



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0902375-5 A2**



* B R P I 0 9 0 2 3 7 5 A 2 *

(22) Data de Depósito: 08/07/2009
(43) Data da Publicação: 20/04/2010
(RPI 2050)

(51) *Int.Cl.:*
A23L 3/3571 (2010.01)
A23L 1/221 (2010.01)
A23L 1/231 (2010.01)
A23L 1/234 (2010.01)
A23L 1/22 (2010.01)
C12H 1/15 (2010.01)
C12R 1/865 (2010.01)
A23B 4/22 (2010.01)
A23B 5/16 (2010.01)
A23B 7/155 (2010.01)
A23C 19/10 (2010.01)
A23F 3/40 (2010.01)
A23F 3/42 (2010.01)
A23F 5/46 (2010.01)
A23F 5/48 (2010.01)
A23G 1/42 (2010.01)

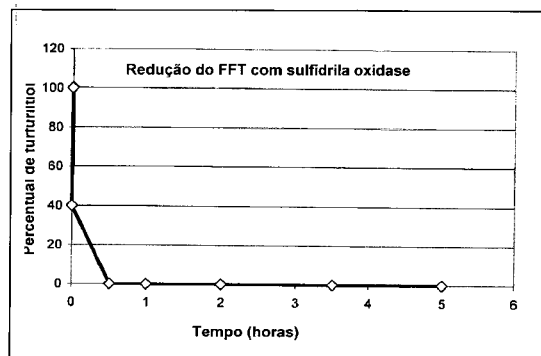
(54) Título: **MÉTODO PARA AUMENTAR A ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS DE FLAVOR OU AROMA CONTENDO TIOL, E, PRODUTO**

(30) Prioridade Unionista: 10/07/2008 EP 08160078.5

(73) Titular(es): Kraft Foods R & D. Inc.

(72) Inventor(es): Andreas Degenhardt, Javier Silanes Kenny

(57) Resumo: MÉTODO PARA AUMENTAR A ESTABILIDADE DOS CONIPOSTOS DE FLAVOR OU AROMA CONTENDO TIOL, E, PRODUTO. A presente invenção é direcionada ao tratamento de grupos tiol reativos (-SH) encontrados nos compostos de flavor contendo tiol mediante a conversão enzimática altamente seletiva em compostos de dissulfetos ativos quanto ao aroma, com o uso da sulfidril oxidase.



“MÉTODO PARA AUMENTAR A ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS DE FLAVOR OU AROMA CONTENDO TIOL, E, PRODUTO”

CAMPO TÉCNICO

5 A presente invenção diz respeito a um método para aumentar a estabilidade dos sabores contendo tiol, em particular flavor e aroma alimentícios. A invenção diz respeito ao tratamento de tióis pertinentes a aromas instáveis que são encontrados no café, no chá, no cacau, no chocolate, no queijo, no vinho, na cerveja e outros. O método compreende uma etapa de colocar em contato ou misturar o flavor contendo tiol, ou uma composição
10 contendo o referido flavor, com uma enzima que catalise a formação de dissulfetos ativos quanto ao aroma. A invenção ainda diz respeito a um produto estabilizado quanto ao flavor obtível pelo método da presente invenção, e a um produto acondicionado ou encapsulado em que uma enzima que catalise a formação dos dissulfetos tenha sido introduzida.

15 FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Componentes aromáticos importantes dos sabores são os compostos contendo tiol. Em particular, estes compostos aromáticos acham-se amplamente contidos nos alimentos, desprendendo um flavor grelhado ou assado. durante o cozimento ou a assadura de uma variedade de alimentos,
20 tais como vegetais, ovos, carne, café, chá, cacau, chocolate, amendoins, queijo, bem como durante a preparação de bebidas tais como o vinho e a cerveja.

Estes compostos voláteis contendo tiol são geralmente conhecidos como sendo instáveis e podem, ou ser perdidos pela evaporação
25 ou pela interação e reação com outros compostos presentes na composição.

Por exemplo, o aroma característico do café recém torrado é o resultado de numerosos compostos voláteis contendo tiol, que são predominantemente formados o processo de torrefação. Entretanto, o flavor específico do café rapidamente se degrada e, além disso, gera um flavor

amargo desagradável. Este envelhecimento do café torrado foi considerado como um processo inevitável atribuído a uma perda dos compostos voláteis contendo tiol na vida de prateleira por causa da evaporação, aos produtos de reação indesejáveis e por causa da interação com outros compostos do café, incluindo as melanoidinas. Assim sendo, esforços têm sido feitos na técnica anterior de modo a preservar os compostos do aroma desejáveis e reduzir os componentes indesejáveis.

Um processo para recuperação das substâncias do flavor é a adição ou a incorporação dos compostos que proporcionam o flavor, tais como os alcanos contendo enxofre ou as cetonas contendo enxofre (EP 1 525 807), que substituem ou reforçam os sabores ou aromas perdidos durante a preparação e a armazenagem dos alimentos ou das bebidas. Alternativamente, uma mistura precursora (U.S. 6.358.549) compreendendo polissulfeto e um composto contendo um grupo sulfidrílico podem ser adicionados a uma composição alimentar que gere uma nota aromática devida à formação dos tióis após o aquecimento.

