



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 284 739**

⑤① Int. Cl.:  
**A23G 1/00** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **02006228 .7**

⑧⑥ Fecha de presentación : **20.03.2002**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **1346640**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **24.09.2003**

⑤④ Título: **Extracto de cacao con bajo contenido en grasa.**

④⑤ Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.11.2007**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.11.2007**

⑦③ Titular/es: **Société des produits NESTLÉ S.A.**  
**P.O. Box 353**  
**1800 Vevey, CH**

⑦② Inventor/es: **Mc Carthy, James, y**  
**Brevard, Hugues**

⑦④ Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 284 739 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

Extracto de cacao con bajo contenido en grasa.

5 **Ámbito del invento**

El presente invento hace referencia a un extracto de cacao con bajo contenido en grasa y gran potencial de sabor y a los procedimientos para su preparación.

10 **Antecedentes del invento**

Las semillas de cacao tienen que fermentarse después de su recolección. La fermentación es una operación clave para obtener un sabor de gran calidad. Si el proceso de fermentación no se realiza bien, el sabor tendrá poca intensidad y a menudo se estropeará por la presencia de sabores extraños; sin fermentación, las características de sabor pueden estar presentes en cantidades pequeñas pero por lo general no son aptos para fines industriales. Existen varios sistemas de fermentación, según la variedad y el país de origen del cacao. Normalmente, se apilan de 200 a 400 kg de granos, con la pulpa, en hojas de plátano, se cubren con más hojas y se mezclan cada dos días durante una semana. Además, se utilizan cajones especiales: los granos que están en los cajones se mezclan cada dos días transfiriéndolos de uno a otro. Durante el proceso de fermentación, que suele durar de tres a seis días, se desarrollan varios microorganismos de forma natural en el medio que constituyen las pilas de granos y la pulpa. Durante este periodo, las semillas de cacao pierden su poder de germinación debido a la descomposición de las membranas celulares, un hecho que también ocasiona que el contenido de las células se esparza por el interior del grano, y de este modo, se transforman enzimática y químicamente (Biehl, B. y Passern, D. (1982 J. Sci. Food Agric., 33, 1280-1290). Entre estos cambios enzimáticos y químicos figuran la producción de precursores del sabor del cacao y la reducción de los atributos negativos, como el amargor y la astringencia (“Industrial chocolate manufacture and use”, de S.T. Beckett, tercera edición, 1999, Blackwell Science, pp. 17-19).

Se han descrito con anterioridad varios métodos para modificar las propiedades de sabor de los granos de cacao o del jarabe de cacao. Así, por ejemplo, US-5888562 (equivalente a EP-7496949) de Nestec revela un tratamiento enzimático del cacao para superar la variabilidad en la composición del precursor del sabor. Para conseguir este objetivo, se incuba jarabe de granos de cacao sin fermentar o poco fermentados durante dos horas a 50°C en agua, cuyo pH se ha ajustado en 4,5, con una solución de ácido acético para activar una endoproteinasa endógena del cacao. Seguidamente, se somete la mezcla a otro tratamiento enzimático que es necesario para obtener precursores del sabor. Más concretamente, se prepara un grano descortezado o jarabe a partir de los granos de cacao fermentados durante 1 a 15 días, se mezcla con un medio acuoso con un pH de 3 a 6, se incuba la mezcla a una temperatura de entre 40 y 60°C durante 10 minutos a 20 horas para estimular la actividad de la endoproteasa del cacao, se ajusta el pH del medio a un pH de 4 a 8, se le añade al menos una proteasa técnica, y se incuba a una temperatura de entre 10 y 60°C durante 5 minutos a 20 horas.

WO-00/22935 de Kraft Jacobs Suchard revela un cacao de bajo sabor obtenido a partir de granos de cacao sin fermentar mediante un proceso de dos etapas, consistiendo la primera etapa en la destrucción de las estructuras celulares y subcelulares por medio de un tratamiento con una solución acuosa de ácido acético y la segunda etapa en un tratamiento de oxidación. Este método suprime la formación de sabor y, por lo tanto, se obtiene un cacao con poco sabor que es útil como sustituto de, por ejemplo, la manteca de cacao.

Kirchhoff *et al.*, en un artículo publicado en 1989 en “Food Chemistry” (Vol. 31, páginas 295-311), observaron en un estudio del proceso de “fermentación *in vitro*” que la solución de ácido acético de los granos “fermentados *in vitro*” contenía aminoácidos libres, un porcentaje significativo de los cuales eran aminoácidos hidrófobos.

GB-A-2.059.243 hace referencia a un proceso para la fermentación de granos de cacao que permite producir los precursores del sabor del chocolate fermentados que se encuentran en los granos fermentados. Después, las semillas se recubren y se secan. Los chocolates se preparan con la pasta de los *granos* fermentados por el proceso descrito.

