tiamina, cisteína, cistina, un sulfóxido de cisteína, alicina, selenocisteína, metionina, isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptófano, 5-hidroxitriptófano, valina, arginina, histidina, alanina, asparagina, aspartato, glutamato, glutamina, glicina, prolina, serina, tirosina;
en el que después de calentar conjuntamente dicho sucedáneo de carne y dicha composición saborizante, se confiere un sabor similar a carne de vacuno a dicho sucedáneo de carne.

12. Método según la reivindicación 11, en el que la proteína que contiene grupo hemo es una proteína que contiene grupo hemo vegetal, una proteína que contiene grupo hemo de mamífero, una proteína que contiene grupo hemo de levadura u hongo filamentoso, o una proteína que contiene grupo hemo de bacteria o arquea.

13. Método según la reivindicación 11 o 12, en el que la proteína que contiene grupo hemo es una

leghemoglobina, preferiblemente una leghemoglobina de soja, alfalfa, altramuz, haba, guisante, caupí o altramuz azul.

14. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 11 - 13, en el que la proteína que contiene grupo hemo se produce de manera recombinante, se sintetiza químicamente o se transcribe y se traduce *in vitro*.

15. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 11 - 14, en el que la proteína que contiene grupo hemo comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80% con un polipéptido expuesto en SEQ ID NO: 1-26.

16. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 11-15, en el que la proteína que contiene grupo hemo está aislada.

17. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 11 - 16, en el que la proteína que contiene grupo hemo está aislada y purificada.

18. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 11-17, en el que el sucedáneo de carne está libre de productos animales.

FIGURA 1

SEQ ID NO:1 *Vigna radiata*

MTTTLERGFTEEQEALVVKSWNVMKKNSGELGLKFFLKIFEIAPSAQKLFSFLRDSTVP
LEQNPKLKPHAVSVFVMTCDSAVQLRKAGKVTVRESNLKKLGATHFRTGVANEHFEVTK
FALLETIKEAVPEMWSPAMKNAWGEAYDQLVDAIKYEMKPPSS

SEQ ID NO:2 *Methylacidiphilum infernorum*

MIDQKEKELIKESWKRIEPNKNEIGLLFYANLFKEEPTVSVLFQNPISSQSRKLMQVLG
ILVQGIDNLEGLIPTLQDLGRRHKQYGVVDSHYPLVGDCLLKSIQEYLGQGFTEEAKAA
WTKVYGIAAQVMTAE

SEQ ID NO:3 *Aquifex aeolicus*

MLSEETIRVIKSTVPLLKEHGTEITARMYELLFSKYPKTKELFAGASEEQPKKLANAII
AYATYIDRLEELDNAISTIARSHVRRNVKPEHYPLVKECLLQAIEEVLNPGEEVLKAWE
EAYDFLAKTLITLEKKLYSQP

SEQ ID NO:4 *Glycine max*

MGAFTEKQEALVSSSFEAFKANIPQYSVVFYTSILEKAPAAKDLFSFLSNGVDPSNPKL
TGHAEKLFGLVRDSAGQLKANGTVVADAALGSIHAQKAITDPQFVVVKEALLKTIKEAV
GDKWSDELSSAWEVAYDELAAAIKKAF

SEQ ID NO:5 *Hordeum vulgare*

MSAAEGAVVFSEEKEALVLKSWAIMKKDSANLGLRFFLKIFEIAPSARQMFPFLRDSDV
PLETNPKLKTHAVSVFVMTCEAAAQLRKAGKITVRETTLKRLGGTHLKYGVADGHFEVT
RFALLETIKEALPADMWGPEMRNAWGEAYDQLVAAIKQEMKPAE

