

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 451 508**

51 Int. Cl.:

**A23C 19/02** (2006.01)

**B01J 13/00** (2006.01)

**B01J 13/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2009 E 09166616 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2014 EP 2149306**

54 Título: **Proceso de acervación múltiple simultánea**

30 Prioridad:

**30.07.2008 US 182674**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**27.03.2014**

73 Titular/es:

**KRAFT FOODS GLOBAL BRANDS LLC (100.0%)  
Three Lakes Drive  
Northfield, IL 60093, US**

72 Inventor/es:

**LOH, JIMBAY PETER;  
HONG, YEONG-CHING ALBERT;  
MA, YINQING;  
CHA, ALICE S. y  
KANG, IKSOON**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 451 508 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Proceso de acervación múltiple simultánea

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere a procesos de preparación de matrices poliméricas estructuradas que usan dos o mas mecanismos de acervación de forma simultánea.

**Antecedentes de la invención**

10 La acervación es un mecanismo o reacción que "aglomera" polímero(s) soluble(s) para formar matrices insolubles, estructuras o asociaciones que tienen un tamaño significativamente mayor que las moléculas poliméricas individuales en disolución. Los mecanismos de acervación incluyen, entre otros, polimerización, reticulación, formación de complejos, precipitación (tal como isoelectrónica, iónica, con disolvente, y similares), coagulación, desnaturalización (tal como por medio de pH, calor, enzimas, química y similares) y coacervación. No obstante, por medio del uso de métodos de acervación convencionales, las características de las matrices poliméricas sólidas se encuentran limitadas de este modo al(a los) polímero(s) particular(es) y/o al(a los) mecanismo(s) de acervación particular(es) usado(s).

15 Por ejemplo, el tratamiento enzimático de caseína, una proteína de la leche, con la renina de proteasa produce un agregado de estructura muy blanda, mientras que el tratamiento de caseína con sal de calcio forma un precipitado de caseinato de calcio denso. El ajuste de pH de la caseína a un valor de pH próximo a su punto isoelectrónico tiene como resultado un precipitado insoluble de tipo arenoso conocido comercialmente como caseína ácida. De este modo, el mecanismo particular de acervación usado para tratar caseína en cada caso tiene como resultado acervados (es decir, agregados o precipitados) que tienen características estructurales y texturas diferentes.

20 La formación de una matriz polimérica semi-sólida (tal como requesón procedente de leche) se ha logrado comúnmente usando un mecanismo de acervación individual. Generalmente, se prepara requesón a partir de líquidos lácteos por medio de procesos que incluyen el tratamiento del líquido con un agente de coagulación. El agente de coagulación puede ser una enzima de formación de requesón (por ejemplo, cuajo) o un ácido comestible, incluyendo un cultivo bacteriano apropiado para generar un ácido comestible *in situ*. El coágulo resultante o requesón generalmente incorpora caseína que se ha modificado por medio del proceso de formación de requesón. Generalmente, el mecanismo de acervación implicado es bien hidrólisis de enzimas de caseína-k o precipitación isoelectrónica. Aunque es una práctica común rebajar el pH de la leche antes de la adición de la enzima para reducir la cantidad de enzima necesaria, la hidrólisis enzimática es el único mecanismo de acervación implicado, ya que el pH del requesón final es significativamente más elevado que el punto isoelectrónico de la caseína. Además, la hidrólisis enzimática y el ajuste de pH no se llevan a cabo de forma simultánea.

25 En la técnica se usan otros mecanismos de acervación individuales de forma común. Específicamente, la coacervación de dos polímeros se usa comúnmente en aplicaciones de encapsulado. Generalmente, los métodos que implican segundos mecanismos se usan para modificar o tratar de modificar la estructura/acervado que se forma por medio del primer mecanismo. En dichos casos, los mecanismos se llevan a cabo de forma secuencial: Littoz y col., *Food Hydrocolloids*, 22(7): 1203-1211 (2008) (ajuste de pH seguido de reticulación enzimática); Yin y col., *J. Macromolecules*, 36(23): 8773-8779 (2003) (coacervación seguida de reticulación); Lin y col., *J. Pharmaceutical Research*, 11(11): 1588-1592 (1994) y Lin y col., *J. Biomaterials*, 18(7): 559-65 (1997) (que produce nanoesferas usando coacervación seguida de reticulación con glutaraldehído); y Bachtisi y col., *J. Applied Polymer Science*, 60(1): 9-20 (1996) (adición de sulfato de sodio seguida de reticulación química usando glutaraldehído). El uso de mecanismos de acervación individuales o mecanismos de acervación llevados a cabo de forma secuencial tiene como resultado matrices poliméricas que tienen características limitadas al(a los) polímero(s) particular(es), el mecanismo de acervación usado, y/o el orden de los mecanismos de acervación particulares puestos en práctica.

30 Se han estudiado los efectos de varias condiciones físicas (por ejemplo, temperatura, cizalladura, pH y similares) sobre los mecanismos de acervación específicos, tales como coacervación, separación de fases y reticulación. Por ejemplo, se han estudiado los factores que afectan a la reticulación o la formación térmica de gel de proteína de suero lácteo por medio de calentamiento de disoluciones de proteína de suero lácteo a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sal. Dunkeley & Hayes, *J. Dairy Science & Technology*, 15:191 (1980) y Xiong, *J. Agric. Food Chemistry*, 40: 380-384 (1982). No obstante, las condiciones físicas usadas en estos estudios (por ejemplo, pH, sal y temperatura) afectaron a los parámetros cinéticos de la reacción de reticulación pero resultaron insuficientes para activar un segundo mecanismo de acervación simultáneo. Por ejemplo, las variaciones de pH no fueron suficientemente elevadas para provocar la polimerización sustancial. Además, se aplicaron secuencialmente ajustes de pH o se completaron antes del tratamiento de temperatura.

