



(51) МПК  
*A23P 1/00* (2006.01)  
*A23D 7/005* (2006.01)  
*A23G 1/52* (2006.01)  
*A23L 1/305* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2008142349/13, 24.10.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 24.10.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
 25.10.2007 EP 07119262

(43) Дата публикации заявки: 27.04.2010 Бюл. № 12

(45) Опубликовано: 27.02.2013 Бюл. № 6

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
 поиске: EP 1623631 A, 08.02.2006. US 2007/0116848  
 A1, 24.05.2007. WO 2007/087968 A1, 09.08.2007.

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,  
 ООО "Юридическая фирма Городиский и  
 Партнеры"

(72) Автор(ы):

АЛДРЕД Дебора Линн (GB),  
 КРИЛЛИ Джеймс Франсис (IT),  
 ХОМАН Дженнифер Элизабет (GB)

(73) Патентообладатель(и):

УНИЛЕВЕР Н.В. (NL)

## (54) АЭРИРОВАННЫЕ ПРОДУКТЫ С НЕПРЕРЫВНОЙ ЖИРОВОЙ ФАЗОЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к пищевой промышленности и может быть использовано при производстве кондитерских изделий, соусов и пищевых масел и жиров. Способ может быть охарактеризован двумя вариантами. В первом варианте способ предусматривает аэрирование водной композиции для образования пены. Композиция содержит гидрофобии. Далее полученную пену смешивают с композицией с непрерывной жировой фазой. Если требуется,

смешанную композицию охлаждают. Во втором варианте способ предусматривает диспергирование газа в композиции с непрерывной жировой фазой. Композиция содержит гидрофобии. Если требуется, полученную композицию охлаждают. Изобретение позволяет получить аэрированные пищевые продукты с улучшенными свойствами, а именно: более мелкими и однородными пузырьками газа и более высокой степенью взбитости. 3 н. и 11 з.п. ф-лы, 4 ил., 6 табл., 6 пр.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A23P 1/00* (2006.01)  
*A23D 7/005* (2006.01)  
*A23G 1/52* (2006.01)  
*A23L 1/305* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2008142349/13, 24.10.2008**

(24) Effective date for property rights:  
**24.10.2008**

Priority:

(30) Convention priority:  
**25.10.2007 EP 07119262**

(43) Application published: **27.04.2010 Bull. 12**

(45) Date of publication: **27.02.2013 Bull. 6**

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3, OOO  
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**ALDRED Debora Linn (GB),  
KRILLI Dzhejms Fransis (IT),  
KhOMAN Dzhennifer Ehlizabet (GB)**

(73) Proprietor(s):

**UNILEVER N.V. (NL)**

**(54) AERATED PRODUCTS WITH UNINTERRUPTED FAT PHASE**

(57) Abstract:

FIELD: food industry.

SUBSTANCE: invention is related to food industry and may be used during production of confectionery products, sauces and food oils and fats. The method may be characterised by two versions. According to the first version, the method envisages a water composition aeration for foam formation. The composition contains hydrophobias. Then the formed foam is mixed with the composition with an uninterrupted fat phase. When requested, the

mixed composition is cooled. According to the second version, the method envisages gas dispersion in the composition with an uninterrupted fat phase. The composition contains hydrophobias. When requested, the produced composition is cooled.

EFFECT: invention allows to manufacture aerated food products with improved properties such as: smaller and more homogeneous gas bubbles and higher degree of overrun.

14 cl, 4 dwg, 6 tbl, 6 ex

Настоящее изобретение относится к продуктам с непрерывной жировой фазой, таким как шоколад и сливочное масло. В частности, настоящее изобретение относится к аэрированным («воздушным») пищевым продуктам с непрерывной жировой фазой и способам их получения.

5 Продукты с непрерывной жировой фазой, такие как шоколад, сливочное масло, маргарин, топленое масло, растительные масла, шортенинги, арахисовое масло, шоколадный намазываемый продукт и т.п., как правило, неаэрированы. Однако они также могут быть аэрированными для различных целей, например для смягчения  
10 и/или улучшения намазываемости, для изменения текстуры или изменения внешнего вида, например осветления или придания непрозрачности. Широко известным примером аэрированного шоколада является Aero™. В отличие от продуктов с непрерывной водной фазой, таких как муссы или мороженное, продукты с непрерывной жировой фазой сложны для аэрирования с получением высокой степени  
15 взбитости простым взбиванием в присутствии поверхностно-активного вещества, потому что воздух и жир гидрофобны.

Шоколад, как правило, аэрируют способом, в котором газ под давлением, например двуокись углерода, смешивают с расплавленным шоколадом. Затем  
20 давление сбрасывают, и пузырьки газа расширяются, образуя при этом аэрированный продукт. Затем аэрированный шоколад охлаждают для отверждения жира и сохранения аэрированной структуры. Этот способ известен в течение многих лет, например, из GB 459583 и EP 322952.

Аэрированное сливочное масло получают вбиванием воздуха в мягкое подогретое сливочное масло с последующим его охлаждением. В US 2937093 описывается способ  
25 получения аэрированного маргарина. Этот способ предусматривает комбинирование жидкого маргарина с инертным газом (например, азотом), охлаждение смеси, перемешивание охлажденной смеси под давлением с получением текучей массы и  
30 последующее сбрасывание давления.

В EP 285198 описываются пищевые пластифицированные продукты, такие как маргарин или шортенинг, включающие непрерывную жировую фазу и диспергированную газовую фазу, демонстрирующие улучшенное разбрызгивание при  
35 жарке. Продукт получают на линии, оснащенной скребковым теплообменником, и газ вводят в композицию в начале линии, при этом композиция все еще включает по существу некристаллизованный жир.

В US 5202147 описывается способ аэрирования арахисового масла, содержащий обработку расплавленной массы арахисового масла под давлением от около 200 до  
40 около 500 фунтов на квадратный дюйм, быстрое глубокое охлаждение массы до температуры от около 35°F до около 50°F, введение инертного газа в расплавленную массу и прохождение охлажденной массы через узкое отверстие.

Однако такие способы обработки являются комплексными и неудобными и, кроме того, часто в результате ведут к низкой взбитости и/или большим пузырькам воздуха.  
45 Следовательно, продолжает существовать необходимость в простом и улучшенном способе получения продуктов с непрерывной жировой фазой, в частности в способе, приводящем в результате к высокой взбитости и однородному размеру мелких пузырьков газа.

50 В EP A1 623631 авторы настоящего изобретения ранее установили, что грибковый белок, названный гидрофобин, позволяет получать водную пену с высокой устойчивостью к перераспределению и коалесценции. Однако в ней описаны только аэрированные продукты с непрерывной водной фазой. Поверхностно-активные

вещества/аэрирующие агенты, используемые для аэрирования продуктов с непрерывной водной фазой, как правило, неповерхностно-активны в неполярных растворителях, таких как жиры/масла. Авторы настоящего изобретения установили, что при использовании гидрофобина можно получить аэрированные продукты с непрерывной жировой фазой. В результате получают высокую степень взбитости, мелкие пузырьки газа с относительно однородным размером.

В первом аспекте настоящее изобретение относится к аэрированному продукту с непрерывной жировой фазой, содержащему гидрофобин.

Предпочтительно продукт представляет собой пищевой продукт, более предпочтительно пищевой продукт выбирают из шоколада, сливочного масла, маргарина, намазываемых продуктов с низким содержанием жира, кулинарных жиров и масел, шортенингов, арахисового масла и шоколадного намазываемого продукта.

