

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 954 093**

51 Int. Cl.:

**A23L 2/00** (2006.01)

**A23L 2/56** (2006.01)

**A23L 2/66** (2006.01)

**A23L 2/70** (2006.01)

**C11B 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.02.2016 PCT/JP2016/055605**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2016 WO16111383**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2016 E 16735121 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2023 EP 3262956**

54 Título: **Bebida incolora y transparente que contiene aromatizante**

30 Prioridad:

**25.02.2015 JP 2015035832**

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

**20.11.2023**

73 Titular/es:

**SUNTORY HOLDINGS LIMITED (100.0%)**

**1-40, Dojimahama 2-chome**

**Kita-ku, Osaka-shiOsaka 530-8203, JP**

72 Inventor/es:

**YASUI, YOHEI y**

**IBUSUKI, DAIGO**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 954 093 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Bebida incolora y transparente que contiene aromatizante

### 5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a bebidas incoloras y claras que contienen aromatizantes, y más particularmente, a bebidas que son incoloras y claras como el agua y que, sin embargo, permiten que los olores de deterioro de los aromatizantes se perciban menos a la vez que presentan cuerpo.

10

### **Antecedentes de la técnica**

En el contexto de consumidores cada vez más conscientes de la salud y deseosos de productos naturales, la popularidad del "agua aromatizada" va en aumento. El agua aromatizada es una bebida que consiste en agua, tal como el agua mineral, a la que se le han añadido materias primas tales como aromatizantes, extractos o zumo de frutas; también conocida como "agua saborizada", el agua aromatizada es una bebida con el mismo aspecto que el agua.

15

El agua aromatizada, especialmente algo como el "agua saborizada", que es incolora y clara como el agua y, sin embargo, tiene un sabor como el de la fruta, etc. se caracteriza generalmente por un sabor distintivo que tiene un acabado limpio y se bebe tan bien que los consumidores pueden beberla en lugar de agua siempre que tengan sed; sin embargo, en comparación con otras bebidas ordinarias (digamos, bebidas coloreadas o turbias), el agua aromatizada tiene menos cuerpo y su sabor suele resultar bastante soso. Además, se sabe que los aromatizantes de las bebidas se deterioran con la exposición a la luz o al calor, provocando un gusto u olor inusual (sabor desagradable).

20

25

Se han propuesto muchos métodos para evitar el deterioro de los aromatizantes; por ejemplo, el Documento de Patente 1 divulga el uso de hidrato de oxipeucedanina y/o byakangelicina como agente de prevención del deterioro. Además, el Documento de Patente 2 divulga el uso de polifenoles de té para suprimir la generación de p-metilacetofenona que provoca sabor desagradable a partir de citral en aromatizantes cítricos.

30

El documento WO2007106731A2 divulga una bebida proteica carbonatada con un alto contenido de proteínas que varía del 2 % al 15 % en peso. La proteína puede comprender proteína del suero de la leche. Las bebidas divulgadas son de color claro y son transparentes después del almacenamiento. El documento US2003099753A1 describe bebidas coloreadas a base de zumo de frutas que contienen una cantidad considerable de concentrado de zumo de frutas o mezcla de zumo de frutas y un agente colorante. La fortificación de los refrescos con proteína de suero de la leche del requesón se divulga en Holsinger V.H., (Advances in Experimental Medicine and Biology 1978, 105, 735-747)). En ella se divulga un producto comercial, Rivella. Rivella es una infusión con gas y cristalina de hierbas que comprende suero de la leche desproteínizado.

35

40

### **Listado de citas de bibliografía de patentes**

Documento de patente 1: JP 2010-99025A

Documento de patente 2: JP 2003-96486A

45

### **Sumario de la invención**

#### **Problema técnico**

Las bebidas incoloras y claras como el agua permiten una mejor liberación de los componentes volátiles que las bebidas opacas o turbias, proporcionando una mayor probabilidad de que las sustancias que provocan olores o sabores inusuales lleguen directamente a la lengua o nariz de los consumidores, con el resultado de que el deterioro de los aromas será más pronunciado.

