



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 348 058**

51 Int. Cl.:

A21D 8/04 (2006.01)

A21D 2/32 (2006.01)

A21D 13/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07802604 .4**

96 Fecha de presentación : **14.08.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2059128**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.05.2009**

54 Título: **Procedimiento de preparación de un bizcocho utilizando fosfolipasa.**

30 Prioridad: **28.08.2006 EP 06119649**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.11.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.11.2010

73 Titular/es: **Puratos Naamloze Vennootschap**
Industrialaan 25
1702 Groot-Bijgaarden, BE

72 Inventor/es: **Van Haesendonck, Ingrid y**
Kornbrust, Beate Andrea

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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:

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de un bizcocho.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Habitualmente, los ingredientes básicos de un bizcocho son harina, azúcar, grasas (de origen animal o vegetal), huevos y levaduras. Ingredientes adicionales pueden ser, por ejemplo, leche o fracciones de leche, aromatizantes o sal (en Pyler, E.J., 1988, Baking Science and Technology, Sosland Publishing, págs. 979-981). Se utilizan comúnmente huevos en la preparación de diversos bizcochos. Generalmente, se requiere una
15 determinada cantidad de huevos para obtener un bizcocho de buena calidad, pero los huevos son un ingrediente costoso, de modo que es deseable reducir la cantidad de huevos y lograr aún un bizcocho de calidad satisfactoria.

 El documento JP 63-258528A se refiere a un procedimiento para producir un bizcocho esponjoso utilizando líquido de huevo tratado con fosfolipasa.

20 El documento JP 10-191871A se refiere a un procedimiento para producir productos de confitería horneados tratando una mezcla con fosfolipasa antes del horneado.

 El documento EP 0 426 211 A1 se refiere a un procedimiento de preparación de un producto alimenticio que contiene lisofosfolipoproteína secada o material que contiene
25 lisofosfolipoproteína secada. En esta invención, se trata yema de huevo durante 4,5 horas a 54°C, se seca por pulverización la yema de huevo modificada y se añade la lisofosfolipoproteína secada a la mezcla de bizcocho seca, que tras su reconstitución con agua y horneado, da como resultado un bizcocho con una textura abierta y húmeda.

 El documento US 2003/0175383 A1 se refiere a un procedimiento de preparación
30 de una pasta de harina, comprendiendo dicho procedimiento añadir a los componentes de la pasta una enzima que en las condiciones de la pasta puede hidrolizar un glicolípido y un fosfolípido, en el que dicha enzima no puede, o sustancialmente no puede, hidrolizar un triglicérido y/o un 1-monoglicérido, o una composición que comprende dicha enzima, y

mezclar los componentes de la pasta para obtener una pasta y mejorar la resistencia y maquinabilidad de pastas y el volumen, la suavidad y la estructura de la miga del pan y otros productos horneados.

El documento US 2003/0124647 A1 se refiere a un procedimiento de modificación de proteína de suero lácteo en una disolución acuosa tratándola con fosfolipasa. La proteína de suero modificada muestra que presenta una estabilidad de la espuma y un exceso de espumación mejorados cuando se bate, en comparación con una preparación de proteína de suero lácteo que no se trata con una fosfolipasa.

El documento WO-A-2004 097 012 da a conocer un procedimiento para la preparación de una fosfolipasa específica y su utilización, entre otros, en la preparación de un bizcocho, para mejorar la elasticidad.

SUMARIO DE LA INVENCION

Los inventores confirmaron que el volumen y las propiedades de un bizcocho tienden a deteriorarse cuando se reduce la cantidad de huevos en la receta del bizcocho.

Se descubrió que este deterioro puede contrarrestarse añadiendo una fosfolipasa a la masa de bizcocho, tal como se observa mediante un volumen de bizcocho aumentado y propiedades de bizcocho mejoradas, incluyendo las propiedades (del bizcocho fresco y también tras su almacenamiento), por ejemplo, cohesión aumentada, esponjosidad aumentada y elasticidad aumentada.

Se descubrió que la calidad del bizcocho (tal como se mide mediante estos parámetros) puede mejorarse adicionalmente, incluso hasta el nivel del bizcocho original, añadiendo una proteína que no es de huevo junto con la fosfolipasa.

Por consiguiente, en un primer aspecto la invención proporciona un procedimiento de preparación de un bizcocho, comprendiendo dicho procedimiento preparar una masa de bizcocho mezclando ingredientes de masa de bizcocho, comprendiendo dichos ingredientes lecitina de huevo no tratada con fosfolipasa y fosfolipasa, y hornear la masa de bizcocho para preparar el bizcocho, tal como se reivindica.

El procedimiento puede comprender además añadir una proteína que no es de huevo a la masa de bizcocho.