A JP 08/196212 apresenta a adição de sulfitos em um aditivo misturado contendo uma catalase com glutathione, um sal de ácido sulfúrico, cisteína e antioxidante para manter o flavor característico do café. Geralmente os sulfitos e outros antioxidantes podem reagir com as espécies oxidantes e assim prevenir a oxidação dos compostos flavorizantes instáveis. Alternativamente, estes antioxidantes podem também ser incorporados no acondicionamento do alimento (U.S. 4.041.209) pelo uso de uma parede de múltiplas camadas enchida com um sulfito prevenindo a penetração de oxigênio no recipiente de acondicionamento.

A WO 2004/028261 e a WO 02/087360 dizem respeito à adição de um agente melhorador do flavor ou estabilizante, compreendendo nucleófilos contendo enxofre ou nitrogênio e sendo capazes de reagir com compostos indesejáveis complexos ou contaminantes que promovam a

degradação de outros compostos flavorizantes voláteis desejáveis. Referido agente estabilizante ou melhorador do flavor pode subsequentemente ser removido do produto alimentar ou de bebida.

5 A WO 2006/018074 descreve um tratamento de extrato aquoso de café com polivinilpirrolidona, o qual remove preferivelmente mais do que 15 % dos sólidos do café, levando a uma remoção de compostos não voláteis tais como as melanoidinas que sejam suspeitas de induzirem à degradação do flavor.

10 Além disso, é conhecido o fato de que as partículas de café torrado podem ser cobertas com um extrato de café líquido, dessa forma formando um granulado de café torrado tendo uma cobertura protetora do flavor (EP 0 646 319) ou um grão de café torrado pode ser fornecido com uma película de cobertura de goma-laca tendo propriedades de barreira de gás (JP 63 146 753).

15 Um sistema antioxidante catalisado por enzima para bebidas é descrito na U.S. 6.093.436, apresentando uma combinação de glicose oxidase, um substrato de glicose oxidase e um descontaminante de oxigênio inorgânico. Esta composição serve como um antioxidante em pequenas quantidades, reduzindo o conteúdo de oxigênio das bebidas, preferivelmente
20 do café.

Entretanto, nenhum dos métodos acima mencionados para aumentar a estabilidade dos sabores e dos aromas é seletivamente dirigida aos compostos instáveis contendo tiol, que são predominantemente responsáveis pelo flavor e aroma característicos de um dado alimento.
25 Portanto, os métodos comumente usados são acompanhados pela geração de produtos colaterais indesejáveis dentro da mistura complexa de compostos de flavor.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Foi surpreendentemente observado que a conversão enzimática

dos grupos tiol reativos (-SH) nos grupos dissulfeto (-S-S-) resulta em uma estabilidade intensificada dos compostos aromatizantes em comparação com os monossulfetos e, dessa forma, tendo um impacto no aroma e no flavor comparável por causa da geração dos dissulfetos ativos quanto ao aroma com excelentes propriedades sensoriais.

Em particular, foi observado que a conversão enzimática dos compostos instáveis de flavor contendo tiol em dissulfetos resulta em uma estabilidade aumentada de flavor ou aroma da composição. A presente invenção impede a redução dos compostos aromatizantes por evaporação, inibe as reações colaterais indesejáveis e, assim, preserva o aroma característico de um alimento, tal como o café, chá, cacau, chocolate, queijo, vinho, cerveja e outros, durante a armazenagem ou o processamento. O método de tratamento da presente invenção provê dissulfetos ativos quanto ao aroma tendo estabilidade aumentada, e sendo mantido na composição de flavor como agentes de tempero.

(1) Especificamente, a invenção provê um método para aumentar a estabilidade dos compostos de flavor ou aroma contendo tiol, compreendendo uma etapa de fazer o contato ou misturar o flavor ou aroma contendo tiol com uma enzima que catalise a formação de dissulfetos e colocando referida mistura em contato com oxigênio.

(2) O método do item (1) pode ainda compreender uma etapa de agitar a mistura, ou

(3) o método dos itens (1) e (2) podem compreender uma etapa de suplementar um produto com sabores antes, durante e/ou após a etapa de colocar em contato ou misturar o flavor ou aroma contendo tiol com uma enzima que catalise a formação dos dissulfetos e coloque referidas misturas em contato com oxigênio.

(4) Em particular, no método de qualquer um dos itens (1) a (3) acima, o flavor ou aroma contendo tiol pode ser de um alimento

selecionado de café, misturas de café, seus concentrados líquidos, chá, cacau, chocolate, amendoins, queijo, blocos com flavor de queijo, vinho e cerveja.

(5) A enzima que catalisa a formação de dissulfetos em qualquer dos itens (1) a (4) acima, é uma sulfidril oxidase da levedura.

5 (6) Em particular, a sulfidril oxidase do item (5) acima é a sulfidril oxidase Ervlp.

(7) A enzima usada no método de qualquer dos itens (1) a (6) pode ser imobilizada em ou dentro de uma matriz insolúvel.

10 (8) O oxigênio usado no método de qualquer dos itens (1) a (7) é colocado em contato com a mistura contendo a enzima que catalisa a formação dos dissulfetos e o composto de flavor contendo tiol mediante o borbulhamento ou mediante a injeção de oxigênio através dele.

(9) A relação molar da sulfidril oxidase para os grupos tiol usados no método de qualquer dos itens (5) a (8), é de 1:2000 a 2000:1, e

15 (10) preferivelmente, a relação da sulfidril oxidase para os grupos tiol é de 1:1.