Magnaporthe oryzae, (SEQ ID NO:6)

```
   1 mdgavrldwt gldltgheih dgvpiasrvq vmvsfplfkd qhiimsskes psrksstigq
  61 strngscqad tqkgqlppvg ekpkpvkenp mkklkemsqr plptqhgdgt yptekkltgi
 121 gedlkhirgy dvktllamvk sklkgeklkd dktmlmervm qlvarlptes kkraeltdsl
 181 inelwesldh pplnylgpeh syrtpdgsyn hpfnpqlgaa gsryarsvip tvtppgalpd
 241 pglifdsimg rtpnsyrkhp nnvssilwyw atiiihdifw tdprdintnk sssyldlapl
 301 ygnsqemqds irtfkdgrmk pdcyadkrla gmppgvsvll imfnrfhnhv aenlalineg
 361 grfnkpsdll egeareaawk kydndlfqva rlvtsglyin itlvdyvrni vnlnrvdttw
 421 tldprqdaga hvgtadgaer gtgnavsaef nlcyrwhsci sekdskfvea qfqnifgkpa
 481 sevrpdemwk gfakmeqntp adpgqrtfgg fkrgpdgkfd dddlvrcise avedvagafg
 541 arnvpqamkv vetmgiiqgr kwnvaglnef rkhfhlkpys tfedinsdpg vaealrrlyd
```

```
 601 hpdnvelypg lvaeedkqpm vpgvgiapty tisrvvlsda vclvrgdrfy ttdftprnlt
 661 nwgykevdyd lsvnhgcvfy klfirafpnh fkqnsvyahy pmvvpsenkr ilealgradl
 721 fdfeapkyip prvnitsygg aeyiletqek ykvtwheglg flmgegglkf mlsgddplha
 781 qqrkcmaaql ykdgwteavk afyagmmeel lvsksyflgn nkhrhvdiir dvgnmvhvhf
 841 asqvfglplk taknptgvft eqemygilaa ifttiffdld psksfplrtk trevcqklak
 901 lveanvklin kipwsrgmfv gkpakdepls iygktmikgl kahglsdydi awshvvptsg
 961 amvpnqaqvf aqavdyylsp agmhyipeih mvalqpstpe tdalllgyam egirlagtfg
1021 syreaavddv vkedngrqvp vkagdrvfvs fvdaardpkh fpdpevvnpr rpakkyihyg
1081 vgphaclgrd asqiaitemf rclfrrrnvr rvpgpqgelk kvprpggfyv ymredwgglf
1141 pfpvtmrvmw dde
```

Fusarium oxysporum (SEQ ID NO:7)

```
   1 mkgsatlafa lvqfsaasql vwpskwdeve dllymqggfn krgfadalrt cefgsnvpgt
  61 qntaewlrta fhdaithdak agtggldasi ywessrpenp gkafnntfgf fsgfhnprat
 121 asdltalgtv lavgacngpr ipfragrida ykagpagvpe pstnlkdtfa aftkagftke
 181 emtamvacgh aiggvhsvdf peivgikadp nndtnvpfqk dvssfhngiv teylagtskn
 241 plvasknatf hsdkrifdnd katmkklstk agfnsmcadi ltrmidtvpk svqltpvlea
 301 ydvrpyitel slnnknkihf tgsvrvritn nirdnndlai nliyvgrdgk kvtvptqqvt
 361 fqggtsfgag evfanfefdt tmdakngitk ffiqevkpst katvthdnqk tggykvddtv
 421 lyqlqqscav leklpnaplv vtamvrdara kdaltlrvah kkpvkgsivp rfqtaitnfk
 481 atgkkssgyt gfqaktmfee qstyfdivlg gspasgvqfl tsqampsqcs
```

Fusarium graminearum (SEQ ID NO:8)

```
   1 masatrqfar aatratrngf aiaprqvirq qgrryyssep aqksssawiw ltgaavagga
  61 gyyfygnsas satakvfnps kedyqkvyne iaarleekdd yddgsygpvl vrlawhasgt
 121 ydketgtggs ngatmrfape sdhganagla aardflqpvk ekfpwitysd lwilagvcai
 181 qemlgpaipy rpgrsdrdvs gctpdgrlpd askrqdhlrg ifgrmgfndq eivalsgaha
 241 lgrchtdrsg ysgpwtfspt vltndyfrll veekwqwkkw ngpaqyedks tkslmmlpsd
 301 ialiedkkfk pwvekyakdn daffkdfsnv vlrlfelgvp faqgtenqrw tfkpthqe
```

SEQ ID NO: 9 *Chlamydomonas eugametos*

MSLFAKLGGREAVEAAVDKFYNKIVADPTVSTYFSNTDMKVQRSKQFAFLAYALGGASE
WKGKDMRTAHKDLVPHLSDVHFQAVARHLSDTLTELGVPPEDITDAMAVVASTRTEVLN
MPQQ

SEQ ID NO:10 *Tetrahymena pyriformis*

MNKPQTIYEKLGGENAMKAAVPLFYKKVLADERVKHFFKNTDMDHQTKQQTDFLTMLLG
GPNHYKGKNMTEAHKGMNLQNLHFDAIIENLAATLKELGVTDAVINEAAKVIEHTRKDM
LGK