50

Como se ha mencionado anteriormente, se han propuesto diversos métodos para suprimir el deterioro de los aromatizantes pero en la práctica ha sido difícil suprimir el deterioro de los aromatizantes al tiempo que se mantiene la ausencia de color de manera similar al agua y la transparencia de las bebidas. Además, un problema con las bebidas claras que contienen cantidades relativamente pequeñas de componentes es que si se añaden los supresores del deterioro informados anteriormente, el equilibrio en el sabor distintivo de las bebidas se altera fácilmente y también es difícil mantener el sabor de las bebidas sin que se perciba el aroma y el sabor deteriorados. Por ejemplo, la vitamina C antioxidante incorporada en determinada cantidad como agente para suprimir el deterioro de los aromatizantes ha planteado el problema de que se vuelve marrón con el tiempo, haciendo que la bebida se coloree o desarrolle un gusto peculiar a la vitamina C.

60

Es más, aunque se quiera aportar cuerpo a bebidas incoloras y claras, como el agua, los componentes que se pueden utilizar son limitados teniendo en cuenta la necesidad de mantener el aspecto acuoso de las bebidas; de

65

hecho, el objetivo ha sido difícil de alcanzar.

Un objeto, por lo tanto, de la presente invención es proporcionar una bebida novedosa a partir de la cual se percibirá menos cualquier gusto u olor inusual debido al deterioro de los aromatizantes y que también conserve su falta de color y transparencia al tiempo que posee suficiente cuerpo para presentar una buena capacidad de bebida.

### Solución al problema

Los presentes inventores llevaron a cabo estudios intensivos para resolver los problemas descritos anteriormente; como resultado, descubrieron que cuando las incoloras y claras que incorporaban aromatizantes de fruta cítrica contenían al menos 0.9 ppm de proteína del suero de la leche, era posible proporcionar bebidas que mantenían su falta de color y claridad y de las que se percibía menos cualquier gusto u olor inusuales debidos al deterioro de los aromatizantes, con la ventaja adicional de que se podía aportar cuerpo a las bebidas. La presente invención se ha logrado sobre la base de este descubrimiento.

La presente invención abarca, pero sin limitación, lo siguiente:

- (1) Una bebida envasada que contiene un aromatizante de fruta cítrica y 0,9 ppm o más de proteína del suero de la leche y que tiene una absorbancia de 0,06 o menos a una longitud de onda de 660 nm y un valor  $\Delta E$  (diferencia de color) de 3,5 o menos, tomando como referencia agua pura.
- (2) La bebida como se indica en (1) anterior, que tiene una lectura de 3,0 a 10,0 en un refractómetro de azúcar (Brix).

### Efectos ventajosos de la invención

Al combinar aromatizantes con proteína del suero de la leche en bebidas incoloras y claras como el agua, se pueden preparar bebidas novedosas, de las cuales se percibe menos el olor o gusto deteriorado de los aromatizantes mientras que se percibe el cuerpo que ha estado ausente de las bebidas incoloras y claras. El cesionario de la presente solicitud estudió previamente el mal regusto de las bebidas de café que contienen leche esterilizada por calor y descubrió que la proteína del suero de la leche era el factor principal (Patente N.º 5657200). Fue un resultado inesperado de la presente invención que el aroma y el gusto deteriorados de los aromatizantes pudieran enmascararse usando proteína del suero de la leche.

Hasta donde el solicitante sabe, las bebidas que contienen proteínas de leche tales como proteína del suero de la leche, y que, sin embargo, son incoloras y claras como el agua, no han estado disponibles en el mercado hasta ahora.

### Descripción de las realizaciones

(Aromatizantes)

La bebida de la presente invención contiene aromatizantes de fruta cítrica. Los aromatizantes suelen utilizarse para compensar la pérdida de un aroma o gusto agradable que se produce durante la fabricación o almacenamiento de alimentos y bebidas, o para aportar un nuevo sabor a alimentos y bebidas.