US-B-6.312.753 hace referencia al procesamiento de granos o granos descascarillados de cacao que han sido tostados. También demuestra que, además de los granos procesados que contienen cantidades mayores de polifenoles, se pueden preparar extractos con disolventes como la acetona, el metanol, el cloroformo y el acetato de etilo. Afirma que los extractos contienen polifenoles, pero no se menciona que tales extractos contengan un elevado nivel de sabores y/o precursores del sabor del cacao.

WO 01/93690 A revela la extracción de granos de cacao desgrasados utilizando como disolvente metanol, etanol, butanol, acetato de etilo o acetona. Los granos se tratan antes de la extracción para eliminar la grasa. Afirma que el extracto contiene polifenoles, pero no se revela ningún extracto que contenga elevados niveles de sabores y/o precursores del sabor del cacao.

Ahora hemos descubierto que, sorprendentemente, la solución de ácido (lixiviada) de los granos “fermentados *in vitro*” contiene asimismo un elevado nivel de precursores del sabor del cacao, además de elevados niveles de antioxidantes del cacao, como los polifenoles.

## Resumen del invento

Hemos desarrollado extractos de ácido acético generados durante la “fermentación *in vitro*” de los granos como fuente de polifenoles y antioxidantes bioactivos del cacao parcialmente purificados, entre ellos leucocianinas, polifenoles y las metilxantinas caféina y teobromina, además de una fuente de sabores de cacao y precursores del sabor del cacao.

De acuerdo con un primer objeto del invento, se ofrece un extracto de cacao con un bajo contenido en grasa que tiene un elevado nivel de precursores del sabor del cacao y un elevado nivel de compuestos antioxidantes del cacao. De acuerdo con un segundo aspecto del invento, se ofrece un concentrado del sabor de cacao y/o un concentrado antioxidante. El tercer aspecto del invento hace referencia a la utilización del extracto como fuente de antioxidantes y/o de sabor de cacao. De acuerdo con el cuarto aspecto del invento, se ofrece un producto alimenticio enriquecido con el extracto. El quinto aspecto del invento hace referencia a la utilización de un extracto de ácido acético procedente de una “fermentación *in vitro*” para aumentar el sabor del cacao, especialmente a niveles reducidos, y el último aspecto del invento hace referencia a un proceso para preparar el extracto mencionado más arriba.

## Descripción detallada del invento

En la presente descripción, por “extracto acético seco” y “extracto” se entiende un extracto de ácido acético obtenido de la “fermentación *in vitro*” y concentrado hasta formar una pasta o una masa seca, y por “fermentación *in vitro*” se entiende el tratamiento de los granos de cacao procesados en ácido acético durante más de cuatro horas. Por granos o semillas de cacao “poco fermentadas” se entiende los granos o las semillas fermentadas durante alrededor de uno a cuatro días. Por último, por “sabor” a cacao se entiende el sabor de cacao y los precursores del sabor del cacao.

El presente invento puede utilizar el proceso que se describe a continuación.

En la primera parte del proceso de acuerdo el presente invento, se sumergen semillas frescas o poco fermentadas en 100 mm de ácido acético en botellas autoclave de manera que la solución cubra completamente los granos introducidos en las botellas. Después, se introducen las botellas en una incubadora a una temperatura de 40 a 55°C, preferentemente a 50°C durante un periodo de tiempo de entre 4 y 80 horas, o más preferentemente de 12 a 72 horas, o incluso más preferentemente de 12 a 60 horas; en una forma de realización preferida del invento, de 12 a 48 horas. Cuando se extraen las semillas, las soluciones viscosas generadas en la incubación se guardan a -20°C, y periódicamente se derritan porciones de este material antes de que se concentren los sólidos por evaporación, por ejemplo por evaporación rotativa en vacío a 50°C. Los sólidos obtenidos, denominados aquí extracto de “fermentación *in vitro*”, se utilizan en diversos análisis y experimentos que se describen más abajo. Las semillas extraídas de la solución se introducen en un secador de aire caliente a una temperatura comprendida entre 50 y 70°C.

El extracto obtenido es un extracto de cacao con bajo contenido en grasa (la grasa no se disuelve en la solución de ácido acético) que, sorprendentemente, contiene elevados niveles de antioxidantes y sabores de cacao y precursores del sabor del cacao. De acuerdo con un primer objeto del invento, se ofrece un extracto de cacao con bajo contenido en grasa que tiene un elevado nivel de precursores del sabor del cacao y un elevado nivel de compuestos antioxidantes del cacao.