Предпочтительно продукт включает, по меньшей мере, 0,001% гидрофобина.

Предпочтительно продукт включает не более 1% гидрофобина.

Предпочтительно гидрофобин находится в виде изолята.

Предпочтительно гидрофобин растворим в воде.

Предпочтительно гидрофобин представляет собой гидрофобин класса II.

Предпочтительно продукт имеет взбитость от около 5 до 150%, более предпочтительно от 10 до 120%, наиболее предпочтительно от 20 до 100%.

Предпочтительно, по меньшей мере, 50% пузырьков газа имеют диаметр менее 0,1 мм.

Кроме того, авторы настоящего изобретения установили, что использование гидрофобина, в частности, упрощает способ, который может быть использован для получения аэрированных продуктов с непрерывной жировой фазой с получением в результате высокой взбитости и однородных мелких пузырьков. Во втором аспекте настоящее изобретение относится к способу получения аэрированного продукта по первому аспекту настоящего изобретения, предусматривающему:

- а) аэрирование водной композиции, содержащей гидрофобин, с образованием пены;
- б) смешивание пены с композицией с непрерывной жировой фазой;
- с) возможно, охлаждение смешанной композиции.

В одном варианте настоящего изобретения пену сушат, например, распылительной сушкой или сублимируют перед смешиванием ее с композицией с непрерывной жировой фазой. Сушку проводят способом, при котором не происходит разрушение пены. Композиция с непрерывной жировой фазой должна быть достаточно мягкой или жидкой для того, чтобы пена могла быть смешана с ней. Затем проводят охлаждение для отверждения жира.

В третьем аспекте настоящее изобретение относится к альтернативному способу получения аэрированного продукта по первому аспекту настоящего изобретения, предусматривающему:

- а) диспергирование газа в композиции с непрерывной жировой фазой, содержащей гидрофобин;
- б) возможно, охлаждение смешанной композиции.

Композиция с непрерывной жировой фазой должна быть достаточно мягкой или жидкой для того, чтобы пена могла быть смешана с ней. Затем проводят охлаждение для отверждения жира.

В одном варианте настоящего изобретения стадии а) и б) проводят одновременно при приложении к композиции усилия сдвига, например, с использованием скербкового теплообменника или мешалки-кристаллизатора. Для обеспечения таким

образом композиции с непрерывной жировой фазой достаточной мягкости в момент смешивания ее с газом, чаще всего охлаждение проводят перед стадией а).

В другом варианте настоящего изобретения газ диспергируют в композиции с непрерывной жировой фазой под давлением, и затем давление сбрасывают.

В варианте второго и третьего аспектов по настоящему изобретению способ получения аэрированного продукта по первому аспекту настоящего изобретения включает:

а) получение эмульсии масло-в-воде;

б) охлаждение эмульсии при приложении усилия сдвига таким образом, что происходит инверсия фаз; и

с) аэрирование эмульсии во время стадии (а) или стадии (б).

Если не указано иное, все технические и научные термины использованы здесь в значении, общепринятом для специалиста в области техники, к которому относится настоящее изобретение. Определения и описания различных используемых терминов и технологий в пищевых системах с непрерывной жировой фазой приведены в Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6<sup>th</sup> Edition, Shahidi and Fereidoon (eds.) Vol 1-6, 2005, John Wiley & Sons. Используемые стандартные технологии для молекулярных и биохимических методов могут быть найдены в Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3<sup>th</sup> ed. (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. and Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology (1999) 4<sup>th</sup> Ed, John Wiley & Sons, Inc., и полная версия называется Current Protocols in Molecular Biology.

Все проценты, если не указано иное, относятся к процентам по весу, за исключением процентов, относящихся к взбитости.

### **Гидрофобины**

Гидрофобины - четко определенный класс белков (Weaels, 1997, Adv. Microb. Physio. 38: 1-45; Wosten, 2001, Annu Rev. Microbiol. 55: 625-646), способных к самоагрегации на границе раздела гидрофобной/гидрофильной поверхности, имеющих консервативную последовательность:

$$X_n-C-X_{5-9}-C-C-X_{11-39}-C-X_{8-23}-C-X_{5-9}-C-C-X_{6-18}-C-X_m \text{ (SEQ ID №1)}$$

Где X представляет собой любую аминокислоту и n и m независимо представляют собой целое число. Как правило, гидрофобин имеет длину вплоть до 125 аминокислот. Остатки цистеина (C) в консервативной последовательности являются частью дисульфидного мостика. В контексте настоящего изобретения термин гидрофобин имеет широкое значение, включающее функциональный эквивалент белков, способных к самоагрегации на границе раздела гидрофобной-гидрофильной поверхности с образованием в результате белковой пленки, таких как белки, включающие последовательность:

$$X_n-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-100}-C-X_{1-100}-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-50}-C-X_m \text{ (SEQ ID №2)}$$

или ее части, которые все еще обладают характеристикой самоагрегации на границе раздела гидрофобной-гидрофильной поверхности, с образованием в результате белковой пленки. В соответствии с определением настоящего изобретения самоагрегация может быть определена как адсорбция белка на тефлон с использованием кругового дихроизма для создания вторичной структуры (как правило,  $\alpha$ -геликс) (De Vocht et al., 1998, Biophys. J. 74: 2059-68).

Пленка может быть образована при выдерживании листа тефлона в белковом растворе с последующим, по меньшей мере, трехкратным промыванием водой или буфером (Wosten et al., 1994, Embo.J. 13: 5848-54). Белковая пленка может быть визуализирована любым подходящим способом, таким как флюорисцентная метка

или использованием флюорисцентных антител, хорошо известных из предшествующего уровня техники.  $m$  и  $n$  представляют собой целые числа, как правило, в пределах от 0 до 2000, но более предпочтительно  $m$  и  $n$  представляют собой целые числа менее 100 или 200. Определение гидрофобина в контексте настоящего изобретения включает слияние белка гидрофобина с другим полипептидом, а также с конъюгатами гидрофобина и другими молекулами, такими как полисахариды.

Гидрофобины, как правило, подразделяют на класс I или класс II. Оба типа выявлены в грибах как секреторные белки, самоагрегирующиеся на границе раздела гидрофобных-гидрофильных поверхностей в амфипатические пленки. Гидрофобины класса I, как правило, относительно не растворимы, в то время как гидрофобины класса II легко растворимы в различных растворителях. Предпочтительно гидрофобин представляет собой гидрофобин класса II. Предпочтительно гидрофобин растворим в воде, это означает, по меньшей мере, 0,1% растворимости в воде, предпочтительно, по меньшей мере, 0,5%. По меньшей мере, 0,1% растворимость в воде означает, что гидрофобин не осаждается при присутствии 0,1 г гидрофобина в 99,9 мл воды при центрифугировании 30000 g в течение 30 минут при температуре 20°C.

Гидрофобинподобные белки (например, «chaplins» (чаплины)) также идентифицированы в нитчатых бактериях, таких как *Actinomyces* и *Streptomyces* sp. (WO 01/74864; Talbot, 2003, Curr. Biol, 13:R696-R698). Эти бактериальные белки в отличие от грибковых гидрофобинов могут образовывать только один дисульфидный мостик, поскольку они могут иметь только два цистеиновых остатка. Такие белки являются примером функциональных эквивалентов гидрофобинов с консенсусными последовательностями, показанными в SEQ ID №1 и №2, и входят в объем настоящего изобретения.