Los aromatizantes de fruta cítrica que se pueden usar en la bebida de la presente invención no perjudican su ausencia de color y su claridad. Los aromatizantes que presentan aromas a frutas coinciden con la imagen refrescante de las bebidas que son incoloras y claras como el agua. Dichos aromatizantes incluyen: productos de origen natural tales como el aceite de corteza y los extractos obtenidos por inmersión de frutas, etc. en disolventes orgánicos; y componentes aromáticos similares a frutas sintetizados químicamente. Los ejemplos de la "fruta" en aromatizantes que presentan aromas a frutas incluyen no solo cítricos tales como la naranja, *Satsuma*, mandarina, limón y lima, sino también otras frutas como el melocotón, uva, fresa, manzana, piña, mango y melón. Entre los aromatizantes aplicables, se prefieren los que presentan el aroma a frutas cítricas dado que su aroma y gusto refrescantes encajan con la imagen refrescante de las bebidas claras.

La cantidad de aromatizante en la bebida debe ser al menos la cantidad a la que se puede percibir el aroma del aromatizante cuando se bebe la bebida; específicamente, la cantidad de interés está determinada por la fuerza del propio aromatizante. Además, se precisa que la cantidad de interés no perjudique la ausencia de color ni la claridad de la bebida. Considérese, por ejemplo, el caso de utilizar un aromatizante en forma de extracto etanólico de una fruta; se puede utilizar en cantidades de aproximadamente 1 a 10.000 ppm dependiendo de su fuerza así como del color y la claridad de la bebida que lo contiene.

(Proteína del suero de la leche)

Se sabe que los aromatizantes se deterioran con la exposición a la luz o al calor, produciendo un gusto u olor molesto inusual (sabor desagradable). La bebida de la presente invención, dado que no solo contiene un

aromatizante de fruta cítrica sino también proteína del suero de la leche, es capaz de enmascarar cualquier sabor desagradable molesto que sea el resultado del deterioro del aromatizante, con la ventaja adicional de que se puede aportar cuerpo a la bebida.

- 5 El suero de la leche es una porción líquida que queda después de eliminar el contenido de grasa y la caseína de la leche (en la mayoría de los casos, leche de vaca), y el suero de la leche contiene galactosa, minerales, vitaminas hidrosolubles, proteínas hidrosolubles, etc. Una mezcla de las proteínas hidrosolubles contenidas en el suero de la leche se usa como proteína del suero de la leche en la presente invención. La proteína del suero de la leche incluye  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoglobulina, seroalbúmina, euglobulina, pseudoglobulina, proteosa peptona, etc.; entre estas,  $\beta$ -lactoglobulina es la proteína más abundante en el suero de la leche y representa más del 50 % de la proteína del suero de la leche total.

15 La cantidad de la proteína de suero de la leche en la bebida de la presente invención se puede determinar dependiendo del tipo y la cantidad del aromatizante utilizado en la bebida, así como del grado de cuerpo que se le debe aportar a la bebida. Teniendo en cuenta la eficacia en el enmascaramiento y la aportación de cuerpo, la ausencia de color y la claridad deseados de la bebida, y el cuerpo a aportar en un grado apropiado, el contenido de proteínas del suero de la leche en la bebida es de al menos 0,9 ppm, más preferentemente de entre 0,9 y 10.000 ppm, en cuanto a la cantidad de proteína. Si se desea, la cantidad de  $\beta$ -lactoglobulina en la bebida puede usarse como índice para expresar la cantidad de proteína del suero de la leche en la bebida. La cantidad de la proteína del suero de la leche en la bebida de la presente invención es preferentemente de al menos 0,5 ppm, más preferentemente de entre 0,5 y 5.000 ppm, en términos de la cantidad de  $\beta$ -lactoglobulina. La cantidad de  $\beta$ -lactoglobulina en la bebida se puede medir mediante técnicas conocidas. Por ejemplo, se puede medir mediante los siguientes métodos.