(11) A formação catalisada de dissulfetos de qualquer dos itens acima é realizada em uma faixa de tempo de 5 minutos a 12 horas, e

(12) preferivelmente, na faixa de tempo de 4 a 6 horas.

20 (13) A invenção ainda diz respeito a um produto obtível pelo método de acordo com qualquer dos itens (1) a (12), e

(14) a um produto acondicionado ou encapsulado, em que uma enzima que catalise a formação de dissulfetos tenha sido introduzida.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

25 A presente invenção é direcionada ao tratamento dos grupos tiol reativos (-SH) encontrados nos compostos de flavor contendo tiol mediante uma conversão enzimática altamente seletiva em dissulfetos ativos quanto ao aroma dos referidos compostos de flavor, com o uso da sulfidril oxidase.

Esta conversão omite a reatividade dos tióis quanto às reações com outros componentes do café, incluindo as melanoidinas, e que sejam responsáveis pelo processo de envelhecimento do café. Os compostos do flavor resultantes contendo dissulfeto dimérico apresentam uma estabilidade intensificada no tempo sobre a vida de prateleira, em comparação com os tióis monoméricos. Os dissulfetos são mantidos dentro do produto como um composto do flavor e têm um limiar sensorial em comparação com os compostos do flavor contendo tióis monoméricos, mas têm uma qualidade de aroma mais branda com algumas novas características.

O uso de uma enzima da invenção como um agente de estabilização do aroma, ao invés dos agentes e métodos comumente usados, tem muitas vantagens. A especificidade da reação catalisada pela enzima elimina os problemas causados pelo uso de antioxidantes gerais que afetam a composição alimentar como um todo. Em particular, os antioxidantes podem interferir com a formação de substâncias valiosas ativas quanto ao flavor e reagir com outros componentes alimentares contendo grupos funcionais ativos em oxirredução. Além disso, o uso da invenção de uma enzima resulta em condições de reação mais brandas, o que é preferível, particularmente nas composições alimentares.

Além disso, a presente invenção diz respeito a um produto estabilizado quanto ao aroma, obtível pelo presente método, e a um produto encapsulado ou acondicionado em que uma enzima que catalise a formação de dissulfetos tenha sido introduzida.

No seguinte, certos aspectos e formas de realização da invenção são descritos em mais detalhes.

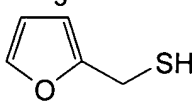
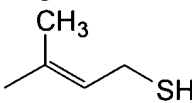
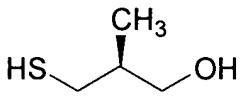
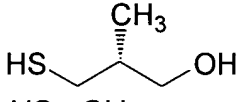
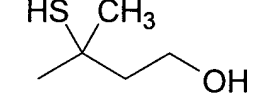
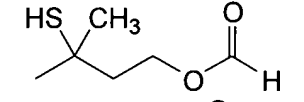
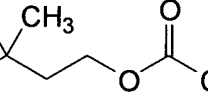
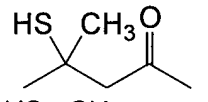
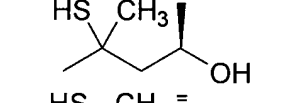
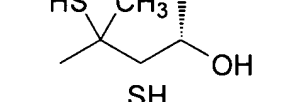
COMPOSTO DE FLAVOR CONTENDO TIOL

Os compostos de flavor contendo tiol tratados com o método da presente invenção acham-se particularmente presentes nos alimentos e nas bebidas, tais como o café, chá, cacau, chocolate, queijo, vinho, cerveja e

outros. Sem que se fique limitados às formas de realização específicas, os exemplos destes compostos de flavor contendo tiol encontrados em tais alimentos incluem os seguintes:

TABELA 1

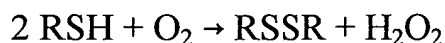
5 EXEMPLOS DE COMPOSTOS DE FLAVOR CONTENDO TIOL

Composto	Abrev.	Constituição	Flavor
metanotiol	MT	$\text{H}_3\text{C}-\text{SH}$	pútrido
2-furfuriltiol	FFT		torrado
3-metil-2-buten-1-tiol	MBT		enxofre
3-mercapto-2-metil-propanol	MMPOH		suor
3-mercapto-3-metil-butanol	MMB		picante
3-mercapto-3-metilbutil-formiato	MMBF		torrado
3-mercapto-3-metilbutil-acetato	MMBA		torrado
4-mercapto-3-metil-2-pentanona	MMP		carnoso
4-mercapto-4-metil-pentan-2-ol	MMPOH		limão em flor
3-mercapto-hexano-1-ol	MHOH		enxofre
3-mercapto-hexil-acetato	MHA		árvore de buxo

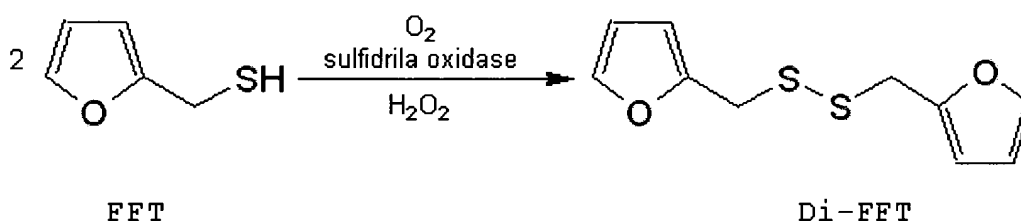
ENZIMA CATALISANDO A FORMAÇÃO DE DISSULFETOS

A enzima catalisando a formação de dissulfetos, como usada

na presente invenção, é geralmente uma sulfidril oxidase (SOX). A SOX catalisa a conversão dos grupos tiol em seus dissulfetos correspondentes de acordo com a seguinte reação:



Por exemplo, a sulfidril oxidase Erylp catalisa a reação do 2-furfuril tiol (FFT) em 2,2-ditiodimetilendifurano (FFT dimérico; Di-FFT) de acordo com a seguinte equação:



As fontes microbianas que geram quantidades suficientes de sulfidril oxidase são fontes potenciais para o isolamento e a produção de quantidades destas em grande escala. A sulfidril oxidase isolada pode ser geralmente purificada por métodos convencionais de precipitação e cromatográficos.

