



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 317 579**

51 Int. Cl.:

A23G 9/20 (2006.01)

A23G 1/52 (2006.01)

C07K 14/37 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06792078 .5**

96 Fecha de presentación : **13.09.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1926389**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.06.2008**

54 Título: **Productos aireados de pH bajo.**

30 Prioridad: **23.09.2005 EP 05255943**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2009

73 Titular/es: **Unilever N.V.**
Weena 455
3013 AL Rotterdam, NL

72 Inventor/es: **Aldred, Deborah, Lynne y**
Cox, Andrew, Richard

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 317 579 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).

ES 2 317 579 T3

DESCRIPCIÓN

Productos aireados de pH bajo.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones aireadas de pH bajo, tales como productos alimenticios, que incluyen hidrofobinas.

10 **Antecedentes de la invención**

Una amplia diversidad de productos alimenticios contienen gas introducido, tal como aire, nitrógeno y/o dióxido de carbono. Típicamente, los productos alimenticios aireados tienden a ser de un pH relativamente neutro, con un pH de aproximadamente 6,0 hasta 7,5. Los ejemplos de tales productos incluyen helados, coberturas batidas y nata batida.

15 La mayoría de los productos alimenticios comprenden proteínas y éstas son esenciales para la incorporación de burbujas de aire y su posterior estabilidad. Sin embargo, las proteínas lácteas en particular tienden a ser sensibles al pH. Es decir, su carga, sus interacciones y su conformación, pueden alterarse en función del pH. Esto afecta de manera adversa la capacidad de formar espuma y la estabilidad resultante de las espumas producidas usando proteínas, en particular para productos aireados de pH 5,4 e inferior. Esto es porque tanto la actividad de superficie como la solubilidad de muchas proteínas se reducen a medida que desciende el pH. Por ejemplo, el caseinato de sodio precipita a un pH de aproximadamente 4,6 hasta 4,8. Esto da como resultado una baja incorporación de aire y la inestabilidad resultante de los productos aireados.

25 Este hecho se ha descrito extensamente en la bibliografía y la producción de espumas estables a pH bajo es un problema conocido. Sin embargo, aunque existen rutas descritas en la técnica que facilitan la formación de productos alimenticios aireado a bajo pH, éstas tienden a tener limitaciones. Tales limitaciones se solucionan por medio de la presente invención. Por ejemplo, frecuentemente se adiciona gelatina como estabilizador, que espesa el producto y también ayuda en la estabilidad del aire. La mayoría de los productos de “crema aireada” se beneficia del uso de la gelatina. Sin embargo, la gelatina es un estabilizador de origen animal que muchos consumidores no consideran un ingrediente adecuado. Además, el uso de gelatina usualmente significa que el producto será “asentado”, es decir, no fluir. Esto significa hay una limitación con relación al tipo de productos que pueden producirse usando esta tecnología de formulación.

35 Otros procedimientos se benefician de otros sistemas emulsivos químicos tales como ésteres de sacarosa y/o variantes de mono-/di-glicéridos de ácidos grasos saturados. Aunque estas tecnologías de formulación no basadas en lácteos formarán productos aireables a pH bajo, con frecuencia se necesitan cantidades significativas de emulsivo para obtener una estabilidad prolongada (más de 3 semanas). Esto puede influir de manera indeseable en el sabor y en la textura. Además, las cantidades significativas de emulsivos químicos en los alimentos no son aceptables para los consumidores.

45 Idealmente, un agente de aireado adecuado será insensible al pH (en términos de su comportamiento de espumabilidad), será funcional a concentraciones bajas, de manera que no será evidente un impacto indeseable en el sabor ni en la textura, y podrá usarse para formar alimentos aireados en los que la espuma sea estable durante más de 3 semanas a baja temperatura o a temperatura ambiente.

Resumen de la invención

50 En la solicitud WO 06/010425 en trámite, del solicitante, los inventores han identificado proteínas fúngicas, denominadas hidrofobinas, que son muy eficaces para estabilizar productos alimenticios aireados. Los inventores han encontrado ahora sorprendentemente que pueden mezclarse bajas concentraciones de proteína hidrofobina (<0,5% en peso) con ácidos para formar disoluciones a pH bajo que pueden formar espuma fácilmente y que formarán espumas a bajas temperaturas y a temperatura ambiente que son estables durante más de 3 semanas. Como la hidrofobina no da lugar a la gelificación de la fase continua o a texturas indeseadas en la boca, esto significa que pueden prepararse espumas estables a pH bajo independientemente de la reología de la fase continua. Por consiguiente, los tipos de oportunidades de productos aireados son amplios, por ejemplo, batidos ácidos aireados y bebidas de té aireadas.

60 Estas oportunidades no están limitadas a productos alimenticios sino que pueden aplicarse a otras composiciones aireadas que tienen pH bajo.

Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5, cuya composición comprende hidrofobina.

En una forma de realización, la hidrofobina está en una forma sustancialmente aislada.

65 En una forma de realización de preferencia, la hidrofobina está presente en una cantidad de al menos 0,001% en peso, de más preferencia al menos 0,01% en peso.

ES 2 317 579 T3

De preferencia la hidrofobina es una hidrofobina de clase II.

La presente invención proporciona también el uso de una hidrofobina en un procedimiento para inhibir el engrosamiento de las burbujas en una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5.

5

En un aspecto relacionado la presente invención proporciona un procedimiento para inhibir el engrosamiento de las burbujas en una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5 cuyo procedimiento comprende añadir hidrofobina a la composición antes y/o durante la aireación en la composición.

10

La presente invención también proporciona el uso de una hidrofobina en un procedimiento para estabilizar una espuma en una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5.

15

En un aspecto relacionado la presente invención proporciona un procedimiento para estabilizar una espuma en una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5 cuyo procedimiento comprende añadir hidrofobina a la composición antes y/o durante la aireación en la composición.

Descripción detallada de la invención

20

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el usualmente reconocido por un experto en la técnica (por ejemplo, en la fabricación, química y biotecnología de confitería refrigerada/confitería congelada). Las definiciones y descripciones de diversos términos y técnicas usados en la fabricación de confitería refrigerada/congelada se encuentran en Ice Cream, 4^o Edición, Arbuckle (1986), Van Nostrand Reinhold Company Nueva York, NY. Las técnicas convencionales usadas para los procedimientos moleculares y bioquímicos pueden encontrarse en Sambrook, y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 25 3^o ed. (2001), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., y en Ausubel y col., Short Protocols in Molecular Biology, (1999), 4^o Ed., John Wiley & Sons, Inc., (y la versión completa titulada Current Protocols in Molecular Biology).

Hidrofobinas

30

Las hidrofobinas son una clase bien definida de proteínas (Wessels, 1997, Adv. Microb. Physio. 38: 1-45; Wosten, Annu. Rev. Microbiol. 55: 625-646) capaces de autoensamblarse a una interfase hidrófoba/hidrófila, y que tienen una secuencia conservada:

35

$X_n-C-X_{5-9}-C-C-X_{11-39}-C-X_{8-23}-C-X_{5-9}-C-C-X_{6-18}-C-X_m$ (SEC. ID N^o 1)

40

en la que X representa cualquier aminoácido, y n y m representan independientemente un número entero. Típicamente, una hidrofobina tiene una longitud de hasta 125 aminoácidos. Los restos cisteína (C) en la secuencia conservada son parte de puentes disulfuro. En el contexto de la presente invención, el término hidrofobina tiene un significado más amplio para incluir proteínas funcionalmente equivalentes que muestran aún la característica de autoensamble en una interfase hidrófoba-hidrófila que da como resultado una película de proteína, tal como proteínas que comprenden la secuencia:

45

$X_n-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-100}-C-X_{1-100}-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-50}-C-X_m$ (SEC. ID N^o 2)

50

o partes de las mismas que muestren aún la característica de autoensamble en una interfase hidrófoba-hidrófila que da como resultado una película de proteína. De acuerdo con la definición de la presente invención, el autoensamble puede detectarse por medio de la adsorción de la proteína a Teflón y usando el Dicroísmo Circular para establecer la presencia de una estructura secundaria (en general, una hélice α) (De Vocht y col., 1998, Biophys. J. 74: 2059-68).

55

La formación de una película puede establecerse incubando una lámina de Teflón en la disolución de proteína seguido por al menos tres lavados con agua o tampón (Wosten y col., 1994, Embo. J. 13: 5848-5854). La película de proteína puede visualizarse por cualquier procedimiento adecuado, tal como marcado con un marcador fluorescente o por medio del uso de anticuerpos fluorescentes, tal como está bien establecido en la técnica. m y n típicamente tienen valores que varían desde 0 hasta 2000, pero más usualmente m y n en total son inferiores a 100 ó 200. La definición de hidrofobina en el contexto de la presente invención incluye proteínas de fusión de una hidrofobina y otro polipéptido así como conjugados de hidrofobina y otras moléculas tales como polisacáridos.