25 <Análisis de  $\beta$ -lactoglobulina>

(1) Preparación de muestras

30 Una solución de bebida que contiene gas dióxido de carbono se descarbonata de la manera habitual. Se pesa una alícuota de 2 ml de la solución de bebida en un tubo de filtración centrífuga de precisión (Amicon Ultra-4 ml PLBC Ultracel-3 kDa; producto de Merck). Si la solución tiene un Brix superior a 10, se diluye con agua destilada para cromatografía líquida hasta que el Brix sea inferior a 10. La solución diluida se centrifuga con un filtro centrífugo (4000 xg, 30 min, 20 °C) y se desecha el filtrado. A la fracción atrapada en el filtro, se le añaden 3 ml de agua destilada para cromatografía líquida y se vuelve a centrifugar la mezcla con filtro centrífugo (4000 xg, 30 min, 20 °C). La fracción atrapada se extrae con una pipeta y se transfiere a un matraz aforado con una capacidad de 10 ml. Se vierte agua destilada (2 ml) sobre el filtro para que la materia atrapada que se ha depositado en el filtro durante el pipeteo se elimine por completo; los lavados también se vierten en el matraz aforado mencionado anteriormente con una capacidad de 10 ml. Se añade agua destilada hasta completar 10 ml y la solución obtenida por mezcla íntima se usa como muestra para análisis.

40

(2) Análisis por ELISA

45 Para el análisis, se usa un kit ELISA (Allergeney<sup>®</sup> ELISA II de Prima Meat Packers, Ltd; proteína de referencia para la leche de vaca:  $\beta$ -lactoglobulina). El método de análisis está de acuerdo con el manual de instrucciones del kit de ELISA. Si el análisis produce un valor de medición que se encuentra fuera del intervalo especificado para el kit, la relación de dilución utilizada en el proceso de preparación de la muestra se ajusta adecuadamente y se realiza otra medición.

50 (Bebida incolora y clara)

La bebida de la presente invención es incolora y clara. Decir "la bebida es clara" significa que la bebida no está opaca como una de las llamadas bebidas isotónicas ni tiene una turbidez como un zumo de fruta turbio, y que es visiblemente clara como el agua. La transparencia de la bebida se puede expresar como números usando, por ejemplo, una técnica conocida que mide la turbidez de los líquidos. Para dar un ejemplo, una bebida que tiene una absorbancia de no más de 0,06 a una longitud de onda de 660 nm medida con un espectrofotómetro de ultravioleta visible (por ejemplo, UV-1600 de Shimadzu Corporation) puede describirse como "clara".

60 Decir "la bebida es incolora" significa que la bebida no tiene ningún color visiblemente reconocible. El color de la bebida se puede expresar como números usando, por ejemplo, una técnica conocida que mide la diferencia de color de un objeto. Para dar un ejemplo, una bebida que transmite luz a un valor de E de no más de 3,5 medido con un medidor de color (por ejemplo, ZE2000 de NIPPON DENSHOKU INDUSTRIES CO., LTD.) utilizando agua pura como referencia puede describirse como "incolora". Un valor de E preferido no es superior a 2,3.

65 (Otros)

La bebida de la presente invención contiene no solo el aromatizante de fruta cítrica y al menos 0,9 ppm de proteína

del suero de la leche, sino también otros ingredientes para bebidas ordinarias que pueden añadirse opcionalmente en la medida en que no perjudiquen la claridad de la bebida; ejemplos de tales ingredientes optativos incluyen edulcorantes, acidulantes, antioxidantes, sales, agentes que aportan amargor, enriquecedores (por ejemplo, vitaminas), modificadores de pH, etc.