Todas as experiências foram realizadas com o uso da sulfidril oxidase Erylp (EC 1.8.3.2 - Catálogo nº E-5) pela X-Zyme GmbH, Merowingerplatz 1A, 40225, Düsseldorf, Alemanha. Esta enzima é aplicada para reticulação, revestimento ou rotulação dos grupos tiol livres, inativação dos componentes indesejáveis de tiol e estabilização da matriz protéica dos produtos de padaria. Erylp é conhecida como sendo ativa sobre um amplo espectro de substratos contendo grupos tiol livres. A sulfidril oxidase Erylp é produzida da levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e é uma proteína dependente de FAD dimérica tendo um peso molecular de cerca de 24,7 kDa por subunidade.

As vantagens específicas desta enzima são a termoestabilidade elevada, a resistência ao oxigênio, e as propriedades energéticas muito favoráveis. O oxigênio é o único substrato necessário para a oxidação enzimática dos grupos tiol em dissulfetos.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Figura 1: Redução no 2-furfurila tiol (FFT) dada em percentual [%] através do tempo [h], em que um excedente de FFT (40.000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) foi adicionado à sulfidril oxidase Erylp.

5 Figura 2: Geração de 2-furfurila tiol dimérico (Di-FFT) dado em percentual [%] através do tempo [h], em que um excedente de FFT (40.000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) foi adicionado à sulfidril oxidase Erylp.

10 Figura 3: Estabilidade do 2-furfurila tiol dimérico (Di-FFT) na presença de melanoidinas, em comparação com Metil-2-metil-3-furfurildissulfeto e 2-furfurila tiol (FFT) dados em percentual [%] através do tempo [h] (Exemplo 3).

Figura 4: Enzima tratada e extrato de aroma não tratado de café torrado obtido por evaporação de vapor. A figura mostra concentrações relativas dos compostos de flavor obtidas por medição de GC-MS.

15 Figura 5: Cromatograma de GC mostrando a análise de um sistema de modelo de Furfurila tratado com sulfidril oxidase Erylp (cinza claro) e exemplo comparativo não tratado (cinza escuro).

EXEMPLO 1

PREPARAÇÃO DO EXTRATO AROMÁTICO (1)

20 O café torrado moído de um tamanho de partícula de, no máximo, aproximadamente 1,8 mm, que tenha sido umedecido até um conteúdo de água de aproximadamente 50 % em peso em relação ao café torrado moído seco, é tratado em um percolador com vapor saturado em uma pressão de aproximadamente 0,5 bar e uma temperatura de aproximadamente
25 100 °C, por aproximadamente 5 minutos. O vapor carregado com os constituintes do café é condensado em uma temperatura de aproximadamente 5 °C a uma quantidade de condensado de aproximadamente 5 % em peso em relação à quantidade usada de café torrado seco.

ISOLAMENTO DAS MELANOIDINAS

As melanoidinas são isoladas de uma fermentação do café por ultrafiltração com o uso das seguintes etapas: (a) Separação da fermentação do café em diferentes frações mediante ultrafiltração, com o uso de um corte no peso molecular de 30 kDa; (b) o restante (> 30 kDa), isto é, as melanoidinas isoladas, é secado por congelamento e usado para reação com FFT; (c) o filtrado (< 30 kDa), isto é, compostos de café, é descartado.

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE SULFIDRILA OXIDASE (2)

5 mg de sulfidril oxidase Ervlp de levedura (X-Zyme GmbH, Merowingerplatz 1A, 40225, Düsseldorf, Alemanha) são dissolvidos em 10 ml de tampão McIlvaine (0,1 mM) em pH 7,5.

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE FURFURILMERCAPTANA (3)

Uma solução de 2-furfuril tiol (Natural Advantage, Oakdale, LA, USA) é preparada em metanol (Merck, Darmstadt, Alemanha) tendo uma concentração de 0,06 µg/µl.

15 PREPARAÇÃO DE UM EXTRATO DE AROMA ESTABILIZADO POR FLAVOR (4)

As seguintes quantidades são usadas:

TABELA 2

20 COMPOSIÇÃO PARA PRODUZIR UM EXTRATO DE AROMA ESTABILIZADO PELO FLAVOR (EXEMPLO 1).

Componente	Quantidade
Extrato de aroma (1)	5 mL
Solução de Sulfidril Oxidase (2)	5 mg (0,045 mmol de proteína)
Solução de Furfuril Tiol (3)	150 µl (0,78 µmol)
Oxigênio	1 bolha /s

Em um frasco de 50 ml, 5 ml do extrato de aroma (1) são transferidos e 2 ml de Solução de Sulfidril oxidase (2) são adicionados. A fim de restaurar os níveis originais do furfuril tiol no Extrato de aroma (1), 150 ml de Solução de furfuril tiol (3) são adicionados. Subsequentemente, 25 oxigênio puro é borbulhado através da mistura de extrato de aroma e incubado em 40 °C por 6 horas.