En otra forma de realización de la presente invención, se añade la fosfolipasa a la mezcla de ingredientes secos que se mezcla adicionalmente con otros ingredientes tales

como huevos líquidos, aceite y agua para preparar la masa.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Fosfolipasa

La fosfolipasa es una enzima que cataliza la liberación de grupos acilo grasos a partir de un fosfolípido. Puede ser una fosfolipasa A2 (PLA2, EC 3.1.1.4) o una fosfolipasa A1 (EC 3.1.1.32). Puede presentar o no otras actividades, tales como triacilglicerol lipasa (EC 3.1.1.3) y/o galactolipasa (EC 3.1.1.26).

La fosfolipasa puede ser una enzima nativa derivada de fuentes microbianas o de mamíferos.

Un ejemplo de una fosfolipasa de mamífero es PLA2 pancreática, por ejemplo PLA2 bovina o porcina tal como el producto comercial Lecitase® 10L (PLA2 porcina, producto de Novozymes A/S).

Las fosfolipasas microbianas pueden derivarse de *Fusarium*, por ejemplo fosfolipasa A1 de *F. oxysporum* (documento WO 1998/026057), fosfolipasa A1 de *F. venenatum* (descrita en el documento WO 2004/097012 como fosfolipasa A2 denominada FvPLA2), de *Tuber*, por ejemplo fosfolipasa A2 de *T. borchii* (denominada TbPLA2, documento WO 2004/097012).

La fosfolipasa también puede ser una variante enzimática lipolítica con actividad fosfolipasa, por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 2000/032758 o el documento WO 2003/060112.

La fosfolipasa puede añadirse en una cantidad de 500 - 20.000 unidades (LEU) por kg de masa, por ejemplo, de 1.000-10.000 unidades (LEU) por kg.

La fosfolipasa también puede catalizar la liberación de grupos acilo grasos a partir de otros lípidos presentes en la masa, particularmente lípidos de trigo. Por tanto, la fosfolipasa puede presentar actividad triacilglicerol lipasa (EC 3.1.1.3) y/o actividad galactolipasa (EC 3.1.1.26).

Proteína

En comparación con una receta de bizcocho convencional, se reduce la cantidad de proteína de huevo y puede sustituirse por proteína que no es de huevo. Por ejemplo, en comparación con una receta de bizcocho convencional, se reduce la cantidad de proteína de clara de huevo y puede sustituirse por proteína que no es de huevo.

Por tanto, la masa utilizada en la invención puede contener de un 0,5 a un 3,0% en peso de proteína de huevo, y puede contener de un 0,1 a un 6% (particularmente un 0,5-2%) en peso de proteína que no es de huevo. Por ejemplo, la masa utilizada en la invención puede contener de un 0,5 a un 2,5% en peso de proteína de clara de huevo, y puede contener de un 0,1 a un 6% (particularmente un 0,5-2%) en peso de proteína que no es de huevo.

Particularmente, la proteína que no es de huevo puede ser una proteína globular, soluble en agua. Particularmente, la proteína que no es de huevo puede ser una proteína aislada, parcial o completamente purificada, tal como, una proteína globular, soluble en agua. La proteína que no es de huevo puede desnaturalizarse, y puede ser una que se despliega parcialmente para dar una molécula flexible o con forma de varilla bajo la interacción de lisolecitina formada por la acción de la fosfolipasa sobre la lecitina de yema de huevo.

Se consideran especialmente adecuadas fuentes de proteínas con buenas propiedades de unión a agua, emulsionantes y gelificantes en presencia de lisofosfolecitina.

Ejemplos de proteínas que no son de huevo son proteínas de trigo. Ejemplos adicionales de proteínas que no son de huevo son caseína, proteína de trigo, gluten de trigo, proteínas de legumbres (por ejemplo de soja, guisante o altramuza).

La proteína que no es de huevo puede someterse a una hidrólisis limitada, por ejemplo, hidrólisis enzimática hasta un 0-6% de hidrólisis. La hidrólisis enzimática puede llevarse a cabo con una proteasa específica de aminoácidos, por ejemplo, una que es específica para Arg, Lys, Glu, Asp y/o Pro, tal como la proteasa descrita en el documento WO 91/13554.

La modificación puede incluir etapas de tratamiento de cizalladura y pH ácido o alcalino, por ejemplo, tal como se describe en el documento W02003/13266, temperatura aumentada para desnaturalizar parcial o completamente, desamidación de proteínas y

etapas de separación incluyendo centrifugación, decantación y ultracentrifugación.

La proteína o proteína (hidrolizada) puede modificarse enzimáticamente, por ejemplo, con una enzima de reticulación como transglutaminasa u otra enzima de modificación de proteínas como proteína-glutaminasa. Además, la proteína puede modificarse física o químicamente, por ejemplo, a través de desnaturalización y desamidación.