SEQ ID NO:11 *Paramecium caudatum*

MSLFEQLGGQAAVQAVTAQFYANIQADATVATFFNGIDMPNQTNKTAAFLCAALGGPNA
WTGRNLKEVHANMGVSNAQFTTVIGHLRSALTGAGVAAALVEQTVAVAETVRGDVVTV

SEQ ID NO:12 *Aspergillus niger*

MPLTPEQIKIIKATVPVLQEYGTKITTAFYMNMSTVHPELNAVFNTANQVKGHQARALA
GALFAYASHIDDLGALGPAVELICNKHASLYIQADEYKIVGKYLLEAMKEVLGDACTDD
ILDAWGAAYWALADIMINREAALYKQSQG

SEQ ID NO:13 *Zea mays*

MALAEADDGAVVFGEEQEALVLKSWAVMKKDAANLGLRFFLKVFEIAPSAEQMFSFLRD
SDVPLEKNPKLKTHAMSVFVMTCEAAAQLRKAGKVTVRETTLKRLGATHLRYGVADGHF
EVTGFALLETIKEALPADMWSLEMKKAWAEAYSQLVAAIKREMKPDA

SEQ ID NO:14 *Oryza sativa subsp. japonica*

MALVEGNNGVSGGAVSFSEEQEALVLKSWAIMKKDSANIGLRFFLKIFEVAPSASQMFS
FLRNSDVPLEKNPKLKTHAMSVFVMTCEAAAQLRKAGKVTVRDTTLKRLGATHFKYGVG
DAHFEVTRFALLETIKEAVPVDMWSPAMKSAWSEAYNQLVAAIKQEMKPAE

SEQ ID NO:15 *Arabidopsis thaliana*

MESEGKIVFTEEQEALVVKSWSVMKKNSAELGLKLFIKIFEIAPTTKKMFSFLRDSPIP
AEQNPKLKPHAMSVFVMCCESAVQLRKTGKVTVRETTLKRLGASHSKYGVVDEHFEVAK
YALLETIKEAVPEMWSPEMKVAWGQAYDHLVAAIKAEMNLSN

SEQ ID NO:16 *Pisum sativum*

MGFTDKQEALVNSSWESFKQNLSGNSILFYTIILEKAPAAKGLFSFLKDTAGVEDSPKL
QAHAEQVFGLVRDSAAQLRTKGEVVLGNATLGAIHVQRGVTDPHFVVVKEALLQTIKKA
SGNNWSEELNTAWEVAYDGLATAIKKAMT

SEQ ID NO:17 *Vigna unguiculata*

MVAFSDKQEALVNGAYEAFKANIPKYSVVFYTTILEKAPAAKNLFSFLANGVDATNPKL
TGHAEKLFGLVRDSAAQLRASGGVVADAALGAVHSQKAVNDAQFVVVKEALVKTLKEAV
GDKWSDELGTAVELAYDELAAAIKKAY

SEQ ID NO:18 Bos taurus

MGLSDGEWQLVLNAWGKVEADVAGHGQEVLIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAEMKAS
EDLKKHGNTVLTALGGILKKKGHHEAEVKHLAESHANKHKIPVKYLEFISDAIIHVLHA
KHPSDFGADAQAAMSKALELFRNDMAAQYKVLGFHG

SEQ ID NO:19 *Sus scrofa*
MGLSDGEWQLVLNVWGKVEADVAGHGQEVLIRLFKGHPETLEKFDKFKHLKSEDEMKAS
EDLKKHGNTVLTALGGILKKKGHHEAELTPLAQSHATKHKIPVKYLEFISEAIIQVLQS
KH PGDFGADAQGAMSKALELFRNDMAAKYKELGFQG

SEQ ID NO: 20 *Equus caballus*

MGLSDGEWQQVLNVWGKVEADIAGHGQEVLIRLFTGHPETLEKFDKFKHLKTEAEMKAS
EDLKKHGTVVLTALGGILKKKGHHEAELKPLAQSHATKHKIPIKYLEFISDAIIHVLHS
KH PGDFGADAQGAMTKALELFRNDIAAKYKELGFQG