60

Las hidrofobinas identificadas hasta la fecha se clasifican generalmente como de clase I o de clase II. Ambos tipos han sido identificados en hongos como proteínas secretadas que se autoensamblan en interfases hidrófobas dentro de películas anfipáticas. Los ensamblajes de hidrofobinas de clase I son relativamente insolubles, mientras que los de hidrofobinas de clase II se disuelven fácilmente en una diversidad de disolventes.

65

Se han identificado también proteínas análogas a hidrofobinas en bacterias filamentosas, tales como *Actinomycete* y *Streptomyces* sp. (documento WO 01/74864). Estas proteínas bacterianas, en contraste con las hidrofobinas fúngicas, forman únicamente hasta un solo puente disulfuro dado que tienen únicamente dos residuos cisteína. Tales proteínas son un ejemplo de equivalentes funcionales a las hidrofobinas que tienen las secuencias de consenso mostradas en las SEC. ID N^o 1 y 2, y que están dentro del ámbito de la presente invención.

ES 2 317 579 T3

Las hidrofobinas pueden obtenerse mediante extracción a partir de fuentes nativas, tales como hongos filamentosos, por medio de cualquier procedimiento adecuado. Por ejemplo, las hidrofobinas pueden obtenerse mediante el cultivo de hongos filamentosos que secretan la hidrofobina dentro del medio de crecimiento o mediante extracción a partir de micelios fúngicos con etanol al 60%. Resulta particularmente de preferencia aislar hidrofobinas a partir de organismos huéspedes que secretan hidrofobinas de manera natural. Los huéspedes de preferencia son hifomicetos (por ejemplo *Trichoderma*), basidiomicetos y ascomicetos. Los huéspedes particularmente de preferencia son organismos de calidad alimenticia, tales como *Cryphonectria parasitica*, que secreta una hidrofobina denominada criparina (MacCabe y Van Alfen, 1999, App. Environ. Microbiol 65: 5431-5435).

Como alternativa, las hidrofobinas pueden obtenerse mediante el uso de tecnología recombinante. Por ejemplo, pueden modificarse células huésped, típicamente microorganismos, para expresar hidrofobinas y, a continuación, las hidrofobinas pueden aislarse y usarse de acuerdo con la presente invención. Las técnicas para introducir las construcciones de ácido nucleico que codifican las hidrofobinas dentro de células huéspedes son bien conocidas en la técnica. Se han clonado más de 34 genes que codifican hidrofobinas, a partir de más de 16 especies fúngicas (véase, por ejemplo, el documento WO 96/41882, que proporciona la secuencia de hidrofobinas identificadas en *Agaricus bisporus*; y Wosten, 2001, Annu Rev. Microbiol. 55: 625-646). La tecnología recombinante puede usarse también para modificar secuencias de hidrofobina o para sintetizar nuevas hidrofobinas que tengan las propiedades deseadas/mejoradas.

Típicamente, una célula huésped u organismo adecuado se transforma mediante una construcción de ácido nucleico que codifica la hidrofobina deseada. La secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido puede insertarse dentro de un vector de expresión adecuado que codifica los elementos necesarios para la transcripción y traducción y de una manera tal que se expresarán bajo las condiciones adecuadas (por ejemplo, en la orientación adecuada y el marco de lectura correcto y con las secuencias de identificación y expresión adecuadas). Los procedimientos requeridos para construir estos vectores de expresión son bien conocidos para los expertos en la técnica.

Para expresar la secuencia que codifica el polipéptido puede usarse una serie de sistemas de expresión. Estos incluyen, pero no se limitan a, bacterias, hongos (incluidas levaduras), sistemas de células de insectos, sistemas de cultivo de células de plantas y plantas, todos ellos transformados con los vectores de expresión adecuados. Los huéspedes de preferencia son aquellos considerados como de calidad alimenticia - “generalmente considerados como seguros” (GRAS).

Las especies fúngicas adecuadas, incluyen levaduras tales como (pero no limitado a) las de los géneros *Saccharomyces*, *Cluyveromyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Schizo saccharomyces* y similares, y especies filamentosas tales como (pero no limitado a) las de los géneros *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Neurospora*, *Fusarium* y similares.

Las secuencias que codifican las hidrofobinas son de preferencia al menos 80% idénticas a nivel de aminoácidos a una hidrofobina identificada en la naturaleza, de más preferencia al menos 95% o 100% idénticas. Sin embargo, las personas expertas en la técnica pueden hacer sustituciones conservadoras u otros cambios de aminoácidos que no reduzcan la actividad biológica de la hidrofobina. Para el objeto de la invención, estas hidrofobinas que poseen este alto nivel de identidad con una hidrofobina que se produce de manera natural, están también incluidas dentro del término “hidrofobinas”.

Las hidrofobinas pueden purificarse a partir de medios de cultivo o de extractos celulares mediante, por ejemplo, el procedimiento descrito en el documento WO 01/57076 que implica adsorber de la hidrofobina presente en una disolución que contiene hidrofobina a la superficie y, a continuación, poner en contacto la superficie con un tensioactivo, tal como Tween 20, para eluir la hidrofobina de la superficie. Véase también, Colle y col., 2002, Biochim. Biophys Acta. 1569: 139-150; Calonje y col., 2002, Can. J. Microbiol. 48: 1030-1034; Askolin y col., 2001, Appl. Microbiol. Biotechnol. 57: 124-130; y De Vries y col., 1999, Eur. J. Biochem. 262: 377-385.

50 Composiciones aireadas de pH bajo

Por el término “composición de pH bajo”, se entiende cualquier composición en la que el pH de la fase acuosa es inferior a 5,5 durante parte o toda la vida útil del producto. De preferencia el pH es inferior a 5,4, 5,2 ó 5,0. Típicamente, el pH es igual o superior a 1,0, de preferencia 3,0 o más, tal como 4,0 o más. Típicamente, para un alimento aireado, un producto de pH bajo podría exhibir un pH de desde 3,0 hasta 5,4.

El término “aireado” significa que se ha incorporado gas intencionadamente dentro del producto, tal como por medios mecánicos. El gas puede ser cualquier gas, pero resulta de preferencia, en particular en el contexto de productos alimenticios, un gas de calidad alimenticia tal como aire, nitrógeno o dióxido de carbono. El grado de aireación se define típicamente en términos de “esponjamiento”. En el contexto de la presente invención, el % de esponjamiento se define en términos de volumen como:

$$((\text{volumen del producto final aireado} - \text{volumen de la mezcla}) / \text{volumen de la mezcla}) \times 100$$

La cantidad de esponjamiento presente en el producto variará dependiendo de las características del producto deseadas. Por ejemplo, el nivel de esponjamiento en un yogur congelado es típicamente desde aproximadamente 70 hasta 100%, y en productos de confitería tales como cremas aireadas el esponjamiento puede ser tan elevado como

ES 2 317 579 T3

del 200 hasta el 250% en peso. El nivel de esponjamiento en algunos productos refrigerados, productos de ambiente y productos calientes puede ser menor, pero generalmente superior al 10%, por ejemplo el nivel de esponjamiento en batidos lácteos es típicamente desde un 10 hasta un 40% en peso.

5 El nivel de esponjamiento en otros productos es de preferencia desde 100 hasta 800%.

No es necesario que la espuma sea homogénea dentro del producto. Sin embargo, en una forma de realización, la espuma es sustancialmente homogénea.

10 Las composiciones aireadas de la invención incluyen productos alimenticios aireados. Otras composiciones incluyen aquellas donde se requiere la espuma dentro de una fase continua de pH bajo que puede mantener su estabilidad durante todo el tiempo necesario de uso del producto.

15 De preferencia, una composición aireada de la invención retendrá al menos el 50% de su volumen de fase de aire original, de más preferencia el 75%, durante un período de al menos 3 semanas (típicamente medido tras el almacenamiento a temperaturas de refrigeración (ca. 5°C)). El esponjamiento no tiene que dispersarse de manera homogénea a través del producto.

20 De preferencia, el diámetro promedio de burbuja en la composición no cambiará apreciablemente durante un período de 3 semanas (típicamente medido tras el almacenamiento a temperaturas de refrigeración (ca. 5°C)) del tamaño promedio cuando se preparó inicialmente en el tiempo $t=0$. De preferencia, el diámetro promedio relativo de burbuja (d_r) cambiará menos que un factor de 2,5 durante un período de 3 semanas, y de más preferencia menos que un factor de 2. El diámetro relativo de burbuja (d_r) en el tiempo t es como se determina en los ejemplos a través de la ecuación:

25

$$d_r = \frac{d_t}{d_0}$$

30 Donde d_0 es el diámetro promedio inmediatamente después de la preparación, es decir $t = 0$, y d_t es el diámetro promedio de burbuja en el tiempo t .