5 Los edulcorantes incluyen, por ejemplo: edulcorantes naturales tales como fructosa, azúcar, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, glucosa, maltosa, sacarosa, jarabe con alto contenido en fructosa, alcohol de azúcar, oligosacáridos, miel, zumo de caña de azúcar exprimido (melaza negra), jarabe de almidón, polvo de estevia, extracto de estevia, polvo de *Siraitia grosvenorii*, extracto de *Siraitia grosvenorii*, polvo de regaliz, extracto de regaliz, 10 polvo de semillas de *Thaumatococcus daniellii*, y extracto de semillas de *Thaumatococcus daniellii*; y edulcorantes artificiales tales como el acesulfamo de potasio, sucralosa, neotamo, aspartamo y sacarina. Entre estos, los edulcorantes naturales se utilizan preferentemente desde el punto de vista de aportar un acabado limpio, capacidad de bebida y sabor distintivo natural, y la fructosa, glucosa, maltosa, sacarosa y azúcar se utilizan con especial 15 ventaja. Los componentes de dulzor mencionados anteriormente pueden usarse solos o como una mezcla de dos o más especies.

La bebida de la presente invención tiene preferentemente un Brix de 3,0 a 10,0, más preferentemente de 4,5 a 7,0. El término Brix se refiere a un valor medido como una lectura en un refractómetro de azúcar. La bebida de bajo Brix 20 mencionada anteriormente tiene un sabor distintivo que le da un acabado limpio y su gusto tiene ventajosamente una buena combinación con la imagen refrescante que procede de su aspecto claro.

La bebida de la presente invención se puede preparar esterilizada con calor y envasada en un recipiente. El recipiente aplicable no está particularmente limitado y puede ejemplificarse mediante una botella de PET, lata de aluminio, lata de acero, paquete de papel, taza refrigerada, botella, etc. Entre estos, se prefiere un recipiente 25 transparente, por ejemplo, una botella de PET, porque el aspecto incoloro y transparente que caracteriza a la bebida de la presente invención puede comprobarse mientras permanece envasada en el recipiente. Se sabe que los aromatizantes se deterioran con el calor de la esterilización durante la fabricación de bebidas envasadas o al exponerse a la luz externa durante el almacenamiento después del envasado en el recipiente transparente; sin embargo, la bebida de la presente invención que contiene al menos 0,9 ppm de proteína del suero de la leche tiene 30 la ventaja de que el gusto u olor inusual que es el resultado del deterioro del aromatizante de fruta cítrica está suficientemente enmascarado como para ser menos percibido. Bien puede decirse que la bebida incolora y clara de la presente invención es óptima para su envasado en un recipiente transparente tras la esterilización con calor. Si se va a realizar esterilización con calor, no está particularmente limitado en su tipo y se puede realizar usando una técnica convencional tal como esterilización UHT del inglés *ultra-heat treatment*, esterilización a temperatura 35 ultraelevada) o esterilización en retorta.

La temperatura de la etapa de esterilización con calor no está particularmente limitada y puede ser de 65 a 130 °C, preferentemente de 85 a 120 °C, que dura de 10 a 40 minutos. Debería, sin embargo, tenerse en cuenta que si se 40 garantiza una intensidad de esterilización equivalente a estas condiciones, la esterilización a una temperatura adecuada durante varios segundos, digamos, de 5 a 30 segundos, puede realizarse sin ningún problema.

## Ejemplos

45 En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá con referencia a ejemplos de trabajo. (Ejemplo de referencia 1)