35 En la preparación de queso de Ricotta, por ejemplo, normalmente se acidifica una mezcla de leche y suero lácteo de queso bien por medio de fermentación láctica o por medio de adición directa de un ácido alimentario (por ejemplo, vinagre) hasta un pH de aproximadamente 6,1 antes de una etapa de coagulación térmica. El mecanismo de acervación principal usado en el proceso de Ricotta es la reticulación térmica de albúmina procedente de proteína de

leche y queso. La acidez es principalmente para fines de sabor y, a diferencia de la caseína, la albúmina del suero lácteo no coagula ni siquiera en su pH isoelectrico. Normalmente, el requesón de Ricotta resultante es de tamaño de grano pequeño y de naturaleza no cohesiva.

5 La patente de Estados Unidos N°. 5.952.007 de Bakker y col. va destinada a la formación de coacervados que comprenden al menos dos polímeros que son útiles como ingrediente sustitutivo de grasa. Bakker y col. describen la coacervación compleja de al menos dos polímeros por medio de calentamiento de una disolución de los polímeros seguido de ajuste de pH de la mezcla hasta un valor próximo a su punto isoelectrico. Posteriormente, se enfría la mezcla y se aísla el coacervado. Potencialmente, habría más de un mecanismo de acervación implicado pero tendrían lugar de forma secuencial, en todo caso.

10 Sería un avance significativo en la técnica el hecho de producir matrices poliméricas estructuradas nuevas o mejoradas que no se puedan obtener usando mecanismos de acervación individuales o dos o más mecanismos de acervación llevados a cabo en serie debido a las propiedades fisicoquímicas del(de los) polímero(s) y los mecanismos de acervación usados, así como también las interacciones polímero-polímero implicadas.

### Sumario de la invención

15 El proceso descrito en la presente memoria proporciona métodos eficaces y rentables para preparar una matriz polimérica estructurada. El proceso descrito en la presente memoria evita los inconvenientes y los tratamientos secuenciales inconvenientes de los métodos convencionales de acervación. Además, los procesos descritos en la presente memoria proporcionan procesos flexibles para formar matrices poliméricas estructuralmente complejas a partir de una variedad de polímeros o combinaciones de polímeros, preferentemente, aunque sin limitarse a, polímeros alimentarios. Más preferentemente, al menos uno de los polímeros es una proteína alimentaria. De manera inesperada, la aplicación simultánea de dos o más mecanismos de activación proporciona matrices poliméricas estructuradas que tienen una textura mejorada y/o eficacia de proceso que no se pueden obtener cuando se llevan a cabo mecanismos de acervación de forma individual o secuencial. Ventajosamente, los procesos descritos en la presente memoria proporcionan gran flexibilidad en el diseño y la producción de matrices poliméricas semi-sólidas que no se podían obtener en el pasado debido a propiedades fisicoquímicas únicas de los polímeros específicos implicados, los mecanismos de acervación específicos usados, las interacciones específicas polímero-polímero implicadas y otras limitaciones del proceso. Los procesos descritos en la presente memoria implican dos o más mecanismos de acervación que funcionan de forma simultánea para formar matrices poliméricas sólidas mixtas/enredadas que se pueden preparar para que tengan una textura que varía desde un requesón blando, suave y cohesivo hasta una fibra firme y gomosa, dependiendo de la combinación de los mecanismos de acervación y polímeros seleccionados.

20

25

30

El(los) polímero(s) seleccionado(s) debería(n) ser capaz(capaces) de formar una disolución de polímero antes del tratamiento con el método simultáneo que se describe en la presente memoria. Para los fines de la invención, una "disolución polimérica" o expresión equivalente incluye disoluciones acuosas en las cuales se disuelve uno o más polímero(s), se solubiliza(n), o se suspende(n) en forma finamente dividida (preferentemente en forma de una suspensión coloidal) de manera que el(los) polímero(s) pueda(n) reaccionar completamente en al menos un mecanismo de acervación. Por tanto, el(los) polímero(s) se puede(n) tratar, tal como por medio de ajuste de pH, fuerza iónica, temperatura y similar, si fuese necesario, para preparar la disolución polimérica.

35

La concentración de uno o más polímeros está seleccionada para proporcionar un procesado fiable. Debido a que los polímeros tienen pesos moleculares diferentes, diferentes números de sitios cargados a un pH dado, se deberían seleccionar las condiciones de procesado para los procesos que se proporcionan en la presente memoria, de manera que cada polímero usado en la reacción se consuma en gran medida por medio de dos o más de las reacciones de acervación implicadas. Esto garantiza que permanece una cantidad insignificante de cualquier polímero en forma soluble original tras el proceso simultáneo. Además, se puede diseñar la estructura/textura final formada para favorecer un polímero con respecto a otro, para el fin que se persigue. Por ejemplo, si se tiene que usar el coacervado final para aplicación en queso, se puede favorecer la proteína con respecto al polisacárido con fines nutricionales y de sabor. Generalmente, la concentración de polímero es del orden de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 por ciento en peso de la disolución, aunque se prefieren concentraciones de polímero de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento.