AVALIAÇÃO PELOS MÉTODOS DE CROMATOGRAFIA GASOSA

Amostras de (4) são obtidas pelo extrato líquido-líquido com diclorometano e subsequente centrifugação. Alíquotas de 1 µl são analisadas por GC-FID (HP 5890 Série II) e GC-MS (Agilent 5973) com o uso de um capilar DB 1701 (Agilent; 30 m x 0,32 mm ID x 1 µm FD). O forno de GC é aquecido de 40 a 240 °C em um índice de aquecimento de 5 °C/minuto. Um injetor Gerstel CIS 3 foi usado.

O decréscimo do FFT catalisado por enzima através do tempo e o aumento de Di-FFT no extrato do aroma são representados nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

A estabilidade do 2,2-ditiodimetilendifurano (Di-FFT) resultante é ilustrada na Figura 3, em comparação ao metil-2-metil-3-furfurildissulfeto e ao 2-furfuriltiol.

O impacto do aroma do Di-FFT (torrefação, sulfuroso) é comparável ao FFT, mas é mais brando do que os tióis. A este respeito, o 2,2-ditiodimetilendifurano (Di-FFT) em uma quantidade de 10 a 20 ppb e o metil-2-metil-3-furfurildissulfeto em uma quantidade de 10 a 50 ppb foram reforçados em um café envelhecido e provados. As descrições sensoriais foram frescos, torrefação, sulfúreo, porém mais suave do que o FFT.

20 EXEMPLO 2

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE SULFIDRILA OXIDASE (5)

100 mg de sulfidril oxidase Ervlp de levedura (X-Zyme GmbH, Merowingerplatz 1A, 40225, Düsseldorf, Alemanha) são dissolvidos em 2 µl de tampão McIlvaine (1 mM) em pH 7,5.

25 PREPARAÇÃO DE UM EXTRATO DE AROMA ESTABILIZADO PELO FLAVOR (6)

5 ml de Solução de Extrato de aroma (1) do Exemplo 1 são suplementados com 2 ml de Solução de Sulfidril Oxidase (5) e agitados em um frasco de 20 ml em 750 rpm, a 40 °C por 2 ½ horas. A cada 30 minutos,

oxigênio é injetado no frasco.

AVALIAÇÃO PELOS MÉTODOS DE CROMATOGRAFIA GASOSA

Amostras são obtidas pelo extrato de líquido-líquido da mistura de (1) e (5) com diclorometano, com subsequente centrifugação.

5 Alíquotas de 1 µl são analisadas por GC-FID (HP 5890 Série II) e GC-MS (Agilent 5973) com o uso de capilar DB 1701 (Agilent; 30 m x 0,32 mm ID x 1 µm FD). O forno de GC é aquecido de 40 a 240 °C em um índice de aquecimento de 5 °C/minuto. Um injetor Gerstel CIS 3 foi usado. O aumento líquido de Di-FFT e um decréscimo de FFT são observados após o tempo de
10 reação de 4 horas (Figura 4). A Figura 5 mostra um cromatograma de GC representativo.

EXEMPLO COMPARATIVO 1

PREPARAÇÃO DO EXTRATO DE AROMA (7)

5 ml de Solução de Extrato de aroma (1) do Exemplo 1 são
15 suplementados com 2 ml de tampão McIlvaine e agitados em um frasco de 20 ml em 750 rpm a 40 °C por 2 ½ horas. A cada 30 minutos é injetado oxigênio no frasco.

A reação foi seguida por métodos de cromatografia gasosa como indicado nos Exemplos 1 e 2. Um aumento significativo de Di-FFT não
20 foi observado após o tempo de reação de 4 horas, em comparação com a reação catalisada por enzima (Figura 4).

EXEMPLO 3

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE SULFIDRILA OXIDASE (9)

50 mg de sulfidril oxidase Ervlp de levedura (X-Zyme
25 GmbH, Merowingerplatz 1A, 40225, Düsseldorf, Alemanha) são dissolvidos em 100 ml de tampão McIlvaine (1 mM) em pH 7,54.

PREPARAÇÃO DO EXTRATO DE AROMA REAGIDO POR ENZIMA (10)

150 ml de Solução de Extrato de aroma (1) do Exemplo 1 são

suplementados com 60 ml da Solução de Sulfidril Oxidase (9), oxigênio sendo espargido a cada tempo de reação de 30 minutos, e incubados em 40 °C por 5 horas.

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE NA VIDA DE PRATELEIRA

5 *Amostra de Referência 1*

5 % do Extrato de aroma (8) em uma base de café Robusta foram diluídos a 1/5 em água.

Amostra 2

10 5 % do Extrato de aroma Reagido em Enzima (10) em uma base de café Robusta escura foram diluídos a 1/5 em água.

A Amostra de Referência 1 e a Amostra 2 foram armazenadas em 50 °C por 8 dias. A avaliação sensorial de ambas as amostras foi realizada por um painel de prova de técnicos mediante aspiração em vários intervalos. Os resultados são representados na Tabela 3 abaixo.