Гидрофобины могут быть получены экстракцией любым подходящим способом из природных источников, таких как мицелиальные грибы. Например, гидрофобины могут быть получены культивированием мицелиальных грибов, которые секретируют гидрофобин в ростовую среду или могут быть экстрагированы из грибного мицелия 60% этанолом. Наиболее предпочтительно выделять гидрофобин из организма-хозяина, который изначально секретирует гидрофобины.

Предпочтительными хозяевами являются гифомицеты (например, триходерма), базидомицеты и аскомицеты. Наиболее предпочтительными хозяевами являются пищевые организмы, такие как *Cryphonectriapatasitica*, секретирующая гидрофобин, названный крипарином (MacCabe and Van Alfen, 1999, App. Environ. Microbiol 65: 5431-5435).

В качестве альтернативы гидрофобины могут быть получены при использовании рекомбинантной технологии. Например, клетка-хозяин, как правило микроорганизм, может быть модифицирована для экспрессии гидрофобинов, и затем гидрофобины могут быть выделены и использованы в соответствии с настоящим изобретением.

Технологии введения в клетку-хозяин конструкций нуклеиновой кислоты, кодирующей гидрофобины, хорошо известны из предшествующего уровня техники. Клонированы более 34 генов, кодирующих гидрофобины, из более чем 16 видов грибов (смотрите, например, WO96/41882, в которой приведены последовательности гидрофобинов, идентифицированные в *Agaricus bisporus*; и Wosten, 2001 Annu Rev. Microbiol. 55:625-646).

Рекомбинантная технология также может быть использована для модификации последовательностей гидрофобинов или синтеза новых гидрофобинов, обладающих желаемыми/улучшенными свойствами.

Как правило, подходящую клетку-хозяин или микроорганизм трансформируют конструкцией нуклеиновой кислоты, кодирующей желаемый гидрофобин. Нуклеотидная последовательность, кодирующая полипептид, может быть встроена в подходящий вектор экспрессии с необходимыми для транскрипции и трансляции элементами и таким образом может быть экспрессирована в подходящих условиях (например, в собственной ориентации с правильной рамкой считывания и подходящими целевыми и экспрессионными последовательностями). Эти способы требуют для конструирования векторы экспрессии, хорошо известные специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Может быть использовано множество экспрессионных систем для экспрессии последовательности, кодирующей полипептид. Такие экспрессионные системы включают, без ограничения, бактерии, грибки (включая дрожжи), клетки насекомого, клетки растений и все растения, трансформированные подходящими векторами экспрессии. Предпочтительными являются хозяева, относящиеся к пищевым, обычно «признанные полностью безопасными» (GRAS).

Подходящие виды грибков включают дрожжи, такие как (но не ограничиваются) рода *Saccharomyces*, *Kluyvermyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Candida*, *Schizo saccharomyces* и т.п., и нитчатые виды, такие как (но не ограничиваются) рода *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Neurospora*, *Fusarium* и т.п.

Последовательности, кодирующие гидрофобины, предпочтительно, по меньшей мере, на 80% идентичны природным последовательностям аминокислот, более предпочтительно идентичны, по меньшей мере, на 95% или 100%. Однако специалист в области техники, к которой относится настоящее изобретение, может сделать консервативные замены или другие изменения в аминокислотной последовательности, не снижающие биологической активности гидрофобина. Для целей настоящего изобретения эти гидрофобины получают с высоким уровнем идентичности природным гидрофобинам, также входящим в объем термина «гидрофобины».

Гидрофобины могут быть очищены от культуральной среды или клеточных экстрактов, например, способом, описанным в WO 01/57076, который включает адсорбцию гидрофобина, присутствующего в гидрофобинсодержащем растворе на поверхности с последующим контактированием поверхности с поверхностно-активным веществом, таким как Tween 20 для элюирования гидрофобина с поверхности. Смотрите также Collen et. Al., 2002, Biochim Biophys Acta. 1569: 139-50; Calonje et al., 2002, Can. J. Microbiol. 48:1030-4; Askolin et al., 2001, Appl Microbiol Biotechnol. 57:124-30; и De Vries et al., 1999, Eur J Biochem. 262: 377-85.

Количество гидрофобина, присутствующего в продукте, как правило, варьирует и зависит от состава и объема газовой фазы. Как правило, продукт содержит, по меньшей мере, 0,001 вес.% гидрофобина, более предпочтительно, по меньшей мере, 0,005 или 0,01 вес.%. Как правило, продукт содержит менее 1 вес.% гидрофобина, более предпочтительно менее 0,5 вес.%, например, около 0,1 вес.%. Гидрофобин может быть получен из единичного источника или из множества источников, например, смесь двух или более различных гидрофобинов.

Гидрофобин вводят в такой форме и количестве, чтобы стабилизировать газовую фазу, то есть гидрофобин специально вводят в продукт для придания стабилизирующих свойств пене. Следовательно, когда ингредиенты, содержащие грибковые загрязнения, которые могут содержать полипептиды гидрофобина, добавляются или содержатся в продукте, то это не является «добавлением гидрофобина» по изобретению.

Как правило, гидрофобин вводят в продукт по изобретению в виде изолята, обычно по меньшей мере частично очищенного, например по меньшей мере 10%-ной чистоты по сухому веществу. Термин «выделенная форма» означает, что гидрофобин не вводится как часть природного организма, такого как гриб, экспрессирующий гидрофобин. Вместо этого гидрофобин, как правило, экстрагируют из природного источника или получают рекомбинантой экспрессией в организме-хозяине.

### **Продукты с непрерывной жировой фазой**

Жиры, как правило, представляют собой триглицериды, то есть триэфиры глицерина и жирных кислот. Термин «жир» включает масла - жидкие при комнатной температуре наряду с жирами - твердыми при комнатной температуре.

Продукт с непрерывной жировой фазой представляет собой предпочтительно пищевой продукт, такой как шоколад, аналоги шоколада, шоколадный намазываемый продукт, сливочное масло, топленое масло, маргарины/намазываемые продукты, кулинарные жиры/масла для жарки, шортенинги, арахисовое масло и т.п. Жиры, используемые, как правило, в пищевых продуктах, включают кокосовое масло, пальмовое масло, пальмоядровое масло, масло какао, молочный жир, подсолнечное масло, оливковое масло, льняное масло, соевое масло, рапсовое масло, масло грецкого ореха, масло виноградной косточки, кунжутное масло, масло зародышей пшеницы, арахисовое масло, рыбий жир, масло горького миндаля, масло арбузных косточек, рисовое масло, масло земляного ореха, фисташковое масло, масло лесного ореха, маисовое масло и их смеси, фракции или гидрогенизаты.

Используемый здесь термин «шоколад» включает темный шоколад, белый шоколад, молочный шоколад; термин «аналог шоколада» относится к шоколадноподобным кондитерским композициям на основе жира, полученным из жиров, иных, чем какао-масло (например, эквиваленты какао-масла, коксовое масло или другие растительные масла). Шоколад и аналоги шоколада могут содержать какао-порошок, сухие вещества молока, сахар или другие подсластители и ароматизаторы.

Термины «маргарин» и «намазываемый продукт» относятся к различным многочисленным типам заменителей сливочного масла, состоящим из эмульсий вода в масле, полученных из растительных и/или животных жиров. Кроме того, в эмульсии маргарин/намазываемых продуктов может содержаться молочный белок, соль, эмульгаторы, красители, ароматизаторы и т.п. В объем этих терминов также входят смеси маргарина и сливочного масла и намазываемые продукты с низким содержанием жира с непрерывной жировой фазой, как правило, содержащие менее 40 вес.% жира.