35 Un procedimiento adecuado para medir cambios en el tamaño de burbuja y el volumen de espuma es usando una técnica de dispersión de luz. El sistema de medición Turbiscan TLab (Formulation, Francia) puede usarse convenientemente, que analiza tanto la luz retrodispersada como la luz transmitida de la muestra aireada de interés.

40 La espuma a analizar está contenida dentro de una celda de muestra cilíndrica (por ejemplo, con un diámetro de 25 mm, rellena con 20 ml de espuma). Se usa una fuente de luz de longitud de onda $\lambda = 880$ nm para suministrar la luz incidente, y dos sensores ópticos reciben la luz transmitida a través de la muestra (180° de la luz incidente) y la luz retrodispersada (45° de la luz incidente) de la muestra. En el modo de barrido, los sensores ópticos exploran la altura del tubo adquiriendo ambos datos, luz transmitida y retrodispersada, como una función de la altura de la muestra y del tiempo. Por consiguiente, el fenómeno de migración (tal como la formación de crema) y los cambios en el tamaño de partícula (tal como el tamaño de burbuja) pueden controlarse en el transcurso del tiempo. Pueden encontrarse teorías relevantes y ejemplos del uso del sistema de medición Turbiscan en: Mengual y col., Colloids and Surfaces A, 1999, 152, 112-123; Rouimi y col., Food Hydrocolloids, 2005, 19, 467-478. También pueden obtenerse
45 notas sobre la aplicación e información útil de la página web del fabricante: www.turbiscan.com.

50 Experimentalmente, los cambios de tamaño promedio de burbuja se observan mejor por las variaciones en la retrodispersión de la luz a través de un área de la muestra donde no se presentan otros cambios (tales como el colapso de espuma o la formación de crema de las burbujas). Aquí, se usaron las áreas centrales de la espuma. El nivel de retrodispersión (BS) está relacionado con el paso libre medio de transporte de fotones, λ^* , a través de la espuma por la relación:

55

$$BS = \frac{1}{(\lambda^*)^{1/2}}$$

λ^* depende de la fracción de volumen del gas, ϕ , y el diámetro medio de burbuja d a través de:

60

$$\lambda^* = \frac{2d}{3\phi(1-g)Q}$$

65 Q y g son ambos parámetros ópticos de la teoría de Mie, donde Q es el factor de eficacia de dispersión y g es un factor de asimetría. Para una espuma de volumen conocido de fracción de aire, el cambio en el diámetro promedio de burbuja puede controlarse en el transcurso del tiempo. Esto se calcula automáticamente a través del programa informático de Turbiscan.

Los parámetros exactos de medición que pueden usarse se establecen en los Ejemplos.

ES 2 317 579 T3

La estabilidad de la espuma (volumen de espuma en función del tiempo) y la extensión de formación de crema pueden también determinarse por medio de un procedimiento visual observando estos fenómenos en muestras de espumas en cilindros de medición. La formación de crema (por la flotabilidad de las burbujas de aire) es un proceso que da lugar a separación de fase vertical en el recipiente que da como resultado una gran proporción de burbujas cerca de la superficie superior y la depleción de burbujas en la parte inferior.

Productos alimenticios aireados

Los productos alimenticios aireados de la invención típicamente están incluidos dentro de uno de cuatro grupos - calientes, ambiente (es decir, productos almacenados y/o servidos a temperatura ambiente sin necesidad de refrigeración/congelación), refrigerados o congelados. El término "alimento" incluye bebidas. Los productos alimenticios aireados refrigerados incluyen batidos y té. Los productos alimenticios aireados congelados incluyen productos de confitería congelados tales como yogur congelado.

Los ácidos adecuados para uso en productos alimenticios de pH bajo de la invención incluyen, pero no se limitan a, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido málico, ácido glucónico y sus mezclas.

Los productos alimenticios pueden contener opcionalmente otros ingredientes tales como uno o más de los siguientes: otras proteínas tales como proteínas lácteas, ya sea como ingredientes puros o como ingredientes líquidos, por ejemplo, leche o crema; aceite o grasa, notablemente en la forma de una fase emulsionada; azúcares; sales; colorantes y aromas; emulsivos químicos, tales como monoglicéridos, té o café; purés/extractos/zumos de frutas o vegetales; estabilizadores o espesantes, tales como polisacáridos; conservantes; inclusiones, tales como nueces, frutas, caramelos. De preferencia, los productos alimenticios de la invención no contienen gelatina.

A continuación se presentan algunos ejemplos particulares de formas de realización de la presente invención:

En una forma de realización, el producto es una bebida aireada tal como un batido lácteo, un batido, una bebida carbonatada, cerveza o té donde se requiere una espuma a pH bajo y que mantiene la estabilidad a lo largo de la vida útil. En este caso, el esponjamiento del producto aireado puede ser de entre 5 y 300%, y de mayor preferencia entre 10 y 200%. No es necesario que el gas se disperse de manera homogénea en todo el producto.

En una segunda forma de realización, el producto es un alimento firme aireado tal como una crema aireada, tarta de queso, mermelada, coberturas o nata batida, donde se requiere una espuma a pH bajo y que mantiene la estabilidad a lo largo de la vida útil. En este caso, el esponjamiento de preferencia es de entre 50 y 400%.

En una tercera forma de realización, el producto es un postre congelado aireado tal como un sorbete, crema helada o yogur congelado, donde se requiere una espuma a pH bajo y que mantiene la estabilidad a lo largo de la vida útil. El esponjamiento de preferencia es de entre 50 y 300%.

De preferencia, el producto alimenticio aireado es un producto de confitería aireado.

La cantidad de hidrofobina presente en el producto variará generalmente dependiendo de la formulación del producto y del volumen de la fase de aire. Típicamente, el producto contendrá al menos 0,001% en peso de hidrofobina, de más preferencia al menos 0,005 ó 0,01% en peso. Típicamente el producto contendrá menos de 1% en peso de hidrofobina. La hidrofobina puede ser de una fuente única o de una pluralidad de fuentes, por ejemplo la hidrofobina puede ser una mezcla de dos o más polipéptidos de hidrofobina diferentes.

De preferencia la hidrofobina es una hidrofobina de clase II.

La presente invención también abarca composiciones para producir un producto alimenticio aireado de la invención, cuya composición comprende una hidrofobina. Tales composiciones incluyen premezclas líquidas, por ejemplo premezclas usadas en la producción de productos de confitería congelados, y mezclas secas, por ejemplo polvos, a los que se añade un líquido acuoso tal como leche o agua, antes o durante la aireación.

Las composiciones para producir un producto alimenticio aireado de la invención, comprenderán otros ingredientes, además de la hidrofobina, que normalmente se incluyen en el producto alimenticio, por ejemplo, azúcar, grasa, emulsivos, aromatizantes, etc.. Las composiciones pueden incluir todos los ingredientes restantes requeridos para obtener el producto alimenticio tal que la composición pueda procesarse fácilmente, es decir aireada, para formar un producto alimenticio aireado de la invención.

Las composiciones secas para producir un producto alimenticio aireado de la invención también comprenderán otros ingredientes, además de la hidrofobina, que se incluyen normalmente en el producto alimenticio, por ejemplo, azúcar, grasa, emulsivos, aromatizantes, etc. Las composiciones pueden incluir todos los ingredientes no líquidos restantes requeridos para obtener el producto alimenticio tal que el usuario necesite únicamente añadir un líquido acuoso, tal como agua o leche y la composición esté lista para procesarse para formar un producto alimenticio aireado de la invención. Estas composiciones secas, cuyos ejemplos incluyen polvos y gránulos, pueden diseñarse tanto para uso industrial como para uso al por menor, y pueden beneficiarse de una masa reducida y una caducidad más prolongada.

ES 2 317 579 T3

Las composiciones para producir un producto alimenticio aireado de la invención tendrán típicamente un pH inferior a 5,5, o en el caso de composiciones secas, formarán una composición que tendrá un pH inferior a 5,5 cuando se añada agua o leche para reconstituir el producto a su forma final usual.

5 La hidrofobina se añade en una forma y en una cantidad tal que esté disponible para estabilizar la fase de aire. Por el término “añadida”, se entiende que la hidrofobina se introduce deliberadamente dentro del producto con el objeto de aprovechar sus propiedades estabilizadoras de espuma. Por consiguiente, donde están presentes o se añaden ingredientes que contienen contaminantes fúngicos, que pueden contener polipéptidos de hidrofobina, esto no constituye la adición de hidrofobina dentro del contexto de la presente invención.

10 Típicamente, la hidrofobina se añade al producto en una forma tal que es capaz de autoensamblarse en una superficie aire-líquido.

15 Típicamente, la hidrofobina se añade a los productos o composiciones de la invención en una forma aislada, típicamente al menos parcialmente purificada, tal como al menos 10% pura, en base al peso de los sólidos. Por “añadida en forma aislada”, los autores dan a entender que la hidrofobina no se añade como parte de un organismo que se presenta de manera natural, tal como un champiñón, que expresa hidrofobinas de manera natural. En su lugar, la hidrofobina típicamente se habrá extraído de una fuente que se presenta de manera natural o bien se obtendrá mediante la expresión recombinante en un organismo huésped.