Se analizaron *el sabor de cacao y los precursores del sabor del cacao* que contienen grupos amino en la solución “fermentada *in vitro*” con el método OPA [“o-ftalaldehído”](Church F. *et al.*, 1983, J. Dairy Science 66, 1219-1227) para determinar el nitrógeno aminado libre. Se filtraron y diluyeron cada una de las soluciones de ácido acético y las muestras se reaccionaron con 250 µl de la solución OPA. Se dejaron reaccionar las mezclas durante 1 a 10 minutos, preferentemente durante 2 minutos, y después se midió la absorbancia a 340 nm. El nivel de nitrógeno aminado que contiene moléculas en la muestra se calcula como equivalentes de leucina utilizando una curva estándar apropiada de diferentes concentraciones de leucina reaccionadas en las mismas condiciones.

Tras un periodo de incubación de 48 horas, la solución del extracto de “fermentación *in vitro*” obtenida de los granos de la variedad de cacao CCN-51 contiene de 2,74 a 3,1 mg/ml equivalentes de leucina, y la solución del extracto de “fermentación *in vitro*” obtenida de los granos de la variedad de cacao EET-95 contiene de 2,84 a 2,86 mg/ml equivalentes de leucina. En el caso de la solución de CCN-51, se estableció que el contenido de sólidos de la solución fermentada “*in vitro*” era de 0,05 g/ml. Por lo tanto, estos resultados muestran que al menos el 5,6% de los sólidos presentes en la solución de ácido acético de la CCN-51 corresponde al nitrógeno aminado libre del reactivo OPA, que contiene compuestos tales como los precursores del sabor del cacao, aminoácidos y péptidos aromáticos.

Se realizó un análisis en gel SDS-PAGE para analizar la degradación de las proteínas totales de los granos de cacao inducida durante la “fermentación *in vitro*”. Para determinar el nivel de degradación de las proteínas inducido durante la “fermentación *in vitro*” se elaboraron polvos de acetona a partir de estos granos, como se describe en Hansen *et al.* 1998 (J. Sci. Food Agric. 77, 273-281), después de extraer la pulpa y la cascarilla. Seguidamente, se analizaron las proteínas totales de este extracto en un gel gradiente SDS-Page de tris-glicina al 10-20%. Los resultados mostraron que una cantidad significativa de las proteínas del grano se degradan después de 48 horas de tratamiento. Este hecho es particularmente evidente en el caso de las dos principales proteínas de la vicilina a 48,5 y 34,1 kDa, aproximadamente. Este análisis demuestra que la incubación con ácido indujo una degradación considerable de las proteínas de los granos

## ES 2 284 739 T3

tras 48 horas de incubación, aunque es menor que la observada en análisis similares de granos secos fermentados de manera natural.

Se analizó el *contenido total de polifenoles* del extracto de ácido acético de 48 horas para determinar el contenido de polifenol. El método espectrofotométrico (Índice Folin-Ciocalteu) utilizado para determinar el contenido total de polifenoles concuerda prácticamente con el método descrito en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas, capítulo 41 (3-10-1990, 178-179).

	CCN-51 Extracto de 48 horas (sólidos secos)	CCN-51 Granos frescos
Polifenoles totales	32 mg ECE/g*	26,3 mg ECE/g

\* mg ECE/g = miligramos de equivalentes de epicatequina por gramo de muestra.

Los resultados obtenidos muestran que el extracto de ácido acético de 48 horas de los granos de CCN-51 contiene 32 mg de ECE/g de sólidos secos. Así pues, los polifenoles representan el 3,2% de los sólidos secos del extracto. Suponiendo que los granos frescos de CCN-51 contienen aproximadamente un 45% de sólidos, esto implica que los polifenoles representan el 5,48% de los sólidos secos en los granos de CCN-51. Esta información demuestra que la relación de polifenoles respecto a sólidos totales en el extracto de ácido acético de 48 horas de los granos de CCN-51 es aproximadamente la mitad de la que se observa en los sólidos secos de los granos de CCN-51 no fermentados.

Con el fin de caracterizar aún más los compuestos de los extractos, estas soluciones de fermentación "*in vitro*" se extrajeron con una mezcla de acetona/agua al 80%/20%.

Se concentraron los extractos de acetona/agua al 80%/20% de las soluciones de ácido acético obtenidas de granos de CCN-51 y EET-95 "fermentados *in vitro*" durante 48 horas y los extractos de acetona/agua al 80%/20% de granos frescos de CCN-51 y EET-95 hasta que se secaron. Se solubilizaron en metanol y se cargaron en placas de cromatografía en capa fina (TLC - placas prerrecubiertas de sílice de 0,25 mm; Merck, 60 - F<sub>254</sub>). Después del desarrollo con el disolvente A (65% de acetato de etilo, 23% de metanol, y 12% de agua) y de la reacción con dihidroxi-1,3-naftaleno (que detecta los compuestos reductores) se observó una mancha muy difusa en los extractos de ácido acético de ambas variedades de cacao. Esta mancha muy difusa corresponde principalmente a los carbohidratos de la pulpa porque los niveles de esta mancha en los granos frescos, a los que se quitó la pulpa y la cascarilla, eran muy inferiores. El desarrollo con el disolvente A y la reacción con FeCl<sub>3</sub> (que detecta los compuestos fenólicos) indicaron la presencia de varias manchas similares tanto en los granos frescos como en el extracto de ácido acético concentrado. Este resultado demuestra que la composición fenólica de los extractos de ácido acético es relativamente similar a la que se observa en los granos enteros.