Lecitina de yema de huevo

La masa de bizcocho comprende lecitina de yema de huevo, por ejemplo en forma de huevos enteros, yemas de huevo o huevo en polvo.

La invención posibilita reducir la cantidad de material de huevo, por ejemplo hasta aproximadamente la mitad de un bizcocho convencional. Por tanto, la masa puede contener de un 0,3 a un 1,5% en peso de lecitina de huevo o de un 5a un 25% (particularmente 7-20, u 8-15) en peso de huevos enteros.

La masa contiene un 0,1-1,5%, tal como un 0,1-1,2%, o un 0,1-0,9%, o un 0,2-1,5%, o un 0,2-1,2%, o un 0,2-0,9%, o un 0,3-1,5%, o un 0,3-1,2%, o un 0,3-0,9% en peso de lecitina de huevo o un 5-25% (particularmente 7-20, u 8-15) en peso de huevos enteros.

Otros ingredientes

La masa de bizcocho puede comprender otros ingredientes convencionales, normalmente en las siguientes cantidades (en % en peso de la masa):

- Harina (sin tratar, tratada con calor, clorada): 15-30%
- Almidón (modificado, nativo): 0-10%
- Azúcar: 15-25%
- Emulsionante (mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de propilenglicol de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato de sodio): 0,1-1%
- Levadura en polvo (que contiene soda y sales de ácido o acidas): 0,5-1%
- Hidrocoloides (goma de semilla de algarroba, goma guar, goma tara, goma

xantana, carragenanos, goma arábica, celulosa, celulosa modificada, pectina): 0-1%

- Grasa vegetal (por ejemplo, aceite, margarina, manteca, pasta grasa, grasa en polvo): 5-30%

- 5 - Agua: hasta el 100%

La mantequilla puede sustituir ventajosamente a parte o la totalidad de la grasa.

Un ejemplo de bizcocho es un bizcocho preparado con huevos - azúcar - harina de trigo - aceite vegetal - almidón - levadura en polvo: bicarbonato de sodio (E500ii),
10 pirofosfato ácido de sodio (E450i) - emulsionante: mono y diglicéridos de ácidos grasos (E471), ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos (E472b), estearoil-2-lactilato de sodio (E481) - hidrocoloide: goma xantana.

Otro ejemplo de bizcocho es un bizcocho preparado con huevos - azúcar - harina de trigo - almidón - margarina - levadura en polvo: bicarbonato de sodio (E500ii),
15 pirofosfato ácido de sodio (E450i) - emulsionante: mono y diglicéridos de ácidos grasos (E471) - ésteres de propilenglicol de ácidos grasos (E477) - ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos (E472b), estearoil-2-lactilato de sodio (E481) - hidrocoloide: carragenanos

Un ejemplo adicional de bizcocho es un bizcocho preparado con huevos - azúcar -
20 harina de trigo - almidón - margarina - levadura en polvo: bicarbonato de sodio (E500ii), pirofosfato ácido de sodio (E450i) - emulsionante: mono y diglicéridos de ácidos grasos (E471) - ésteres de propilenglicol de ácidos grasos (E477) - ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos (E472b) - hidrocoloide: carragenanos

25 **Procedimientos de ensayo**

Actividad fosfolipasa (LEU)

30 Se hidroliza lecitina a temperatura y pH constantes, y se determina la actividad fosfolipasa según la tasa de consumo de valorante (NaOH 0,1 N) durante la neutralización del ácido graso liberado. El sustrato es lecitina de soja (L- α -fosfotidil-colina), y las condiciones son pH 8,00, 40,0°C, tiempo de reacción 2 min. El procedimiento se describe adicionalmente en el documento DK 99/00664 (Novo Nordisk A/S, Dinamarca). La

fosfolipasa del páncreas porcino presenta una actividad de 510 LEU/mg y se utiliza como patrón.

Análisis del perfil de textura (TPA) para la determinación de la cohesión y la esponjosidad

5 Se realizaron dos deformaciones consecutivas de una muestra de miga cilíndrica ($\phi = 45$ mm) realizada con una sonda cilíndrica ($\phi = 100$ mm) con una deformación máxima del 50% de la altura inicial del producto a una velocidad de deformación de 2 mm/s y un tiempo de espera entre deformaciones consecutivas de 3 s. Se registra la
10 fuerza como una función del tiempo.

Se calcula la cohesión como la razón (expresada en porcentaje) entre la superficie bajo la segunda curva de deformación (hacia abajo + hacia arriba) y la superficie bajo la primera curva de deformación (hacia abajo + hacia arriba).

