

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 713**

51 Int. Cl.:  
**A21D 15/08** (2006.01)  
**A23L 3/3463** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05707851 .1**  
96 Fecha de presentación: **26.01.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1711064**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.10.2006**

54 Título: **Producto horneado tratado con natamicina y un proceso para ello**

30 Prioridad:  
**28.01.2004 US 765210**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**30.07.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**30.07.2012**

73 Titular/es:  
**Dupont Nutrition Biosciences ApS  
Langebrogade 1 P.O. Box 17  
1001 Copenhagen K, DK**

72 Inventor/es:  
**WILLIAMS, Graham;  
DELVES-BROUGHTON, Joss;  
FARAGHER, John;  
SALMELA, Diane;  
HARDY, Jay;  
HAUGAN, Kersti;  
THOMAS, Linda y  
WISLER, Peter**

74 Agente/Representante:  
**de Elzaburu Márquez, Alberto**

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 2 385 713 T3

## DESCRIPCIÓN

Producto horneado tratado con natamicina y un proceso para ello.

**Antecedentes de la invención**

5 La presente invención se refiere un producto de panadería fina fermentado sin levadura con duración aumentada, y a un proceso para aumentar la duración de productos de panadería fina con humedad alta e intermedia.

10 Muchos productos horneados producidos de modo industrial surgen del proceso de horneado con una superficie que es fundamentalmente estéril, pero la manipulación tras el horneado puede conducir rápidamente a la contaminación fúngica de la superficie como resultado de la exposición a contaminantes del aire, así como por contacto con el equipo. Tras la contaminación de la superficie, muchos productos horneados son entonces muy vulnerables a la descomposición de la superficie por mohos, cuya gravedad está ligada a factores tales como el grado de contaminación, el contenido de humedad del producto y las condiciones de almacenamiento. Los productos horneados con un pH relativamente neutro, un alto contenido de humedad y una alta actividad acuosa, tales como bizcochos, magdalenas, gofres y tortillas, son particularmente propensos a una descomposición rápida por una diversidad de mohos, principalmente de la especie *Penicillium* y *Aspergillus*. La fabricación de productos de buen sabor con alto contenido de humedad con una larga duración sin mohos es un desafío técnico constante y presente en la industria de la panadería.

15 Se han adoptado diversos métodos para intentar lograr la duración requerida. Estos incluyen la adición de humectantes para reducir la actividad acuosa, la adición de conservantes químicos inhibidores de mohos, tales como propionatos o sorbatos, la limitación de la disponibilidad de oxígeno a través de un envasado en atmósfera modificada y un envasado activo que contiene captadores de oxígeno o que proporciona un espacio superior saturado con etanol en el envase utilizando inserciones en forma de sobres o tiras que contienen etanol. Los conservantes químicos, tales como sorbato y propionato, son más eficaces a pH bajo, de modo que a menudo se añaden ácidos en combinación con estos conservantes para reducir el pH del producto de panadería y, por tanto, para mejorar la eficacia del conservante añadido.

20 La adición de ácidos, conservantes químicos y humectantes puede afectar al sabor y a la calidad del producto y su uso a menudo es un compromiso entre lograr el producto con mejor sabor y la mayor duración posible. La conservación basada en los sistemas de envasado depende mucho de la integridad del envase, e incluso los mejores sistemas pueden sufrir fallos en la duración debido a daños en el envase o fallos en el sellado y, por tanto, una pérdida de la integridad del envase. Por tanto, sigue existiendo el problema técnico de proporcionar un sistema de conservación eficaz que no afecte de forma adversa al sabor de los artículos horneados.

25 La natamicina es un agente antifúngico natural de macrólido de polieno producido por la fermentación de la bacteria *Streptomyces natalensis*. La natamicina (antes conocida como pimarcina) tiene un modo de acción extremadamente eficaz y selectivo frente a un espectro muy amplio de levaduras y mohos habituales que descomponen los alimentos, siendo inhibidas la mayoría de las cepas por concentraciones de 1-15 ppm de natamicina.

30 La natamicina se ha utilizado durante muchos años en un gran número de países a lo largo del mundo, como un tratamiento de conservación autorizado para quesos y ciertos productos cárnicos, tales como salchichas desecadas. A pesar de este uso prolongado hasta la fecha no se ha indicado el desarrollo de cepas resistentes, a diferencia de los conservantes químicos de ácidos orgánicos sorbato y propionato, para los que se ha detectado e informado de una serie de levaduras y mohos resistentes. Algunas especies de *Penicillium* incluso son capaces de degradar y de metabolizar el sorbato.

35 La natamicina es mucho menos soluble en agua que los conservantes químicos de ácidos orgánicos, estando su solubilidad máxima en alrededor de 40 ppm. En la práctica esto significa que cuando se aplica a la superficie de quesos o salchichas, la natamicina muestra una difusión muy limitada y tiende a permanecer sobre la superficie de los alimentos. La natamicina es activa a lo largo de un intervalo de pH amplio, y a diferencia de los conservantes de ácidos orgánicos, no depende de un ambiente con un pH ácido bajo para mostrar una buena actividad antifúngica. No se ha indicado que la eficacia de la natamicina a niveles de aplicación muy bajos sobre quesos y salchichas tenga alguna calidad adversa o impacto sobre el sabor de los productos.