15 TABELA 3

RESULTADOS DO TESTE DA VIDA DE PRATELEIRA APÓS 8 DIAS EM 50 °C

	Flavor	Frescor* médio
Amostra de Referência 1	semelhante a charuto, terroso, rançoso	2-3
Amostra 2	butiroso, fresco, torrado	3-4

* Escala de Frescor: 0 a 6, em que 0 indica nenhum frescor, e 6 indica elevado frescor.

20 Como é evidente dos Exemplos, o presente método resulta em dissulfetos do composto de flavor contendo tiol sendo mantidos dentro da mistura, e as quais têm primeiramente uma estabilidade aumentada na presença de outros componentes do café, em comparação com os compostos de tiol instáveis e, em segundo lugar as quais preservam o flavor característico. Assim sendo, a presente invenção provê um método seletivo de
25 aumentar a estabilidade dos sabores e aromas sem gerar produtos colaterais indesejáveis.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para aumentar a estabilidade dos compostos de flavor ou aroma contendo tiol, caracterizado pelo fato de que compreende:

5 (a) colocar em contato ou misturar o flavor ou aroma contendo tiol com uma enzima que catalise a formação de dissulfetos, e

(b) colocar a mistura de (a) em contato com oxigênio.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que ainda compreende uma etapa de (c) que agita a mistura.

10 3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que ainda compreende a etapa de suplementar o alimento com sabores antes, durante e/ou após a etapa (a) de acordo com a reivindicação 1.

15 4. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o flavor ou aroma contendo tiol é um alimento selecionado do grupo consistindo de café, misturas de café, seus concentrados líquidos, chá, cacau, chocolate, amendoins, queijo, blocos de flavor de queijo, vinho e cerveja.

5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a enzima que catalisa a formação de dissulfetos é uma sulfidril oxidase da levedura.

20 6. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a sulfidril oxidase é a sulfidril oxidase Erylp.

7. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a enzima é imobilizada na, ou dentro de uma, matriz insolúvel.

25 8. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o oxigênio é colocado em contato com a mistura mediante borbulhamento ou por injeção de oxigênio através dela.

9. Método de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a relação molar da sulfidril oxidase para os grupos tiol é de 1:2000 a 2000:1.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que a relação da sulfidril oxidase para os grupos tiol é de 1:1.

5 11. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a formação catalisada dos dissulfetos é realizada em uma faixa de tempo de 5 minutos a 12 horas.

12. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que a faixa de tempo é de 4 a 6 horas.

13. Produto, caracterizado pelo fato de ser obtível pelo método como definido na reivindicação 12.

10 14. Produto acondicionado ou encapsulado, caracterizado pelo fato de que uma enzima catalisando a formação de dissulfetos foi introduzida.