Шортенинг представляет собой пищевой жировой продукт, как правило, содержащий вплоть до 100% жира, полученный из растительных и/или животных масел. Шортенинг используют при жарке, тепловой обработке, выпекании и как ингредиент наполнителей, глазурей и других кондитерских изделий.

Кроме гидрофобина и жира аэрированные пищевые продукты по настоящему изобретению могут содержать другие ингредиенты, традиционно присутствующие в пищевых продуктах, такие как сахара, соль, белки, фрукты и/или растительный материал, эмульгаторы, стабилизаторы, консерванты, красители, ароматизаторы и кислоты.

### **Аэрирование и взбитость**

Термин «аэрированный» означает, что газ специально вводят в продукт, например, механическими средствами. Газ может представлять собой любой газ, но

предпочтительно используемый для пищевых продуктов, пищевой газ, такой как воздух, азот, закись азота или двуокись углерода. Степень аэрирования измеряют как «взбитость», которую определяют как:

$$5 \quad \text{взбитость} = \frac{\text{вес неаэрированной смеси} - \text{вес аэрированного продукта}}{\text{вес аэрированного продукта}} \times 100,$$

где вес относится к фиксированному объему аэрированного продукта и неаэрированной смеси (из которой получен продукт). Взбитость измеряют при атмосферном давлении.

10 Предпочтительно пищевой продукт имеет взбитость по меньшей мере 5%, более предпочтительно по меньшей мере 10%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 20%. Предпочтительно пищевой продукт имеет максимальную взбитость 150%, более предпочтительно максимальную взбитость 120%, наиболее предпочтительно  
15 максимальную взбитость 100%. В одном варианте настоящего изобретения пищевой продукт представляет собой аэрированное сливочное масло, маргарин или намазываемый продукт, в таком случае взбитость предпочтительно составляет от 5 до 50%, более предпочтительно от 10 до 20%, например, около 15%. В другом  
20 варианте настоящего изобретения пищевой продукт представляет собой кулинарный жир, который аэрируют для снижения образования брызг, в таком случае взбитость предпочтительно составляет менее 10%, как правило, около 5%.

В одном варианте настоящего изобретения пузырьки газа настолько малы, что неразличимы невооруженным глазом. Это является преимуществом, поскольку нет  
25 явной видимости, что продукт аэрирован и имеет внешний вид как у аналогичного неаэрированного продукта, который может быть более предпочтительным для потребителя. (Аэрированные продукты, тем не менее, могут быть немного светлее или более непрозрачными из-за рассеяния света мелкими пузырьками.) Например, шоколад может быть аэрирован и, следовательно, имеет значительно более низкую  
30 калорийность на единицу объема, при этом будет иметь внешний вид, аналогичный внешнему виду неаэрированного шоколада. Предпочтительно, по меньшей мере, 50% пузырьков газа имеют диаметр менее 0,1 мм, более предпочтительно менее 0,05 мм (определен по стандартизированной кумулятивной частоте, как описано в примерах 1  
35 и 2 ниже).

Далее настоящее изобретение описывается со ссылкой на следующие иллюстрирующие, но не ограничивающие примеры и фигуры, где:

40 Фиг.1 - сканирующая электронная микроскопия микроструктуры (а) шоколада аэрированного пеной HFVII и (b) шоколада аэрированного пеной со взбивающим агентом Hugel.

Фиг.2 - фотографии структуры шоколада аэрированного двуокисью углерода: (а) шоколад; (b) шоколад с водой; (с) шоколад с раствором гидрофобина.

45 Фиг.3 - стандартизированная кумулятивная частота, как функция диаметра пузырьков аэрированного шоколада, приведенного на Фигурах 2(b) и (с).

Фиг.4 - фотографии (а) неаэрированного сливочного масла и (b) аэрированного сливочного масла, содержащего гидрофобин.

### Примеры

**Пример 1:** Шоколад, аэрированный введением пены.

50 Шоколад, имеющий состав, приведенный в Таблице 1, нагревали до 45°C.

Таблица 1	
Ингредиент	Количество (вес.%)

Сахар	39,5
Какао-масло	24,5
Какао-масса	21,0
Цельное сухое молоко	9,5
Сливочное масло	5,0
Лецитин	0,4
Ванилин	0,05

Гидрофобин HFBI, полученный от VTT Biotechnology, Finland. Его очищали от *Trichoderma reesei*, по существу как описано в WO 00/58342 и Linder et al., 2001, Biomacromolecules 2:511-517. 20 мл водного раствора 0,05% HFBI аэрировали до объема 50 мл с использованием ручного устройства для взбивания на батарееке Aerolatte (Aerolatte Ltd, Radlett Hertfordshire, UK). Ротор устройства для взбивания является проволочной спиралью в форме горизонтального круга с внешним диаметром 22 мм, вращающегося вокруг вертикальной оси через центр при скорости вращения около 12000 оборотов в минуту. Через 10 минут после взбивания из пены дренировали свободную воду, удаляя ее пипеткой для минимизации количества воды, попадающей в шоколад (известно, что введение даже небольшого количества воды оказывает негативное воздействие на текстуру шоколада). Сбивали с расплавленным шоколадом с использованием металлической лопаточки с получением 100 мл аэрированного шоколада.

Для сравнения аэрированный шоколад получали с использованием пены, стабилизированной традиционным пищевым взбивающим агентом Nugal (Kerry Foods, Ireland) вместо гидрофобина. Образец со взбивающим агентом Nugal получали тем же способом, за исключением того, что пену дренировали немедленно. 12,4 мл 0,8 вес.% раствора агента Nugal доводили до образования пены и смешивали с 50 мл расплавленного шоколада.

Взбитость определяли взвешиванием фиксированного объема неаэрированного и аэрированного шоколада. Аэрированный шоколад заливали в формы и отверждали при температуре -10°C в течение двух часов. Оценивали текстуру и внешний вид шоколада. Текстура обоих продуктов была мягкой без свойственной шоколаду хрупкости. Образец с Nugal имел крошливую текстуру, в то время как образец с гидрофобином имел трюфелеподобную текстуру, хотя он был крошливым, но с гладким внешним видом. Образец со взбивающим агентом Nugal имел относительно низкую взбитость, и некоторые пузырьки воздуха были видны невооруженным глазом. Образец с гидрофобином имел высокую взбитость, и пузырьки были слишком мелкими для того, чтобы быть видимыми. Результаты приведены в Таблице 2.

Образец	Взбитость	Текстура	Внешний вид
Пример HFBI	58,5%	трюфелеподобная	невидимые пузырьки воздуха
Контроль Nugal	15%	мягкая крошливая	некоторые пузырьки воздуха видны

Микроструктуру каждого продукта визуализировали с использованием низкотемпературной сканирующей электронной микроскопии. Каждый образец охлаждали до температуры -80°C на сухом льду, и отрезанный фрагмент размером около 5 мм×5 мм×10 мм помещали в держатель образца с использованием Tissue Тек: ОСТ™ состава (ПВС 11%, карбовакс 5% и неактивные компоненты 85%). Образец, включая держатель, помещали в жидкий азот и перемещали в низкотемпературную камеру (Oxford Instruments CT 1500HF). Камера находилась под вакуумом около 10<sup>-4</sup>

бар. Образец нагревали до температуры  $-90^{\circ}\text{C}$  в течение от 60 до 90 секунд, затем охлаждали до температуры  $-110^{\circ}\text{C}$  и покрывали золотом с использованием плазмы аргона, наносили под давлением  $10^{-1}$  милибар и переменным током 6 миллиампер в течение 45 секунд. Затем образец помещали в сканирующий электронный микроскоп (JSM 5600), оснащенный устройством Oxford Instruments, холодная стадия проводилась при температуре  $-160^{\circ}\text{C}$ . Образец исследовали и выборочные места оцифровывали с использованием программного обеспечения.