40 Aunque la natamicina se ha utilizado durante mucho tiempo en quesos y salchichas, no existen apenas informes acerca del uso de la natamicina para otros tipos de alimentos. Según el artículo "Antibiotics in Food: Primarcin", en the Encyclopaedia of Food Technology, volumen 2, 1974, The Avi Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut, EEUU, págs. 36-37, Eds. A.H. Johnson y M.S. Peters, la natamicina (pimarcina) está permitida en varios países como aditivo alimentario, y se añade a los alimentos (por ejemplo, zumo de naranja, vino), o los alimentos se sumergen, se empapan o se pulverizan con natamicina acuosa (por ejemplo, quesos, salchichas, fruta).

45 El documento US 2004/0013781 describe un producto de pan completamente horneado que permanece blando durante una larga duración. El pan puede protegerse mediante un inhibidor microbiano que puede ser natamicina. En las realizaciones descritas, el inhibidor se incluye en la masa en el momento del horneado. Sin embargo, también se sugiere que un inhibidor de sorbato de potasio puede pulverizarse en una disolución acuosa sobre el pan

después del horneado.

En EEUU está permitida la adición directa de natamicina a la masa de tortillas antes del horneado. La masa de las tortillas se fermenta sin levadura y, por tanto, es posible la adición de natamicina a la masa de las tortillas. En las masas fermentadas con levadura no puede utilizarse la natamicina, puesto que mataría a las levaduras. Debido a esta limitación de utilizar la natamicina en productos de panadería fermentados con levadura, parece que la natamicina se ha ensayado sobre la superficie de pan fermentado con levadura. Así, el artículo mencionado anteriormente en la Enciclopedia de 1974 también indica que "el pan blanco y de centeno están bien protegidos cuando sus superficies se pulverizan con una disolución de 100-500 ppm de pimaricina". No se indican resultados específicos que apoyen el comentario de "bien protegidos", y no existen referencias citadas para este trabajo. No se ofrecen niveles diana de natamicina/pimaricina sobre la superficie del pan, ni se mencionan métodos de pulverización ni dianas de duración. En una posterior versión actualizada de este artículo para la misma Enciclopedia no se menciona este trabajo de panadería. El artículo también hace referencias vagas similares al tratamiento de la superficie de masas sin hornear y a la adición directa de 25-50 ppm en rellenos para bizcochos y tartas.

La adición directa de natamicina a glaseados y rellenos de bizcochos también es descrita por J. Tichá en Mlynskopekarensky promysl, 7/1975, págs. 225-228, como eficaz para prevenir el crecimiento de mohos y levaduras durante aproximadamente 14 días. El artículo concluye que la natamicina mezclada con lactosa es útil para conservar rellenos de requesón, glaseados y cremas de mantequilla.

El uso de la natamicina para proteger la superficie de rellenos de pasteles de luna cantoneses y de pasteles está permitido por la legislación china. Sin embargo, los propios pasteles de luna a menudo tiene una actividad acuosa bastante baja y, por tanto, no son tan propensos a la descomposición como los rellenos, que a menudo están preparados con sustancias alimentarias fácilmente perecederas.

Muchos productos de pastelería fina deben tener una duración muy larga. Los productos de pastelería fina con humedad alta e intermedia, tales como magdalenas, tortillas, gofres, tortitas, pizzas, pasteles, bizcochos y similares habitualmente se envasan y se mantienen a temperatura ambiente en conservación de 2 a 10 semanas y a veces más. En contraste con esto, los artículos horneados fermentados con levadura, tales como pan, tienden a ponerse rancios mucho antes, y la duración de la mayoría de los panes normalmente no es mayor de dos semanas.

El alto contenido de agua de muchos productos de panadería fina hace que sean muy sensibles a la descomposición por el crecimiento de mohos y levaduras. Esto es especialmente cierto cuando la actividad acuosa del producto  $a_w$  es 0,8 o mayor, en especial 0,85 o mayor. En un intento de proteger los productos horneados con humedad intermedia y con humedad alta del crecimiento de mohos, los presentes inventores añadieron natamicina a la masa de tortillas, según permiten las normas de EEUU, y a la masa de pasteles y glaseado de huevo de pasteles de luna chinos antes del horneado. Sin embargo, de forma sorprendente, los intentos fallaron y no produjeron ninguna mejora significativa en la duración de los productos horneados. Se descubrió que no tuvo éxito la incorporación de natamicina en los productos horneados, a pesar del hecho de que aún podían detectarse niveles de natamicina que normalmente se considerarían eficaces contra levaduras y mohos en los productos después del proceso de horneado.

