



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101374423 B

(45) 授权公告日 2012.07.18

---

(21) 申请号 200780003719.9 *A23G 9/32* (2006.01)  
(22) 申请日 2007.01.05 *A23J 3/20* (2006.01)

(30) 优先权数据  
06250524.3 2006.01.31 EP

(85) PCT申请进入国家阶段日  
2008.07.28

(86) PCT申请的申请数据  
PCT/EP2007/000157 2007.01.05

(87) PCT申请的公布数据  
W02007/087968 EN 2007.08.09

(73) 专利权人 荷兰联合利华有限公司  
地址 荷兰鹿特丹

(72) 发明人 A·R·科克斯 A·B·拉塞尔  
K·M·沃茨

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001  
代理人 李进 李连涛

(51) Int. Cl.  
*A23L 1/00* (2006.01)  
*A23L 1/19* (2006.01)  
*A23G 9/38* (2006.01)

(56) 对比文件  
US 5336514 A, 1994.08.09, 全文.  
US 6852325 B2, 2005.02.08, 全文.  
林福呈. 真菌疏水蛋白的研究进展. 《微生物学报》. 2001, 第41卷(第4期), 518-521.

审查员 高雁

权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图 5 页

---

(54) 发明名称

含疏水蛋白的充气组合物

(57) 摘要

本发明提供了膨胀度至少10%且含有水和乳化脂肪相的充气组合物,其中至少50%的脂肪在5°C为液体,其特征为所述组合物包含疏水蛋白。本发明还提供了可充气组合物。

1. 一种膨胀度至少 10% 且含有水和乳化脂肪相的充气组合物, 其中至少 50% 的脂肪在 5°C 为液体, 其特征为所述组合物包含疏水蛋白, 其中所述组合物包含至少 0.001% 重量且少于 1% 重量的疏水蛋白, 并且疏水蛋白以分离形式添加到该组合物中, 其纯度为至少 10%, 以固体重量计。

2. 权利要求 1 或 2 的充气组合物, 其中所述疏水蛋白为 II 型疏水蛋白。

3. 权利要求 1 或 2 的充气组合物, 其中总脂肪含量为所述组合物的 1 至 50% 重量。

4. 权利要求 3 的充气组合物, 其中总脂肪含量为所述组合物的 2 至 15% 重量。

5. 权利要求 3 的充气组合物, 其中总脂肪含量为所述组合物的 15 至 40% 重量。

6. 权利要求 1 或 2 的充气组合物, 其中膨胀度为 25% 至 400%。

7. 权利要求 1 或 2 的充气组合物, 其为食品。

8. 权利要求 7 的充气组合物, 其为冷冻充气糖食。

9. 权利要求 1 或 2 的充气组合物, 其中所述脂肪选自: 葵花油、橄榄油、大豆油、油菜籽油及其混合物或其馏分。

10. 权利要求 1 或 2 的充气组合物, 其还包含屈服应力剂。

11. 权利要求 10 的充气组合物, 其中所述屈服应力剂是黄原胶和 / 或胞外多糖。

12. 一种包含水和乳化脂肪相的可充气组合物, 其中至少 50% 的脂肪在 5°C 为液体, 其特征为所述组合物包含疏水蛋白, 其中所述组合物包含至少 0.001% 重量且少于 1% 重量的疏水蛋白, 并且疏水蛋白以分离形式添加到该组合物中, 其纯度为至少 10%, 以固体重量计。

13. 权利要求 12 的可充气组合物, 其中所述疏水蛋白为 II 型疏水蛋白。

14. 权利要求 12 的可充气组合物, 其中总脂肪含量为所述组合物的 1 至 50% 重量。

15. 权利要求 12 的可充气组合物, 其中所述脂肪选自: 葵花油、橄榄油、大豆油、油菜籽油及其混合物或其馏分。

## 含疏水蛋白的充气组合物

### 发明领域

[0001] 本发明涉及包含乳化脂肪相的充气组合物,其中至少 50%的脂肪在 5°C 为液体。特别地,本发明涉及含疏水蛋白的组合物。

### [0002] 发明背景

[0003] 在例如冰淇淋、搅奶油、慕斯、糕点表面装饰物 (toppings) 和充气蛋糕馅料的充气产品中,气泡至少部分地被乳化脂肪稳定。通常,脂肪在加工和贮藏温度下基本为固体,这是由于液体脂肪会使泡沫不稳定。例如其中约 50%以上的脂肪在加工温度下为液体的冰淇淋混合料,不能用常规方法充气成高质量的冰淇淋。类似地,其中脂肪为液体的奶油不能搅打;这就是为什么烹饪书上说你应当在搅打之前使奶油冷却。此外,这种产品即使可被充气,泡沫的稳定性也很差。

[0004] 固体脂肪包含高比例的饱和脂肪酸,例如乳品脂肪 (dairy fat) (60 至 65%) 或椰子油 (90%)。有健康意识的消费者目前正在寻找具备传统产品的所有性质但又更健康的产品。获得这种产品的一种方法是用不饱和脂肪来代替饱和脂肪。然而,不饱和脂肪在典型的加工和 / 或贮藏温度下包含相当比例的液体脂肪。因此,不可能简单地用不饱和脂肪来代替饱和脂肪。

[0005] 之前已有人尝试使用较高液体含量的脂肪来生产充气乳化品,例如搅奶油和冰淇淋。WO 94/017672 公开了通过混合两种脂肪 (例如葵花油和棕榈中间馏分),获得的含 10 至 40% 重量脂肪混合物的可搅打、水 - 连续脂肪乳化品。发现仍必须含有一定量的固体脂肪。EP-A1212947 公开了含有脂肪相且膨胀度至少 90% 的冰淇淋,其特征在于:至少 50w/w% 的脂肪相在 -5°C 为液体。需要一种特殊设备,充气装置置换冷冻机桶不到 40% 的内部体积。因此,仍然需要提供含高液体脂肪量的乳化品,其使用常规设备即可充气良好,且泡沫稳定性良好。

### [0006] 实验和定义

#### [0007] 充气和膨胀度

[0008] “充气”一词是指通过例如机械方式,有意地使气体加入组合物中。“可充气”一词是指气体可以通过例如搅打加入组合物中。所述气体可以是任何气体,但是优选 (特别在食品中) 食品级气体,例如空气、氮气、一氧化二氮或二氧化碳。

[0009] 充气的程度用“膨胀度”一词来规定。在本发明的上下文中,%膨胀度用体积规定为:

[0010] 
$$\left( \frac{\text{已充气产品的体积} - \text{混合料的体积}}{\text{混合料的体积}} \right) \times 100$$