40

45

En un aspecto, al menos una disolución acuosa que contiene uno o más polímeros es capaz de experimentar al menos dos mecanismos de acervación. Se formula al menos una disolución acuosa y se trata de forma que las condiciones sean tales que no se activen al menos dos mecanismos de acervación antes de la etapa de activación. Posteriormente, se trata al menos una disolución acuosa para activar esos al menos dos mecanismos de acervación de forma simultánea y posteriormente se deja que trascurren los al menos dos mecanismos de acervación activados hasta obtener la matriz polimérica estructurada.

50

55

En otro aspecto, se mezclan dos o más disoluciones poliméricas acuosas con o sin aplicación de cizalladura de manera que los citados dos o más mecanismos de acervación tengan lugar de forma instantánea o simultánea. Se formulan al menos dos disoluciones poliméricas de manera que se proporcionen las condiciones necesarias para que tenga lugar cada mecanismo de acervación, inmediatamente después de que se combinen las disoluciones

poliméricas, de manera que los dos o más mecanismos de acervación ocurran de forma simultánea tras la mezcla para formar la matriz polimérica estructurada deseada.

5 Los polímeros usados en al menos una disolución polimérica pueden ser polímeros iguales o diferentes. Los métodos descritos en la presente memoria se pueden llevar a cabo usando una variedad de polímeros y combinaciones de polímeros. Preferentemente, los polímeros son polímeros alimentarios. Más preferentemente, al menos uno de los polímeros alimentarios es una proteína alimentaria.

10 De manera general, los mecanismos de acervación apropiados para su uso en los métodos descritos en la presente memoria incluyen polimerización, reticulación térmica, reticulación iónica, precipitación isoeléctrica, precipitación iónica, reticulación enzimática/coagulación, coacervación, formación química de complejos, formación de gel, precipitación con disolvente, desnaturalización de proteínas (tal como por medio de pH, calor, enzimas, sustancias químicas) y similares. Los polímeros particulares y los mecanismos de acervación usados en el método simultáneo descrito en la presente memoria se pueden seleccionar para proporcionar una textura deseada o para conseguir un fin particular, tal como mitigar los defectos de textura no deseados (por ejemplo, naturaleza granular), evitar etapas de procesamiento de alto consumo de energía (por ejemplo, alta cizalladura), permitir el ahorro de ingredientes (por ejemplo, formar una estructura a una concentración de polímero más baja) y/o mejorar la funcionalidad física (por ejemplo, la capacidad de retención de agua) en comparación con las matrices poliméricas acervadas procedentes de métodos convencionales que implican un mecanismo de acervación individual o mecanismos de acervación llevados a cabo de forma secuencial.

### Descripción detallada

20 Los métodos descritos en la presente memoria están destinados a preparar matrices poliméricas estructuradas por medio de tratamiento de al menos una disolución polimérica de manera que tengan lugar dos o más mecanismos de acervación de forma simultánea. Preferentemente, se tratan dos o más disoluciones poliméricas de manera que tengan lugar dos o más mecanismos de acervación de forma simultánea tras la mezcla de las dos o más disoluciones poliméricas. El uso simultáneo de dos o más mecanismos de acervación proporciona de manera inesperada matrices enredadas de forma fina con eficacia de proceso mejorada y textura que son únicas, en comparación con las matrices poliméricas producidas por medio de mecanismos de acervación llevados a cabo de forma individual o secuencial. Además, los métodos que se proporcionan en la presente memoria aportan procesos flexibles para la formación de matrices poliméricas estructuradas a partir de una variedad de polímeros, preferentemente, pero sin limitarse a, polímeros alimentarios y, del modo más preferido, al menos uno de los polímeros alimentarios es una proteína alimentaria. De manera sorprendente, se ha descubierto que llevar a cabo dos o más reacciones de acervación de forma simultánea tiene como resultado matrices de reacción finales inesperadas y se pueden seleccionar las condiciones de reacción para proporcionar matrices que tengan propiedades de textura deseadas. De manera sorprendente, las matrices que proceden de los métodos descritos en la presente memoria se forman de manera que ninguno de los mecanismos de acervación individuales dicte o controle la estructura o las propiedades de la matriz resultante. En otras palabras, las matrices formadas por medio de los métodos simultáneos descritos en la presente memoria son únicas con respecto a las producidas por medio de los mismos mecanismos de acervación llevados a cabo de forma individual o secuencial. El uso de métodos de acervación simultáneos, como se describe en la presente memoria, permite de manera ventajosa adaptar las propiedades funcionales de las matrices resultantes a las necesidades particulares de la aplicación, lo que de lo contrario resultaría difícil o imposible de obtener basándose en una reacción de acervación individual o combinación de reacciones de acervación llevadas a cabo de forma secuencial.

45 En un aspecto, se puede usar el método simultáneo descrito en la presente memoria para preparar matrices poliméricas mixtas/enredadas con una textura suave y cohesiva que se parece al requesón de queso fresco tanto en textura como en aspecto. En otro aspecto, el método simultáneo descrito en la presente memoria se puede usar para producir matrices poliméricas estructuradas fibrosas.