En dos ensayos separados, en los que se incorporó natamicina (como Natamax) en tortillas, no se logró el control del crecimiento de mohos sobre la superficie durante el tiempo de duración. Los análisis de las tortillas mohosas de ambos ensayos mostraron que la natamicina aún estaba presente dentro de las tortillas a niveles entre 14,0 y 28,0 ppm. Normalmente se esperaría que estos niveles relativamente elevados de natamicina residual produjeran un buen control del crecimiento de mohos, lo que indica que la natamicina presente dentro de estas tortillas no está biológicamente disponible en la superficie del producto, en donde se requiere que sea eficaz.

Por consiguiente, la natamicina no podría utilizarse en los productos horneados fermentados sin levadura de la manera en que los expertos en la técnica la han aplicado normal y preferiblemente, es decir, mediante la adición directa de la natamicina a los ingredientes antes del horneado. Por tanto, sigue existiendo el problema de cómo aumentar la duración de productos de panadería fina que tienen una actividad acuosa y una tendencia al crecimiento de mohos elevadas, mientras que se optimizan las características deseables del producto, tales como el pH y el sabor.

Los documentos citados en este texto ("documentos citados en la presente memoria"), así como cada documento o referencia citada en cada uno de los documentos citados en la presente memoria, y todas las normas, la bibliografía de los fabricantes, las especificaciones, las instrucciones, las hojas de datos de productos, las hojas de datos de materiales y similares, así como cada producto mencionado en este texto, se incorporan de este modo en la presente memoria expresamente como referencia.

#### **Breve resumen de la invención**

La presente invención se basa en la comprensión de que la natamicina aún puede ayudar a solucionar los problemas de conservación de productos de panadería fina con humedad alta e intermedia, con la condición de que se aplique sobre la superficie de los productos horneados después del horneado. El contenido de humedad

relativamente alto de los productos de panadería asegura que una cantidad eficaz de natamicina disuelta esté continuamente presente para combatir el crecimiento de levaduras y mohos sobre la superficie de los productos horneados.

5 Por tanto, la presente invención proporciona un producto horneado fermentado sin levadura con humedad alta o intermedia que tiene una actividad acuosa  $a_w > 0,8$ , teniendo la superficie de dicho producto de panadería depositada sobre ella una cantidad eficaz de natamicina, que es suficiente para mantener dicho producto sin mohos cuando se envasa durante un tiempo de almacenamiento de 2 semanas o más a temperatura ambiente, en el que dicha cantidad eficaz de natamicina comprende de 1 a 10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$  de la superficie de dicho producto horneados.

10 La presente invención también proporciona un proceso para aumentar la duración de productos de panadería fina, que comprende proporcionar un producto de panadería fina horneado que tiene una actividad acuosa  $a_w > 0,8$ ; pulverizar natamicina sobre la superficie exterior de dicho producto horneado para depositar una cantidad eficaz de natamicina sobre ella; envasar dicho producto horneado pulverizado en un envoltorio protector; y almacenar dicho producto envasado a temperatura ambiente. La natamicina depositada sobre la superficie de dicho producto de panadería se proporciona en una cantidad que es eficaz para mantener dicho producto sin moho incluso cuando se conserva durante 3 semanas o más, en el que dicha cantidad eficaz de natamicina comprende de 1 a 10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$  de la superficie de dicho producto horneado.

20 El producto de panadería fina de la invención es un producto de panadería fina fermentado sin levadura que tiene una actividad acuosa  $a_w > 0,8$ , preferiblemente entre 0,8 y 0,95, preferiblemente entre 0,80 y 0,90, lo más preferiblemente entre 0,85 y 0,90. Los productos de panadería fina de larga duración preferidos protegidos por la invención se seleccionan de magdalenas, gofres, tortillas, pizzas, bases de pizza, tortitas, pasteles, bizcochos y productos de panadería fina horneados similares. Debe considerarse que la expresión "panadería fina" incluye también productos parcialmente horneados de panadería fina.

25 El aumento de la duración sin mohos logrado por la presente invención tiene una importancia inmensa en la industria de la panadería y permitirá la sustitución de conservantes químicos, tales como propionato, benzoato y sorbato, por la natamicina, una alternativa natural, menos tóxica e insípida. La creencia de que la natamicina no es un conservante eficaz para productos horneados (basado en la evidencia de la falta de eficacia cuando se incorpora en los alimentos antes del horneado) ha demostrado ser falsa y ha sido superada por la presente invención pulverizando la natamicina sobre productos tras el horneado. Aunque esto requiere que los posibles usuarios inviertan en un equipo de pulverización adecuado que pueda administrar una aplicación uniforme de natamicina a todas las superficies de productos de panadería, las ventajas de la natamicina tienen mayor peso que las desventajas de su uso.

30 Aunque no se desea que esté ligado a ninguna teoría, se cree que la falta de eficacia de la natamicina que se advierte cuando la natamicina se incluye directamente en los ingredientes de los productos de panadería fina está provocada por una combinación de 1) degradación por calor de la natamicina en la superficie, y 2) la formación de un corteza en la superficie durante el horneado que evita que la natamicina dentro de los productos horneados alcance la superficie.