[0011] 其中,所述体积分别是固定质量的产品 / 混合料的体积。

#### [0012] 液体脂肪含量

[0013] 液体脂肪 (或油) 的量是指在 5°C 液体形式脂肪的百分数,用如下的脉冲 NMR 波谱测定。首先,将脂肪或脂肪混合物加热至 80°C,然后在 60°C 保持 30 分钟,使脂肪完全融化。然后使其冷却至 0°C 并在 0°C 保持 1 小时。然后加热至 5°C (测量温度) 并保持 30 分钟。然后使用 NMS 120Minispec NMR 波谱,以标准脉冲 NMR 技术测定固体脂肪的量。液体

脂肪的量为(100% - 固体脂肪的量)。

[0014] 发明概述

[0015] 在我们共同未决的申请 EP 1623631 中,我们已发现称为疏水蛋白的真菌蛋白可使充气冷冻糖食中的气相稳定。疏水蛋白是表面活性剂并用作充气剂,同时也可使气泡表面具备高粘弹性。

[0016] 目前我们已发现疏水蛋白可以使含有高液体脂肪量的充气乳化品稳定。因此,一方面,本发明提供了膨胀度至少 10%且包含水和乳化脂肪相的充气组合物,其中至少 50%的脂肪在 5°C 为液体,其特征为所述组合物包含疏水蛋白。

[0017] 优选地,所述组合物包含至少 0.001% 重量的疏水蛋白。

[0018] 优选地,所述疏水蛋白为分离形式。

[0019] 优选地,所述疏水蛋白为 II 型疏水蛋白。

[0020] 优选地,总脂肪含量为所述组合物的 1 至 50% 重量。在优选的实施方式中,脂肪相为所述组合物的 2 至 15% 重量。在另一优选的实施方式中,脂肪相为所述组合物的 15 至 40% 重量。

[0021] 优选地,所述充气组合物膨胀度 25% 至 400%。

[0022] 优选地,所述充气组合物为充气食品,更优选为冷冻充气糖食,最优选为冰淇淋。

[0023] 优选地,所述脂肪选自:葵花油、橄榄油、大豆油、油菜籽油及其混合物或其馏分。

[0024] 优选地,所述组合物还包含屈服应力剂。优选地,所述屈服应力剂为多糖,更优选为细菌多糖,例如黄原胶和 / 或胞外多糖。

[0025] 另一方面,本发明提供了包含水和乳化脂肪相的可充气组合物,其中至少 50% 的脂肪在 5°C 为液体,其特征为所述组合物包含疏水蛋白。

[0026] 优选地,所述组合物包含至少 0.001% 重量的疏水蛋白。

[0027] 优选地,所述疏水蛋白为分离形式。

[0028] 优选地,所述疏水蛋白为 II 型疏水蛋白。

[0029] 优选地,总脂肪含量为所述组合物的 1 至 50% 重量。

[0030] 优选地,所述脂肪选自:葵花油、橄榄油、大豆油、油菜籽油及其混合物或其馏分。

[0031] 发明详述

[0032] 除非另有说明,这里使用的所有技术和科学术语的意义与本领域(例如,在冷冻糖食生产、化学和生物技术中)普通技术人员通常所理解的相同。冷冻糖食生产中所用各种术语和技术的定义和描述见“IceCream(冰淇淋)”,第 6 版,RT. Marshall, H. D. Goff 和 R. W. Hartel, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York(纽约)2003。用于分子和生化方法的标准技术见 Sambrook 等人, Molecular Cloning(分子克隆法):A Laboratory Manual(实验室手册),第 3 版(2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. 和 Ausubel 等人, Short Protocols in Molecular Biology(分子生物学简明草案)(1999) 第 4 版, John Wiley & Sons, Inc. - 以及题为 Current Protocols in Molecular Biology(分子生物学现行草案)的全版。

[0033] 除非另有说明,所有的百分数都是指重量百分数,膨胀度所用的百分数例外。

[0034] 疏水蛋白

[0035] 疏水蛋白是一类定义明确的蛋白(Wessels, 1997, Adv. Microb. Physio. 38 :1-45 ;

Wosten, 2001, *Annu. Rev. Microbiol.* 55 :625-646), 其能够在疏水 / 亲水界面自组装, 并有保守序列:

[0036]  $X_n-C-X_{5-9}-C-C-X_{11-39}-C-X_{8-23}-C-X_{5-9}-C-C-X_{6-18}-C-X_m$  (SEQ ID No. 1)

[0037] 其中 X 表示任何氨基酸, n 和 m 独立表示整数。通常, 疏水蛋白的长度可达 125 个氨基酸。保守序列中半胱氨酸残基 (C) 是二硫键的部分。在本发明的上下文中, 术语疏水蛋白广义上包括在疏水 - 亲水界面仍具有自组装特性以产生蛋白膜的功能性相当的蛋白, 例如包含以下序列的蛋白:

[0038]  $X_n-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-100}-C-X_{1-100}-C-X_{1-50}-C-X_{0-5}-C-X_{1-50}-C-X_m$  (SEQ ID No. 2)

[0039] 或者其部分在疏水 - 亲水界面仍具有自组装特性以产生蛋白膜的功能性相当的蛋白。依照本发明的定义, 通过将蛋白吸附到特氟隆 (Teflon) 并用 Circular Dichroism (圆二色性光谱) 确定二级结构 (通常为  $\alpha$ -螺旋状) 的存在, 可以检测自组装 (De Vocht 等人, 1998, *Biophys. J.* 74 :2059-68)。

[0040] 通过在蛋白溶液中保温特氟隆片, 然后用水或缓冲液洗涤至少三遍, 可以确定膜的形成 (Wosten 等人, 1994, *Embo. J.* 13 :5848-54)。通过任何适当的方法, 例如按本领域所知, 用荧光标记物做标记或使用荧光抗体, 可以使蛋白膜显现。m 和 n 的值通常为 0 至 2000, 但更通常地, m 和 n 总计小于 100 或 200。本发明上下文中疏水蛋白的定义包括疏水蛋白与其它多肽的融合蛋白以及疏水蛋白与其它分子 (例如多糖) 的结合物。

[0041] 目前为止已识别的疏水蛋白通常被分为 I 型或 II 型。真菌中的这两类经识别为分泌性蛋白, 其在疏水界面自组装成两亲性膜。I 型疏水蛋白组合相对不溶, 而 II 型疏水蛋白组合则易溶于多种溶剂。

[0042] 在丝状细菌 (例如放线菌和链霉菌属) 中也识别出疏水蛋白类的蛋白。(W001/74864; Talbot, 2003, *Curr. Biol.* 13 :R696-R698)。与真菌疏水蛋白相比, 这些细菌蛋白只形成 1 个二硫键, 这是由于它们只有 2 个半胱氨酸残基。这些蛋白是具有 SEQ ID Nos. 1 和 2 中所示共有序列的疏水蛋白功能性等同物的例子, 其在本发明范围之内。