50 El(los) polímero(s) seleccionado(s) debería(n) ser capaz(es) de formar una disolución polimérica acuosa antes del tratamiento con el método simultáneo descrito en la presente memoria. Para los fines de la invención, una "disolución polimérica" o expresión equivalente incluye disoluciones acuosas en las cuales se disuelve(n) uno o más polímero(s), se solubiliza(n) o se suspende(n) en forma finamente dividida (preferentemente en forma de una suspensión coloidal) de manera que el(los) polímero(s) pueda(n) reaccionar de forma completa en al menos un mecanismo de acervación. Por tanto, se puede(n) tratar el(los) polímero(s), tal como por medio del ajuste de pH, fuerza iónica, temperatura y similares, si fuese necesario, para preparar la disolución polimérica.

55 Preferentemente, los polímeros útiles en los métodos descritos en la presente memoria están seleccionados entre polímeros alimentarios, tales como proteínas, polisacáridos, sus derivados, y sus mezclas. Las proteínas apropiadas incluyen fuentes vegetales, fuentes animales, fuentes procedentes de levaduras y similares. Fuentes vegetales apropiadas incluyen leguminosas, guisante, cereales, judía, nuez, cereales, soja, cacahuete, semillas oleaginosas (tal como semilla de algodón de semilla oleaginosa, colza, semilla de girasol, y similares) y similares. Fuentes apropiadas de proteína animal incluyen proteína láctea, proteína de huevo, proteína de pescado, proteína de carne, proteína de origen vegetal, proteína derivada de microorganismos y similares. Las fuentes apropiadas de proteína de

carne incluyen pollo, ternera, cerdo, pescado y otros mariscos, así como también derivados tales como gelatina, albúmina de suero y similares. Fuentes apropiadas de proteína láctea incluyen leche, derivados de la leche tales como leche desnatada, polvo de leche, caseína, proteína de suero lácteo, proteína de leche separada, fuentes de proteína láctea concentrada, fracciones aisladas de proteína láctea y similares. Según se usa en la presente memoria, una "fuente de proteína láctea concentrada" es una fuente de proteína en la que las proteínas están, o pueden reconstituirse para estar, a una concentración que es mayor que el líquido lácteo del cual proceden. Ejemplos de fuentes de proteína láctea concentrada incluyen, pero sin limitarse a, concentrado de proteína de suero lácteo, concentrado de proteína de leche o una de sus combinaciones. Normalmente, el concentrado de proteína de suero lácteo y el concentrado de proteína de la leche tienen una concentración de proteína de al menos aproximadamente 34 por ciento. Ejemplos de fracciones aisladas de proteína láctea incluyen, pero sin limitarse a, fracción aislada de proteína de suero lácteo, fracción aislada de proteína de la leche y similares. Según se usa en la presente memoria, "caseína" se refiere a cualquier, o a todas, las fosfoproteínas de la leche, y a mezclas de cualesquiera de ellas. Se han identificado muchos componentes de caseína, incluyendo pero sin limitarse a,  $\alpha$ -caseína (incluyendo  $\alpha_{s1}$ -caseína y  $\alpha_{s2}$ -caseína),  $\beta$ -caseína, k-caseína y sus variantes genéticas. Según se usa en la presente memoria, "proteína de suero lácteo" se refiere a proteínas presentes en el líquido lácteo (es decir, el suero lácteo) obtenidas en forma de un sobrenadante de los requesones cuando se somete la leche o un líquido lácteo que contiene componentes de leche a formación de requesón para producir requesón de formación de queso en forma de semisólido. Generalmente, se entiende que la proteína de suero lácteo incluye principalmente las proteínas globulares  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactalbúmina. Las proteínas de suero lácteo tienen un elevado valor nutritivo para los humanos, y pueden proporcionar una calidad sensorial favorable, conferir una calidad cremosa y apta para untado a los productos lácteos a los cuales se incorpora. Polisacáridos apropiados incluyen xantano, carragenina, agar, alginato, carboximetilcelulosa ("CMC"), pectina, almidones, goma de algarrobbillo, goma de tragacanto, goma arábica, goma carayá, goma gatti, goma guar, goma de celulosa, hemicelulosa, quitosano, sus derivados y sus combinaciones. Para los polisacáridos, se prefieren gomas iónicas tales como carragenina, pectina, alginato, CMC, xantán, goma arábica, goma carayá, goma gatti, gelano, agar, quitosano y similares por su capacidad para coacervar con proteínas y experimentar formación de gel inducida por iones, en particular cuando se desea una matriz fuerte o cuando se desea una concentración de polímero baja, tal como por motivos normativos (por ejemplo, patrón de identidad) o económicos. Por el contrario, si se desea una estructura débil, se prefieren gomas no iónicas tales como almidones naturales y modificados, maltodextrina, goma guar, goma de algarrobbillo, celulosa y similares.. También se pueden usar ingredientes alimentarios de materia prima o procesados que contienen polímero(s) alimentario(s), tales como leche, suero de queso, huevo, suspensión de carne, puré de frutas y similares, si se desea.