20 En una forma de realización, la hidrofobina se añade al producto en forma de monómero, dímero y/u oligómero (es decir constituida por 10 unidades monoméricas o menos). De preferencia, al menos el 50% en peso de la hidrofobina añadida está en al menos una de estas formas, de más preferencia al menos 75, 80, 85 ó 90% en peso. Una vez añadida, la hidrofobina típicamente experimentará el ensamble en la interfase aire/líquido y, por consiguiente, sería de esperar la disminución de la cantidad de monómero, dímero y oligómero.

En una forma de realización, la hidrofobina se añade a las composiciones aireadas de la invención en una forma asilada, típicamente al menos parcialmente purificada.

30 La hidrofobina añadida puede usarse para estabilizar la fase de aire en una composición aireada, generalmente al inhibir el engrosamiento de la burbuja, es decir, se ha encontrado que las hidrofobinas no solamente estabilizan el volumen de espuma sino también el tamaño de las burbujas dentro de la espuma.

35 La presente invención se describirá ahora además con referencia a los siguientes ejemplos que son sólo ilustrativos y no limitantes.

Descripción de las figuras

40 Figura 1: Diámetro promedio de las burbujas con relación a las del tiempo $t=0$ como una función del tiempo.

Figura 2: Espumas creadas usando HFBII al 0,1% y xantano al 0,5% a pH 3,5 y 5,2 (izquierda y derecha, respectivamente) y almacenadas a 5°C durante 3 semanas. Tras este período de tiempo, no se produjo pérdida de volumen de la espuma ni crecimiento visible de las burbujas.

45 Figura 3: Espumas creadas a pH 3,5 que contienen xantano al 0,5% y (izquierda) HFBII al 0,1% - 3 semanas de almacenamiento, (centro) LACTEM al 1,5% - 2 semanas de almacenamiento, y (derecha) hyfoama al 0,5% - 3 semanas de almacenamiento. Todas almacenadas a 5°C.

50 Figura 4: Foto de primer plano de espumas creadas a pH 3,5 que contienen xantano al 0,5% y (izquierda) HFBII al 0,1% - 3 semanas de almacenamiento, (derecha) LACTEM al 1,5% - 2 semanas de almacenamiento. Nótese que el ejemplo con HFBII muestra una espuma donde las burbujas no son visibles mientras que la espuma con LACTEM muestra burbujas visibles que han crecido durante el almacenamiento.

55 Figura 5: Diámetro promedio de las burbujas con relación a las del tiempo $t=0$ como una función del tiempo para espuma que contiene té verde.

Figura 6: Imágenes de SEM de la microestructura de sorbetes creados usando hygel al 0,2% y HFBII al 0,1%, frescos y tras almacenamiento a temperatura baja.

60 Figura 7: Imágenes de SEM de mayor aumento de la microestructura de sorbetes creados usando hygel al 0,2% y HFBII al 0,1%, tras almacenamiento a temperatura baja.

Figura 8: Fotografías de sorbetes creados usando hygel al 0,2% y HFBII al 0,1% tras someterlos 2 semanas a almacenamiento a temperatura baja.

65 Figura 9: Fotografías de un producto de batido de fruta aireado que contiene HFBII al 0,1% y xantano al 0,41% de preparación reciente (izquierda) y tras 3 semanas de almacenamiento a 5°C (derecha) que muestra ligera formación de crema o crecimiento de burbujas.

ES 2 317 579 T3

Figura 10: Fotografías de un producto de vinagreta aireado que contiene HFBII al 0,1% y xantano al 0,25% de preparación reciente (izquierda) y tras 3 semanas de almacenamiento a 5°C (derecha) que muestra ligera formación de crema o crecimiento de burbujas.

5 Ejemplo 1

Productos aireados de pH bajo

10 Se prepararon productos aireados que comprenden disoluciones que contienen un ácido, goma de xantano y uno de tres agentes de aireado (A-C) que se presentan a continuación.

A: Hyfoama DS

15 B: Éster de ácido láctico de monoglicérido (Grinsted Lactem P 22, LACTEM)

C: Hidrofobina (HFBII) de *Trichoderma reesei* (HFBII se obtuvo de VTT Biotechnology, Finlandia, purificada de *Trichoderma reesei* esencialmente como se describe en el documento WO00/58342 y en Linder y col., 2001, Biomacromolecules 2: 511-517).

20 Los detalles de los materiales usados se resumen en la Tabla 1 y las formulaciones a partir de las cuales se preparó cada una de las muestras de espuma se muestran en la Tabla 2 (Mezclas A a C).

25 Se añadió xantano a cada mezcla para evitar la formación de crema de la espuma. Esto permite el análisis completo del tamaño de burbujas como una función del tiempo sin la complicación de otros factores desestabilizadores tales como la formación de crema. En otras palabras, se está midiendo la estabilidad de las espumas para los mecanismos desestabilizadores tales como la desproporción y la coalescencia.

30 *Preparación de mezclas*

Para la Mezcla A se combinaron las proteínas y la goma de xantano y se añadió lentamente la mezcla en agua agitada a temperatura ambiente. Posteriormente se calentaron las disoluciones hasta 40°C para asegurar la disolución adecuada de las proteínas, con un tiempo de mezclado total de 30 minutos. Las mezclas se enfriaron y se almacenaron a 5°C hasta otro uso.

40 Para la Mezcla B se dispersaron Lactem y xantano en agua agitada a temperatura ambiente. Posteriormente se calentó esta dispersión hasta 60°C para asegurar la adecuada dispersión del Lactem, con un tiempo de mezclado total de 30 minutos. Las mezclas se enfriaron y se almacenaron a 5°C hasta otro uso.

45 Para la Mezcla C se añadió el xantano lentamente a agua fría con agitación y se agitó durante al menos 30 minutos para asegurar la completa hidratación del polímero. A continuación, se añadió la concentración requerida de HFBII como una alícuota. Posteriormente se sometió la disolución a sonicación en un baño sónico durante 30 segundos para disolver completamente la HFBII. La mezcla se enfrió y se almacenó a 5°C hasta otro uso.

50 TABLA 1

Materiales usados

Ingrediente	Composición	Proveedor
Hyfoama DS	proteína 65%	Quest
Grinsted Lactem P22 (éster de ácido láctico)	grasa 100% (Contenido de ácido láctico 20-25%)	Danisco
Hidrofobina HFB II	Purificado de <i>T. reesei</i>	VTT Biotechnology, Finlandia
Goma de xantano (Keltrol RD)	polisacárido	CP Kelco

ES 2 317 579 T3

TABLA 2

Formulaciones base usadas antes de la adición de ácido

	Mezcla A	Mezcla B	Mezcla C
Ingrediente	<i>Concentración / % en peso</i>		
Hyfoama DS	0,5	--	--
Lactem	--	1,5	--
HFB II	--	--	0,1
Goma de xantano	0,5	0,5	0,5
Agua	99,0	98,0	99,4

Procedimiento de aireación

Antes de la aireación se acidificaron las muestras hasta el pH deseado de 5,4 ó 3,5 usando una disolución de ácido cítrico al 10%. Éstas se resumen en la Tabla 3.

TABLA 3

pH de las mezclas tras la adición de ácido cítrico

Mezcla / Producto aireado	pH
A1 (a partir de la Mezcla A)	5,4
A2 (a partir de la Mezcla A)	3,5
B1 (a partir de la Mezcla B)	5,4
B2 (a partir de la Mezcla B)	3,5
C1 (a partir de la Mezcla C)	5,2
C2 (a partir de la Mezcla C)	3,5

Se cizallaron 80 ml de la mezcla acidificada usando un aparato de contenedor agitado durante un espacio de tiempo determinado correspondiente con la obtención de un 100% de esponjamiento. Este equipo está constituido por un recipiente de acero inoxidable encamisado, montado verticalmente, cilíndrico con proporciones internas de 105 mm de altura y 72 mm de diámetro.

El rotor usado para cizallar la muestra está constituido por un impulsor rectangular de las proporciones correctas para raspar la superficie interna del contenedor al girar (dimensiones: 72 mm x 41,5 mm). Además, unidas al rotor existen dos cuchillas semicirculares de alto cizallado (60 mm de diámetro) posicionadas a un ángulo de 45° con respecto a la unión rectangular. La velocidad fue de 1200 rpm y el recipiente de acero que contiene el rotor se enfrió hasta 5°C durante la aireación.

Tras la aireación, las muestras se almacenaron a 5°C en viales Turbiscan o en cilindros de medición de 100 ml antes de otro análisis.

Medición de la estabilidad de la espuma y de las burbujas

Se midió la estabilidad de la espuma y de las burbujas en la misma usando el Turbiscan TLab, cuyos detalles de operación se analizaron anteriormente. Esto permite la determinación de lo siguiente como una función del tiempo: (1) El volumen de espuma (es decir, medición de la pérdida total de fase de aire). (2) El tamaño promedio de las burbujas.