На Фиг. 1 приведены изображения, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии. Образец с гидрофобинном содержал множество мелких пузырьков воздуха (менее  $50\mu\text{m}$  в диаметре), в то время как образец с Nugel имел пузырьки в меньшем количестве большего размера. Пример 1 показал, что использование гидрофобина в результате позволяет получить большую степень взбитости и более мелкие пузырьки по сравнению с эквивалентом шоколада, полученного с использованием традиционного пищевого аэрирующего агента. Такая воздушная структура оказывает влияние на мягкость шоколада, придавая ему трюфелеподобную текстуру.

**Пример 2: Шоколад, аэрированный двуокисью углерода**

Шоколад (состав приведен выше в Таблице 1) при температуре  $45^{\circ}\text{C}$  заливали в 75 мл аэрозольные баллоны. 1 г водного раствора HFBI 100 мг/мл вводили в шоколад и смешивали с ним. Для сравнения получали аэрозольные баллоны с шоколадом, содержащим 1 г чистой воды и только с шоколадом. Затем баллоны укупоривали, встряхивали, под давлением 4 бара вводили двуокись углерода и снова встряхивали. Баллоны с шоколадом, содержащим HFBI и воду, сравнивали и установили, что шоколад в них при встряхивании был более густым по сравнению с баллоном, содержащим чистый шоколад, что было ожидаемым, поскольку введение воды в шоколад увеличивает его вязкость. Баллоны хранили в течение ночи при температуре  $45^{\circ}\text{C}$  и повторно вводили двуокись углерода при 4 бар. Затем содержимое диспергировали через клапан (Precision Valve, Peterborough, UK; внутренний диаметр штока 4,8 мм с двумя отверстиями  $3,2\times 4,6$  мм, помещенного в стандартной 1-дюймовой чашке, и имеющего корпус с 4 щелями и хвостовым отверстием) в пластиковые емкости. Сбрасывание давления при открытии клапана вызывает расширение пузырьков газа, образуя аэрированный шоколад. Заполненные емкости сразу же помещали в скороморозильный аппарат с интенсивным движением воздуха и хранили в течение ночи при температуре  $-25^{\circ}\text{C}$ . После хранения образцы шоколада разламывали, исследовали и фотографировали структуру пузырьков газа.

Измеряли плотность шоколада. 2 литра воды ( $4^{\circ}\text{C}$ ) помещали в мерный стакан на весах. Затем весы тарировали. Кусочек шоколада (около 30 г) помещали на весы в другой мерный стакан и взвешивали ( $m_1$ ). Затем кусочек удерживали осторожно под водой, не касаясь стенок или дна, используя пинцет. По закону Архимеда разница между измерениями перед и после погружения ( $m_1 - m_2$ ) равна плотности воды, умноженной на объем вытесненной воды. Взбитость рассчитывали, как приведено выше (используемая плотность из приведенной выше формулы для расчета взбитости эквивалентна фиксированному объему). Измерения проводили в двух повторах и брали среднее значение. Результаты приведены в Таблице 3.

Таблица 3	
Образец	Взбитость (%)
Шоколад	57,2
Шоколад+вода	62,0

Как и предполагалось, в каждом случае шоколад был аэрирован газом до высокой степени взбитости (около 60%). Однако хотя взбитость была аналогичной, HFBI оказал существенное воздействие на размер и распределение пузырьков, как показано на Фиг. 2. В стандартном шоколаде размер распределения пузырьков имел большой разброс, и пузырьки стремились к поверхности. В шоколаде с водой пузырьки были несколько меньше и не стремились к поверхности, возможно благодаря повышенной вязкости шоколада. В шоколаде, содержащем HFBI, распределение размера пузырьков было наиболее однородным и наблюдалось некоторое количество очень маленьких пузырьков (хотя они были больше, чем в образце с гидрофобинном по Примеру 1).

Распределение размера пузырьков газа в образцах аэрированного шоколада, содержащего воду и раствор HFBI, определяли на Фиг. 2B и 2C соответственно, используя следующий способ. Сначала квалифицированный оператор (то есть хорошо знакомый с микроструктурой аэрированных систем) определял пузырьки и следы их контуров на цифровом изображении (то есть двухмерное представление трехмерной структуры), используя графический интерфейс пользователя. Размер пузырька рассчитывали по каждой границе, определенной оператором, как следующее. Максимальная площадь (A) пузырька определялась и умножалась на коэффициент пересчета, определяемый масштабом изображения. Диаметр пузырька определяли как эквивалент круглого диаметра d:

$$d = 2\sqrt{A/\pi}$$

Это представляет собой точное определение диаметра двухмерного поперечного сечения через правильную сферическую форму. Поскольку наибольшие пузырьки газа представляли собой приблизительно сферу, это позволило хорошо измерить размер. Распределение размера определяли построением гистограммы, состоящей из двух столбцов ширины W  $\mu\text{m}$ . В (j) представляет собой число пузырьков на единицу площади в  $j^{\text{ом}}$  столбце (то есть показатель диаметра  $j \times W$  к  $(j+1) \times W$ ). В (j) получали введением всех отдельные пузырьки газа с диаметром в пределах  $j \times W$  к  $(j+1) \times W$ . Распределение размера пузырьков описано в рамках стандартной кумулятивной частоты, то есть всего числа пузырьков с диаметром вплоть до данного размера, выраженного как фракция всего числа измеренных пузырьков. Определение размера и распределения может быть проведено автоматически на компьютере, например, с использованием программного обеспечения, такого как программное обеспечение MATLAB R2006a (Math Works, Inc).

На Фиг. 3 показаны результаты стандартизованных кумулятивных частот. Это показывает, что пузырьки, полученные при аэрировании шоколада гидрофобинном, мельче, чем в случаях, когда не использовали гидрофобин.

#### Пример 3: Аэрирование масла

Сливочное масло получали из сливок двойного сепарирования (40% жира, Dairy Crest Ingredients, UK) взбиванием при температуре 15-20°C. Это является причиной слипания жировых шариков и коалесценции, что в результате приводит к инверсии фазы в сливочное масло с непрерывной жировой фазой. Затем смесь фильтровали через плотную ткань и удаляли пахту. Получали мягкое пластичное масло, пластичность которого была достаточной для взбивания пены и получения аэрированного продукта.

Пену получали аэрированием 12 мл раствора HFBI 9,76 мг/мл до объема 80 мл,

используя устройство Aerollate. Половину этой пены (40 мл) смешивали с 72 г сливочного масла. Водную пену Nygel получали аэрированием 12,4 мл раствора Nygel 8 мг/мл до 60 мл, используя устройство Aerollate. Эту пену комбинировали с 76 г сливочного масла. Полученные в результате образцы помещали в емкости и отверждали в течение 1 недели при температуре 5°C и затем измеряли взбитость по Примеру 1. Также измеряли твердость аэрированных масел с использованием анализатора текстуры Brookfield LFRA Texture Analyser с конусом 45°, с диаметром основания конуса 30 мм. Конус вводили в продукт при скорости 2 мм/сек на глубину 10 мм и регистрировали пик нагрузки. Для сравнения также проводили измерения образца неаэрированного сливочного масла. Результаты приведены в Таблице 4.