Las combinaciones de polímeros, la concentración de cada polímero y las condiciones fisicoquímicas de al menos una disolución polimérica están seleccionados basándose en las propiedades deseadas de la matriz estructurada resultante. Las propiedades de la matriz estructurada, tal como textura, se puede adaptar basándose en los siguientes factores: (1) el tipo de polímero o polímeros usados (por ejemplo, proteína, polisacárido); (2) el número de polímeros diferentes; (3) la concentración/proporción de cada polímero; y (4) las condiciones fisicoquímicas en las cuales se forma la matriz estructurada, tal como pH, fuerza iónica, temperatura, cizalladura/mezcla, y, si se usan al menos dos disoluciones poliméricas, la proporción de mezcla de las disoluciones poliméricas. También se pueden ver afectadas las propiedades de la matriz estructurada por el tipo y la concentración del(de los) agente(s) de sedimentación o reticulación, si se usa(n), así como también por el tipo y concentración de la(s) sustancia(s) de relleno, si se usa(n).

Se pueden llevar a cabo dos o más mecanismos de acervación usando cualquier método en el que el polímero o polímeros, y cualesquiera reaccionantes requeridos, se tratan en condiciones apropiadas para que los dos o más mecanismos de activación trascurren de forma simultánea. El modo en el que los dos mecanismos de acervación se activan no es crítico con tal de que se activen dos o más mecanismos de manera esencialmente simultánea (es decir, de manera que esos mecanismos y las reacciones resultantes tengan lugar al mismo tiempo). De este modo, se podría preparar una disolución individual que incorporara uno o más polímeros y posteriormente se podrían modificar rápidamente las condiciones (por ejemplo, temperatura, pH, reactivos añadidos, y similares) para activar los dos o más mecanismos. Por ejemplo, se puede preparar una disolución que comprenda proteína de suero lácteo y carragenina a pH elevado y temperatura elevada (por ejemplo, por encima de la temperatura de reticulación de la proteína de suero lácteo). Debido a que la proteína de suero lácteo y la carragenina están al mismo pH, y con ellos cargadas de forma similar, los dos polímeros no pueden coacervar o reticular. Se puede añadir un ácido en una cantidad suficiente para rebajar el pH hasta un pH objetivo de aproximadamente 5,0, provocando de este modo que la coacervación y la reticulación térmica tengan lugar de forma simultánea.

Alternativamente, se podrían preparar dos o más disoluciones poliméricas (que contengan polímeros iguales o diferentes) en condiciones en las que no se active ningún mecanismo y posteriormente mezclar las dos o más disoluciones poliméricas en condiciones en las que se activen los mecanismos. Se ajustan las disoluciones individuales para que los dos o más mecanismos de acervación únicamente se activen cuando se mezclen las disoluciones separadas. Especialmente para experimentos a escala de laboratorio, este procedimiento proporciona un método conveniente y eficaz para lograr reacciones de acervación simultáneas deseadas. Se usó dicho procedimiento para los ejemplos presentados en la presente memoria para caracterizar la invención. De igual forma, la discusión y la caracterización general de la presente memoria se presentan de forma general en términos de este

método de disoluciones poliméricas por separado por motivos de conveniencia. Como comprenderá un experto en la técnica, se pueden usar otros métodos de manera que dos o más reacciones de acervación tengan lugar de forma simultánea.

5 Las combinaciones poliméricas están basadas en las propiedades inherentes de cada polímero. Una disolución polimérica puede experimentar acervación rápida por sí misma con un cambio repentino de la condición fisicoquímica (por ejemplo, temperatura o pH) y/o con otro polímero a través de interacción polímero-polímero (por ejemplo, reticulación, coacervación o formación de complejos). Por ejemplo, se puede mezclar una disolución de proteína apta para desnaturalización por vía térmica, ácida y caliente (tal como a aproximadamente un pH de 3,0 y aproximadamente 80 °C) con una disolución de polisacárido básico y caliente (tal como a aproximadamente un pH de 9,0 y 80 °C) para formar una mezcla que tenga un pH de aproximadamente 5,0. En este sistema, se puede formar un complejo y una matriz compuesta a través de al menos tres mecanismos de acervación que operan de forma simultánea, concretamente (1) coacervación entre moléculas de proteína con fuerte carga positiva y moléculas de polisacárido con fuerte carga negativa, (2) precipitación isoelectrica de la proteína, y (3) reticulación covalente de moléculas de proteína a través de la formación de un enlace covalente inducido por calor (por ejemplo, disulfuro).  
 10 Antes de la mezcla de dos disoluciones poliméricas calientes, se inhibe la reticulación térmica de las moléculas de proteína a bajo pH debido a la repulsión electrostática entre las moléculas de proteína, como resulta evidente por medio de una disolución de proteína transparente o traslúcida. La reticulación ya no se inhibe más cuando la disolución se mezcla con una disolución básica de polisacáridos y se neutraliza el pH de la mezcla. De este modo, por medio de la variación (1) de la concentración de uno o ambos de los polímeros implicados, (2) la proporción de las dos disoluciones poliméricas, (3) el pH objetivo tras la mezcla de las dos disoluciones, y (4) la temperatura de la disolución tras mezclas las disoluciones, es posible formar rápidamente una estructura compuesta, entretejida, mixta y no homogénea que tiene una textura que varía desde blanda a firme y un aspecto que varía de tipo requesón a fibroso. Se puede usar tinción de la matriz formada con colorantes específicos de proteínas y específicos de polisacáridos. El uso de dichos colorantes para observar visualmente al menos algunos aspectos de los mecanismos de coacervación simultáneos sugiere que no tiene lugar de forma significativa la exclusión molecular o que tiene lugar de forma suficientemente rápida debido a las reacciones de acervación múltiples simultáneas y rápidas. Sin pretender quedar limitado por teoría alguna, la tinción sugiere que los polímeros forman complejos inseparables (por ejemplo partículas, fibras y similares) y no acervados por separado para cada polímero.