La espuma producida se dosificó en un tubo de muestra de vidrio Turbiscan hasta una altura de aproximadamente 42 mm, correspondiente a aproximadamente 20 ml de espuma. A continuación, el equipo explora y mide tanto la luz

ES 2 317 579 T3

retrodispersada como la transmitida entre la altura de 2 y 55 mm. Las mediciones se realizaron durante un período de varias semanas, dependiendo de la estabilidad de la espuma. Como los datos se recogen a través de toda la altura de la muestra, a partir de esto, los valores medios de los perfiles de retrodispersión entre límites definidos (altura inferior y superior) dan información específica con respecto a los cambios en la muestra en ese área, por ejemplo el tamaño de burbuja.

Tamaño de burbuja: A partir de los datos de retrodispersión medidos entre 20 y 30 mm, se calculó el tamaño promedio de burbuja automáticamente a partir de la luz retrodispersada. Se tomaron como índices refractivos los del agua y del aire. La fracción de volumen de la fase de aire de la espuma fue 0,5 (equivalente a 100% de esponjamiento). Aunque la fracción de volumen de la fase de aire de la espuma puede cambiar con el tiempo, particularmente si no es estable y tiene lugar la formación de crema, se encontró al tomar mediciones entre las alturas de la muestra de 20 y 30 mm se obtuvieron datos de tamaño fiables a menos que la espuma fuera inestable. Si la espuma era muy inestable, entonces era necesario tratar los datos de tamaño con precaución en un sentido cuantitativo pero podían compararse con los de otras espumas.

Resultados y discusión

Estabilidad en función del tiempo

En la Figura 1 se muestra el tamaño promedio de burbuja (con relación al medido en $t = 0$ minutos) medido para cada una de las mezclas espumadas en función del tiempo. Tanto a pH 3,5 como 5,2, HFBII forma una espuma en la que las burbujas permanecen mucho más estables que las espumas aireadas usando Hyfoama o Lactem. La espuma estabilizada por HFBII permaneció estable durante más de 3 semanas.

Además de significativo crecimiento de burbuja, las espumas creadas usando Hyfoama y Lactem colapsaron (perdieron volumen de fase de aire) en etapas tardías de su corta vida útil. En el caso de HFBII, no se perdió volumen de fase de aire medido del producto.

Las Figuras 2 y 3 muestran imágenes de espumas creadas usando HFBII, Lactem o Hyfoama como agente de incorporación de aire. La Figura 2 demuestra claramente que la espuma creada usando HFBII es muy estable tanto a pH 3,5 como a pH 5,4. Incluso tras 3 semanas de almacenamiento, no se observó colapso de la espuma ni crecimiento visible de burbuja.

Las Figuras 3 y 4 demuestran nuevamente la estabilidad de la espuma creada usando HFBII. La espuma producida usando Lactem a pH 3,4 muestra estabilidad razonable en términos de retención de volumen de la fase de aire, pero resulta claro que se ha producido significativo crecimiento de burbuja, como puede observarse en la foto de primer plano en la Figura 4 que muestra burbujas de aire visibles. En el caso de Hyfoama, se ha producido significativo crecimiento de burbuja, pero también se ha perdido volumen de la fase de aire.

Por consiguiente, resulta claro que la hidrofobina puede usarse para formar espumas muy estables en presencia de ácidos. Estas espumas retienen su volumen de fase de aire durante un período de 3 semanas refrigeradas, y el tamaño de burbuja no cambia significativamente durante ese tiempo.

Ejemplo 2

Producto aireado que contiene extracto de té

Preparación del producto aireado

Se preparó una mezcla que contenía extracto de té de la siguiente formulación. HFBII al 0,1%, xantano al 0,5%, polvo de té verde al 0,16%, y el agua restante. La mezcla se preparó de la siguiente manera: Se añadió el xantano y el polvo de té verde lentamente al agua fría con agitación y se agitó durante al menos 30 minutos para asegurar que la hidratación completa del polímero. A continuación, se añadió la concentración requerida de HFB II como una alícuota. Posteriormente se sonicó ligeramente la disolución en un baño sónico durante 30 segundos para disolver totalmente la HFB II. Se enfrió la mezcla y se almacenó a 5°C hasta uso posterior.

Antes de la incorporación de aire se acidificó la disolución hasta el pH deseado de 5,4 usando una disolución de ácido cítrico al 10% en peso. Posteriormente se incorporó aire a la mezcla hasta el 100% de esponjamiento usando el contenedor agitado de la misma manera como se describió para las mezclas en el Ejemplo 1. A continuación se almacenó la mezcla aireada a 5°C y se realizó el análisis de tamaño de burbuja y volumen de espuma en función del tiempo usando el Turbiscan con la misma configuración experimental descrita en el Ejemplo 1.

Resultados y discusión

En la Figura 5 se muestra la estabilidad de la espuma en términos de diámetro promedio de burbuja. Claramente, durante un período de tiempo existe un cambio mínimo en el tamaño de burbuja que indica que las burbujas son estables frente al cambio significativo. Además, el volumen total de espuma permaneció constante durante este período de tiempo.

ES 2 317 579 T3

Ejemplo 3

Sorbete de frutas aireado y congelado

5 Se produjeron dos sorbetes usando los ingredientes que se presentan en la Tabla 4. El Producto J se obtuvo usando la formulación de la Mezcla J, descrita en la Tabla 5. El agente estabilizador de aire en este producto era un agente de incorporación de aire disponible comercialmente llamado Hygel, una proteína hidrolizada de leche. El Producto K se obtuvo usando la formulación mostrada para la Mezcla K. La proteína estabilizadora de aire en este producto era hidrofobina, HFBII.

10

TABLA 4

Materiales usados

15

Ingrediente	Detalles y proveedor
Sacarosa	Tate and Lyle
LF9	Jarabe de maíz 63DE, C*Trusweet 017Y4, Cerestar, RU
Goma de xantano (Keltrol RD)	CPKelco
Ácido cítrico	Jungbunzlauer AG
Puré de fresa	SVZ International BV
Hidrofobina HFB II	Purificada de <i>Trichodrema reesei</i> , adquirida de VTT Biotechnology, Finlandia
Hygel 8293	Una proteína hidrolizada de leche, mínimo 80% de proteína, obtenido de Kerry Bioscience, RU.

35

TABLA 5

Formulaciones

40

Ingrediente	Mezcla J	Mezcla K
	Concentración / % en peso	
HFB II	0	0,1
Hygel	0,2	0
Goma de xantano	0,2	0,2
Ácido cítrico	0,2	0,2
Sacarosa	10,5	10,5
LF9	17,3	17,3
Puré de fresa	20,0	20,0
Agua	51,6	51,7

60

Preparación de Mezclas

65

Para la Mezcla J se añadieron todos los ingredientes al agua fría, se dispersaron usando un agitador magnético y se calentó hasta 80°C con mezclado continuo. La disolución se enfrió rápidamente hasta 5°C usando un baño de enfriamiento a -18°C. Para la Mezcla K, que comprende hidrofobina, se siguió el mismo procedimiento excepto que se

ES 2 317 579 T3

añadió la HFB II a la disolución fría como una alícuota. Las mezclas se almacenaron a 5°C antes de otro procesamiento. La medición del pH de la mezcla sin airear fue de pH 4.

Etapas de aireación y congelación

5 Se transfirieron 80 ml de mezcla fría al contenedor agitado (descrito en el Ejemplo 1) para airear y congelar. La congelación se alcanzó haciendo circular refrigerante a través de la camisa que rodea el contenedor agitado. La mezcla se aireó y se congeló para producir un producto de sorbete usando el siguiente régimen de cizallado y temperatura: 100 rpm durante 1 minuto, encendido de la circulación de refrigerante (a -18°C), a continuación 1000 rpm durante 10 2 minutos, posteriormente 300 rpm hasta que el torque alcanzó 1 Nm (esto se produjo a una temperatura del producto de -5°C). Se recogieron los sorbetes en recipientes adecuados que se habían enfriado hasta -20°C. Se midió el esponjamiento del Producto J que resultó de 113% y el esponjamiento del Producto K fue de 101%.

Regímenes de almacenamiento y exceso de temperatura

15 Los productos de sorbete se almacenaron posteriormente bajo dos regímenes de temperatura:

(a) Las muestras “recientes” se almacenaron a -80°C hasta su análisis (aproximadamente 1 semana). A -80°C no se presentaron cambios estructurales, de manera que la microestructura es esencialmente la misma que para una muestra reciente. 20

(b) Las muestras “almacenadas a temperatura baja” se almacenaron a -10°C durante 1 semana. Algunas muestras se almacenaron también durante otra semana a -10°C.

25 Tras el almacenamiento, los productos se analizaron por medio de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) así como por medio de inspección visual de la calidad general del producto.