Таблица 4		
Образец	Взбитость %	Пик твердости при 5°C (г)
Неаэрированное сливочное масло	0	>1000*
Сливочное масло+пена Nygel	0	>1000*
Сливочное масло+пена HFBI	30	531

\* то есть слишком твердое для измерения этим устройством

Сливочное масло, полученное с использованием пены Nygel имело нулевую взбитость (то есть воздух полностью вышел) и твердость, аналогичную неаэрированному сливочному маслу. Пена HFBI была достаточно стабильной для смешивания со сливочным маслом, хотя наблюдалась некоторая потеря взбитости. Полученный в результате продукт был по существу мягче, чем неаэрированное сливочное масло. При введении воздуха калорийность сливочного масла (на единицу объема) ниже на около одну треть. Пузырьки воздуха слишком малы для того, чтобы их можно было видеть невооруженным глазом, аэрированное сливочное масло было белее по сравнению с неаэрированным сливочным маслом, что указывает на присутствие большого числа мелких пузырьков. Фотографии неаэрированного сливочного масла и аэрированного сливочного масла, содержащего гидрофобин, показаны на Фиг. 4.

#### Пример 4: Аэрированные намазываемые продукты

Намазываемые продукты с непрерывной жировой фазой (маргарины) получали с использованием состава, приведенного в Таблице 5.

Таблица 5	
Ингредиент	Количество (вес.%)
Подсолнечное масло	58,50
Смесь твердых жиров	11,14
Лецитин	0,35
Насыщенные моноглицериды	0,03
Вода	28,80
Сухая сыворотка	0,80
Соль	0,31
Сорбат калия	0,05

Получали эмульсии. Смесь твердых жиров (40% отвержденного пальмового масла, 60% отвержденного пальмоядрового масла), лецитин и насыщенные моноглицериды растворяли в подсолнечном масле. Сухую сыворотку, соль и сорбат калия диспергировали в горячей воде и регулировали pH до 4,7 с использованием лимонной кислоты. Затем водную фазу вводили в жировую фазу и смешивали при высокой скорости в миксере Silverson в течение 10 минут для хорошего эмульгирования.

Эмульсию транспортировали в танк для предварительно смешивания, оснащенный рубашкой, и тщательно перемешивали. Из эмульсии получали намазываемые продукты с использованием двух различных способов.

Одну часть эмульсии пропускали через линии с маломощным скребковым теплообменником, состоящей из следующих устройств: HSC (высокоскоростной многолопастной миксер), А (скребковый теплообменник-SSHE), С (многолопастной миксер), А (SSHE). Начальное устройство С не охлаждается, но все последующие устройства охлаждали до температуры 5°C. Скорость всех устройств составила 1000 оборотов в минуту с производительностью 50 г/мин. Температура продукта на выходе составляла 15,7°C. Собирали образцы неаэрированного намазываемого продукта. Дополнительные набор образцов получали, смешивая в ручную вспененный водный раствор HFBI со намазываемым продуктом до достижения взбитости 15, 25 и 50% с конечной концентрацией HFBI 0,05%. Все образцы хранили охлажденными.

Вторую часть эмульсии пропускали через мини скребковый теплообменник (SSHE), что позволяло во время смешивания и охлаждения вводить воздух. Мини SSHE состояла из горизонтальной цилиндрической емкости, оснащенной рубашкой (рабочий объем 145 мл), охлаждаемой в качестве охладителя силиконовым маслом. Емкость содержала взбиватель, состоящий из двух скребков из нержавеющей стали, закрепленных на валу, который вращался вокруг оси емкости, таким образом скребки охлаждали внутреннюю поверхность емкости. Скребки располагались на одинаковом расстоянии от вала и свободно вращались. Фризер оснащен впускным/выпускным клапаном, сливным клапаном и датчиком температуры. Процесс проводили при следующих условиях: скорость потока эмульсии 30 мл/мин, скорость взбивателя 910 оборотов в минуту, температура рубашки 0°C и температура на выходе 6,2°C. Сначала собирали образцы, не содержащие воздух, затем воздух вводили со скоростью 20 мл/мин и собирали аэрированные образцы (взбитость 30%). Наконец в эмульсию вводили водный раствор HFBI с получением конечной концентрации 0,05% в продукте и собирали дополнительно аэрированные образцы (взбитость 33%). Твердость намазываемых продуктов измеряли по Примеру 3, но используя вместо конуса 6 мм цилиндр в качестве пробоотборника. Результаты приведены в Таблице 6.

Образец	Взбитость %	Пик нагрузки (г)
Скребковый теплообменник	0	145
Скребковый теплообменник+HFBI	25	74
Мини SSHE	0	177
Мини SSHE	30	108
Мини SSHE+HFBI	33	91

Таблица 6 показывает, что, как и предполагалось, введение воздуха смягчает намазываемый продукт. Намазываемые продукты, полученные в мини SSHE, были более твердыми, чем образцы из скребкового теплообменника, поскольку имели мелкодисперсное распределение капель воды. Сравнение образцов мини SSHE показало, что образец, содержащий HFBI, был более мягким по сравнению с образцом без HFBI. Это частично объясняется немного более высокой взбитостью образца с HFBI, но также частично за счет различий в воздушной структуре. Конфокальная микроскопия показывает, что пузырьки воздуха в образце с HFBI были более однородными. Образцы из мини SSHE намазывали на пергаментную бумагу и затем визуально оценивали. Образец, содержащий HFBI, имел более гладкую поверхность после намазывания по сравнению с аэрированным образцом без HFBI.

**Пример 5:** Аэрированный жидкий маргарин

Получали два водных раствора: первый содержал 0,25 вес.% НФВІІ и второй содержал 0,25 вес.% взбивающего агента Nugal. Пены получали аэрированием 100 мл каждого раствора до максимального объема воздушной фазы. Для этого сначала использовали ручной блендер Vamix, затем оптимизировали распределение пузырьков, используя ручное устройство Aero-latte. Затем пены дренировали для того, чтобы как можно меньше воды попало в готовый продукт. Пену НФВІІ дренировали через 30 минут, но для раствора с агентом Nugal потребовалось несколько минут.

Затем аэрированные жидкие маргарины получали осторожным смешиванием 34 мл каждой пены в 66 мл жидкого маргарина Blue Band (Unilever, UK) с получением продукта с конечной взбитостью 50%.

При введении в жидкий маргарин пены с агентом Nugal наблюдалась потеря некоторого объема воздушной фазы, что в результате привело к снижению конечного объема (~90мл), и были видны мелкие пузырьки воздуха в отличие от пены НФВІІ, хорошо вбитой в жидкий маргарин, где не наблюдалось потери воздуха. После хранения в течение пяти дней образец НФВІІ все еще не потерял в объеме.

**Пример 6:** Аэрированный темперированный шоколад

Две водные пены получали с использованием НФВІІ и Nugal по Примеру 5. Молочный шоколад (Cadbury`s Dairy milk) помещали в мерный стакан и осторожно нагревали на теплой водяной бане (55°C). Для равномерного расплавления шоколада осторожно перемешивали. Конечная температура составила около 30°C (то есть тепло достаточное для разжижения шоколада без плавления всего жира). 75 мл дренированной пены осторожно вбивали в 100 г порции расплавленного шоколада с получением гомогенной смеси. 30 мл пластиковые емкости наполняли образцами и охлаждали до комнатной температуры и поддерживали в темперированном состоянии.

При введении в шоколад пены с Nugal она разрушилась с потерей большей части воздушной фазы, что в результате снизило конечную взбитость только до 3,6%. В противоположность пена НФВІІ смешивалась с шоколадом равномерно, и конечная взбитость составила 16%.