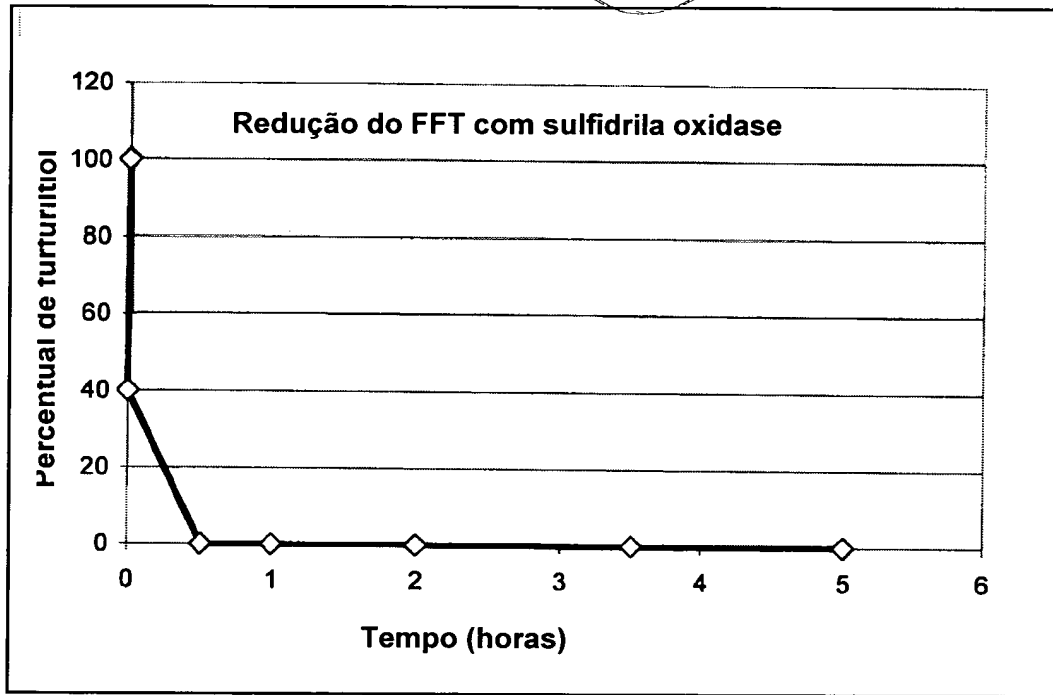
FIGURA 1

FIGURA 2

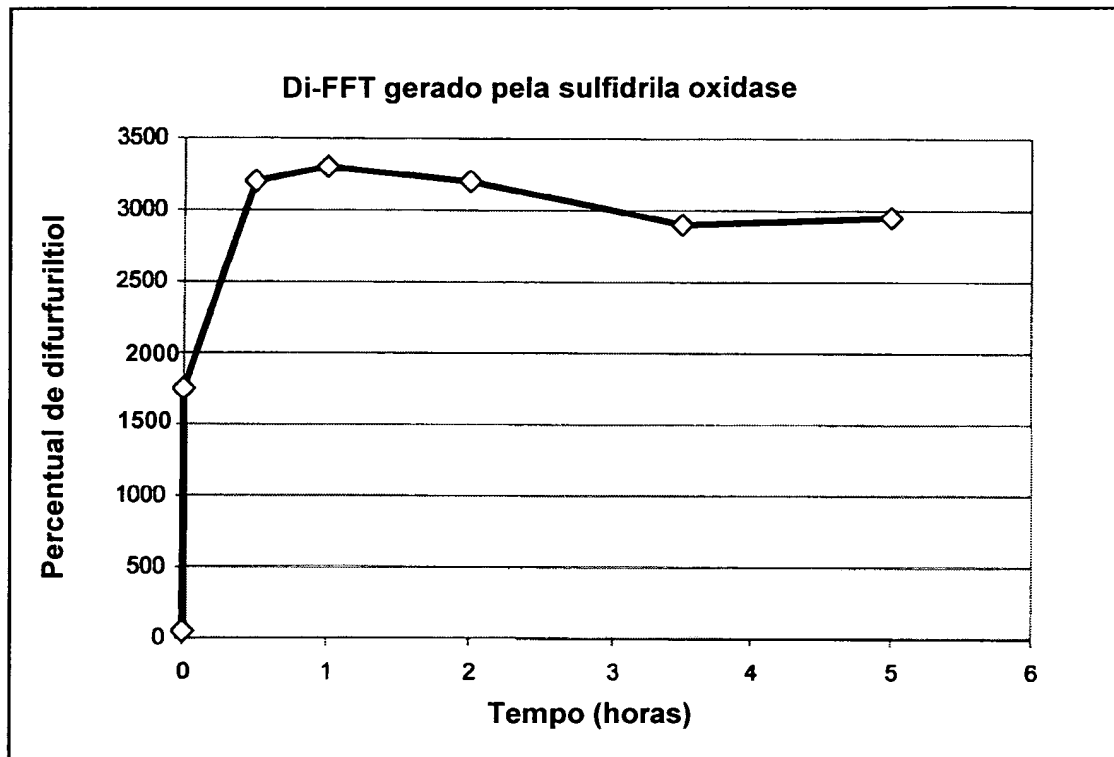


FIGURA 3

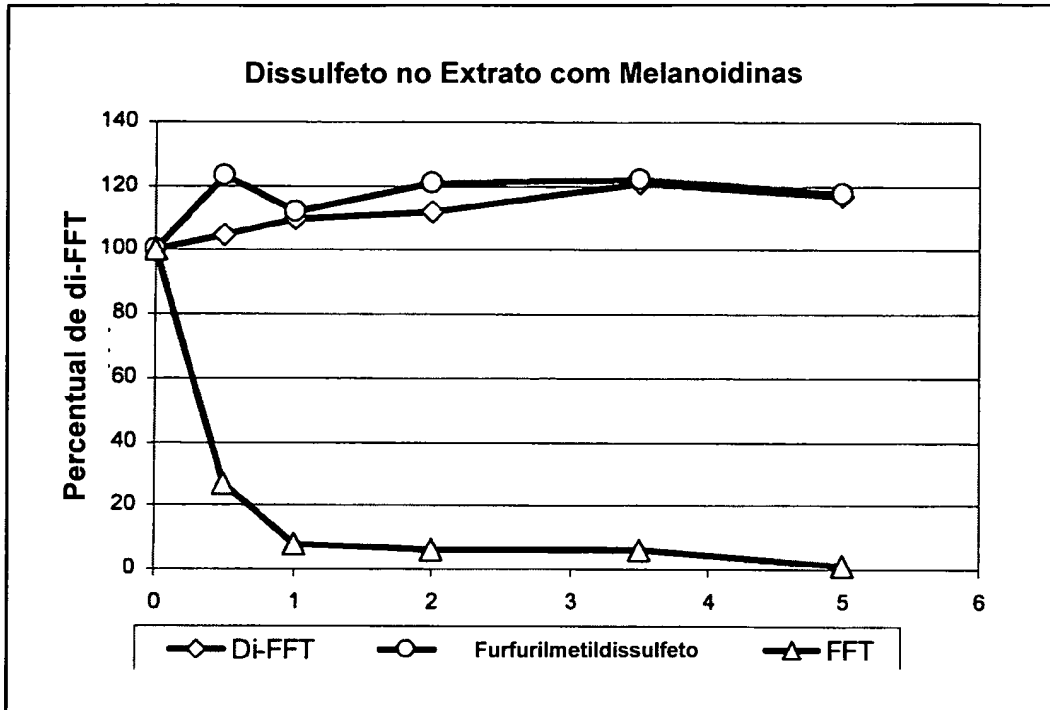


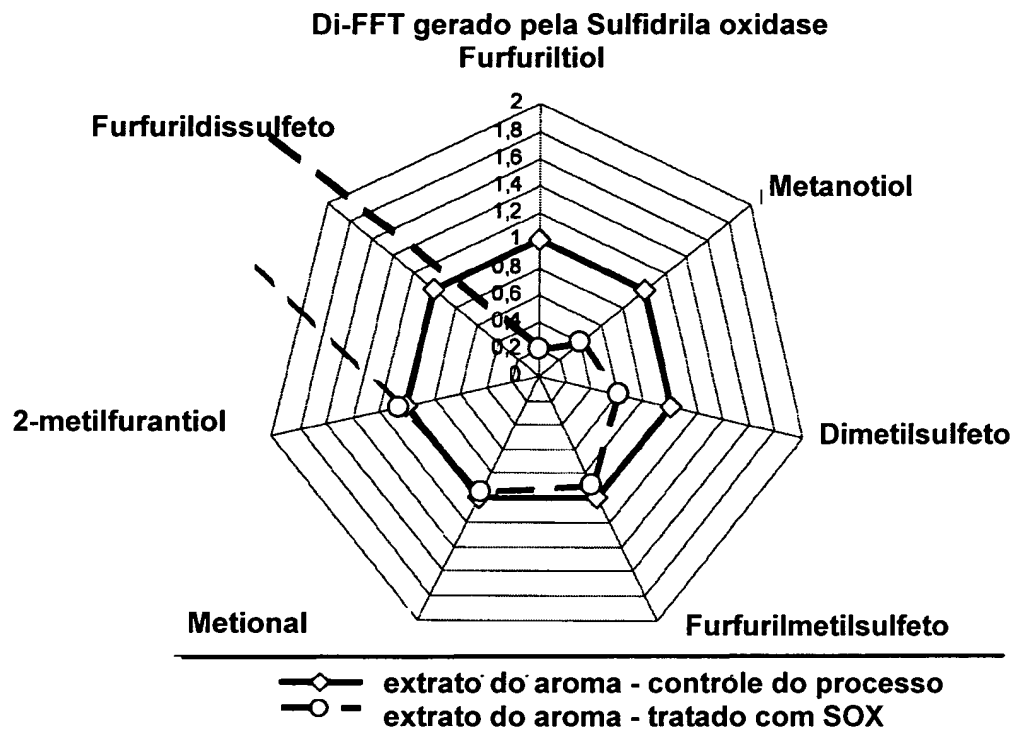
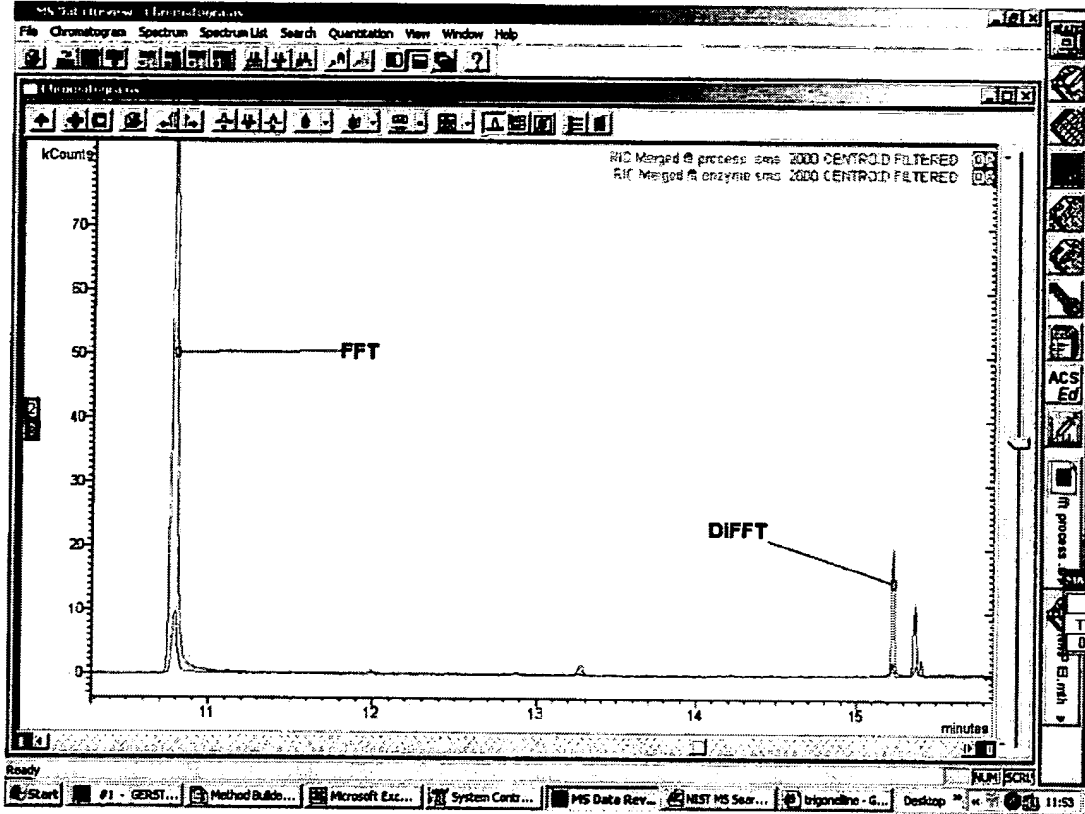
FIGURA 4

FIGURA 5



RESUMO

“MÉTODO PARA AUMENTAR A ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS DE FLAVOR OU AROMA CONTENDO TIOL, E, PRODUTO”

5 A presente invenção é direcionada ao tratamento de grupos tiol reativos (-SH) encontrados nos compostos de flavor contendo tiol mediante a conversão enzimática altamente seletiva em compostos de dissulfetos ativos quanto ao aroma, com o uso da sulfidril oxidase.