Después del desarrollo con el disolvente B (50% de acetato de etilo, 30% de metiletilcetona, 10% de ácido fórmico y 10% de agua), se observó una mancha de color tanto en los extractos de "fermentación *in vitro*" como en los extractos de granos enteros de control. Esta mancha, que se observa sin dar ningún tratamiento a las placas TLC, se debe a las antocianinas de la semilla. El examen de esta placa TLC con UV iluminó una mancha con la misma migración que la teobromina, tanto en el material de granos frescos como en los extractos de "fermentación *in vitro*". Cuando posteriormente se reaccionó esta placa con ninhidrina, aparecieron en todos los extractos dos manchas relativamente marcadas, y estas manchas se deben seguramente a la presencia de aminoácidos y pequeños péptidos en los granos frescos y en los extractos de "fermentación *in vitro*". En conjunto, los resultados indican que en los extractos de ácido acético de la "fermentación *in vitro*" están presentes muchos de los mismos compuestos solubles en acetona/agua de las semillas frescas y, por eso, los extractos de "fermentación *in vitro*" tienen probablemente en las semillas de cacao una proporción significativa de las moléculas del sabor y antioxidantes.

Como se ha descrito más arriba, el extracto de ácido acético contiene aminoácidos y péptidos que se cree que constituyen los sabores y los precursores del sabor del cacao. Para confirmar el potencial saborizante de estos aminoácidos y péptidos en los extractos, además de los precursores del sabor del cacao sin caracterizar, se realizaron análisis olfativos de productos formados después de reaccionar las semillas de los extractos de ácido acético de las variedades EET-95 y CCN-51 con fructosa en un medio pobre en agua. Antes de la reacción, las mezclas de prueba completas (extracto, fructosa, agua y glicerol en una proporción de 1:1:1,5:96,5) tenían muy poco aroma y muy poco color. Sin embargo, tras una hora de reacción, ambas mezclas de prueba habían desarrollado aromas con fuertes notas de cacao y caramelo. Los experimentos de control realizados con menos fructosa (0,1%) también tenían aromas de cacao similarmente fuertes. Otras reacciones de control conteniendo sólo un 1% de fructosa, pero sin la adición de extracto de

ácido acético, no desarrollaron aroma de cacao y sólo tenían un ligero aroma de caramelo, además de algunos matices evidentes. El análisis MS de los productos generados después de reaccionar un extracto de ácido acético con azúcar confirma que moléculas de aromas de cacao importantes como, por ejemplo, 2- y 3-metilbutanal, pentanodiona, 2-metilpirazina y fenilacetaldehído, se encuentran en una mezcla de reacción en caliente. En conjunto, estos resultados indican que los extractos de ácido acético de 48 horas contienen precursores del aroma del cacao detectables.

En una forma de realización preferida del invento, el extracto de cacao con bajo contenido en grasa contiene sabores y/o precursores del sabor en una cantidad del 2 al 6%, más preferentemente del 6 al 12%, y especialmente del 20%. El contenido de polifenoles presente en el extracto puede variar de acuerdo con, por ejemplo, la maduración de la semilla cuando se recolecta, la variedad del cacao o el grado de purificación. No obstante, el contenido de polifenoles del extracto que se revela aquí puede oscilar entre 10 y 32 mg de equivalentes de epicatequina/g de extracto, más preferentemente de 30 a 100 mg de equivalentes de epicatequina/g de extracto, y en una forma de realización preferida del invento en torno a 200 mg de equivalentes de epicatequina/g de extracto. En este extracto los compuestos antioxidantes son bioactivos.

De acuerdo con un segundo aspecto del invento, se ofrece un concentrado de sabor de cacao o un concentrado de sabor de cacao que se ha hecho reaccionar con azúcares. El concentrado de sabor de cacao obtenido por medio de este método de reacción se puede utilizar directamente tal como se produce. La reacción mencionada permite que al menos una parte de los precursores del sabor que están en el concentrado se transformen en sabores de cacao. La persona especializada conoce bien los azúcares que se utilizan para esta reacción; conviene utilizar, entre otros, sacarosa, fructosa, glucosa, melazas, productos de degradación del almidón (jarabes de glucosa y maltosa, jarabes de glucosa-maltosa, polidextrosa), lactosas, fructosas (incluida la levulosa), sorbitol, xilitol o manitol, glicerol o una mezcla de los mismos. El glicerol utilizado en la reacción se podría sustituir asimismo por polietilenglicol o soluciones y grasas afines, como por ejemplo, materia grasa láctea, manteca de cacao o grasas vegetales.