### Descripción detallada de la invención

35 La falta de eficacia que se ha observado cuando la natamicina se incorpora a productos de panadería de alta actividad acuosa fermentados sin levadura antes del horneado ha conducido a la idea de la nueva solución alternativa de aplicar natamicina como una suspensión con base acuosa pulverizada con precisión directamente sobre las superficies expuestas del producto de panadería fina con alta actividad acuosa después del proceso de horneado. Esta nueva estrategia administra una concentración suficiente de natamicina disponible directamente sobre la superficie del producto horneado en donde se produce la contaminación fúngica. Se ha solucionado cualquier problema de pérdidas durante el proceso de horneado y la disponibilidad sobre la superficie.

40 Por consiguiente, la invención proporciona un producto de panadería fina cuya duración ha aumentado mediante el uso de natamicina sobre su superficie. Los productos de panadería fina son productos fermentados sin levadura previstos para una duración larga y que tienen un contenido de humedad que les hace ser susceptibles a la descomposición en la superficie por mohos y levaduras. Estos productos de panadería fina son productos horneados con humedad intermedia o alta que tienen una actividad acuosa  $a_w > 0,8$ , preferiblemente de 0,85 o más. Un contenido de humedad de 0,8 a 0,85 se considera en la presente memoria un contenido de humedad intermedio, mientras un contenido de humedad mayor que 0,85 se considera como un contenido de humedad alto. Los ejemplos típicos de dichos productos de panadería fina son bizcochos, magdalenas, gofres, tortillas, pizzas, tortitas, pasteles, bizcochos y productos de panadería de alta actividad acuosa similares, así como productos de panadería fina parcialmente horneados similares. Las pizzas son, por ejemplo, pizzas precocinadas o bases de pizza.

45 La superficie del producto de panadería fina de la invención tiene depositada sobre ella una cantidad eficaz de natamicina que es suficiente para mantener el producto sin crecimiento de mohos y levaduras aunque el producto se envase y se almacene durante un periodo de tiempo de 2 semanas o más. La cantidad eficaz de natamicina sobre la superficie del producto terminado es entre 1-10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$ , y es suficiente para mantener el producto horneado sin moho durante 3 a 10 semanas, preferiblemente durante 6 a 10 semanas o incluso más, cuando el producto se almacena a

temperatura ambiente, que habitualmente varía entre 15 °C y 30 °C, y que más a menudo es de 18 °C a 25 °C.

Cuando el proceso de la presente invención se utiliza, se pulveriza con natamicina la superficie exterior de un producto de panadería fina horneado que tiene una actividad acuosa  $a_w > 0,8$ . La pulverización debería realizarse de modo que una cantidad eficaz como conservante de natamicina se deposite sobre la superficie expuesta del producto.

5 Generalmente, la natamicina se pulveriza sobre la superficie expuesta en forma de una suspensión acuosa que contiene natamicina en forma de natamicina disuelta y también en forma sólida, cristalina, no disuelta. La natamicina cristalina es poco soluble en agua y los cristales de natamicina sólidos finamente divididos se depositarán sobre la superficie junto con el agua y la natamicina disuelta. Una suspensión de natamicina acuosa preferida para pulverizar contiene natamicina a una concentración de 250 a 7000 mg, más preferiblemente de 1000 a 4000 mg de natamicina por litro de agua.

10 En una realización preferida de la invención, la natamicina se deposita sobre dicha superficie en una suspensión que incluye un espesante. El espesante se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en agar, alginatos, carragenano, celulosa y derivados, gomas, gelatina, pectinas y sus derivados, poli(acetato de vinilo), almidones y almidones modificados, y agente suspensores. Los derivados de celulosa útiles son celulosa de sodio microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa y metilcelulosa. Las gomas utilizadas son, por ejemplo, goma de xantano, goma de gelano, goma de algarrobilla, goma arábica, goma de tragacanto, goma de karaya, goma de guar, goma de ramxano, goma de conjac, y goma de semillas. Los agentes suspensores utilizados son, por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, polietilenglicol, sílice de pirólisis, glicol y glicerol.

15 El espesante en la suspensión asegura que la natamicina pulverizada permanece distribuida uniformemente en el punto de la deposición y no se acumula en las grietas de los productos horneados.

Se requiere una cantidad muy pequeña de natamicina para proporcionar la protección deseada frente a la descomposición por mohos y levaduras. Se ha descubierto que una cantidad depositada de 1 a 10  $\mu\text{g}$  de natamicina por  $\text{cm}^2$  de la superficie del producto horneado es una cantidad eficaz.

25 La natamicina debería pulverizarse de modo homogéneo sobre todas las superficies exteriores del producto horneado para proteger todo el producto. La natamicina tienen una tendencia muy baja a la migración en el producto y no se extenderá muy lejos del punto de depósito. Para proporcionar un depósito homogéneo debería seleccionarse cuidadosamente el equipo de pulverización. La suspensión de pulverización basada en natamicina se suministra preferiblemente mediante un disco giratorio, una pistola de pulverización neumática o cualquier otro sistema de pulverización adecuado que sea capaz de suministrar un volumen de pulverización pequeño pero constante y preciso sobre una superficie específica dada. El volumen de la suspensión acuosa basada en natamicina pulverizada sobre el producto debería mantenerse preferiblemente al nivel mínimo que permita una cobertura uniforme de la superficie.