[0043] 疏水蛋白可以用任何适当的方法从例如丝状真菌的天然来源中提取而获得。例如, 通过培养丝状真菌 (其分泌疏水蛋白进入培养基) 或者用 60% 乙醇提取真菌菌丝体可获得疏水蛋白。特别优选从自然分泌疏水蛋白的宿主生物体中分离疏水蛋白。优选的宿主为: 丝孢菌类 (hyphomycetes) (如木霉属)、担子菌类和子囊菌类。特别优选的宿主为食品级生物体, 例如分泌所谓 cryparin 疏水蛋白的栗疫菌 (*Cryphonectria parasitica*) (MacCabe 和 Van Alfen, 1999, *App. Environ. Microbiol.* 65 :5431-5435)。

[0044] 或者, 可使用重组技术获得疏水蛋白。例如, 可以将宿主细胞 (通常为微生物) 修饰以表达疏水蛋白, 然后可按照本发明分离并使用该疏水蛋白。将编码疏水蛋白的核酸结构导入宿主细胞的技术是本领域众所周知的。从超过 16 种真菌中已克隆出超过 34 种为疏水蛋白编码的基因 (例如见 W096/41882, 其给出了在双孢蘑菇提取物 (*Agaricus bisporus*) 中识别的疏水蛋白序列; 以及 Wosten, 2001, *Annu. Rev. Microbiol.* 55 :625-646)。重组技术也可用于修饰疏水蛋白序列或者合成具有所需 / 改良性质的新疏水蛋白。

[0045] 通常, 用编码所需疏水蛋白的核酸结构来转化适当的宿主细胞或生物体。可将编码多肽的核苷酸序列插入适当表达载体中, 编码转录和翻译的必需元件, 使它们可以在适当的条件下 (例如, 适当的定向和正确的读码框, 并有适当的导向和表达序列) 被表达。构

建这些表达载体所需的方法是本领域技术人员众所周知的。

[0046] 可使用多种表达系统来表达多肽编码序列。这些表达系统包括但不限于：细菌、真菌（包括酵母）、昆虫细胞系统、植物细胞培养系统以及全部用适当表达载体转化的植物。优选的宿主是那些被认为是食品级的宿主 - “一般公认安全” (GRAS)。

[0047] 适当的真菌类包括酵母、丝状真菌类等，酵母例如（但不限于）酵母菌属 (*Saccharomyces*)、克鲁维酵母属 (*Kluyveromyces*)、毕赤酵母属 (*Pichia*)、汉逊酵母属 (*Hansenula*)、假丝酵母属 (*Candida*)、裂殖酵母属 (*Schizosaccharomyces*) 等，丝状真菌类例如（但不限于）曲霉属 (*Aspergillus*)、木霉属 (*Trichoderma*)、毛霉属 (*Mucor*)、脉孢菌属 (*Neurospora*)、镰刀菌属 (*Fusarium*) 等。

[0048] 优选编码疏水蛋白的序列氨基酸水平至少 80% 与天然识别的疏水蛋白相同，更优选至少 95% 或 100% 相同。然而，本领域技术人员可以进行保守置换或者不降低疏水蛋白生物活性的其它氨基酸变更。为了本发明的目的，具有这种与天然存在的疏水蛋白的高度一致性的这些疏水蛋白也涵盖于术语“疏水蛋白”中。

[0049] 通过例如 W001/57076 中所述的方法，可以从培养基或细胞提取物中纯化疏水蛋白，该法包括将存在于含疏水蛋白溶液中的疏水蛋白吸附至表面，然后使该表面与表面活性剂（例如吐温 20）接触，以使疏水蛋白从表面上洗脱下来。同样参见 Collen 等人，2002, *Biochim Biophys Acta.* 1569 :139-50 ; Calonje 等人，2002, *Can. J. Microbiol.* 48 :1030-4 ; Askolin 等人，2001, *Appl Microbiol Biotechnol.* 57 :124-30 ; 以及 De Vries 等人，1999, *Eur J Biochem.* 262 :377-85。

[0050] 存于组合物中的疏水蛋白量通常根据组合物配方和气相体积的不同而有所不同。通常，所述组合物包含至少 0.001% 重量的疏水蛋白，更优选至少 0.005 或 0.01% 重量。通常，所述组合物包含少于 1% 重量的疏水蛋白。所述疏水蛋白可来自单一来源或者多种来源，例如，所述疏水蛋白可以是两种或多种不同疏水蛋白多肽的混合物。

[0051] 所述疏水蛋白添加的形式和量应能使气相稳定。我们说术语“添加”，是指将所述疏水蛋白故意导入所述组合物中，其目的是利用其使泡沫稳定的性质。因此，如果存在或添加含有真菌污染物（其可能包含疏水蛋白多肽）的成分，这并不是本发明上下文中的添加疏水蛋白。

[0052] 通常，所述疏水蛋白添加至组合物的形式应能够在气 - 液表面上自组装。

[0053] 通常，向本发明组合物中添加分离形式的疏水蛋白，通常至少部分地经过纯化，例如纯度至少 10%（以固体重量计）。我们说“添加分离形式”，是指所添加的疏水蛋白不是自然表达疏水蛋白的天然存在的生物体（例如蘑菇）的部分。相反地，所述疏水蛋白通常是由天然来源中提取或者通过在宿主生物体中重组表达而获得。

[0054] 在一个实施方式中，向所述组合物中添加单体、二聚体和 / 或低聚体（即，由 10 个或更少单体单元组成）形式的所述疏水蛋白。优选地，至少 50% 重量的添加的疏水蛋白是这些形式中的至少一种，更优选至少 75、80、85 或 90% 重量的添加的疏水蛋白是这些形式中的至少一种。一旦添加后，所述疏水蛋白通常会在气 / 液界面上组装，因此预期单体、二聚体及低聚体的量会下降。

[0055] 充气组合物

[0056] 本发明范围内的充气组合物包含水和乳化脂肪相。这种组合物包括通常在常温或

冷藏温度下贮藏和供应的充气食品,例如搅奶油或非乳品奶油(non-dairy cream)(包括其中部分或全部乳品脂肪被植物脂肪代替的奶油)、慕斯/充气甜点、奶油冻、巧克力沙司、酸乳酪、蛋糕馅料、色拉调料、蛋黄酱、软干酪等,只要它们是充气食品。充气组合物还包括冷冻充气糖食,例如冰淇淋、冰冻果子露、果汁冰糕和冷冻酸乳酪。

[0057] 优选地,所述充气组合物是食品,更优选糖食产品。在一个特别优选的实施方式中,所述组合物是冷冻充气糖食。在另一个实施方式中,所述组合物是慕斯、搅奶油或非乳品奶油。