En el segundo aspecto del presente invento, también se ofrece un concentrado antioxidante que se puede obtener utilizando un extracto de ácido acético de una fermentación *in vitro*. Una manera de obtener el concentrado antioxidante consiste en fraccionar el extracto original obtenido de la fermentación *in vitro* o purificarlo selectivamente con métodos muy conocidos por las personas especializadas en la técnica. Este concentrado antioxidante se puede utilizar en cualquier producto culinario, así como en el sector de los neumáticos, en el sector de la pintura, en la industria metalúrgica, o en los productos cosméticos y sanitarios, entre otros. La expresión "producto culinario" pretende abarcar cualquier sustancia consumible. Por lo tanto, puede ser un producto pensado para el consumo humano, pero el término abarca asimismo los productos destinados al consumo animal, por ejemplo para animales domésticos como perros, gatos, conejos, cobayas, ratones, ratas, pájaros (por ejemplo, loros), reptiles y peces (por ejemplo, peces de colores). Sin embargo, el término también incluye alimentos que consumirán otros animales domesticados como los animales de cría, por ejemplo, ganado, caballos, cerdos, ovejas, cabras, búfalos, camellos y similares.

El tercer aspecto del invento hace referencia a la utilización del extracto seco como fuente de antioxidantes y/o sabor de cacao. Como se ha descrito más arriba, el extracto de ácido acético seco contiene polifenoles y antioxidantes, entre ellos leucocianinas, polifenoles, y las metilxantinas caféina y teobromina. De este modo, el extracto, o las fracciones del mismo, se puede utilizar, por ejemplo, en suplementos dietéticos, o en cualquier alimento manufacturado, como fuente de antioxidantes; se puede utilizar en sustitución del chocolate, por ejemplo, en los cereales de desayuno, yogures u otros productos lácteos, en las tartas, galletas, barritas de cereales, coberturas, bebidas y refrescos; en los dulces, chocolates en polvo, alimentos infantiles, productos gelificados, helados, aderezos y salsas. También se puede utilizar en cualquier producto culinario tal como se define más arriba.

De acuerdo con el cuarto aspecto del invento, se ofrece un producto alimenticio enriquecido con el extracto. Este producto alimenticio puede ser, por ejemplo, cualquier producto culinario definido más arriba, un suplemento dietético, cereales de desayuno, yogures u otros productos lácteos, tartas, galletas, barras de cereales, coberturas, bebidas y refrescos, dulces, chocolates en polvo, alimentos infantiles, productos gelificados, helados, aderezos y salsas, y más en general, cualquier tipo de alimento manufacturado.

El producto alimenticio se puede enriquecer con el extracto o con fracciones del mismo. El extracto, o las fracciones del mismo, que se añade a dicho producto alimenticio pueden ser los extractos de ácido acético de los granos de cacao frescos o poco fermentados, pero también el extracto descrito anteriormente que ha sido sometido a reacciones con azúcares. También puede ser una mezcla de estos dos extractos. Cuando el producto alimenticio se enriquece con un extracto que ha sido sometido a una reacción con azúcares, le permite desarrollar un intenso sabor de cacao.

El quinto aspecto del invento hace referencia a la utilización de un extracto de ácido acético de una "fermentación *in vitro*" para aumentar el sabor a cacao. De acuerdo con este aspecto del invento, la reacción del extracto acético seco se puede utilizar en un preparado que contenga chocolate o extractos de chocolate, además de en preparados en los que la única fuente de chocolate es el extracto de ácido acético mencionado más arriba, con o sin sacarosa, fructosa, azúcares reductores y/o otros edulcorantes. El extracto, tanto si se ha hecho reaccionar con azúcares como si no, se puede añadir al preparado en niveles que oscilan entre el 0,1% y el 5,0% cuando existe otra fuente de chocolate, o en niveles que oscilan entre el 0,5% y el 20% cuando no hay ninguna otra fuente de chocolate en el preparado.