Microscopía Electrónica de Barrido

30 La microestructura de cada producto se visualizó usando Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de Baja Temperatura. Para preparar las muestras para microscopía, se enfrió la muestra a -80°C sobre hielo seco y se cortó una sección. Esta sección, de aproximadamente 6 mm x 6 mm x 10 mm de tamaño, se montó en un soporte de muestras usando un compuesto Tissue Tek: OCT™ (11% de PVA, 5% de Carbowax y 85% de componentes no reactivos). La muestra, incluido el soporte, se sumergió dentro del aguanieve de nitrógeno líquido y se transfirió a una cámara de preparación de baja temperatura (Oxford Instrument CT 1500HF) mantenida bajo vacío de, aproximadamente, 10⁻⁴ 35 milibares. La muestra se fracturó dentro de la cámara usando una hoja de bisturí. La muestra se calentó posteriormente hasta -90°C durante aproximadamente 60 a 90 segundos para provocar la lenta sublimación del hielo para revelar detalles de la superficie. A continuación la muestra se enfrió hasta -110°C para finalizar la sublimación. La muestra se recubrió a continuación con oro usando plasma de argón. Este procedimiento también se llevó a cabo bajo vacío con una presión aplicada de 10⁻¹ milibares y una corriente de 6 miliamperios durante 45 segundos. A continuación se transfirió la muestra a un Microscopio Electrónico de Barrido convencional (JSM 5600), provisto de un portaobjetos frío de Oxford Instruments a una temperatura de -150°C. La muestra se examinó y las áreas de interés se capturaron mediante un programa informático de adquisición de imágenes digitales. 40

Resultados

45 La Figura 6 muestra imágenes de SEM de las microestructuras de: (izquierda) producto J, el producto comparativo; y (derecha) producto K, según la invención. Las imágenes superiores muestran los productos recientes y las inferiores muestran los productos almacenados a temperatura baja.

50 Los productos recientes tienen microestructuras similares con burbujas de aire pequeñas, esféricas. Sin embargo, tras almacenar a temperatura baja el producto comparativo J muestra grandes canales de aire y muy pocas celdas de aire diferenciadas, indicando que ha tenido lugar importante coalescencia de burbujas. El producto K según la invención (es decir, que contiene hidrofobina) muestra mucho menos coalescencia y formación de canales de la fase de aire y retiene un mayor número de burbujas pequeñas diferenciadas. 55

La Figura 7 muestra la microestructura de las muestras sometidas a exceso de temperatura a un aumento mayor. El Sorbete K muestra la presencia de pequeñas burbujas de aire (con un diámetro inferior a 100 μm) donde el Sorbete J no las presenta. 60

La Figura 8 muestra una fotografía de un producto de sorbete comparativo (J) y el producto de sorbete que comprende hidrofobina (K) tras el almacenamiento a temperatura baja durante 2 semanas. El Sorbete J es más oscuro que el Sorbete K por el aumento en el tamaño de burbuja en la muestra. Además, el Sorbete J ha disminuido en volumen por pérdida de aire, donde el Sorbete K no lo ha hecho. 65

De estas imágenes resulta evidente que un sorbete de pH bajo que contiene hidrofobina (K) tiene una fase de aire sustancialmente más estable que un sorbete comparativo (J) que contiene una proteína de leche estabilizadora de aire convencional.

Ejemplo 4

Batido de frutas aireado

5 Se preparó un batido de frutas aireado usando una bebida Vie Shots™, producida por Unilever RU como una base de puré de frutas. El Vie Shot™ contenía: puré de plátano (28%), concentrado de zumo de naranja (26%), concentrado de zumo de zanahoria (23%), concentrado de zumo de calabaza (14%), pulpa de naranja (4%), concentrado de zumo de limón, concentrado de acerola (1,5%) y pectina de manzana. La medición del pH (a temperatura ambiente) fue de pH 4,17. Se añadió goma de xantano lentamente al puré de frutas con agitación, hasta una concentración de 0,5%
10 en peso. Esto se mezcló a continuación durante 20 minutos para permitir la completa hidratación de la goma de xantano. Se incorporó aire a un volumen conocido de una disolución de hidrofobina al 0,5% en peso hasta el 400% de esponjamiento usando un dispositivo aerolatte™ manual. Esto se añadió al puré de frutas para dar un producto de batido de frutas aireado con esponjamiento de aproximadamente 100%, una concentración total de hidrofobina de 0,1% en peso y una concentración total de xantano de aproximadamente 0,41% en peso. El producto de batido de
15 frutas aireado se almacenó a continuación a 5°C y se controló su estabilidad durante un período de tres semanas. La Figura 9 muestra que tras 3 semanas el producto de batido de frutas aireado mantuvo una fase de aire estable y que no se presentó significativo crecimiento de burbuja ni formación de crema.

Ejemplo 5

Aliño de vinagreta

Se preparó un aliño aireado usando Vinagreta Light Hellman's™ como base. La base contenía: agua, vinagre de alcohol, azúcar, almidón de patata modificado, ajo, sal, pimienta roja, conservante, perejil, pimienta negra, tomillo y colorante. La medición del pH (a temperatura ambiente) fue de pH 3,58. Se añadió lentamente goma de xantano a la
25 vinagreta con agitación, hasta una concentración de 0,3% en peso. A continuación se mezcló durante 20 minutos para permitir la hidratación completa de la goma de xantano. Se incorporó aire a un volumen conocido de una disolución de hidrofobina al 0,5% en peso hasta el 400% de esponjamiento usando un dispositivo aerolatte™ manual. Esto se añadió al aliño de vinagreta para dar un producto de aliño de vinagreta aireado con esponjamiento de aproximadamente 100%,
30 una concentración total de hidrofobina de 0,1% en peso y una concentración total de xantano de aproximadamente 0,25% en peso. El producto se almacenó a continuación a 5°C y se controló su estabilidad durante un período de tres semanas. La Figura 10 muestra que tras 3 semanas no hubo significativo colapso de espuma ni crecimiento de burbuja. Tampoco hubo aumento significativo de formación de crema. Por consiguiente, la hidrofobina es capaz de estabilizar una espuma de manera adecuada en un aliño de pH bajo para verter durante al menos 3 semanas.

35 Las diversas características y formas de realización de la presente invención, a las que se hace referencia en secciones individuales anteriormente se aplican, según resulte adecuado, a otras secciones, *mutatis mutandis*. Por consiguiente, las características especificadas en una sección pueden combinarse con las características especificadas en otras secciones, según resulte adecuado.

40 Todas las publicaciones mencionadas en la memoria descriptiva anterior se incorporan en este documento por referencia. Diversas modificaciones y variaciones de los procedimientos y productos descritos serán evidentes para los expertos en la técnica sin apartarse del ámbito de la invención. Aunque la invención se ha descrito en conexión con formas de realización de preferencia específicas, debe entenderse que la invención según se reivindica no debe limitarse excesivamente a tales formas de realización específicas. Por cierto, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención, que resultan evidentes para los expertos en la técnica en los campos relevantes, estén dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

50

55

60

65

ES 2 317 579 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5, cuya composición comprende al menos 0,001% en peso de hidrofobina.
2. Una composición aireada según la reivindicación 1 que comprende menos de 1% en peso de hidrofobina.
- 10 3. Una composición aireada según la reivindicación 1 o reivindicación 2 en la que la hidrofobina está en forma aislada.
4. Una composición aireada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la que la hidrofobina es una hidrofobina de clase II.
- 15 5. Una composición aireada según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes que es un producto alimenticio aireado.
6. Un producto alimenticio aireado según la reivindicación 5 que es un producto alimenticio refrigerado.
- 20 7. Una composición aireada según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes que tiene un pH de 3,0 a 5,4.
8. Una composición aireada según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes que tiene un pH de 3,0 a 5,0.
- 25 9. El uso de una hidrofobina en un procedimiento para inhibir el engrosamiento de las burbujas en una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5.
10. El uso de una hidrofobina en un procedimiento para estabilizar una espuma en una composición aireada que tiene un pH inferior a 5,5.

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig.1.