#### [0058] 可充气组合物

[0059] 本发明范围内的可充气组合物包含水和乳化脂肪相。随后将这种组合物(其包括充气甜点、慕斯和冷冻糖食的预混料,和搅奶油或非乳品奶油)充气成终产品。

#### [0060] 脂肪相

[0061] 至少 50% 的脂肪在 5°C 为液体,优选至少 60、70 或 80% 的脂肪在 5°C 为液体。更优选地,至少 90% 的脂肪相在 5°C 为液体。最优选地,脂肪相在 5°C 完全为液体。

[0062] 优选地,所述脂肪包含至少 80%,更优选至少 90%,甚至更优选至少 95% 重量的选自下列的脂肪:葵花油、红花油、橄榄油、亚麻籽油、大豆油、油菜籽油、胡桃油、谷物油、葡萄籽油、芝麻油、麦芽油、棉花籽油、落花生油、鱼油、杏仁油、紫苏油、西瓜籽油、米糠油、花生油、开心果油、榛果油、玉米油及其混合物或其馏分。更优选地,所述脂肪选自:葵花油、橄榄油、大豆油、油菜籽油及其混合物或其馏分。特别优选葵花油,是由于其香味清新、多不饱和脂肪含量高以及可广泛获得。

[0063] 组合物中脂肪的量取决于所制备充气产品的类型,其范围可以是 1 至 50%。如果是冷冻充气糖食,脂肪量优选为所述组合物的至少 2% 重量,更优选至少 4% 重量,最优选至少 6% 重量。优选地,脂肪量为所述组合物的至多 15% 重量,更优选至多 12% 重量,最优选至多 10% 重量。

[0064] 如果是搅奶油或非乳品奶油及相关产品,脂肪量优选为所述组合物的至少 15% 重量,更优选至少 25% 重量,最优选至少 30% 重量。优选地,脂肪量为所述组合物的至多 45% 重量,更优选至多 40% 重量。

#### [0065] 乳化剂

[0066] 将脂肪相乳化,也就是说,作为分散液滴的水包油型乳状液存在,通过将乳化剂吸附在油/水界面使液滴稳定化。本发明上下文中的乳化剂包括:

[0067] - 乳品蛋白,例如脱脂奶粉、乳清蛋白、水解乳清蛋白和纯的乳品蛋白馏分,例如干酪素、 $\beta$ -乳球蛋白和  $\alpha$ -乳清蛋白。

[0068] - 非乳品蛋白,例如明胶、疏水蛋白和来自植物原料或种子的蛋白(例如大豆蛋白)。

[0069] - 蛋黄

[0070] - 食品级非蛋白乳化剂,例如吐温、脂肪酸的单/二甘油酯、单甘油酯的醋酸酯、单甘油酯的乳酸酯及类似衍生物。

[0071] - 具有乳化能力的多糖,例如胶质,以及化学修饰的多糖,例如聚海藻酸甘油酯(polyglycerol alginate)。

[0072] 膨胀度

[0073] 组合物中膨胀度的量将根据所需产品特性的不同而有所不同。膨胀度至少 10%，优选至少 25 或 50%。优选地，膨胀度量少于 400%，更优选少于 300 或 200%。对于冷冻充气糖食，膨胀度最优选 70 至 150%。对于搅奶油或非乳品奶油及相关产品，膨胀度最优选 100 至 160%。

#### [0074] 屈服应力剂

[0075] 乳液分层（由于气泡的浮力）可导致气泡发生垂直相分离，使得大部分气泡接近上表面而底部气泡耗尽。当泡沫的连续相具有一定流变性质（例如表观屈服应力）时，可减少乳液分层。因此，在一个实施方式中，所述组合物还包含使连续相具备适当流变性质的屈服应力剂，从而抑制气泡发生乳液分层。在这里我们将屈服应力剂定义为：为连续相提供表观屈服应力的成分（分子或微粒）。

[0076] 可用作屈服应力剂的适当成分（特别在食品系统中）包括胶凝剂，其中一些非限制性的例子总结如下：

[0077] - 热可逆胶凝生物高聚物，例如明胶、 $\iota$ -和  $\kappa$ -角叉菜胶，以及琼脂。

[0078] - 化学固定胶凝生物高聚物，其凝胶结构来自多糖与适当离子（例如  $\text{Ca}^{2+}$ ）间的相互作用。例子包括海藻酸钠和胶质。

[0079] - 细菌多糖，例如黄原胶或胞外多糖，其可形成被剪切力（shear）破坏的弱的凝胶样行为。优选地，加入这种多糖使在充气混合料中的最终量至少为 0.2% 重量。如果充气混合料在冷冻之前要长时间贮藏（例如一天或更长时间），则加入更多量，优选加入至少 0.4% 重量。

[0080] - 真菌多糖，例如裂褶多糖。

[0081] - 含有两种或多种生物高聚物的协同凝胶，这些生物高聚物单独时可能是非凝胶化的，但是一旦混合即可形成凝胶或更高模量的凝胶体。例子包括：海藻酸钠与胶质、黄原胶与刺槐豆胶、琼脂与刺槐豆胶，以及  $\kappa$ -角叉菜胶与刺槐豆胶。

[0082] 上述的多数屈服应力剂通常用于使产品凝胶化，以便其固定。胶凝化多糖不是可用作本发明上下文中屈服应力剂的唯一成分。任何使连续相产生表观屈服应力的成分（分子或微粒）都可以使用。屈服应力剂的其它例子包括：

[0083] - 脂凝胶（Lipogel）。其包括但不限于：饱和脂肪酸的聚甘油酯、脂肪酸单甘油酯与饱和脂肪酸柠檬酸酯的混合物、饱和脂肪酸的乳酸酯，或者饱和脂肪酸的二乙酰基酒石酸酯。通常，脂凝胶成分在预充气混合料中的量少于约 2 至 5% 重量。如何生产脂凝胶的例子见 Heertie 等人，Food Science and Technology（食品科学和技术），1998，31，387-396。

[0084] - 胶凝蛋白（热胶凝蛋白或化学胶凝蛋白），例如乳清蛋白。

[0085] - 水包油乳状液，其中分散的油粒相互作用，以提供具有胶凝性质的连续相。

[0086] - 纤维，例如水果或植物来源的纤维、改性纤维素等。

#### [0087] 其它成分

[0088] 本发明范围内的充气和可充气组合物还可额外包含例如下列的一种或多种其它成分：其它蛋白，例如乳品蛋白或大豆蛋白；糖，例如蔗糖、果糖、葡萄糖、乳糖、玉米糖浆、糖醇；盐；色素和香料；水果或植物的酱、提取物、片或汁；稳定剂或增稠剂，例如多糖，如刺槐豆胶、瓜尔胶、角叉菜胶、微晶纤维素；以及例如巧克力、焦糖、软糖、饼干或坚果等内容物。