Se han realizado experimentos para evaluar reacciones de extractos acéticos secos para que funcionen como potenciadores del sabor de cacao en un modelo de chocolate blanco, a un nivel del 0,05% (concentración final). Se realizaron

## ES 2 284 739 T3

varias reacciones de sabor en dos medios pobres en agua diferentes con una concentración del 5% de extracto de ácido acético seco de CCN-51 de 48 horas. Los diferentes antecedentes de reacción con poca agua utilizados fueron propilenglicol (PG) o materia grasa láctea anhidra. Posteriormente, el potencial de sabor de los sabores generados en las reacciones se evaluó en chocolate blanco a un nivel de incorporación del 1%. También se llevó a cabo otra prueba, en la que se incorporó directamente al chocolate blanco un 1% del extracto sin reaccionar de CCN-51 de 48 horas seco.

Medio	Ingredientes	Temp. (°C)	Tiempo (min.)	Incorporación en el producto de chocolate final (%) *
92% de PG, 1,5% de agua alcalinizada	5% de extracto de CCN51 + 1,5% de fructosa	125	60	1 §
95% de materia grasa láctea anh.	5% de extracto de CCN51	125	60	1
Sin reacción	Extracto puro de CCN51 liofilizado			1

\* También se añadió a esta muestra un 0,3% de lecitina.

Los productos obtenidos fueron catados por un panel de laboratorio informal. El panel detectó un ligero sabor de cacao en la muestra de materia grasa láctea, y un ligero sabor como de cacao en la muestra a la que se había añadido el 1% de extracto.

### Ejemplos

Los ejemplos siguientes son ilustrativos de algunos de los productos y métodos para hacer lo mismo que entran dentro del ámbito del presente invento. No se considerarán de ningún modo una limitación del invento. Se pueden hacer cambios y modificaciones con respecto al invento. Es decir, la persona especializada reconocerá numerosas variaciones en estos ejemplos que incluyen una amplia variedad de fórmulas, ingredientes, procesamiento y mezclas para ajustar de manera racional para diversas aplicaciones los niveles que se producen naturalmente de los compuestos del invento.

#### Ejemplo 1

##### *Preparación de un extracto de fermentación in vitro a partir de granos frescos*

En este ejemplo se utilizan granos frescos de *Theobroma cacao Trinitario* ICS-95. Se utilizan 500 ml de 100 mm de ácido acético para cubrir los granos en botellas autoclave. La mezcla de granos/ácido acético se incuba durante 35 horas a 50°C, y después se concentran los sólidos por evaporación rotativa a 50°C para obtener un extracto de "fermentación *in vitro*".

#### Ejemplo 2

##### *Preparación de un extracto de fermentación in vitro de granos poco fermentados*

En este ejemplo se utilizan granos poco fermentados de *Theobroma cacao Trinitario* ICS-95. Estos granos poco fermentados son granos recolectados tres días antes que no han sido sometidos a ningún tratamiento pero se han dejado a la intemperie. Se utilizan 500 ml de 100 mm de ácido acético para cubrir los granos en botellas autoclave. La mezcla de granos/ácido acético se incuba durante 39 horas a 53°C, y después se concentran los sólidos por evaporación rotativa a 50°C para obtener un extracto de "fermentación *in vitro*".

## ES 2 284 739 T3

### Ejemplo 3

#### *Preparación de una tarta de chocolate*

5 Utilizamos el extracto de la fermentación *in vitro* del ejemplo 1 o del ejemplo 2 en forma seca. El extracto se añade a una masa de tartas de acuerdo con la fórmula siguiente (porcentajes en peso/peso del producto final):

10	Materia grasa	11,4%
	Jarabe de chocolate	8,5%
	Extracto fermentado <i>in vitro</i>	0,5%
15	Harina	22,9%
	Azúcar	39,4%
20	Levadura en polvo	0,2%
	Sal	0,2%
25	Huevos	16,8%
	Aromas	0,1%

30 A continuación, se hornea la masa a 150°C durante 35 a 55 minutos, según el grosor de la tarta.

### Ejemplo 4

#### *Preparación de una tarta de chocolate*

35 Utilizamos el extracto de la fermentación *in vitro* del ejemplo 1 o del ejemplo 2 en forma seca. La mezcla se añade a una masa de tartas de acuerdo con la fórmula siguiente (porcentajes en peso/peso del producto final):

40	Materia grasa	11,4%
	Cacao en polvo	4,5%
45	Extracto fermentado <i>in vitro</i>	4,5%
	Harina	22,9%
50	Azúcar	39,4%
	Levadura en polvo	0,2%
55	Sal	0,2%
	Huevos	16,8%
60	Aromas	0,1%

A continuación, se cocina la masa a 190°C durante 5 a 25 minutos, según el grosor de la tarta.