30 En los métodos que se describen en la presente memoria, la concentración de polímero es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 por ciento en peso de la disolución, aunque se prefieren concentraciones de polímero de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento. En un aspecto, se trata una disolución que contiene uno o más polímeros de manera que tengan lugar simultáneamente dos o más mecanismos de acervación para formar una matriz polimérica estructurada. En otro aspecto, se combinan dos o más disoluciones poliméricas de manera que tengan lugar al menos dos mecanismos de acervación de forma simultánea tras la mezcla para formar una matriz polimérica estructurada. En otro aspecto, se tratan al menos tres disoluciones poliméricas y se combinan de manera que, tras la mezcla, tengan lugar dos o más mecanismos de acervación de forma simultánea para formar una matriz polimérica estructurada. En otro aspecto, se combinan al menos dos disoluciones poliméricas y se tratan de forma que tengan lugar tres o más mecanismos de acervación de forma simultánea tras la mezcla para formar una matriz polimérica estructurada. Los polímeros de las dos o más disoluciones pueden ser polímeros iguales o diferentes.

40 De manera general, los mecanismos de acervación que se pueden usar en el método simultáneo descrito en la presente memoria incluyen polimerización, reticulación térmica, reticulación iónica, precipitación isoelectrica, precipitación iónica, coagulación enzimática, coacervación, formación química de complejos, precipitación isoelectrica, precipitación iónica, formación de gel, precipitación con disolvente, desnaturalización (tal como desnaturalización de proteínas por medio de pH, calor, enzimas y tratamiento químico) y similares. Se forma una estructura compuesta o entretejida, mixta y compleja que puede ser microscópicamente homogénea o no y puede ocurrir que el(los) polímero(s) usado(s) no se pueda(n) discernir individualmente si ambos polímeros se consumen de forma casi completa en el proceso.

50 La selección particular de dos o más mecanismos de acervación basados en las características deseadas de la matriz estructurada resultante se encuentra sencillamente dentro de la capacidad del experto ordinario en la técnica. La selección de los mecanismos de acervación depende de la combinación particular de polímeros escogida así como de las características deseadas de la matriz estructural resultante. Además, el experto ordinario en la técnica reconoce que no todas las combinaciones de polímeros y/o todos los mecanismos de acervación son apropiados o incluso viables para permitir la reacción simultánea. Por ejemplo, la reticulación térmica es un mecanismo de acervación comúnmente usado para la proteína de suero lácteo, mientras que la coagulación de enzimas es un mecanismo de acervación comúnmente usado para caseína. No obstante, el estudio técnico de un proceso para permitir que ambos mecanismos de acervación tengan lugar de forma simultánea y eficaz no siempre es posible, ya que generalmente la coagulación de enzimas transcurre de forma lenta con el tiempo. Por ejemplo, se puede calentar una mezcla natural de caseína y proteína de suero lácteo, para reticular la proteína de suero lácteo y posteriormente se puede enfriar antes de la adición de una enzima de coagulación para formar requesón de caseína. Alternativamente, se puede tratar la leche con una enzima de coagulación y posteriormente se puede calentar. No obstante, el método tampoco proporciona mecanismos de acervación simultáneos. La reticulación térmica de la

5 proteína de suero lácteo es un proceso cinético que depende en gran medida de la concentración de proteína de suero lácteo, pH, temperatura de calentamiento y tiempo de calentamiento, mientras que la coagulación de enzima de caseína, también un proceso de accionamiento cinético lento, puede ocurrir únicamente por debajo de la temperatura mínima de reticulación de la proteína de suero lácteo. No parece viable la creación de un proceso que permita el suceso simultáneo de ambos mecanismos de acervación ya que los dos mecanismos requieren temperaturas significativamente diferentes para el trascurso, y la coagulación de enzimas tardaría mucho más tiempo que la reticulación normal. A modo de otro ejemplo, cuando una disolución polimérica comprende una fracción de aislado de proteína y la otra disolución polimérica comprende caseína, los mecanismos de acervación simultáneos que incluyen tanto la reticulación térmica como la coagulación de enzimas son prácticamente imposibles. No obstante, debido a que la caseína puede experimentar acervación por medio de mecanismos diferentes a la coagulación de enzimas, tales como la precipitación isoeléctrica, se puede diseñar un proceso de acervación múltiple simultáneo usando mecanismos diferentes de la coagulación de enzimas. Por ejemplo, se puede mezclar una primera disolución polimérica que comprende una fracción aislada de proteína de suero lácteo a un pH de aproximadamente 3,5 y una temperatura de aproximadamente 82,2 °C (180 °F) y una segunda disolución polimérica que comprende caseinato a un pH de 8,0 y una temperatura de aproximadamente 82,2 °C (180 °F) para proporcionar un pH final de equilibrio de aproximadamente 4,6, en el que al menos dos reacciones de acervación tienen lugar de forma simultánea - reticulación térmica de la proteína de suero lácteo y precipitación ácida de caseinato. La reticulación térmica de las moléculas de proteína de suero lácteo a pH bajo queda inhibida debido a la repulsión electrostática entre las moléculas de proteína, como resulta evidente por medio de una disolución de proteína transparente o traslúcida. La reticulación ya no se inhibe durante más tiempo cuando se mezcla la disolución con la disolución de caseinato y se neutraliza el pH de la mezcla. De este modo, la selección de los polímeros y la combinación de los mecanismos de acervación depende de las limitaciones físicas inherentes a cada polímero y mecanismo de acervación seleccionado.