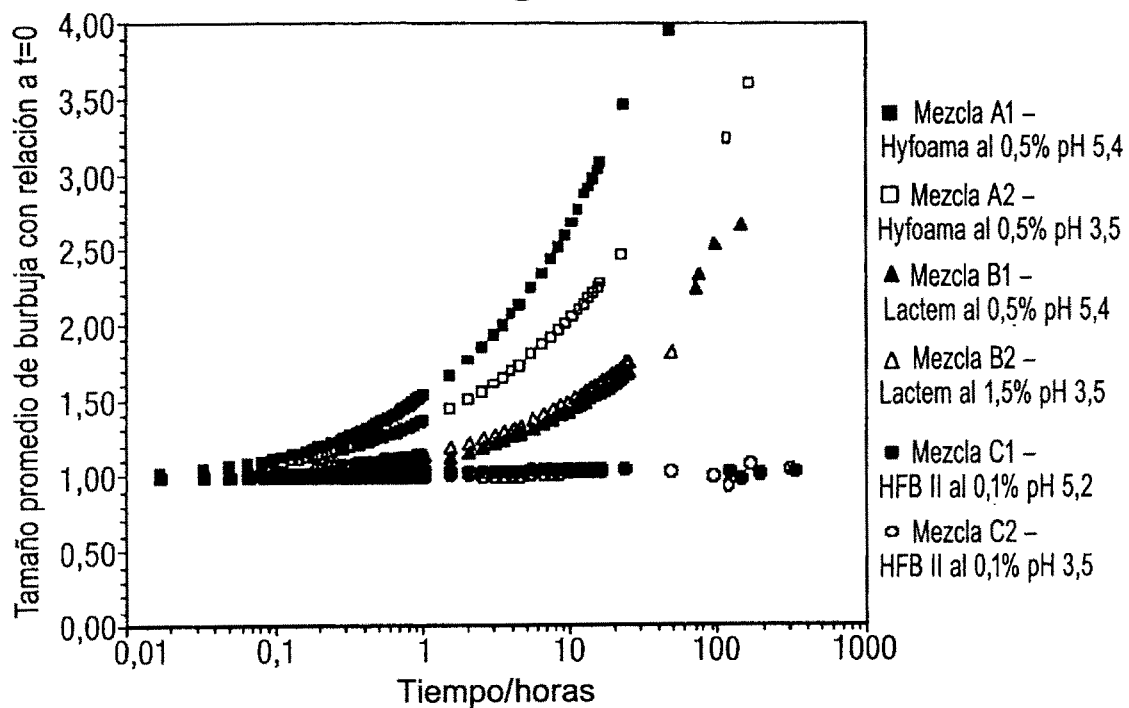


Fig.2.

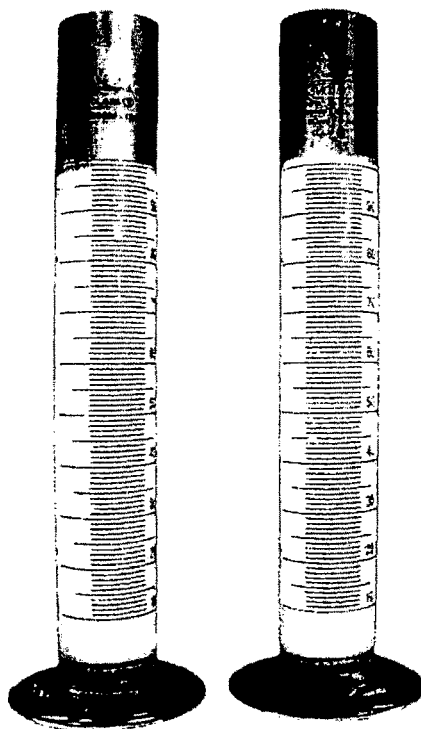


Fig.3.



Fig.5.

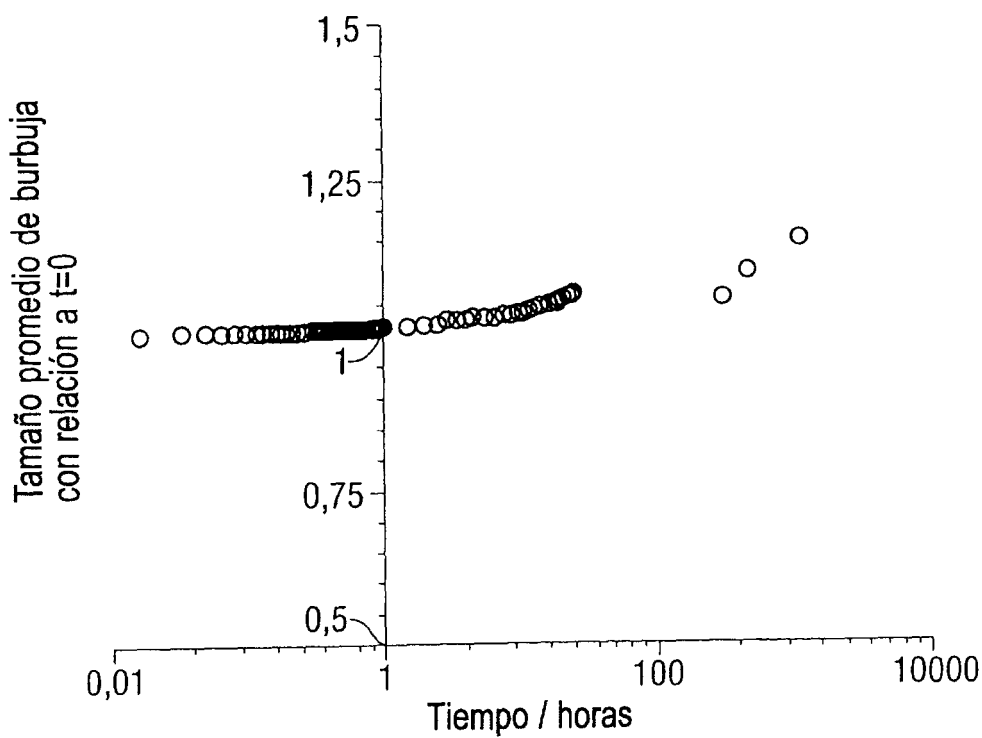


Fig.4.



Fig.6.

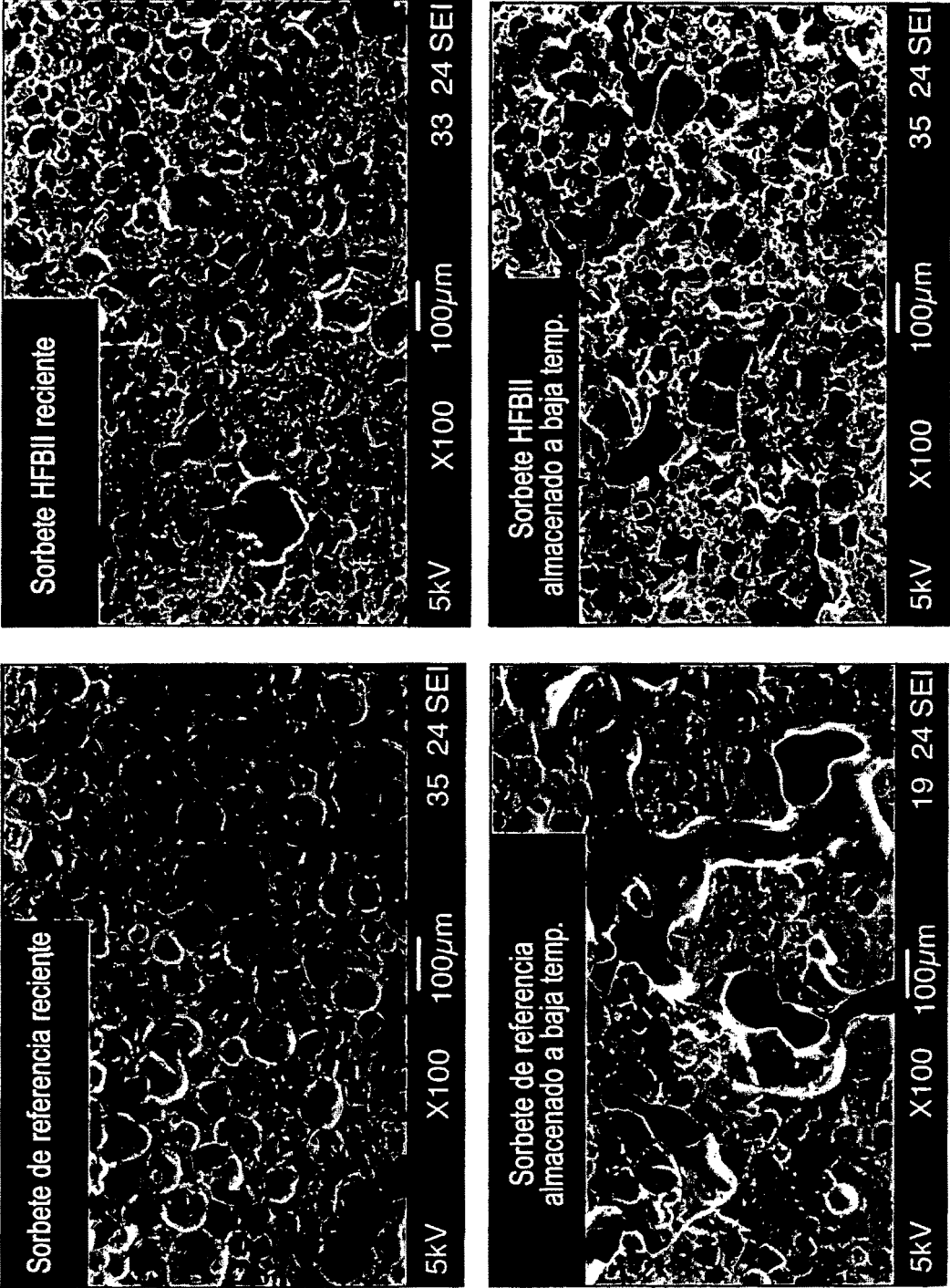


Fig.7.