Se añadió al agua jarabe de maíz con alto contenido de fructosa para preparar una solución ajustada a un Brix 6,0; se le añadieron a la solución ácido cítrico y un aromatizante de limón en cantidades respectivas del 0,12 % en masa y el 0,1 % en masa; a continuación, se añadió citrato trisódico para ajustar el pH a 3,6. Adicionalmente, se añadió 50 leche desnatada o una preparación en emulsión (una grasa o aceite vegetal emulsionado con goma arábiga) para tener la concentración (unidad: % en masa) citada a continuación en la Tabla 1, y la solución resultante se llenó en un recipiente sellable (una botella de vidrio con una capacidad de 180 ml) y se esterilizó con calor a 85 °C durante 10 minutos. Mediante almacenamiento posterior a 55 °C durante 2 días, se produjo un deterioro acelerado, dando 55 como resultado la preparación de los productos de prueba 1 a 3. Los productos de prueba 1 a 3 así preparados se sometieron a medición de la absorbancia con un espectrofotómetro (UV-1600 de Shimadzu Corporation) a una longitud de onda de 660 nm; los resultados se muestran en la Tabla 1. El producto de prueba 1 era incoloro y transparente, mientras que los productos de prueba 2 y 3 eran opacos. La intensidad del olor a deterioro al beber estos productos de prueba se evaluó por parte de tres especialistas según un criterio de calificación de cinco puntos, 60 siendo 5 el mejor (comparable a una muestra refrigerada que se almacenó en un frigorífico sin deterioro acelerado después de la esterilización con calor) y 1 el peor (considerablemente más deteriorado que la muestra refrigerada por desprender un fuerte olor inusual). Las puntuaciones promedio de las evaluaciones se citan en la Tabla 1.

[Tabla 1]

	Muestra refrigerada	Producto de prueba 1	Producto de prueba 2	Producto de prueba 3
Leche desnatada (%)	-	-	0,06	-
Preparación en emulsión (%)	-	-	-	0,02
Absorbancia a 660 nm	0,001	0,001	0,071	0,087
Puntuación de evaluación sensorial	-	2,3	3,3	3,3
Comentarios	Acidez natural y sensación de zumo de fruta sólida	Acidez y amargor percibidos como de cítricos podridos	Con disminución de la sensación de zumo de frutas, acidez algo antinatural detectada	Con disminución de la sensación de zumo de frutas, acidez algo antinatural detectada

5 De acuerdo con los datos de la Tabla 1, el olor a deterioro del aromatizante en los productos de prueba opacos 2 y 3 se percibió menos que en el producto de prueba claro 1, lo que indica que la claridad hizo que el olor a deterioro del aromatizante fuera más pronunciado.

(Ejemplo 1)

10 Se añadió al agua jarabe de maíz con alto contenido de fructosa para preparar una solución ajustada a un Brix 6,0; se le añadieron a la solución ácido cítrico y un aromatizante de limón en cantidades respectivas del 0,12 % en masa y el 0,1 % en masa; a continuación, se añadió citrato trisódico para ajustar el pH a 3,6. Además, se añadió un producto comercial de suero de la leche en polvo (concentración de proteína, el 12,5 % en masa), un producto purificado de proteína del suero de la leche (concentración de proteína, el 92,0 % en masa) o un licor de suero de la  
 15 leche fermentado con *Lactobacillus* (concentración de proteína, 0,060 % en masa) de forma que la concentración de proteína (unidad: % en masa) en la bebida tomaría los valores citados a continuación en la Tabla 2, y las soluciones así acondicionadas se llenaron en un recipiente sellable (una botella de vidrio con una capacidad de 180 ml) y se esterilizaron con calor a 85 °C durante 10 minutos. Mediante almacenamiento posterior a 55 °C durante 2 días, se provocó un deterioro acelerado, dando como resultado la preparación de los productos de prueba 4 a 9. Los  
 20 productos de prueba 4 a 9 así preparados eran cada uno "incolores y claros", pareciendo simplemente agua; todos tenían valores de absorbancia de no más de 0,06 al medir con un espectrofotómetro (UV-1600 de Shimadzu Corporation) a una longitud de onda de 660 nm, y transmitían luz a valores de  $\Delta E$  de no más de 3,5 medidos con un medidor de color (ZE2000 de NIPPON DENSHOKU INDUSTRIES CO., LTD.) utilizando agua pura como referencia.