## [0089] 实施例

[0090] 现在将参考下列仅例证性且非限制性的实施例和下列附图进一步描述本发明，其中：

[0091] 图 1 表示实施例 2 在  $-10^{\circ}\text{C}$  贮藏前 (a) 和后 (b) 的 SEM 图象。

[0092] 图 2 表示对比实施例 B 在  $-10^{\circ}\text{C}$  贮藏前 (a) 和后 (b) 的 SEM 图象。

[0093] 图 3 表示实施例 3、4 和对比实施例 C 在贮藏 3 天后的照片。

[0094] 图 4 表示实施例 5(a) 和对比实施例 D(b) 在贮藏 2 周后的照片。

[0095] 实施例 1 和对比实施例 A

[0096] 实施例 1, 用表 1 中所示配方制备本发明充气糖食。同时制备对比实施例, 不含疏水蛋白的充气糖食。

[0097] 表 1 : 配方

[0098]

成分 (%重量)	实施例 1	对比实施例 A
脱脂奶粉 (SMP)	10	10
疏水蛋白 HFB II	0.1	0
葵花油	10	10
蔗糖	20	20
水	59.9	60.0

[0099] 脱脂奶粉含 33 至 36% 蛋白、0.8% 脂肪、3.7% 水分, 来自 UnitedMilk, 英国。疏水蛋白 HFB II 来自 VTT Biotechnology, 芬兰。其由里氏木霉 (*Trichoderma reesei*) 纯化, 基本见述于 W000/58342 和 Linder 等人, 2001, *Biomacromolecules* 2 :511-517。蔗糖来自 Tate 和 Lyle。葵花油来自 Leon Frenkel Ltd, 英国。其在  $5^{\circ}\text{C}$  的液体脂肪含量为 100%。

## [0100] 混合料制备

[0101] 以 50 克批次 (约 45 毫升) 进行混合。将干的成分 (即蔗糖和 SMP) 混合, 然后搅拌下缓慢加入水中。加热至约  $30^{\circ}\text{C}$ , 并搅拌 15 分钟。然后加入葵花油, 再搅拌混合料 15 分钟。接着用 Silverson 混合器将混合料粗乳化 (乳化时间 5 分钟), 然后用 Branson Digital Sonifier 进行超声 (6 毫米探头, 10% 振幅, 超声时间 5 分钟)。一次性加入所需浓度的 HFB II (如果有), 简单搅拌该混合料, 然后在超声浴中稍微超声 30 秒, 以使 HFB II 完全分散。在  $5^{\circ}\text{C}$  贮藏该混合料直到随后的充气。

## [0102] 充气

[0103] 用手提式电动搅拌器 (Aerolatte Ltd, Radlett, 英国) 将混合料充气 5 分钟至膨胀度约 100%。虽然所得的膨胀度类似, 但是我们注意到在充气过程中, 含疏水蛋白的混合料显得能更有效地充入气体。

## [0104] 泡沫稳定性的测定

[0105] 根据体积随时间的变化, 测定在  $5^{\circ}\text{C}$  贮藏期间泡沫的稳定性。测定方法如下：

[0106] 将充气混合料倾入 100 毫升的量筒中。首先记录液体和泡沫的总体积 ( $V_{总}$ )。量筒中泡沫达到的最大高度即为总体积。然后记录泡沫底下的液体（由于气泡乳液分层而分离）体积 ( $V_{液体}$ )。量筒底部已分离液相的高度即为液体体积。这在可以肉眼观察到泡沫已与基本不含气泡的液相分离时进行。然后用  $V_{总} - V_{液体}$  来计算泡沫体积 ( $V_{泡沫}$ )。如果  $V_{总} = V_{液体}$ （即，如果仅留下液体连续相），则泡沫体积为 0。

[0107] 结果

[0108] 泡沫稳定性的测定如表 2 中所示。

[0109] 表 2 : 泡沫体积 (ml) 的测定

[0110]

时间	实施例 1			对比实施例 A		
	$V_{总}$	$V_{液体}$	$V_{泡沫}$	$V_{总}$	$V_{液体}$	$V_{泡沫}$
0	80	0	80	80	0	80
4 小时	78	36	42	36	36	0
24 小时	78	36	42	36	36	0
4 天	75	36	39	36	36	0

[0111] 实施例 1 和对比实施例 A 的泡沫体积开始时都为 80 毫升。这与膨胀度约 100% 相符，所述膨胀度基于 40 毫升未充气混合料（略少于初始的 45 毫升，是由于从烧杯（在其中将混合料充气）向量筒倾倒时会有一些液体损失）计。液体体积开始时为 0 毫升，是由于尚未发生乳液分离。

[0112] 对于含有疏水蛋白的实施例 1，在 4 天时间里总体积的变化很小。泡沫体积从 80 毫升降至 39 毫升，且液体体积升至 36 毫升。这是由于气体的密度小于连续液相而使泡沫相与大部分液相分离（即乳液分层）的结果。然而，总体积几乎保持不变，这表明泡沫中气体的损失极少，也就是说，在 5°C 贮藏甚至 4 天后泡沫仍然存在。

[0113] 对于对比实施例 A，开始的总体积与实施例 1 相同。然而，4 小时之后，泡沫体积降至 0，也就是说，泡沫完全瓦解，而仅残留连续液相。因此，对比实施例中的泡沫非常不稳定。

[0114] 因此，显而易见，在乳化液体脂肪的存在下，含疏水蛋白泡沫的稳定性显著高于仅靠乳蛋白稳定的泡沫。

[0115] 实施例 2 和对比实施例 B

[0116] 实施例 2，用表 3 所示配方制备本发明冷冻充气糖食。同时制备对比实施例 B，不含疏水蛋白的冷冻充气糖食。

[0117] 表 3 : 配方

[0118]

成分 (%重量)	实施例 2	对比实施例 B
脱脂奶粉 (SMP)	5	5
疏水蛋白 HFB II	0.1	0

葵花油	5	5
蔗糖	15	15
黄原胶	0.2	0.2
水	74.7	74.8

[0119] 黄原胶 (Keltrol RD) 来自 CP Kelco.。

[0120] 混合料制备

[0121] 除疏水蛋白之外的所有成分混合料的制备如下进行。将干的成分 (即蔗糖、黄原胶和 SMP) 混合,并在常温搅拌下缓慢加入水中。连续搅拌下将混合物加热至 55 至 60°C 以使成分分散,然后加入葵花油。然后在 IKA Ultraturrax T18 基础混合器 (basic mixer) 中将混合料匀浆化 5 分钟,速度设置为 6 (24,000 转每分钟),然后用 Branson Digisonifier 超声 3 分钟,振幅为 75% (6 毫米探头)。然后使混合料冷却至 5°C,并在相同温度下贮藏。