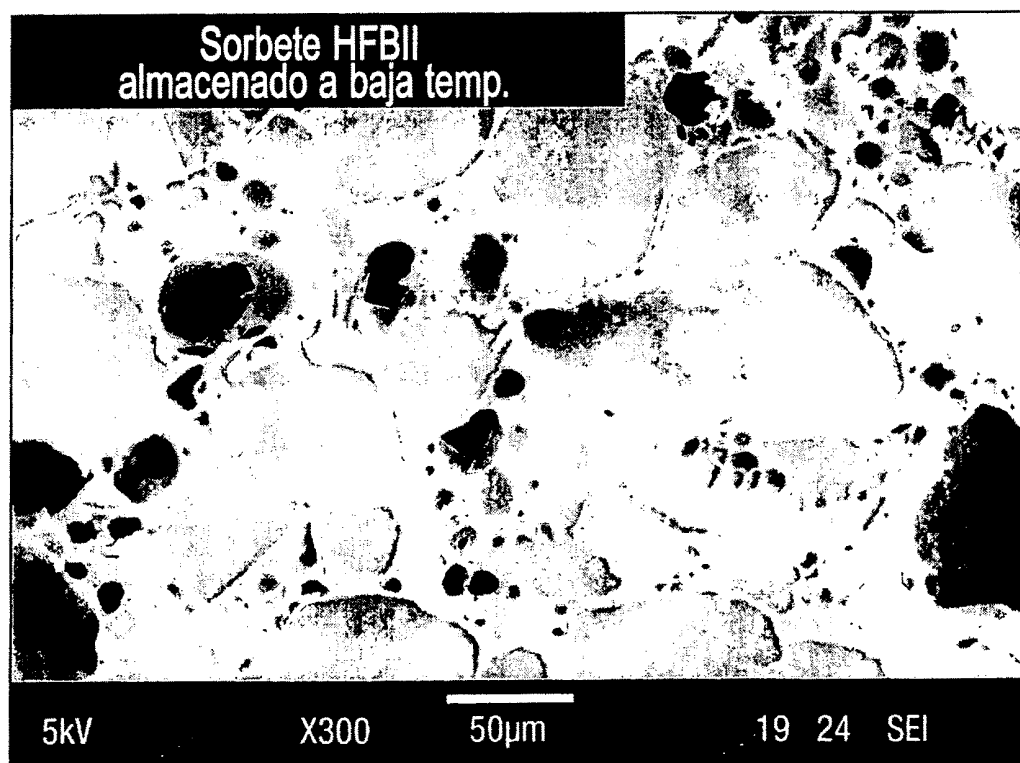
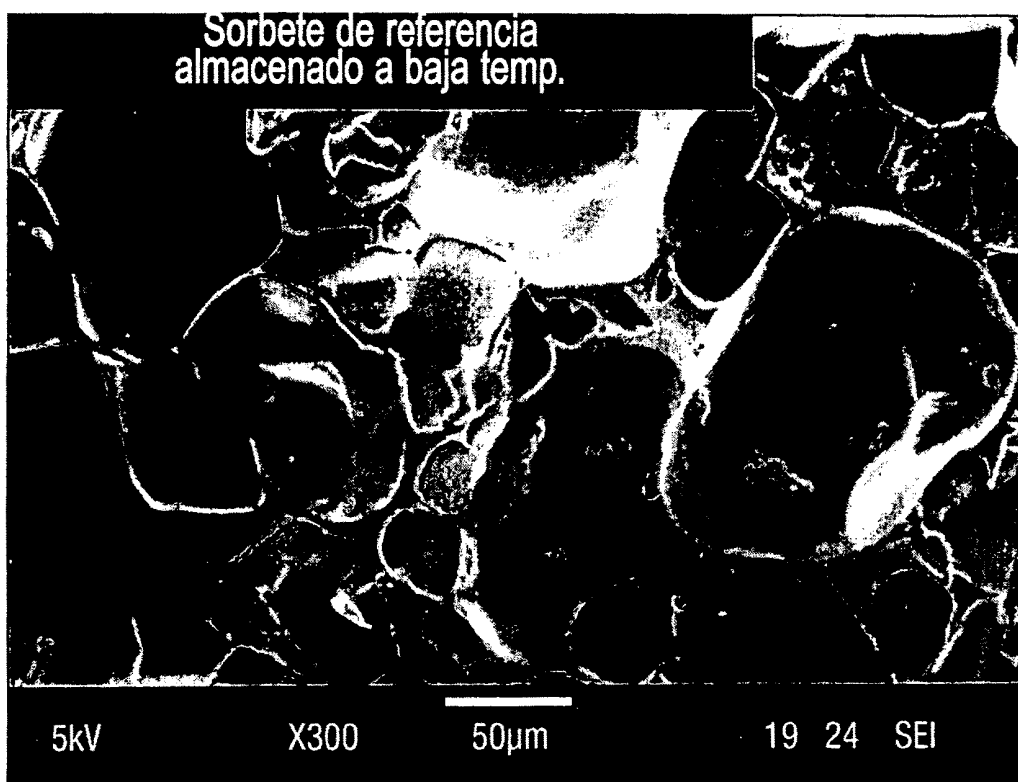
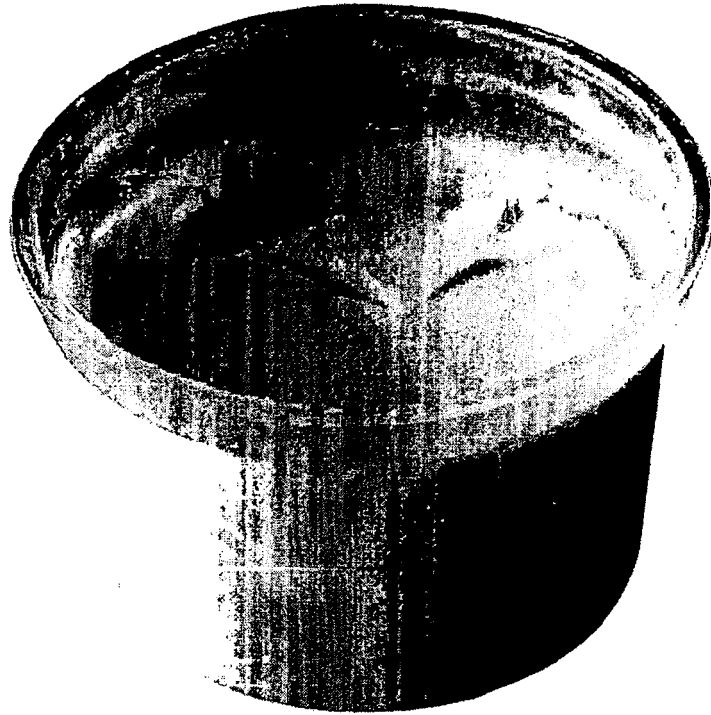
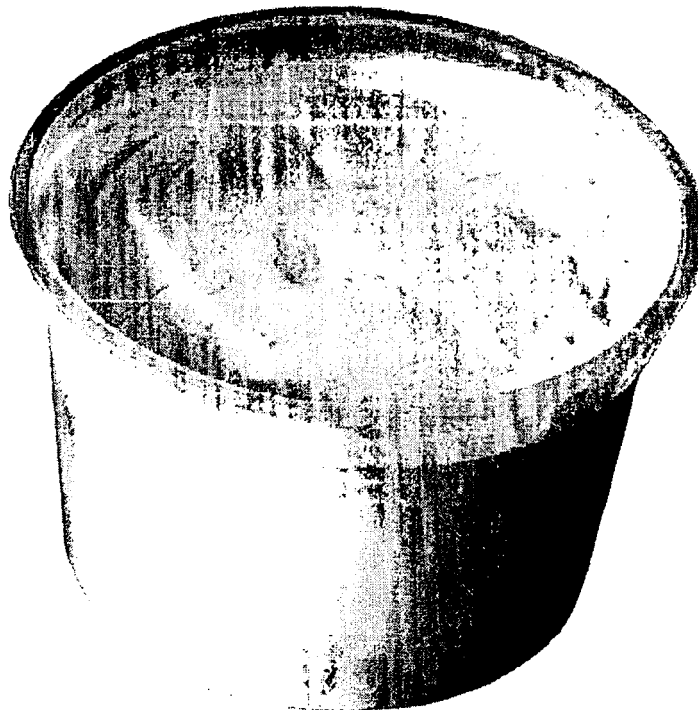


Fig.8.



Sorbete convencional
- almacenado a baja temp. 2 semanas



Sorbete con hidrofobina
- almacenado a baja temp. 2 semanas