15 Se calcula la esponjosidad como la razón entre la altura de la muestra tras la primera deformación y un tiempo de espera de 3 segundos y la altura inicial del producto.

Prueba de penetración para la determinación de la elasticidad

20 Se realiza la penetración de la miga del bizcocho con una sonda cilíndrica ($\phi = 25$ mm) hasta una deformación total del 25% de la altura inicial de la muestra, a una velocidad de deformación de 2 mm/s y manteniendo la deformación objetivo constante durante 20 s. Se registra la fuerza como una función del tiempo. La elasticidad es la razón (expresada en porcentaje) entre la fuerza medida tras 20 s a deformación constante con respecto la fuerza aplicada para obtener la deformación objetivo.

25

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Efecto de la fosfolipasa

30 Se prepararon bizcochos utilizando una receta de bizcocho de masa típica. Se mezclaron un 15-25% de huevos, un 20-30% de harina, un 0-10% de almidón, un 15-20% de grasa vegetal, un 20-25% de azúcar, un 0,1-1% de emulsionante (mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de propilenglicol de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de

mono y diglicéridos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato de sodio), un 0,8% de levadura en polvo (sosa y SAPP (pirofosfato ácido de sodio)), un 0-1% de hidrocoloides, un 0-1% de proteína y agua hasta el 100% durante 2 minutos a velocidad 2 (baja) y 2 minutos a velocidad 5 (media) en una mezcladora Hobart.

Se añadió fosfolipasa directamente a la mezcla seca y finalmente se añadieron huevos, aceite y agua para formar la masa. Se preparó un total de 1,875 kg de masa de bizcocho por ensayo. Se pesaron 300 g de masa de bizcocho en bandejas de aluminio.

Se hornearon los bizcochos a una temperatura de 180°C durante 45 minutos. Se prepararon 6 bizcochos con un peso total de 1,66 kg a partir de cada masa. Posteriormente, se enfriaron y se envasaron los bizcochos en una bolsa de plástico.

Se midieron las propiedades de textura el día 1 y el día 14 tras el horneado utilizando el procedimiento descrito anteriormente. Se evaluaron la cohesión, la esponjosidad y la elasticidad así como el volumen de los bizcochos.

En el primer ejemplo, se añadieron 1.500 LEU/kg o 3.750 LEU/kg a la masa en la que el 50% de los huevos (correspondientes al 7,5-12,5% en peso de la masa) se sustituyeron por harina y agua. Se preparó un control con un 100% de huevo (correspondiente al 15-25% en peso de la masa); se tomaron las propiedades de textura y el volumen como el 100%.

Los siguientes resultados muestran el efecto de la fosfolipasa sobre el volumen y la textura del bizcocho con una reducción de huevo del 50% y una comparación entre fosfolipasas microbianas y fosfolipasa pancreática (tabla 1).

Tabla 1

Cantidad de huevo g/kg de masa	Tipo de enzima	Dosificación de enzima (LEU/kg de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Elasticidad	
				Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190		0	100	100	100	100	100
95		0	90	68	70	90	89
95	Lecitase 10L	1500	94	82	95	93	99
95	Lecitase 10L	3750	97	84	98	93	97
95	TbPLA2	1500	94	79	92	87	97
95	TbPLA2	3750	94	82	93	91	95
95	FvPLA2	1500	94	75	82	90	91
95	FvPLA2	3750	94	81	92	91	98

Los resultados muestran que para un 50% de huevo sustituido por harina, el volumen del bizcocho era sólo del 90%, la cohesión el día 14 era sólo del 70% y la

elasticidad el día 14 era del 90% en comparación con el control.

Mediante la adición de TbPLA2, Lecitase 10L y FvPLA2 se mejoró el volumen de los bizcochos con un 50% de huevo en un 4-7%. Se logró un aumento del volumen del 7% con 3.750 LEU/kg de masa de Lecitase 10L.

Se mejoró la cohesión el día 14 en un 12-28%. Se logró el aumento más alto en la cohesión con 3750 LEU/kg de masa de Lecitase 10L.

Se aumentaron las elasticidades de los bizcochos resultantes en un 2-10% el día 14. Se midió el aumento más alto con Lecitase 10L (1.500 LEU/kg de masa y 3.750 LEU/kg de masa), FvPLA2 (3.750 LEU/kg de masa) y TbPLA2 (1.500 LEU/kg de masa).

Se mejoraron la textura del bizcocho y el volumen del bizcocho con las 3 fosfolipasas. Lecitase 10L proporcionó, con sólo un 3% de diferencia en volumen, una elasticidad y una cohesión el día 14 comparable con un bizcocho control con un 100% de huevo.

EJEMPLO 2: Efecto de la combinación de fosfolipasa y proteína que no es de huevo

Se prepararon bizcochos como en el ejemplo 1, pero con fosfolipasa (Lecitase 10L) y diversas proteínas que no son de huevo.