25 De la misma manera que se ha descrito anteriormente, los productos de ensayo 10 a 13 se prepararon añadiendo un producto comercial de suero de la leche en polvo (concentración de proteína, el 12,5 % en masa) o un licor de suero de leche fermentado con *Lactobacillus* (concentración de proteína, el 0,060 % en masa) para proporcionar las concentraciones citadas a continuación en la Tabla 3. Los productos de prueba 10 a 13 fueron "incolores y claros", pareciendo simplemente agua; todos tenían valores de absorbancia de no más de 0,06 al medir con un  
 30 espectrofotómetro (UV-1600 de Shimadzu Corporation) a una longitud de onda de 660 nm, y transmitían luz a valores de  $\Delta E$  de no más de 3,5 medidos con un medidor de color (ZE2000 de NIPPON DENSHOKU INDUSTRIES CO., LTD.) utilizando agua pura como referencia. Los productos de prueba 10 a 13 se midieron adicionalmente en cuanto a la concentración de  $\beta$ -lactoglobulina en el producto de prueba. Específicamente, la medición de la  
 35 concentración se llevó a cabo mediante el siguiente procedimiento.

#### (1) Preparación de muestras

Una solución de bebida que contiene gas dióxido de carbono se descarbonata de la manera habitual. Se pesa una alícuota de 2 ml de la solución de bebida en un tubo de filtración centrífuga de precisión (Amicon Ultra-4 ml PLBC Ultracel-3 kDa; producto de Merck). Si la solución tiene un Brix superior a 10, se diluye con agua destilada para  
 40 cromatografía líquida hasta que el Brix sea inferior a 10. La solución diluida se centrifuga con un filtro centrifugo (4000 xg, 30 min, 20 °C) y se desecha el filtrado. A la fracción atrapada en el filtro, se le añaden 3 ml de agua destilada para cromatografía líquida y se vuelve a centrifugar la mezcla con filtro centrifugo (4000 xg, 30 min, 20 °C). La fracción atrapada se extrae con una pipeta y se transfiere a un matraz aforado con una capacidad de 10 ml. Se  
 45 vierte agua destilada (2 ml) sobre el filtro para que la materia atrapada que se ha depositado en el filtro durante el pipeteo se elimine por completo; los lavados también se vierten en el matraz aforado mencionado anteriormente con

una capacidad de 10 ml. Se añade agua destilada hasta completar 10 ml y la solución obtenida por mezcla íntima se usa como muestra para análisis.

(2) Análisis por ELISA

- 5
- Para el análisis, se utilizó un kit ELISA (Allergeneye® ELISA II de Prima Meat Packers, Ltd; proteína de referencia para la leche de vaca:  $\beta$ -lactoglobulina). El método de análisis estaba de acuerdo con el manual de instrucciones del kit de ELISA.
- 10
- La intensidad del olor a deterioro al consumir los productos de prueba se evaluó por tres especialistas según un criterio de calificación de cinco puntos, siendo 5 el mejor (comparable a la muestra refrigerada) y 1 el peor (considerablemente más deteriorado que la muestra refrigerada por desprender un fuerte olor inusual). Las puntuaciones promedio de las evaluaciones y las concentraciones de proteína de los productos de prueba 4 a 9 se citan en la Tabla 2. Además, las concentraciones de proteína y las concentraciones de  $\beta$ -lactoglobulina de los
- 15
- productos de prueba 10 a 13, así como sus puntuaciones promedio de las evaluaciones, se citan en la Tabla 3. Debe tenerse en cuenta que las puntuaciones de la evaluación sensorial promediadas fueron los resultados de la evaluación global basada en los siguientes criterios: ningún efecto (X) cuando la puntuación era inferior a 2,5; casi ningún efecto (D) cuando la puntuación era de entre 2,5 y menos de 3,5; eficaz (o) cuando la puntuación era de entre 3,5 y menos de 4,0; muy eficaz (©) cuando la puntuación era de 4,0 o más.
- 20

[Tabla 2]