25 El método simultáneo descrito en la presente memoria proporciona un proceso flexible para llevar a cabo múltiples reacciones de acervación de forma simultánea seleccionando el(los) polímero(s), mecanismos de acervación y condiciones fisicoquímicas de manera que las matrices poliméricas estructuradas que se forman no se puedan obtener previamente llevando a cabo las mismas reacciones de acervación solas o de forma secuencial. Sin pretender ser limitante, se describen varios mecanismos de acervación con gran detalle.

#### Coacervación

30 Generalmente, la coacervación implica combinar dos polímeros cargados de forma opuesta en disolución para llevar a cabo la separación de un complejo insoluble o coacervado. En la coacervación, se preparan dos disoluciones poliméricas con carga opuesta. Preferentemente, una disolución de proteínas con carga positiva y una disolución de polisacárido con carga negativa. Alternativamente, se puede usar una disolución de polisacárido de complejo con carga positiva (tal como quitosano) y una proteína con carga negativa u otra disolución de polisacárido, si se desea. Se prepara una disolución acuosa de un primer polímero y se ajusta el pH hasta un valor de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 usando ácido de calidad alimentaria para formar un polímero cargado positivamente. Ácidos de calidad alimentaria apropiados incluyen, pero sin limitarse a, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido láctico, ácido cítrico y sus combinaciones. Debido a que el primer polímero tiene carga positiva predominante, las moléculas con carga similar exhiben fuerzas de repulsión. Se prepara una disolución acuosa de un segundo polímero y se ajusta el pH hasta un valor de aproximadamente 8 a aproximadamente 11 usando una base de calidad alimentaria para formar un polímero con carga negativa. Bases de calidad alimentaria apropiadas incluyen, pero sin limitarse a, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio y sus combinaciones. Debido a que el segundo polímero tiene carga negativa predominante, las moléculas con carga similar exhiben fuerzas de repulsión y el polímero permanece soluble en disolución. Las disoluciones poliméricas con carga opuesta se combinan posteriormente y los polímeros con carga opuesta se atraen unos a otros, formando de este modo una matriz polimérica mixta antes de que se neutralicen las cargas iónicas del primer y segundo polímeros. Generalmente, las reacciones que forman la matriz de polímero mixto son irreversibles, aunque pueden ser reversibles en condiciones extremas, tales como pH muy elevado o muy bajo. No obstante, en la mayoría de condiciones de uso final o en condiciones típicas (tales como en los productos alimentarios), la formación de la matriz polimérica mixta es irreversible.

55 Se puede proporcionar la coacervación preparando una disolución mixta de dos polímeros (normalmente una proteína soluble y un polisacárido iónico), seguido de valoración del pH de la disolución hasta ligeramente por debajo del pH isoeléctrico de la proteína para inducir coacervación. A dicho pH, la proteína se vuelve predominantemente con carga positiva mientras que el polisacárido iónico se carga negativamente y se forma una matriz insoluble debido a la atracción estática intermolecular.

60 Como se define en la presente memoria, la auto-acervación es un tipo específico de coacervación. En la auto-acervación, el primer y segundo polímeros usados en la coacervación son el mismo polímero. Generalmente, la auto-acervación se limita a polímeros anfóteros, preferentemente proteínas anfóteras. Por ejemplo, la primera disolución polimérica con carga positiva y la segunda disolución polimérica con carga negativa comprenden ambas una fracción aislada de proteína de suero lácteo. Si se desea, también se pueden usar otros polímeros en los mecanismos de auto-acervación. Puede ocurrir que algunos polisacáridos no sean apropiados para los mecanismos

de auto-acervación. Por ejemplo, no resultan apropiados polisacáridos aniónicos que únicamente existen con forma cargada neutra o negativa pero nunca con forma cargada positiva. De este modo, generalmente, los polisacáridos aniónicos no pueden experimentar auto-acervación como se describe en la presente memoria. Entre los polímeros alimentarios, únicamente proteínas y material proteínico, tal como carne picada y leche son polímeros anfóteros conocidos. Con frecuencia, otras moléculas anfóteras son no comestibles o tienen bajo peso molecular, las cuales tienen un potencial escaso o nulo para la formación de estructuras.

En algunos casos, los acervados formados por medio de coacervación pueden tener propiedades que son indeseables, limitando de este modo su uso en los productos alimentarios. En dichos casos, se puede incorporar un segundo o tercer mecanismo de acervación para proporcionar reacciones de acervación múltiples y simultáneas con el fin de lograr una matriz estructurada. De hecho, variando el(los) polímero(s), las condiciones y los mecanismos de acervación, es posible proporcionar matrices estructuradas que tengan propiedades útiles que no son posibles actualmente en la industria alimentaria.