30 Sin embargo, la natamicina depositada sobre la superficie del producto de panadería debería ser eficaz para mantener el producto de panadería fina sin moho incluso cuando se almacena durante 2 semanas o más.

35 Después de la pulverización, el producto horneado se envasa en un envoltorio protector, que está fabricado preferiblemente de un material transparente, tal como una caja o película de plástico para permitir que el posible comprador pueda ver el producto y se sienta tentado por él. Las películas en general son de un material hidrófugo para evitar que el producto horneado húmedo se seque y se endurezca durante las varias semanas de almacenamiento.

40 Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

#### **Ejemplo de referencia: Natamicina en pasteles de luna**

45 Los pasteles de luna son productos de panadería tradicionales que se hornean y se consumen en gran cantidad una vez al año en China para celebrar un festival de mediados de otoño. Los pasteles consisten en una capa exterior fina de pastel que cubre una diversidad de rellenos de tipo pasta que se moldean con formas complejas antes del horneado. La parte exterior del pastel se cubre con un glaseado de huevo y se hornea parcialmente a 200°C-210°C durante 15 minutos antes de aplicar un segundo revestimiento de glaseado de huevo y ya queda listo para el horneado final durante 10 minutos a la misma temperatura. La producción, la venta y el almacenamiento a gran escala de pasteles de luna comienza en el periodo anterior al festival y pueden producirse problemas de formación de moho sobre la superficie de estos productos antes de su consumo.

50 Se realizaron dos ensayos de producción de pasteles de luna que contenían pasta de algarrobilla para ensayar la eficacia de la adición directa de natamicina antes del horneado para conservar estos productos de panadería. Los pasteles se envasaron en bolsas de plástico transparente individuales sin más conservantes.

55 Para la primera producción se mezcló un intervalo de cuatro niveles crecientes de natamicina (20, 25, 30 y 35 ppm) en la masa pastelera cruda en cuatro lotes pequeños distintos antes del glaseado y del horneado. Para la segunda producción no se añadió nada a la masa, sino que se añadió un intervalo creciente de los mismos cuatro niveles de 20-35 ppm de natamicina al glaseado de huevo que se aplicó sobre la superficie del pastel después del primer

horneado pero antes de la segunda y última etapa de horneado. También se prepararon pasteles control sin adición de natamicina.

5 Se ensayaron muestras representativas de cada lote para la natamicina residual en muestras de 10 g de la capa superficial del pastel. Se detectaron unos niveles buenos de actividad de natamicina residual en la superficie del pastel en todas las muestras procedentes de ambos ensayos de producción, pero a pesar de esto aún aparecía crecimiento de mohos que producen descomposición sobre la superficie de todos los pasteles tratados con natamicina a los 20-24 días desde la fabricación.

### Ejemplo 1: Natamicina sobre la superficie de panadería fina

10 Las magdalenas son productos de panadería fina fermentados sin levadura basados en harina que son propensos a la descomposición en su superficie debido al crecimiento de mohos y levaduras. Su actividad acuosa  $a_w$  generalmente es de aproximadamente 0,85.

Se prepararon magdalenas según una receta convencional sin añadir conservantes a la masa. Poco después del horneado se pulverizaron las magdalenas individuales mientras aún estaban calientes, eligiendo cuatro tratamientos de pulverización diferentes:

15 1- sólo agua (control)

2- agua que contenía 8% de sal añadida

3- agua que contenía 4 g por litro de lactosa Natamax™ (que contiene natamicina al 50%) que puede obtenerse en Danisco A/S

4- agua que contenía 8 g por litro de lactosa Natamax™

20 La pulverización se realizó utilizando una pistola de pulverización manual neumática con depósito integral. El depósito se agita con frecuencia durante la pulverización para asegurar que los pequeños cristales de natamicina sin disolver se mantengan en suspensión. Cada magdalena se pulverizó de modo uniforme sobre toda la superficie con un volumen mínimo de pulverización finamente ajustado.

25 Después de enfriarse, las magdalenas pulverizadas se envasaron en bolsas de polietileno transparentes termoselladas con 8 a 10 magdalenas por tratamiento por bolsa. Se seleccionaron muestras iniciales y se ensayaron para la actividad acuosa, el pH y la concentración de natamicina en la superficie. Se conservaron a 25 °C bolsas sin abrir de magdalenas para la evaluación de la duración y se estudiaron a diario para observar signos de crecimiento de moho o levaduras en la superficie.

30 La determinación de la natamicina en la superficie se realizó como sigue: Se calculó que la superficie específica de las magdalenas era de 150 cm<sup>2</sup>. Se afeitaron magdalenas individuales y el material total de la superficie se añadió a 100 ml de metanol de alta pureza y se agitó durante 1 hora. Se añadieron 50 ml de agua de alta pureza y entonces la disolución se filtró a través de un filtro de membrana de 0,2 µm. El contenido en natamicina se determinó mediante un análisis de HPLC para la superficie entera y después se dividió entre 150 para producir un resultado en µg de natamicina por cm<sup>2</sup> de superficie de la magdalena.