65

## ES 2 284 739 T3

### Ejemplo 5

#### *Preparación de una tarta con sabor de chocolate*

5 Se añade el extracto fermentado *in vitro* de la mezcla del ejemplo 1 o 2 a una masa de tarta de acuerdo con la fórmula siguiente (porcentajes en peso/peso del producto final):

10	Materia grasa	16,2%
	Extracto fermentado <i>in vitro</i>	17%
	Harina	31,2%
15	Azúcar	16,6%
	Levadura en polvo	0,3%
20	Sal	0,1%
	Huevos	16,8%
25	Aromas	0,1%
	Colorante	1,7%

30 A continuación, se cocina la masa a 220°C durante 2 a 17 minutos, según el grosor de la tarta.

### Ejemplo 6

35 *Preparación de una barra extruida con elevados niveles de polifenoles y antioxidantes*

Se añade el extracto fermentado *in vitro* del ejemplo 1 o del ejemplo 2 al preparado siguiente:

40	Jarabe de glucosa-fructosa	20-30%
	Fruta / preparado de fruta	10-15%
45	Proteína en polvo	5-20%
	Micronutrientes	4-5%
50	Maltodextrina	10-15%
	Cereal tostado / cereal	10-33%
55	Extracto fermentado <i>in vitro</i>	5-20%
	Grasa	2-5%
60	Saborizante	0,1-1,5%

Se mezclan los ingredientes, a una temperatura de 45°C, hasta formar una mezcla homogénea. Después se extruyen, fijándose la temperatura de extrusión de la máquina en 40°C. Tras la extrusión, se enfría la barra a temperatura ambiente y se envasa.

65

## ES 2 284 739 T3

### Ejemplo 7

#### *Preparación de tostadas de pizza*

5 Preparamos tostadas con rellenos como los de la pizza. Las tostadas se preparan de acuerdo con la fórmula siguiente, en la que el extracto de fermentación *in vitro* se obtiene siguiendo el ejemplo 1 o el ejemplo 2:

- 1,75 kg de harina
- 10 0,02 kg de azúcar
- 0,02 kg de proteínas lácteas
- 10 g de emulsionante
- 15 0,07 g de levadura en polvo
- 0,06 g de materia grasa
- 20 1,2 kg de agua
- 0,15 kg de extracto de fermentación *in vitro*

25 El extracto de fermentación *in vitro* se añade como fuente de antioxidantes. Se amasa la masa de pan, se deja reposar a 34°C durante 45 minutos y se cocina a 220°C durante 50 minutos. A continuación, se corta el pan en rebanas de 15 mm y se pone encima de cada rebanada el relleno como el de la pizza de acuerdo con el preparado siguiente:

- 80% de cebolla picada
- 5% de aceite de oliva
- 30 2% de ajo en polvo
- 8% de puré de tomate
- 35 0,8% de sal
- 0,1% de pimienta blanca
- 0,1% de guindilla en polvo
- 40 2% de albahaca seca
- 2% de extracto de fermentación *in vitro* como fuente de anti-oxidantes.

45 La proporción de relleno, procesado para que tenga un contenido de agua del 70%, se fija en torno al 60% del peso final de la tostada.

### Ejemplo 8

#### *Preparación de una barra de chocolate con leche*

50 Se añade el extracto de fermentación *in vitro* del ejemplo 1 o del ejemplo 2 al preparado siguiente (porcentajes en peso por peso del producto final):

55	Jarabe de chocolate	8%
	Sólidos lácteos	20%
60	Azúcar	40%
	Manteca de cacao	20%
	Agua	1%
65	Extracto fermentado <i>in vitro</i>	11%

## ES 2 284 739 T3

El extracto de fermentación *in vitro* se añade al principio de la etapa de conchado para tener un tiempo de reacción en condiciones de calor suficientes para desarrollar los aromas de los precursores del sabor del cacao en sabores de cacao. La adición del extracto fermentado *in vitro* permite que este chocolate, pobre en jarabe de cacao, tenga un intenso sabor a chocolate con leche.

### 5 Ejemplo 9

#### *Preparación de una comida para animales domésticos*

10 Preparamos una emulsión con la composición siguiente, obteniéndose el extracto fermentado *in vitro* por el proceso del ejemplo 1 o el ejemplo 2 con otro tratamiento para eliminar la teobromina del extracto (porcentajes dados según peso):

15	Carne picada	60%
	Cereales	23%
20	Proteínas vegetales	2%
	Agua	8%
25	Extracto fermentado <i>in vitro</i>	7%

El extracto de fermentación *in vitro* se utiliza como fuente de antioxidantes y polifenoles.