[0122] 充气

[0123] 将混合料分成 2 部分。第一部分 (对比实施例 B) 用 Aerolatte 充气混合器充气至膨胀度 70%。实施例 2 的充气如下进行。首先,用 Aerolatte 充气混合器将 21 克 0.45% 重量的疏水蛋白溶液充气至体积约 120 毫升。然后,轻轻搅拌下向充气 HFB 溶液中加入 79 克 (第二部分) 混合料。所得混合泡沫膨胀度 60%。然后将充气混合料倒入 30 毫升体积的塑料盆中,并在固体二氧化碳 (cardice) 上静止冷冻。30 分钟后,将产物置于 -80°C 冷冻箱中。

[0124] 实施例 2 和对比实施例 B 的冷冻充气产物样品在 -10°C 冷冻箱中贮藏 10 天。然后取出,在进一步分析之前在 -80°C 贮藏。用低温扫描电子显微镜法 (SEM) 观察每个样品的显微结构。为了制备显微镜法用的样品,使样品在干冰上冷却至 -80°C 并切取切片。用 Tissue Tek :OCT™ 化合物 (PVA 11%、聚乙二醇商品 Carbowax 5% 和 85% 非反应性组分) 将尺寸约 5 毫米 × 5 毫米 × 10 毫米的切片安置在样品支架上。将包括支架的样品投到液氮泥 (liquid nitrogen slush) 中,并转移至维持在约  $10^{-4}$  巴真空下的低温制备室 (Oxford Instrument CT1500HF) 中。将样品加热至 -90°C 约 60 至 90 秒,使冰慢慢升华以暴露表面细节。然后使其冷却至 -110°C 结束升华。接着,使用氩等离子体给样品涂上金。该步骤也是在应用  $10^{-1}$  毫巴压力和 6 毫安电流的真空下进行 45 秒。然后将样品转移至配有 -160°C 的 Oxford Instruments 冷载物台的常规扫描电子显微镜 (JSM 5600)。对样品成像,并用数字图象采集软件捕捉兴趣区域。

[0125] 结果

[0126] 图 1 和 2 分别是实施例 2 和对比实施例 B 在 -10°C 贮藏之前 (a) 和之后 (b) 的 SEM 图象。图 1(a) 与图 2(a) 进行对比,表明含疏水蛋白的实施例 2 中的气泡开始时较小。而且,图 1 显示在疏水蛋白的存在下,贮藏之后气相的气泡大小和气相体积都基本保持不变。相反地,图 2 显示对比实施例 B 在贮藏之后所含气泡明显减少,这表明在不含疏水蛋白时,气相体积在贮藏期间会减少 (这可能主要是由于歧化作用 disproportionation)。

[0127] 实施例 3、4 和对比实施例 C

[0128] 实施例 3、4, 是用表 4 中所示配方制备的本发明搅奶油型产品。它们所含葵花油的量是市售搅奶油和非乳品奶油通常所含的量。还制备对比实施例 C, 不含疏水蛋白的类似产品。

[0129] 表 4: 配方

[0130]

成分 (%重量)	实施例 3	实施例 4	对比实施例 C
脱脂奶粉 (SMP)	5	5	5
疏水蛋白 HFB II	0.1	0.1	0
葵花油	20	40	20
黄原胶	0.1	0.1	0.1
水	74.8	54.8	74.9

[0131] 混合料制备

[0132] 混合料的制备如下进行。将黄原胶和 SMP 混合, 常温搅拌下缓慢加入水中。连续搅拌下将混合物加热至 55 至 60°C 以使成分分散, 然后加入葵花油。然后在 IKA Ultraturrax T18 基础混合器中将混合料匀浆化 5 分钟, 速度设置为 6 (24,000 转每分钟), 然后用 Branson Digisonifier 超声 3 分钟, 振幅为 75% (6 毫米探头)。然后使混合料冷却至 5°C, 并在此温度下贮藏。

[0133] 充气

[0134] 实施例 3 和 4 的充气如下进行。首先, 用 Aerolatte 充气混合器将 21 克 0.45% 重量的疏水蛋白溶液充气至约 120 毫升的体积。然后轻轻搅拌下向充气 HFB 溶液中加入 79 克如上所述制备的混合料。所得混合泡沫膨胀度约 150% (实施例 3) 和 130% (实施例 4)。使用 Aerolatte 充气混合器将对对比实施例 C 充气至膨胀度约 100%。将每种泡沫 50 毫升倒入圆柱玻璃量筒中, 并在 5°C 贮藏。

[0135] 结果

[0136] 通过观察量筒中的泡沫总体积随时间的变化来测定泡沫的稳定性。开始时, 所有 3 种泡沫都填充量筒至 50 毫升。图 3 显示贮藏 3 天后的泡沫照片。对比实施例 C 的泡沫完全瓦解, 且仅残留未充气液体。相反地, 含疏水蛋白的实施例 3 和 4 的泡沫非常稳定, 且没有看到泡沫发生瓦解。实施例 4 出现一些泡沫和乳化油相的乳液分层, 但是泡沫的总体积保持不变, 也就是说, 没有气相损失。这些结果表明加入疏水蛋白使含液体油的泡沫稳定性好得多。

[0137] 实施例 5 和对比实施例 D

[0138] 实施例 5, 使用表 5 所示配方制备本发明充气蛋黄酱。还制备对比实施例 D, 即使用 Hygel 而不是疏水蛋白作为泡沫稳定剂的类似产品。

[0139] 表 5: 配方

[0140]

成分 (%重量)	实施例 5	对比实施例 D
蛋黄酱	75	75
疏水蛋白 HFB II	0.2	
Hygel		0.2
水	24.8	24.8

[0141] 蛋黄酱 (Hellman' s Real Mayonnaise, Unilever UK) 含植物油 77%、水、蛋黄 (8%)、酒精醋 (spirit vinegar)、盐、糖、柠檬汁、芥末、香料、抗氧化剂和辣椒粉提取物。Hygel 是水解乳蛋白充气剂, 来自 KerryBio-science, UK。

[0142] 混合料制备和充气

[0143] 将疏水蛋白或hygel溶于12.4毫升水中,并用Aerolatte充气混合器充气至约60毫升体积。约10秒内获得足量的膨胀度。然后把这些泡沫轻轻拌入38克蛋黄酱中,以制成膨胀度约100%的充气蛋黄酱。然后在5°C贮藏产品。