35 En la tabla 1 se muestran los resultados del análisis de las muestras. Tal como se esperaba, el mayor nivel de natamicina residual se detectó sobre las magdalenas pulverizadas con la mayor concentración de la suspensión de Natamax™ (tratamiento 4).

Tabla 1: Resultados del análisis inicial

Tratamiento	Natamicina residual µg/cm <sup>2</sup>	Actividad acuosa ( $A_w$ )	pH
1) Solo agua	<1	0,839	9,39
2) Sal al 8%	<1	0,854	9,45
3) Natamax™ 4 g/l	2,7	0,864	9,18
4) Natamax™ 8 g/l	4,5	0,851	9,25

40 Los resultados del estudio de incubación de los envases de magdalenas a 25 °C se indican en la tabla 2. Se consideró que los paquetes de magdalenas control pulverizadas sólo con agua o con sal en agua al 8% se habían descompuesto después de tan sólo 5 y 11 días, respectivamente, debido al crecimiento de moho en la superficie claramente visible. En contraste con esto, se encontró que todos los paquetes de magdalenas pulverizadas con los dos niveles de tratamiento de la suspensión de Natamax™ estaban completamente exentos de cualquier crecimiento de mohos sobre la superficie durante un periodo de incubación total de 70 días, tras lo cual se detuvo la incubación.

Tabla 2: Resultados después de la incubación a 25 °C

Tratamiento	nº de días en incubación a 25 °C	Descomposición debida al crecimiento de mohos
1) Solo agua	5 días	Todas descompuestas
2) Sal al 8%	11 días	Todas descompuestas
3) Natamax™ 4 g/l	70 días	Ninguna descompuesta
4) Natamax™ 8 g/l	70 días	Ninguna descompuesta

5 Al final del periodo de incubación de 70 días se ensayaron muestras por triplicado de las magdalenas no descompuestas procedentes de los tratamientos 3 y 4 con pulverización de Natamax™ para determinar los niveles de natamicina en la superficie, la actividad acuosa ( $A_w$ ) y el pH. Los resultados de estos análisis finales se indican en la tabla 3. La natamicina residual aún pudo detectarse a niveles similares a los de la muestra inicial para el tratamiento de pulverización 4 con la concentración mayor, y a niveles reducidos para el tratamiento de pulverización 3 con la concentración menor.

Tabla 3: Resultados del análisis final

Tratamiento	Natamicina residual $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$A_w$ (exterior de la magdalena)	pH (exterior de la magdalena)	$A_w$ (interior de la magdalena)	pH (interior de la magdalena)
3) Natamax™ 4 g/l	0,7	0,85	6,97	0,85	8,15
	0,7	NE	NE	NE	NE
	0,7	NE	NE	NE	NE
4) Natamax™ 8 g/l	4,2	0,83	6,21	0,84	7,91
	3,6	NE	NE	NE	NE
	4,8	NE	NE	NE	NE
NE = no ensayado					

10 Los resultados anteriores demuestran claramente la excelente eficacia conservante de la natamicina, cuando se pulveriza sobre la superficie de este producto horneado basado en harina con humedad relativamente alta, para prevenir o retrasar la descomposición debido al crecimiento de levaduras y mohos en la superficie.

### Ejemplo 2: Natamicina sobre la superficie de panadería fina

Se prepararon magdalenas según la misma receta convencional del ejemplo 1. Las magdalenas individuales se sometieron a uno de tres tratamientos con un mínimo de 50 magdalenas por tratamiento:

15 1- Sin pulverización (control)

2- Pulverización sólo con agua (control)

3- Agua que contenía 4,2 g por litro de Natamax™ SF (sin azúcar, que contiene natamicina al 87%) que puede obtenerse en Danisco A/S

20 Las magdalenas se pulverizaron poco tiempo después del horneado cuando aún estaban calientes. La pulverización se realizó con una pistola de pulverización manual neumática con depósito integral. El depósito se agita con frecuencia durante la pulverización para asegurar que los pequeños cristales de natamicina sin disolver se mantengan en suspensión. Se midió el volumen mínimo aproximado de pulverización requerido para cubrir de modo uniforme la superficie entera de una magdalena, y se calculó que una concentración de 4,2 g por litro de Natamax™ SF administraba una pulverización de 5  $\mu\text{g}$  de natamicina por  $\text{cm}^2$  de magdalena en el tratamiento 3. Cada magdalena se pulverizó de modo uniforme sobre todas las superficies.

25 Después de enfriarse, las magdalenas pulverizadas se envasaron en bolsas de plástico transparentes termoselladas individuales. Se seleccionó una muestra de cada uno de los dos tratamientos control y cinco muestras del tratamiento con pulverización de Natamax™ SF y se ensayaron para la actividad acuosa, el pH, el recuento de levaduras y mohos a 25 °C y los niveles de natamicina residual en la superficie mediante un análisis de HPLC. Se conservaron a 25 °C cuarenta magdalenas sin abrir para la evaluación de la duración y se estudiaron a diario para observar signos de crecimiento de moho o levaduras en la superficie.