Таким образом, Примеры с 1 по 6 показали, что аэрированные продукты с непрерывной жировой фазой, такие как шоколад, сливочное масло и намазываемые продукты могут быть успешно обработаны с использованием гидрофобина. Полученные в результате продукты имели улучшенные свойства (такие как более мелкие и/или более однородные пузырьки газа и/или более высокая взбитость) по сравнению с аэрированными продуктами без использования гидрофобина.

Различные признаки и варианты настоящего изобретения после внесения соответствующих изменений также входят в объем настоящего изобретения. Следовательно, признаки одного варианта настоящего изобретения могут быть скомбинированы с признаками другого варианта настоящего изобретения. Все публикации введены ссылкой в полном объеме. Специалисту в области техники, к которой относится настоящее изобретение, следует понимать, что различные модификации и варианты описанных способов и продуктов входят в объем настоящего изобретения. Хотя в описании настоящего изобретения приведены конкретные предпочтительные варианты его, формула изобретения не ограничивается этими вариантами. Различные модификации способов настоящего изобретения, очевидные для специалиста в области техники, к которой относится настоящее изобретение, также входят в объем настоящего изобретения, определенного в прилагаемой формуле изобретения.

## Формула изобретения

1. Аэрированный пищевой продукт с непрерывной жировой фазой, содержащий гидрофобин.

2. Продукт по п.1, выбранный из шоколада, сливочного масла, топленого масла, маргарина, намазываемых продуктов с низким содержанием жира, кулинарных жиров и масел, шортенинга, арахисового масла и шоколадного намазываемого продукта.

3. Продукт по п.1 или 2, содержащий по меньшей мере 0,001 вес.% гидрофобина.

4. Продукт по любому из пп.1-3, содержащий не более 1 вес.% гидрофобина.

5. Продукт по любому из пп.1-4, в котором гидрофобин находится в виде изолята.

6. Продукт по любому из пп.1-5, в котором гидрофобин растворим в воде.

7. Продукт по любому из пп.1-6, в котором гидрофобин представляет собой гидрофобин класса II.

8. Продукт по любому из пп.1-7, имеющий взбитость от 5 до 150%.

9. Продукт по любому из пп.1-8, в котором по меньшей мере 50% пузырьков газа имеют диаметр менее 0,1 мм.

10. Способ получения аэрированного пищевого продукта с непрерывной жировой фазой, содержащего гидрофобин, предусматривающий:

а) аэрирование водной композиции, содержащей гидрофобин, для образования пены;

б) смешивание пены с композицией с непрерывной жировой фазой;

с) возможно охлаждение смешанной композиции.

11. Способ по п.10, в котором пену сушат перед ее смешиванием с композицией с непрерывной жировой фазой.

12. Способ получения аэрированного пищевого продукта с непрерывной жировой фазой, содержащего гидрофобин, предусматривающий:

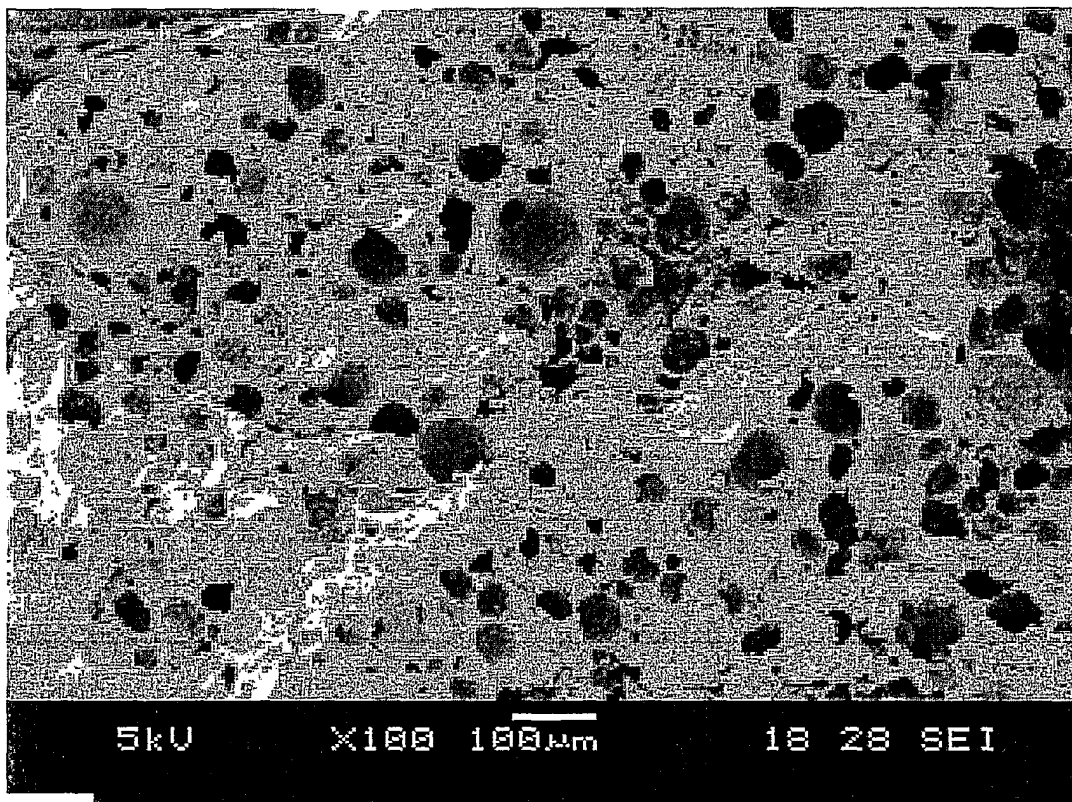
а) диспергирование газа в композиции с непрерывной жировой фазой, содержащей гидрофобин;

б) возможно охлаждение полученной в результате композиции.

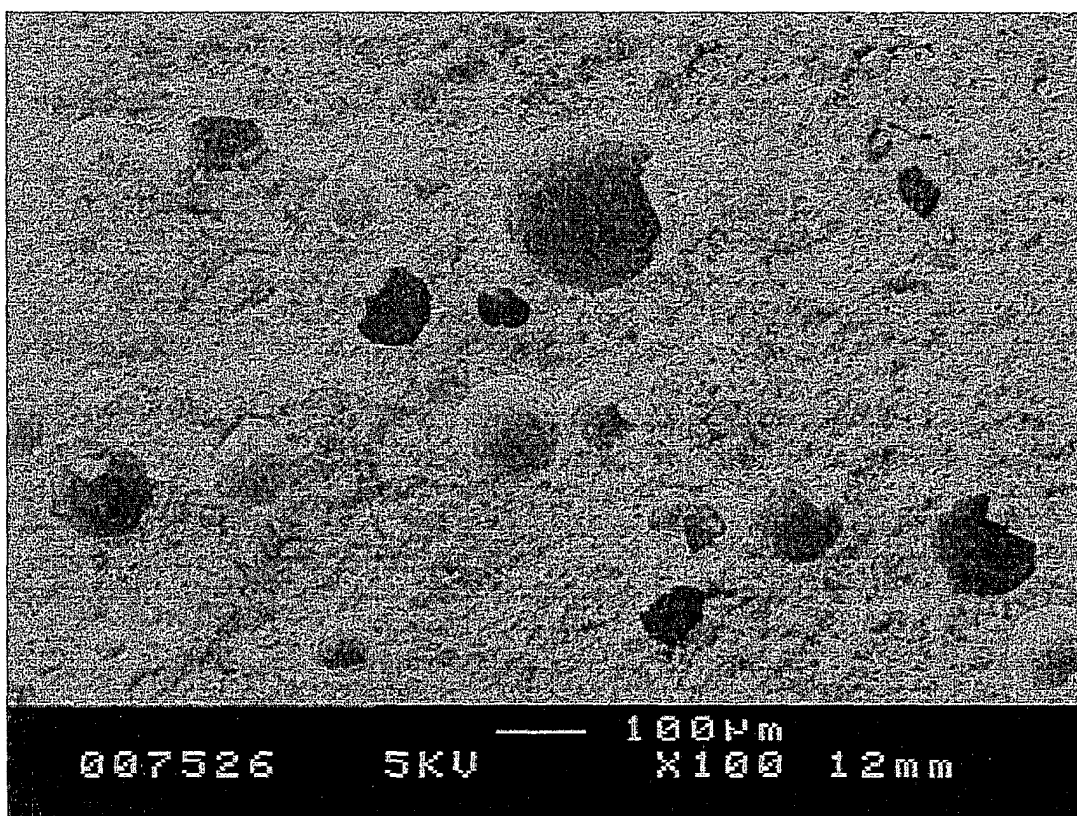
13. Способ по п.12, в котором стадии а) и б) проводят одновременно при приложении к композиции усилия сдвига.