Los siguientes resultados muestran el efecto de una combinación de fosfolipasa y proteína que no es de huevo sobre el volumen y la textura del bizcocho preparado con una reducción de huevo del 50% (tabla 2). Provabis es una proteína de soja; las otras proteínas sometidas a prueba son todas proteínas de suero lácteo.

La cantidad de proteína (material seco) añadida en % en peso de la masa era de un 1,87-2,35% para proteína de soja (correspondiente a todo el material seco del huevo sustituido) y un 0,935-1,175% para las otras proteínas (correspondiente al 50% del material seco del huevo sustituido).

Las proteínas que no son de huevo eran productos comerciales de los siguientes proveedores:

- Foamalac, Probake M, Carbelac 80 UHG: Carberry Group, Cork, Irlanda
- Hiprotal 45: Borculo Domo Ingredients, Países Bajos
- Lacprodan, Nutrilac BE-7602, Nutrilac BK-8310: Arla Foods Ingredients, Dinamarca

- Provabis: Cargill NV, Bélgica
- Hygel 8293, Hyfoama DSN: Kerry Bio-Science, Países Bajos

Tabla 2

5

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de fuente de proteína	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU/kg de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
				Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190		0	100	100	100	100	100	100	100
95		0	85	69	68	74	81	91	86
95		3750	94	82	97	82	88	91	98
95	Proteína de suero lácteo (Foamalac)	3750	97	101	94	94	95	100	103
95	Proteína de suero lácteo (Probake M)	3750	103	94	102	93	94	99	105
95	Proteína de suero lácteo (Carbelac 80 UHG)	3750	103	93	105	92	93	98	104
95	Na-caseinato	3750	103	86	105	89	95	92	100
95	Proteína de suero lácteo (Lacprodan)	3750	100	87	100	88	90	96	94
95	Proteína de suero lácteo (Hygel 8293)	3750	107	89	103	87	88	95	101
95	Proteína de suero lácteo (Hiprotal 45)	3750	103	86	100	86	91	95	96
95	Proteína de suero lácteo (Nutrilac BE-7602)	3750	97	87	95	88	90	97	101
95	Proteína de suero lácteo (Nutrilac BK-8310)	3750	94	84	87	88	88	99	103
95	Proteína de soja (Provabis)	3750	95	87	101	91	93	95	98

Los resultados (tabla 2) muestran que sustituyendo el 50% de los huevos y añadiendo una proteína que no es de huevo junto con una fosfolipasa era posible alcanzar el mismo volumen de bizcocho y/o el mismo nivel de cohesión y/o elasticidad tras 14 días que el control.

10

El 50% del huevo sustituido por harina dio como resultado una pérdida de volumen del 15% en comparación con el control.

Mediante la adición de Lecitase 10L se aumentó de nuevo el volumen en un 9%.

Con algunas de las proteínas que no son de huevo el volumen del bizcocho con un 50% de huevo se mejoró por encima del volumen del bizcocho control, mientras que otras proteínas también mostraron un aumento del volumen, pero no hasta el nivel del control.

La cohesión y la elasticidad eran generalmente comparables o incluso estaban por encima de los valores medidos para el control.

Se mejoró la esponjosidad mediante las proteínas que no son de huevo, pero permaneció por debajo de los valores medidos para el control el día 14.

Por tanto, la adición de proteína que no es de huevo junto con una fosfolipasa puede mejorar el volumen, la elasticidad y la cohesión de un bizcocho con un 50% de huevo y hacerlo comparable al control.

EJEMPLO 3: Efecto de la combinación de fosfolipasa y proteína que no es de huevo

Se prepararon bizcochos como en el ejemplo 1, pero con la adición de fosfolipasa y proteína que no es de huevo, sola o en combinación (tabla 3).

Tabla 3

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de fuente de proteína	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU/kg de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
				Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190		0	100	100	100	100	100	100	100
95		0	91	69	68	78	83	90	87
95		3750	100	82	94	80	88	89	95
95	Proteína de suero lácteo (Hiprotal 45)	0	91	74	77	83	89	91	86
95	Proteína de suero lácteo (Hiprotal 45)	3750	103	86	100	86	91	95	97
95	Proteína de suero lácteo (Carbelac 80UHG)	0	94	86	87	94	93	94	90
95	Proteína de suero lácteo (Carbelac 80UHG)	3750	103	92	107	92	92	96	104
95	Proteína de suero lácteo (Foamalac)	0	94	86	86	95	93	94	93
95	Proteína de suero lácteo (Foamalac)	3750	103	96	106	96	95	97	101

El efecto de la proteína que no es de huevo se ilustra en los datos en los que la adición de proteína que no es de huevo sola y en combinación con fosfolipasa se compara con un 50% de huevo en el que se ha sustituido el huevo por harina y con bizcochos con un 100% de huevo (= control).