Los resultados del análisis de las muestras iniciales se muestran en la tabla 4. Se encontró que los niveles de natamicina residual detectados sobre las magdalenas pulverizadas con la suspensión de Natamax™ SF estaban cerca del nivel diana de 5 µg por cm<sup>2</sup>.

**Tabla 4: Resultados del análisis inicial**

Tratamiento	Natamicina residual µg/cm <sup>2</sup>	Actividad acuosa (exterior de la magdalena)	Actividad acuosa (interior de la magdalena)	Mohos a 25 °C/g	pH
1) Sin pulverización (control)	< 0,2	0,855	0,867	< 50	8,55
2) Solo agua (control)	< 0,2	0,863	0,877	< 50	8,65
3) Natamax™ SF 4,2 g/l	5,1	0,863	0,879	< 50	8,27
	4,3	NE	NE	< 50	NE
	3,4	NE	NE	< 50	NE
	3,8	NE	NE	< 50	NE
	5,8	NE	NE	< 50	NE
NE = no ensayado					

- 5 Los resultados del estudio de incubación de las 40 magdalenas por tratamiento se indican en la tabla 5. La primera muestra control no pulverizada (tratamiento 1) desarrolló un crecimiento de mohos en la superficie después de tan sólo 7 días, lo cual produce una duración sin mohos de sólo 6 días. La primera muestra control pulverizada con agua (tratamiento 2) desarrolló un crecimiento de mohos en la superficie después de sólo 10 días. En contraste a esto, todas las 40 magdalenas pulverizadas con la suspensión de Natamax™ SF permanecieron completamente exentas de cualquier crecimiento de mohos en la superficie durante un periodo de incubación total de 68 días, tras lo cual se detuvo la incubación. Así, en este experimento de ensayo, un tratamiento con una pulverización de natamicina en la superficie de aproximadamente 5 µg/cm<sup>2</sup> aumentó la duración sin mohos de magdalenas a 25 °C de 6 días hasta al menos 68 días.

**Tabla 5: Resultados después de la incubación a 25 °C**

Días de incubación a 25 °C	nº que muestra crecimiento de mohos/nº en incubación		
	Tratamiento 1: control sin pulverización	Tratamiento 2: control solo con agua	Tratamiento 3: Natamax™ SF 4,2 g/l
6	0/40	0/40	0/40
7	1/40	0/40	0/40
9	2/40	0/40	0/40
10	3/40	1/40	0/40
14	5/40	1/40	0/40
17	6/40	2/40	0/40
23	6/40	3/40	0/40
24	7/40	4/40	0/40
63	8/40	4/40	0/40
68	8/40	4/40	0/40

15

**Ejemplo 3: Suspensión de natamicina sobre la superficie de magdalenas**

## ES 2 385 713 T3

Se ensayó una suspensión de natamicina sola, así como una suspensión de natamicina que contenía un espesante, sobre la superficie de magdalenas. La suspensión de natamicina contenía 2000 ppm de natamicina o 2000 ppm de natamicina y 0,25% del espesante HPMC, respetivamente.

5 Las magdalenas se prepararon según una receta convencional sin añadir conservantes a la masa. Poco después del horneado una tercera parte de las magdalenas se pulverizaron, mientras aún estaban calientes, con la suspensión de natamicina sin espesante, y una tercera parte con la suspensión de natamicina que incluye el espesante. La pulverización se realizó utilizando una pistola de pulverización manual neumática con depósito integral. Cada magdalena se pulverizó de modo uniforme sobre toda las superficies con un volumen mínimo de pulverización finamente ajustado.

10 Después de enfriarse, las magdalenas pulverizadas se envasaron en bolsas de polietileno transparentes termoselladas. Se conservaron a 25 °C bolsas sin abrir de magdalenas para la evaluación de la duración y se estudiaron a diario para observar signos de crecimiento de moho o levaduras en la superficie.

15 Se conservaron muestras de magdalenas tratadas con natamicina, así como muestras de magdalenas control sin tratar (a las que no se les pulverizó natamicina sobre la superficie) a temperatura ambiente (25 °C). Las muestras tratadas con natamicina no mostraron moho después de 16 días de conservación, mientras que las muestras control mostraron un crecimiento de mohos con mucha rapidez, después de 5 días, tal como puede verse en la siguiente tabla 6 de observación de moho.

Tabla 6

Días hasta que se observa moho	Magdalenas control/no tratadas	Magdalenas tratadas con natamicina	Magdalenas tratadas con natamicina + espesante
1	0	0	0
2	0	0	0
5	0	0	0
6	1	0	0
7	2	0	0
8	3	0	0
9	4	0	0
10	4	0	0
11	4	0	0
12	4	0	0
13	5	0	0
14	5	0	0
15	5	0	0
16	5	0	0

Escala: 0 = no se observa moho  
5 = descomposición por moho extensiva

20 La tabla muestra con bastante claridad que el tratamiento con una suspensión de natamicina con o sin un espesante evita el crecimiento del moho sobre la magdalena.