### 30 Ejemplo 10

#### *Preparación de una loción corporal*

Preparamos una loción corporal con la composición siguiente, obteniéndose el extracto fermentado *in vitro* por el proceso del ejemplo 1 o el ejemplo 2:

35	Aceite mineral	8,0%
	Palmitato de isopropilo	5,0%
40	poligliceril-3-diisoestearato	2,0%
	Octildodecanol	4,0%
45	Carbómero	0,3%
	Cocoilglutamato de sodio	0,2%
50	Hidróxido de sodio al 10%	1,2%
	Ácido ascórbico	0,4%
55	$\alpha$ -tocoferol	0,4%
	Extracto de fermentación <i>in vitro</i>	0,3%

60 Después, completamos al 100% con agua. El extracto fermentado *in vitro* se incorpora a la loción corporal como fuente de antioxidantes y polifenoles.

65

## ES 2 284 739 T3

### REIVINDICACIONES

- 5 1. Extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa de granos de cacao con un elevado nivel de sabores de cacao y/o precursores del sabor del cacao y un elevado nivel de compuestos antioxidantes del cacao.
2. Extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el extracto es un extracto de ácido acético obtenido de una fermentación *in vitro* de granos de cacao.
- 10 3. Extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa de acuerdo con la reivindicación 2, en el que los granos de cacao son granos frescos o poco fermentados.
- 15 4. Extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la cantidad de los sabores de cacao y/o de precursores del sabor del cacao es del 2 al 6%, más preferentemente del 6 al 12%, y en una forma de realización preferida del invento del 20%.
- 20 5. Extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que los antioxidantes son polifenoles y el contenido de polifenol es de 10 a 32 mg de equivalentes de epicatequina/g de extracto, más preferentemente de 30 a 100 mg de equivalentes de epicatequina/g de extracto, y en una forma de realización preferida del invento de 200 mg de equivalentes de epicatequina/g de extracto.
- 25 6. Extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que los compuestos antioxidantes son bioactivos.
- 30 7. Concentrado de sabor de cacao obtenible utilizando un extracto de ácido acético de una fermentación *in vitro* de granos de cacao.
- 35 8. Concentrado de sabor de cacao de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el extracto de ácido acético se ha reaccionado con azúcares.
- 40 9. Concentrado de antioxidante obtenible utilizando un extracto de ácido acético de una fermentación *in vitro* de granos de cacao.
- 45 10. Utilización de un extracto de ácido acético de una fermentación *in vitro* de granos de cacao para aumentar el sabor de cacao.
- 50 11. Utilización de un extracto de ácido acético de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el extracto se reacciona con sacarosa, fructosa, azúcares reductores y/o otros edulcorantes.
- 55 12. Producto alimenticio enriquecido con un extracto de ácido acético de una fermentación *in vitro* de granos de cacao.
- 60 13. Producto alimenticio de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el producto alimenticio se escoge del grupo de suplementos dietéticos, cereales de desayuno, yogures, productos lácteos, tartas, galletas, barritas de cereales, coberturas, bebidas y refrescos, dulces, chocolates en polvo, alimentos infantiles, productos gelificados, helados, aderezos y salsas.
- 65 14. Producto alimenticio conteniendo el extracto de ácido acético con bajo contenido en grasa como se reivindica en la reivindicación 1 y/o el concentrado de sabor de cacao como se reivindica en la reclamación 7 u 8, en el que el extracto y/o el concentrado se han reaccionado con azúcares.
15. Utilización de un extracto de ácido acético obtenido por fermentación *in vitro* de granos de cacao como fuente de antioxidantes y de sabores de cacao y/o precursores del sabor del cacao.
16. Utilización de un extracto de fermentación *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el extracto ha sido sometido a una reacción con azúcares.
17. Utilización de un extracto de fermentación *in vitro* de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 15 en alimentos para animales domésticos, cosméticos, el sector de los neumáticos, la industria metalúrgica, el sector de la pintura, la industria metalúrgica o los productos sanitarios.
18. Proceso para obtener un extracto de fermentación *in vitro*, comprendiendo las fases de mezclado de las semillas de cacao con ácido acético, calentamiento de la mezcla y concentración de los sólidos presentes en la fase líquida de la mezcla.
19. Proceso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que la fase de calentamiento se realiza a una temperatura de entre 40 y 55°C, preferentemente a 50°C durante 4 a 8 horas, o más preferentemente durante 12 a 72 horas; en una forma de realización preferida del invento durante 12 a 60 horas, y en la forma mejor durante 12 a 48 horas.

## ES 2 284 739 T3

20. Proceso de acuerdo con la reivindicación 18 o 19, en el que la fase de calentamiento se realiza en botellas autoclave.

5 21. Proceso de acuerdo con una de las reivindicaciones 18 a 20, en el que las semillas de cacao son semillas frescas o poco fermentadas.

22. Proceso de acuerdo con una de las reivindicaciones 18 a 21, en el que la concentración de sólidos se realiza por evaporación rotativa en vacío.

10 23. Proceso de acuerdo con una de las reivindicaciones 18 a 22, en el que el extracto es rico en antioxidantes.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65