	Muestra refrigerada	Producto de prueba 1	Producto de prueba 4	Producto de prueba 5	Producto de prueba 6	Producto de prueba 7	Producto de prueba 8	Producto de prueba 9
Tipo de proteína del suero de la leche	-	-	Suero de la leche en polvo	Suero de la leche en polvo	Proteína del suero de la leche purificada	Proteína del suero de la leche purificada	Licor de suero de la leche fermentado con <i>Lactobacillus</i>	Licor de suero de la leche fermentado con <i>Lactobacillus</i>
Concentración en la bebida (ppm)	-	-	1,9	12,5	1,8	12,9	0,9	3,0
Puntuación de evaluación sensorial	-	2,3	3,7	4,0	3,7	4,0	4,0	4,3
Comentarios	Acidez natural y sensación de zumo de fruta sólida	Acidez y amargor percibidos como de cítricos podridos	Algo amargo, pero acidez natural detectada; Sabor distintivo con un ligero cuerpo percibido	Acidez natural y sensación de zumo de frutas; Sabor distintivo con un ligero cuerpo percibido	Algo amargo, pero acidez natural detectada; Sabor distintivo con cuerpo percibido	Acidez natural y sensación de zumo de frutas; Sabor distintivo con cuerpo sólido percibido	Acidez natural y sensación de zumo de frutas; Sabor distintivo con cuerpo sólido percibido	Acidez natural y sensación de zumo de fruta sólida; Sabor distintivo complejo con cuerpo sólido percibido

[Tabla 3]

	Producto de prueba 10	Producto de prueba 11	Producto de referencia 12	Producto de prueba 13
Tipo de proteína del suero de la leche	Suero de la leche en polvo		Licor de suero de la leche fermentado con <i>Lactobacillus</i>	
Concentración de proteínas en bebida (ppm)	2,5	12,5	0,12	1,8
Concentración de $\beta$ -lactoglobulina en la bebida (ppm)	1,85	9,51	0,01	0,60
Puntuación de evaluación sensorial	3,7	4,0	2,7	4,0
Comentarios	Algo amargo, pero acidez natural detectada; Sabor distintivo con un ligero cuerpo percibido	Acidez natural y sensación de zumo de frutas; Sabor distintivo con cuerpo percibido	Acidez y amargor percibidos como de cítricos podrido; Sabor distintivo con un ligero cuerpo percibido	Acidez natural y sensación de zumo de fruta sólida; Sabor distintivo complejo con cuerpo sólido percibido

5 A partir de los datos de la Tabla 2, puede observarse que los productos de prueba 4 a 9 que contenían la proteína del suero de la leche en cantidades no inferiores a un valor especificado mantuvieron la ausencia de color y la claridad de la bebida y, sin embargo, se percibió menos el gusto u olor inusual debido al deterioro del aromatizante. Además, puede observarse que se aportó cuerpo a la bebida. A partir de los datos de la Tabla 3, puede observarse que los productos de prueba 10, 11 y 13 mantuvieron la ausencia de color y la claridad de la bebida y, sin embargo, se percibió menos el gusto u olor inusual debido al deterioro del aromatizante, con la característica adicional de aportar cuerpo a la bebida. En cuanto al producto de prueba 12, se percibía amargor, pero al mismo tiempo, se percibía un sabor distintivo con ligero cuerpo.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una bebida envasada que contiene un aromatizante y proteína del suero de la leche y que tiene una absorbancia de 0,06 o menos medida con un espectrofotómetro de ultravioleta visible a una longitud de onda de 660 nm y un valor de  $\Delta E$  (diferencia de color) de 3,5 o menos medido con un colorímetro, tomando como referencia agua pura, que contiene 0,9 ppm o más de la proteína del suero de la leche, y en donde el aromatizante es un aromatizante de fruta cítrica.
- 10 2. La bebida de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una lectura de 3,0 a 10,0 en un refractómetro de azúcar (Brix).