[0144] 结果

[0145] 在时间=0时以及贮藏2周之后肉眼评估泡沫。图4显示实施例5(a)和对比实施例D(b)在贮藏2周之后的照片。对比实施例D中的气泡显著粗化,所以气泡变得明显可见,而且有一定液相分离。实施例5对于贮藏明显更稳定,且没有观察到可见气泡。这些结果表明含HFB II的充气蛋黄酱比含常规充气剂的充气蛋黄酱明显更稳定。

[0146] 实施例6

[0147] 实施例6,本发明充气蛋黄酱的制备如下进行:向1个蛋黄、15毫升醋和2克盐中加入20毫升HFB II溶液(相当于终产品中的HFB II为0.1%)。用球型搅拌器(balloon whisk)在Breville混合器上进行混合,所得膨胀度约20%。然后缓慢加入125毫升橄榄油,同时继续进行混合和充气,直至蛋黄酱达到膨胀度约100%。该实施例说明含液体脂肪的蛋黄酱在含疏水蛋白时可被充气。

[0148] 总之,上述含乳化液体脂肪的各种食品的实施例表明,产品在疏水蛋白存在下可被充气,而且疏水蛋白可显著改善泡沫的稳定性。

[0149] 上述各部分中提及的本发明各种特征和实施方式,如作适当变动,也适用于其它部分。因此,可酌情将一个部分中所述的特征与其它部分中所述的特征相结合。

[0150] 上面说明书中提及的所有出版物通过引用而并入本文。本发明所述产品的各种修改和变动,对于本领域技术人员来说将是显而易见的,没有脱离本发明的范围。虽然用具体的优选实施方式描述了本发明,但应当明白的是,所要求的发明不应该不适当地受限于这些具体的实施方式。事实上,实施本发明的所述方式的各种修改(对于相关领域的技术人员来说是显而易见的)也涵盖于权利要求的范围之内。