SEQ ID NO: 21 Nicotiana benthamiana

MSSFTEEQEALVVKSWDSMKKNAGEWGLKLFLKIFEIAPSAKKLFSFLKDSNVPL
EQNAKLKPHSKSVFVMTCEAAVQLRKAGKVVVRDSTLKKLGATHFKYGVADE
HFEVTKFALLETIKEAVPEMWSVDMKNAWGEAFDQLVNAIKTEMK

SEQ ID NO: 22 Bacillus subtilis

MGQSFNAPYEAIGEELLSQLVDTFYERVASHPLLKPIFPSDLTETARKQKQFLTQY
LGGPPLYTEEHGHPMLRARHLPFPITNERADAWLSCMKDAMDHVGLEGEIREFL
FGRLELTARHMVNQTEAEDRSS

SEQ ID NO: 23 Corynebacterium glutamicum

MTTSENFYDSVGGEETFSLIVHRFYEQVPNDDILGPMYPPDDFEGAEQRLKMFLS
QYWGGPKDYQEQRGHPRLRMRHVNYPIGVTAAERWLQLMSNALDGVDLTAEQ
REAIWEHMVRAADMLINSNPDPHA

SEQ ID NO: 24 Synechocystis PCC6803

MSTLYEKLGGTTAVDLAVDKFYERVLQDDRIKHFFADVDMAKQRAHQKAFLTY
AFGGTDKYDGRYMREAHKELVENHGLNGEHFDAVAEDLLATLKEMGVPEDLIA
EVAAVAGAPAHKRDVLNQ

SEQ ID NO: 25 Synechococcus sp. PCC 7335

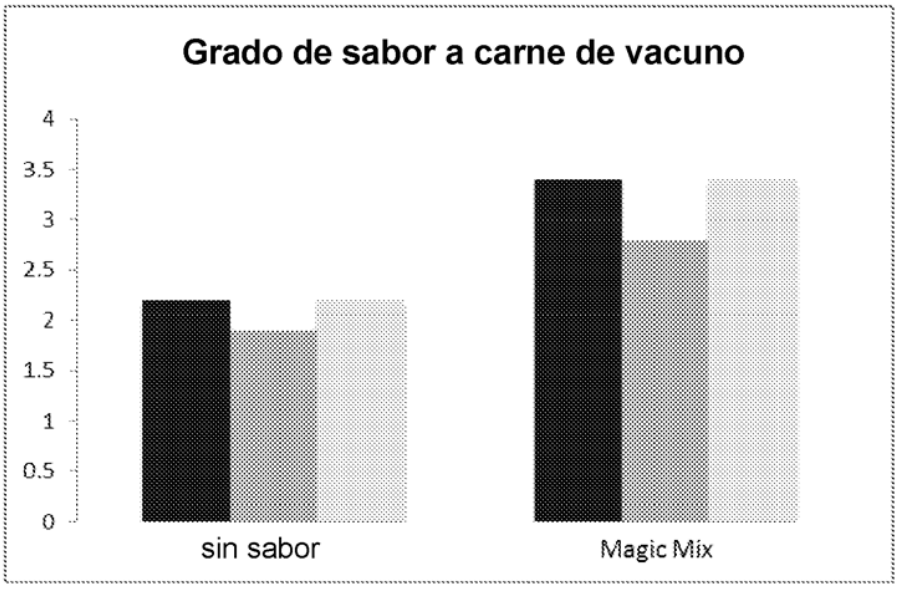
MDVALLEKSFEQISPRAIEFSASFYQNLFHHHPELKPLFAETSQTIQEKKLIFSLAAI
IENLRNPDILQPALKSLGARHAEVGTIKSHYPLVGQALIETFAEYLAADWTEQLA
TAWVEAYDVIASTMIEGADNPAAYLEPELTFYEWLDLYGEESPKVRNAIATLTH
FHYGEDPQDVQRDSRG

SEQ ID NO: 26 Nostoc commune

MSTLYDNIGGQPAIEQVVDELHKRIATDSLLAPVFAGTDMVKQRNHLVAFLAQIF
EGPKQYGGRPMDKTHAGLNLQQPHFDAIAKHLGERMAVRGVSAENTKAALDR
VTNMKGAILNK

SEQ ID NO: 27 Bacillus megaterium
MREKIHSPYELLGGEHTISKLVDAFYTRVGQHPELAPIFPDNLTETARKQKQFLTQ
YLGGPSLYTEEHGHPMLRARHLPFEITPSRAKAWLTCMHEAMDEINLEGPERDE
LYHRLILTAQHMINSPEQTDEKGFSH

FIGURA 2



60900957.doc