14. Способ по п.13, в котором на стадии а) газ диспергируют в композиции с непрерывной жировой фазой под давлением, и затем давление сбрасывают.

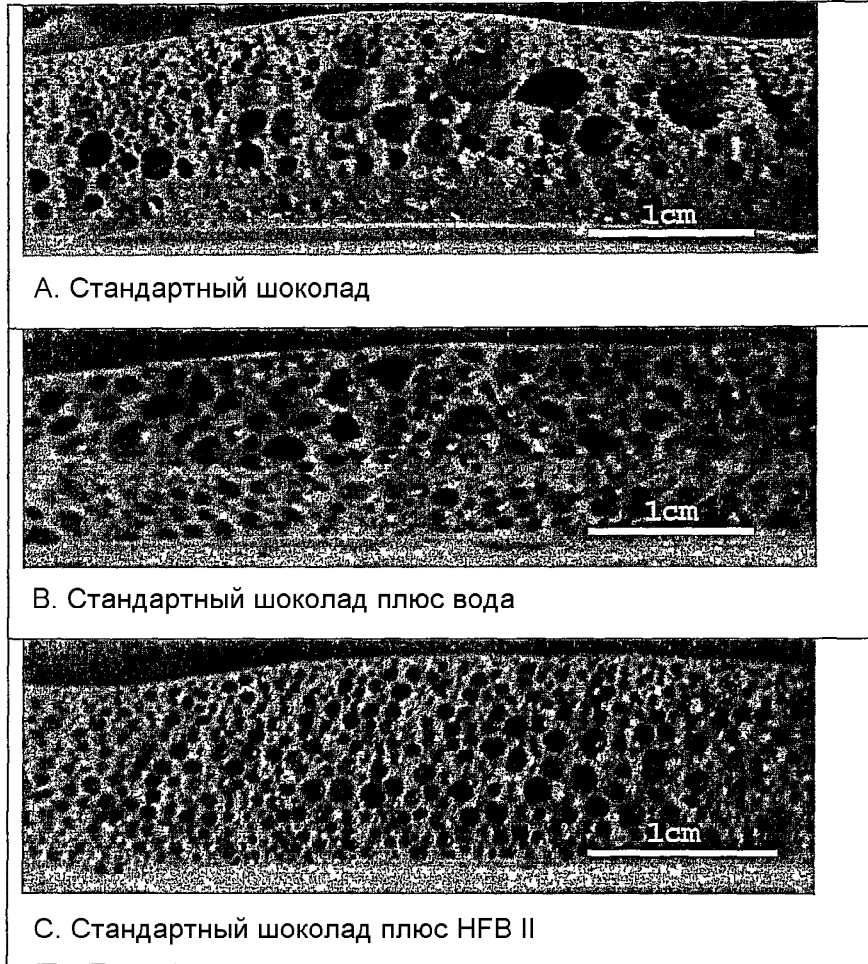
(a)



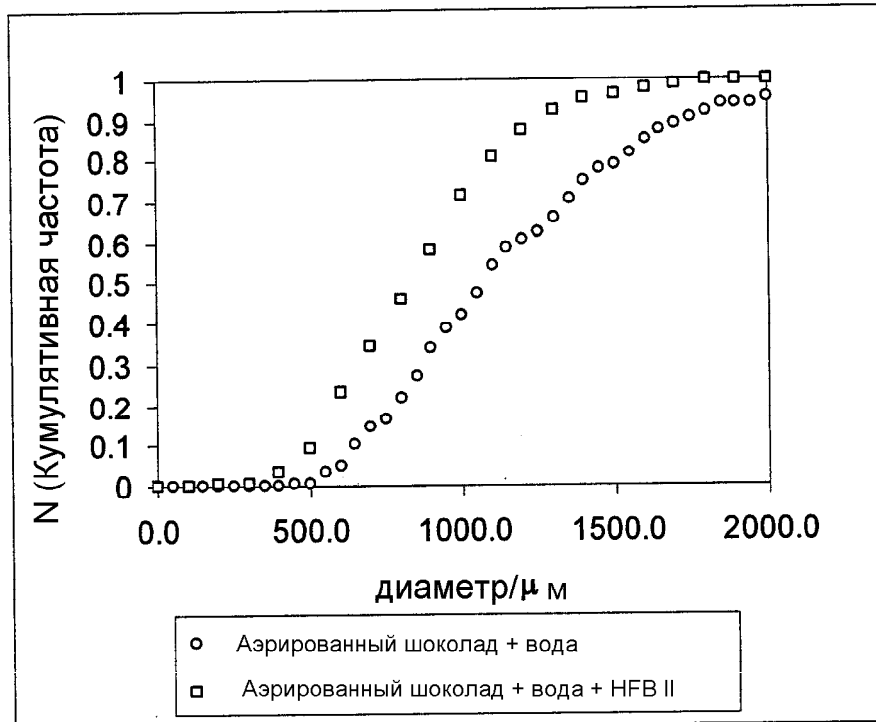
(b)



ФИГ.1

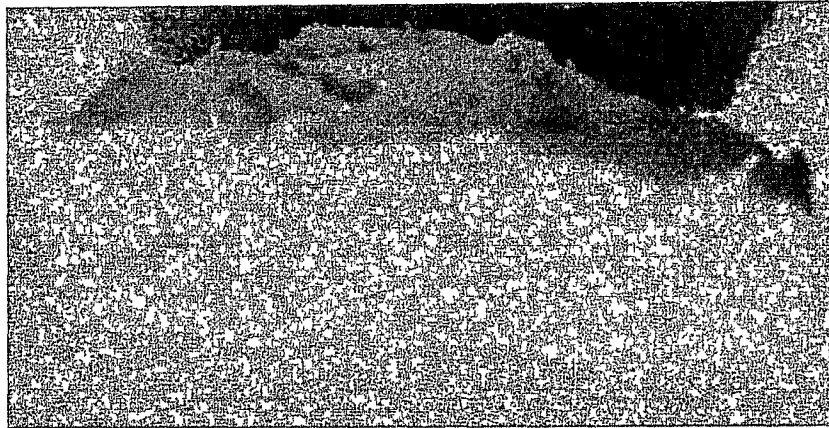


ФИГ.2



ФИГ.3

(a) Неаэрированное сливочное масло



(b) Сливочное масло, аэрированное HFB II



ФИГ.4