5 Puede observarse claramente que la adición de proteína que no es de huevo sola proporciona sólo una ligera mejora en el volumen, mientras que cuando se combina con la Lecitase 10L el volumen es superior al control.

En este caso la cohesión y la elasticidad eran también comparables o estaban por encima de los valores medidos para el control el día 14.

10 La esponjosidad permanece por debajo del control el día 14.

EJEMPLO 4: Efecto de la combinación de fosfolipasa y proteína que no es de huevo:
proteína de trigo

15 Se prepararon bizcochos, tal como en el ejemplo 1, pero con fosfolipasa (Lecitase 10L) y diversas proteínas que no son de huevo, es decir proteínas de trigo (tablas 4a a 4d). Se ha añadido una cantidad sustancial de proteínas de trigo, de manera que la cantidad de proteína de trigo aumenta en al menos un 30% en comparación con la cantidad originalmente presente en la harina.

20 Los siguientes resultados muestran el efecto de una combinación de fosfolipasa y proteína que no es de huevo sobre el volumen y la textura del bizcocho preparado con una reducción de huevo del 50%. La cantidad de proteína (material seco) añadida en % en peso de la masa era de un 0,9067% y un 1,813% (correspondiente al 50% y al 100% respectivamente del material seco del huevo sustituido).

25 Las proteínas que no son de huevo eran productos comerciales de los siguientes proveedores:

- Prolite 100 y Prolite 200, ADM Speciality Food Ingredients, Keokuk, USA
- Meripro 420, Tate & Lyle Europe N.V., Bélgica
- 30 - Gemtec 2170, Manildra Group, Auburn, Australia
- HWG 2009, Loryma, Zwingenberg, Alemania
- Arise 5000, Midwest Grain Proteins, Atchison, Kansas, USA
- Amygluten 110, Tate & Lyle Europe N.V., Bélgica
- Super Gluten 75 y Super Gluten 80, ADM

- Glutastar EC75 y Glutastar EC80, Fiske Food Ingredients

Tabla 4a

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de proteína de trigo	Cantidad de proteína de trigo g/kg de masa	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU/kg de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
					Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190				100	100	100	100	100	100	100
95				88	73	70	74	74	90	91
95			3750	97	87	96	78	82	92	101
95	Prolite 100	9	3750	97	95	102	84	88	92	104
95	Prolite 100	18	3750	100	98	110	88	92	94	103
95	Prolite 200	9	3750	100	92	102	83	87	94	103
95	Prolite 200	18	3750	100	100	109	88	91	96	107
95	Meripro 420	9	3750	97	90	98	81	86	91	103

5

Tabla 4b

Cantidad de huevo g/kg masa de bizcocho	Tipo de proteína de trigo	Cantidad de proteína de trigo g/kg de masa	Dosificación de enzima (Lecitase 10L LEU de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
					Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190				100	100	100	100	100	100	100
95				90	69	63	77	74	91	90
95			3750	97	81	96	81	87	91	96
95	Meripro 420	9		93	80	75	87	86	92	91
95	Meripro 420	9	3750	100	89	101	85	89	94	98
95	Meripro 420	18		93	87	85	91	90	95	98
95	Meripro 420	18	3750	100	91	107	90	92	97	99

Tabla 4c

10

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de proteína de trigo	Cantidad de proteína de trigo g/kg de masa	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
					Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190				100	100	100	100	100	100	100
95				85	73	70	74	74	90	91
95			3750	94	87	96	78	82	92	101
95	HWG 2009	9		87	64	63	68	75	90	87
95	HWG 2009	9	3750	99	81	92	72	79	93	94
95	HGW 2009	18		87	64	61	66	73	90	90
95	HGW 2009	18	3750	97	83	95	73	82	92	93
95	Gemtec 2170	9		85	69	71	75	76	88	94
95	Gemtec 2170	9	3750	93	79	98	73	81	90	101

Tabla 4c (continuación)

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de proteína de trigo	Cantidad de proteína de trigo g/kg de masa	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
					Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
95	Gemtec 2170	18		90	77	75	83	81	89	94
95	Gemtec 2170	18	3750	93	89	103	86	86	95	101
95	Arise 5000	9		90	72	73	74	79	91	89
95	Arise 5000	9	3750	101	90	100	77	85	94	98
95	Arise 5000	18		92	82	79	81	85	92	92
95	Arise 5000	18	3750	100	95	107	87	91	97	98