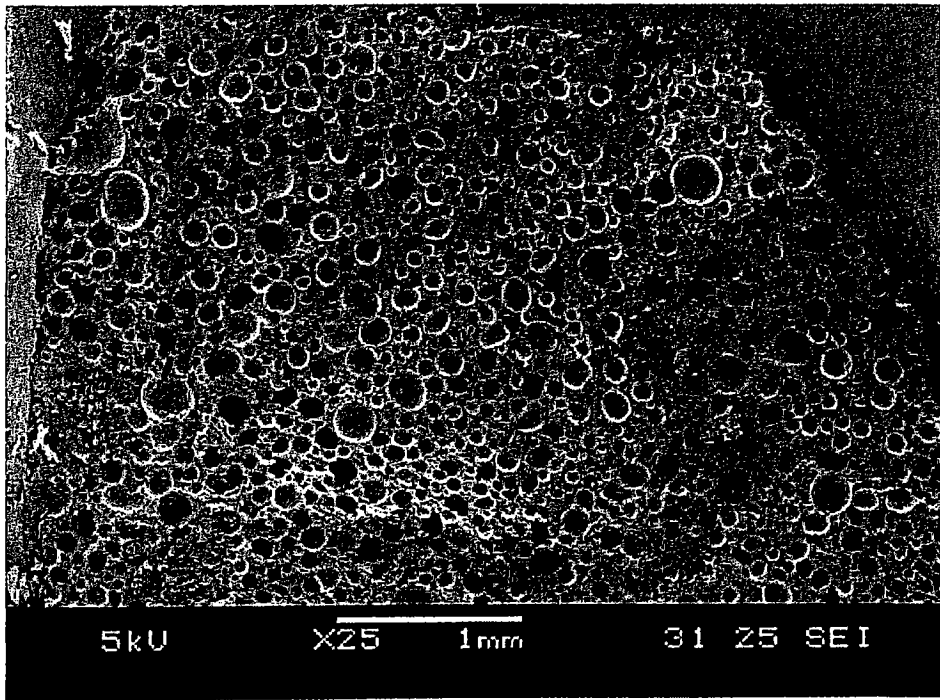


图 1a

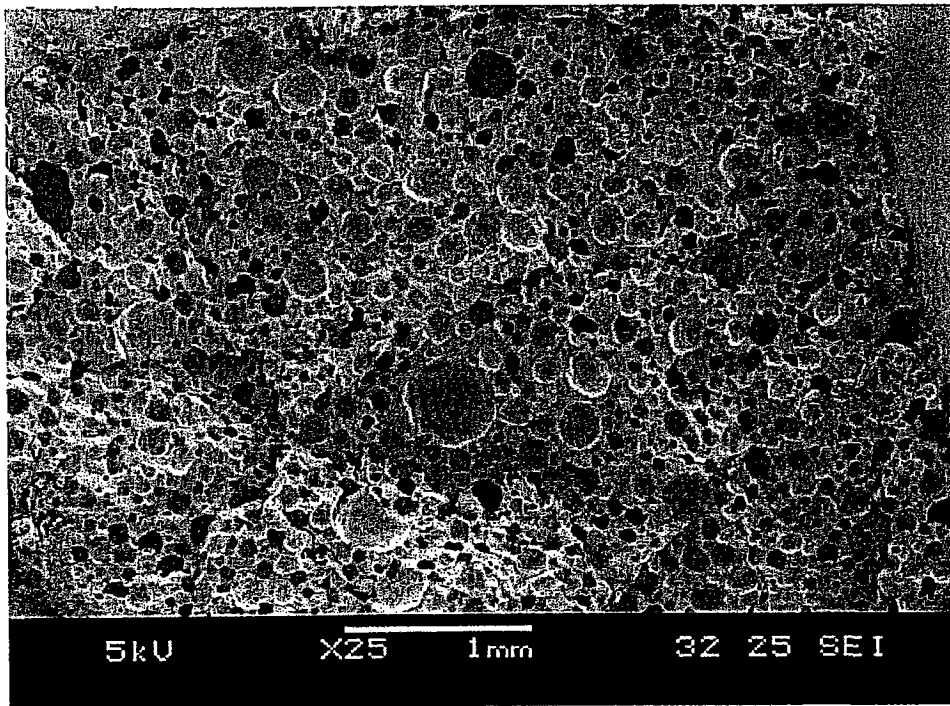


图 1b

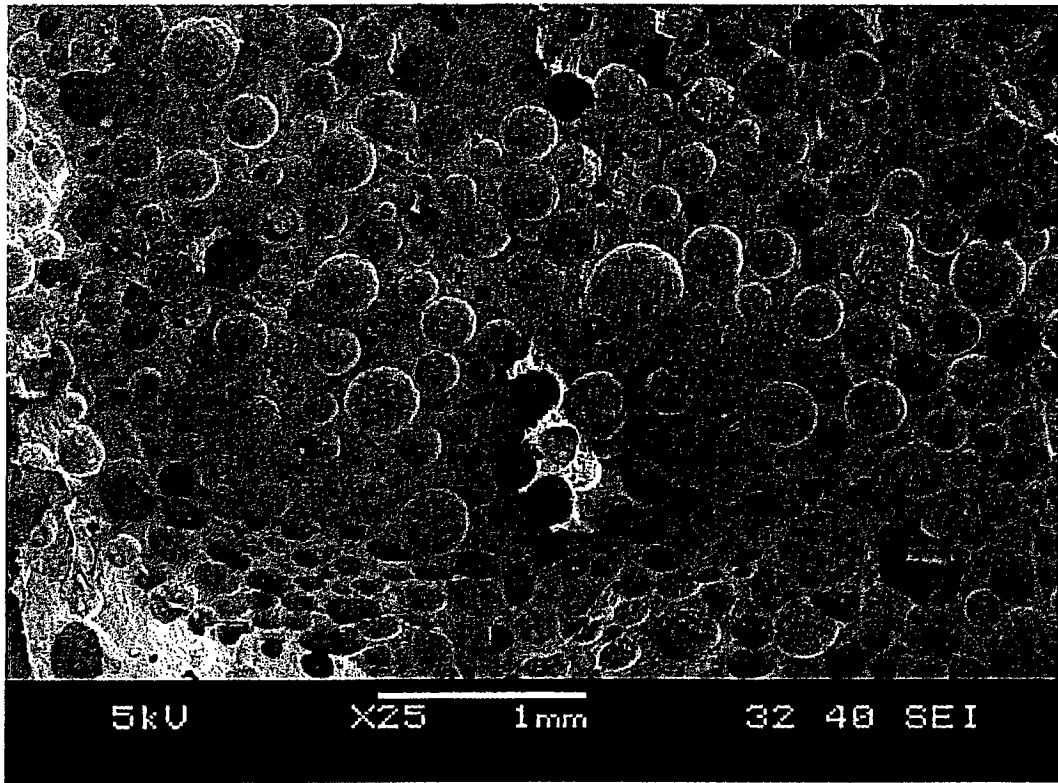


图 2a

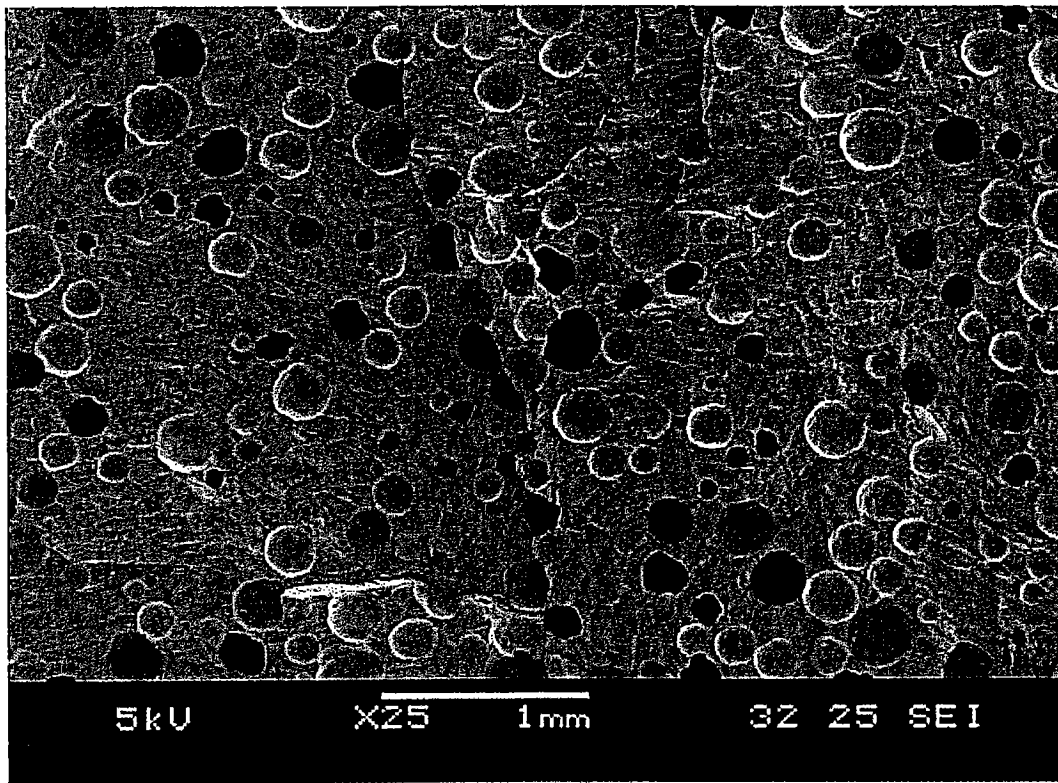


图 2b

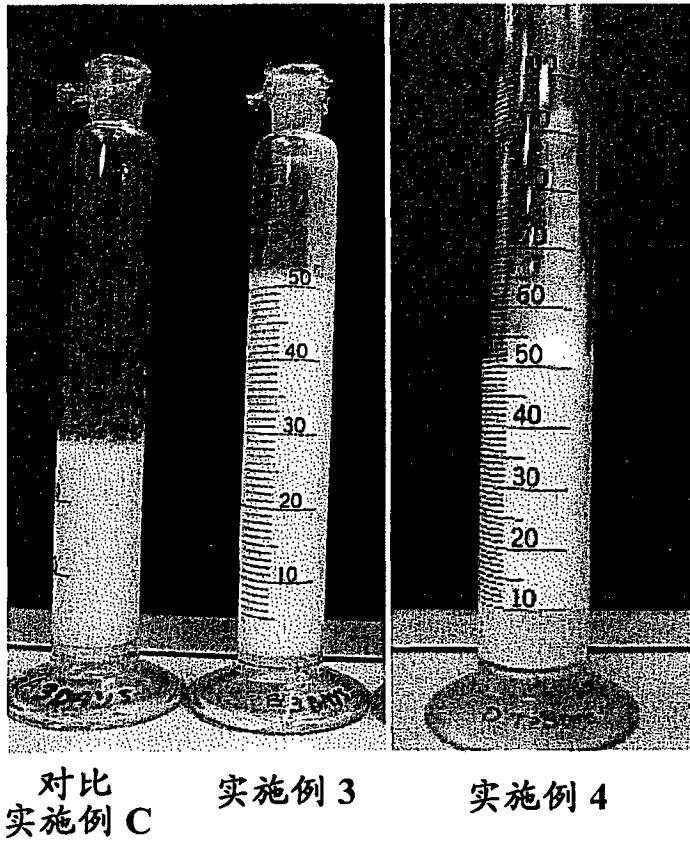


图 3



图 4a



图 4b