Los anteriores ejemplos demuestran claramente la eficacia de conservación de la natamicina cuando se pulveriza sobre la superficie exterior de productos de panadería fina que tienen una actividad acuosa mayor que 0,8, que son susceptibles de sufrir una descomposición en la superficie por mohos y levaduras durante el almacenamiento.

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un producto de panadería fina fermentado sin levadura con duración aumentada, que comprende un producto horneado con humedad alta o intermedia que tiene una actividad acuosa  $a_w > 0,8$ , teniendo la superficie de dicho producto de panadería depositada sobre ella una cantidad eficaz de natamicina, que es suficiente para mantener dicho producto sin mohos cuando se envasa durante un tiempo de almacenamiento de 2 semanas o más a temperatura ambiente, en el que dicha cantidad eficaz de natamicina comprende de 1 a 10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$  de la superficie de dicho producto horneado.
- 2.- El producto de panadería fina de la reivindicación 1, en el que dicho producto de panadería fina se selecciona de magdalenas, gofres, tortillas, bizcochos, pizzas, pasteles, tortitas y productos similares horneados o parcialmente horneados.
- 3.- El producto de panadería fina de la reivindicación 1, en el que la actividad acuosa  $a_w$  de dicho producto horneado está entre 0,8 y 0,95.
- 4.- El producto de panadería fina de la reivindicación 3, en el que la actividad acuosa  $a_w$  de dicho producto horneado está entre 0,8 y 0,90.
- 5.- El producto de panadería fina de la reivindicación 3, en el que la actividad acuosa  $a_w$  de dicho producto horneado está entre 0,85 y 0,90.
- 6.- El producto de panadería fina de la reivindicación 1, en el que dicha natamicina se deposita sobre dicha superficie en una suspensión que incluye un espesante seleccionado del grupo que consiste en agar, alginatos, carragenano, celulosa y derivados, gomas, gelatina, pectinas y sus derivados, poli(acetato de vinilo), almidones y almidones modificados, y agentes suspensores.
- 7.- El producto de panadería fina de la reivindicación 1, en el que dicha natamicina se deposita sobre dicha superficie en una cantidad de 1 a 10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$  para mantener dicho producto horneado sin mohos durante un tiempo de conservación de 3 a 10 semanas.
- 8.- El producto de panadería fina de la reivindicación 7, en el que dicha natamicina se deposita sobre dicha superficie en una cantidad de 1 a 10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$  para mantener dicho producto horneado sin mohos durante un tiempo de conservación de 6 a 10 semanas.
- 9.- El producto de panadería fina de la reivindicación 1, en el que dicha temperatura ambiente comprende una temperatura de 15 °C a 30 °C.
- 10.- El producto de panadería fina de la reivindicación 9, en el que dicha temperatura ambiente es de 18 °C a 25 °C.
- 11.- El producto de panadería fina de la reivindicación 1, en el que dicho producto se envasa en un envoltorio protector.
- 12.- El producto de panadería fina de la reivindicación 11, en el que dicho envoltorio es de un material hidrófugo y/o transparente.
- 13.- Un proceso para aumentar la duración de productos de panadería fina, que comprende:
- proporcionar un producto de panadería fina horneado que tiene una actividad acuosa  $A_w > 0,8$ ;
  - pulverizar la superficie exterior de dicho producto horneado con natamicina para depositar una cantidad eficaz de natamicina sobre ella;
  - envasar dicho producto de panadería pulverizado en un envoltorio protector; y
  - conservar dicho producto envasado a temperatura ambiente;
- siendo la natamicina depositada sobre la superficie de dicho producto de panadería eficaz para mantener dicho producto sin mohos incluso cuando se almacena durante 3 semanas o más, en el que dicha cantidad eficaz de natamicina comprende de 1 a 10  $\mu\text{g}$  por  $\text{cm}^2$  de la superficie de dicho producto horneado.
- 14.- El proceso de la reivindicación 13, en el que dicha natamicina se pulveriza sobre dicha superficie en forma de una suspensión acuosa.
- 15.- El proceso de la reivindicación 14, en el que dicha suspensión incluye un espesante seleccionado del grupo que consiste en agar, alginatos, carragenano, celulosa y derivados, gomas, gelatina, pectinas y sus derivados, poli(acetato de vinilo), almidones y almidones modificados, y agentes suspensores.
- 16.- El proceso de la reivindicación 14, en el que dicha suspensión contiene natamicina a una concentración de 250

a 7000 mg de natamicina por litro de agua.

17.- El proceso de la reivindicación 16, en el que dicha suspensión contiene natamicina a una concentración de 1000 a 4000 mg de natamicina por litro de agua.

5 18.- El proceso de la reivindicación 14, en el que dicha suspensión de natamicina contiene natamicina disuelta y natamicina cristalina.

19.- El proceso de la reivindicación 13, en el que dicha natamicina se pulveriza de forma homogénea sobre todas las superficies exteriores de dicho producto horneado.