5

Tabla 4d

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de proteína de trigo	Cantidad de proteína de trigo g/kg de masa	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
					Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7
190				100	100	100	100	100	100	100
95				90	81	85	90	87	66	78
95			2667	100	86	91	88	88	72	82
95	Super Gluten 75	9	2667	102	85	98	87	85	70	89
95	Super Gluten 80	9	2667	101	86	98	86	86	71	88
95	Meripro 420	9	2667	99	88	98	89	87	76	90
95	Glutastar EC75	9	2667	98	88	100	87	85	74	91
95	Glutastar EC80	9	2667	99	89	100	87	84	75	91

El efecto de la/las proteína(s) que no es/son de huevo se ilustra en los datos presentados en las tablas 4a a 4d en las que la adición de proteína(s) que no es/son de huevo sola(s) o en combinación con fosfolipasa se compara con formulaciones de un 50% de huevo en las que se ha sustituido el huevo por harina y con bizcochos con un 100% de huevo (= control).

Tabla 4a. Cuando se combina proteína de trigo y fosfolipasa (Lecitase 10L) en un bizcocho preparado con un 50% menos de huevo, puede recuperarse completamente el volumen del bizcocho preparado con un 100% de huevo. Cuando se añade Prolite 100 o Prolite 200 en combinación con fosfolipasa a formulaciones de un 50% de huevo pueden recuperarse o incluso aumentarse la cohesión y la elasticidad de la miga 14 días tras el horneado y se mejora la esponjosidad.

Tabla 4b. Meripro 420, cuando se añade solo, presenta sólo un ligero efecto positivo sobre el volumen del bizcocho preparado con un 50% menos de huevo. Puede recuperarse completamente el volumen del bizcocho preparado con un 100% de huevo

añadiendo una combinación de fosfolipasa y Meripro 420 a una formulación de un 50% de huevo. Se mejora sumamente la cohesión cuando se añade tanto fosfolipasa como Meripro 420.

Tabla 4c. Las proteínas de trigo sometidas a prueba, cuando se añaden solas, presentan sólo un ligero efecto positivo sobre el volumen. HWG2009 presenta un efecto positivo sobre el volumen pero no sobre las propiedades de textura del bizcocho preparado con un 50% de huevo y fosfolipasa. Gemtec 2170 no presenta efecto sobre el volumen del bizcocho preparado con un 50% de huevo y fosfolipasa sino un efecto positivo sobre la cohesión 14 días tras el horneado y la esponjosidad 1 y 14 días tras el horneado. Arise 5000 en combinación con fosfolipasa presenta un efecto positivo sobre el volumen y la cohesión del bizcocho con un 50% de huevo.

Tabla 4d. Cuando se añaden las proteínas de trigo: Meripro 420, Super Gluten 75, Super Gluten 80, Glutastar EC75 o Glutastar EC80 a una receta de bizcocho con un 50% de huevo que contiene Lecitase 10L, se aumentan significativamente (entre un 7 y 9%) la cohesión y la flexibilidad medidas 7 días tras el horneado cuando se comparan estos parámetros medidos 7 días tras el horneado de un bizcocho con un 50% de huevo que sólo contiene Lecitase 10L.

EJEMPLO 5: Efecto de la combinación de fosfolipasa y proteínas que no son de huevo: análisis sensorial

Se prepararon bizcochos como en el ejemplo 1, pero sin hidrocoloides y con fosfolipasa (Lecitase 10L) y dos proteínas diferentes que no son de huevo: Prolite 100 (ADM Speciality Food Ingredients, Keokuk, USA) y Meripro 420 (Tate & Lyle Europe N.V., Aalst, Bélgica).

Se sometieron cinco muestras de bizcocho diferentes a análisis sensorial por 29 sujetos.

1. bizcocho de referencia con un 100% de huevo.
2. bizcocho de referencia con un 50% de huevo y sustitución de huevo por harina y agua.
3. bizcocho de referencia con un 50% de huevo y sustitución de huevo por 3.750 LEU de lecitase 10L/kg de masa + 9 g/kg de masa de Meripro 420 + 9 g/kg de masa de

harina + agua.

4. bizcocho de referencia con un 50% de huevo y sustitución de huevo por 3.750 LEU de lecitase 10 L/kg de masa + 9 g/kg de masa de Prolite 100 + 9 g/kg de masa de harina + agua.
5. bizcocho de referencia con un 50% de huevo y sustitución de huevo por 3.750 LEU de lecitase 10L/kg de masa + 18 g/kg de masa de Meripro 420.

Se pidió a los sujetos que clasificasen los diferentes bizcochos según sus preferencias con el valor más alto para el bizcocho más apreciado y el valor más bajo para el bizcocho menos apreciado (tabla 5).

Tabla 5

	Bizcocho	Suma de clasificaciones
1	Referencia con un 100% de huevo	90,0
2	Referencia con un 50% de huevo	64,5
2	50% de huevo + lecitase + 9 g de Meripro 420/kg de masa	91,0
4	50% de huevo + lecitase + 9 g de Prolite 100/kg de masa	96,0
5	50% de huevo + lecitase + 18 g de Meripro 420/kg de masa	93,5

La suma de clasificaciones indica que el bizcocho preparado con sólo un 50% de huevo se aprecia menos y que los otros cuatro tipos de bizcocho se aprecian de igual manera.

EJEMPLO 6: Efecto de la combinación de fosfolipasa y proteína que no es de huevo: diferentes tipos de bizcochos

Se prepararon bizcochos con dos tipos diferentes de mezclas secas comerciales de Puratos (Bruselas, Bélgica): Tegral Satin Cream Cake y Tegral Allegro Cake y con fosfolipasa (Lecitase 10L) y Meripro 420 (Tate & Lyle Europe N.V., Aalst, Bélgica). La margarina añadida es Aristo Cake (Puratos, Bruselas, Bélgica). El aceite añadido es aceite de colza. Se prepara la masa y se hornean los bizcochos, tal como se describió en el ejemplo 1. La composición regular de las masas se facilita en la tabla 6.

Tabla 6: Composición regular de las masas

Tipo de mezcla seca	Mezcla seca (g)	Huevo líquido pasteurizado (g)	Grasa (g)	Agua (g)
Tegral Satin Cream Cake	1000	350	300 de aceite de colza	225
Tegral Allegro Cake	1000	500	500 de margarina	0

5 Los siguientes resultados muestran el efecto de una combinación de fosfolipasa y proteína(s) que no es/son de huevo sobre el volumen y la textura del bizcocho preparado con una reducción de huevo del 50% (tabla 7).

Tabla 7

Cantidad de huevo g/kg de masa de bizcocho	Tipo de bizcocho	Cantidad de Meripro 420 g/kg de masa	Dosificación de enzima (Lecitase 10L, LEU/kg de masa)	Volumen del bizcocho	Cohesión		Esponjosidad		Elasticidad	
					Día 1	Día 14	Día 1	Día 14	Día 1	Día 14
190	Tegral Satin Cream Cake			100	100	100	100	100	100	100
95	Tegral Satin Cream Cake			88	73	70	74	74	90	91
95	Tegral Satin Cream Cake	9	3750	97	89	101	85	89	94	98
250	Tegral Allegro Cake			100	100	100	100	100	100	100
125	Tegral Allegro Cake			80	65	63	78	82	93	92
125	Tegral Allegro Cake	12,5	3500	85	94	123	93	100	95	91

10

Se mejoraron el volumen y la textura del bizcocho en la receta con una reducción de huevo del 50% mediante la utilización de una combinación de proteína(s) que no es/son de huevo y fosfolipasa.

Reivindicaciones

1. Procedimiento de preparación de un bizcocho, que comprende:

- 5 a) preparar una masa de bizcocho mezclando ingredientes de masa de bizcocho, comprendiendo dichos ingredientes lecitina de huevo no tratada con fosfolipasa y fosfolipasa, y
- b) hornear la masa de bizcocho para preparar el bizcocho;

10 y en el que la lecitina de huevo está presente en una cantidad comprendida entre el 0,1 y el 1,5% de la masa.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la fosfolipasa es una fosfolipasa A2, particularmente una fosfolipasa pancreática de mamífero.

15 3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que la fosfolipasa se añade en una cantidad comprendida entre 500 y 20.000 LEU por kg de masa.

20 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la lecitina de huevo está presente en una cantidad comprendida entre el 0,2 y el 1,2%, preferentemente entre el 0,3 y el 0,9% de la masa.

25 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la masa de bizcocho comprende huevos enteros, particularmente en una cantidad comprendida entre el 5 y el 25%, preferentemente entre el 7 y el 20%, más preferentemente entre el 8 y el 15% en peso de la masa.

30 6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que se añade una proteína que no es de huevo aislada a la masa de bizcocho, particularmente en una cantidad comprendida entre el 0,1 y el 6% en peso de la masa.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, en el que la proteína que no es de

huevo comprende proteína de suero lácteo, proteína de trigo o proteína de soja.

8. Procedimiento según la reivindicación 7, en el que la proteína es una proteína modificada.

5

9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la masa comprende además un emulsionante, particularmente en una cantidad comprendida entre el 0,1 y el 1% de la masa.

10

10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la masa de bizcocho comprende además harina (particularmente, en una cantidad comprendida entre el 15 y el 30% en peso), azúcar (particularmente, en una cantidad comprendida entre el 15 y el 25% en peso), grasa vegetal (particularmente, en una cantidad comprendida entre el 5 y el 30% en peso) y emulsionante (0,1-1%).

15