#### Reticulación Térmica

En la reticulación térmica, se induce la polimerización de moléculas poliméricas por medio de tratamiento térmico. Por ejemplo, cuando se calientan proteínas alimentarias ricas en amino ácidos que contienen azufre a una temperatura suficientemente elevada, se forman enlaces -S-S- covalentes entre polímeros entre los grupos -SH ubicados en diferentes moléculas poliméricas y el resultado es la formación de matrices poliméricas insolubles o partículas. Las proteínas alimentarias ricas en amino ácidos que contienen azufre incluyen, pero sin limitarse a, proteína de suero lácteo, proteína de huevo, proteína vegetal y similares. La reticulación térmica de la proteína de suero lácteo es una reacción controlada cinéticamente y el grado de reticulación se ve influenciado por la concentración de proteína, temperatura, tiempo de calentamiento y pH. Debido a que se puede evitar la reticulación térmica o reducir sustancialmente a un pH de disolución significativamente diferente (por ejemplo, dos o más unidades de pH) a partir del pH isoeléctrico del polímero, la reticulación térmica de la proteína de suero es un mecanismo de acervación deseable para proporcionar una reacción de acervación múltiple simultánea con al menos otro polímero y mecanismo de acervación. Se deberían seleccionar las condiciones de reacción para minimizar la cantidad de reticulación que ocurre antes de la mezcla con una o más de otras disoluciones poliméricas. Por ejemplo, se puede reducir sustancialmente la reticulación de la proteína de suero lácteo (por ejemplo, menos que aproximadamente 30 por ciento) a un pH por debajo de 3,5 y una temperatura de aproximadamente 90 °C durante tratamientos térmicos ampliados, tal como durante aproximadamente 30 minutos. Alternativamente, se puede mantener la disolución que contiene el polímero apto para reticulación a una temperatura más baja y se podría calentar la otra disolución (la disolución que no contiene polímero apto para reticulación) a una temperatura tal que, cuando se mezcle, la temperatura de la mezcla sea apropiada para la reacción de reticulación. Se pueden seleccionar fácilmente las condiciones para otros métodos de activación y/o polímeros, por parte de los expertos ordinarios en la técnica.

#### Coacervación y Reticulación Térmica Simultáneas

Con el fin de proporcionar un proceso de acervación múltiple simultáneo que permita que la acervación entre un primer polímero y un segundo polímero coincida con la reticulación térmica del primer polímero, el primer polímero debería ser capaz de formar reticulaciones a una temperatura igual o mayor que la proporcionada tras mezclar las disoluciones que contienen los dos polímeros. El primer y segundo polímeros deben estar cargados de forma opuesta para permitir la coacervación entre los polímeros. Para hacerlo, se prepara una disolución acuosa de un primer polímero y se ajusta el pH a un valor de pH suficientemente más bajo que el pH isoeléctrico del primer polímero (por ejemplo, un pH de aproximadamente 2 a 5) usando un ácido de calidad alimentaria para formar una disolución polimérica con carga positiva. Debido a que el primer polímero tiene carga positiva predominante en condiciones de pH bajo, las moléculas poliméricas con carga similar exhiben fuerzas repulsivas y permanecen solubles en la disolución altamente ácida. Las fuerzas repulsivas intermoleculares también permiten calentar la disolución altamente ácida hasta una temperatura igual o mayor que la temperatura de reticulación del primer polímero a un pH normal o menos ácido (por ejemplo, menos que aproximadamente una unidad de pH 1 menor que el pH isoeléctrico del primer polímero), sin inducir reticulación significativa. Ventajosamente, la primera disolución polimérica permanece con aspecto transparente o traslúcido ya que los polímeros permanecen solubles y no coacervados en la disolución ácida caliente y altamente ácida. Se prepara una segunda disolución polimérica disolviendo el segundo polímero en agua y se ajusta el pH de la disolución hasta un valor de pH suficientemente más elevado que el pH isoeléctrico del segundo polímero (por ejemplo, un pH de aproximadamente 8 a 11) usando una base de calidad alimentaria para formar una segunda disolución polimérica con carga negativa. Debido a que el segundo polímero tiene carga negativa predominante, las moléculas cargadas de forma similar también exhiben fuerzas repulsivas y permanecen solubles en la disolución altamente básica, incluso a una temperatura elevada. Se calienta la segunda disolución polimérica cargada negativamente hasta una temperatura igual o mayor que la temperatura de la primera disolución polimérica. Debido a que los polímeros aptos para reticulación tienen una carga similar en sus respectivas disoluciones y exhiben fuerzas repulsivas, los polímeros permanecen sustancialmente sin reticular incluso en condiciones de tratamiento térmico relativamente intenso. Generalmente, se calientan las disoluciones poliméricas ácida y básica hasta una temperatura que varía de aproximadamente 65,6 a 93,3 °C (de 150 a 200 °F), preferentemente de 76,7 a 85 °C (de 170 a aproximadamente 185 °F) antes de la mezcla de las dos

disoluciones.

El pH de las dos disoluciones y la proporción con la cual se combinan las dos disoluciones están seleccionados en base al pH final objetivo tras la mezcla de las dos disoluciones poliméricas. El pH final objetivo debería ser un pH en el cual la reticulación térmica del primer polímero ocurra de forma libre, rápida y eficaz, así como un pH en el cual pueda tener lugar la coacervación de los dos polímeros. Por ejemplo, si el primer polímero es la fracción aislada de proteína de suero lácteo y el segundo polímero es carragenina, un pH objetivo apropiado debería estar dentro del intervalo de aproximadamente 4,2 a aproximadamente 5,2. En principio, la etapa de calentamiento, si se desea, se puede llevar a cabo a presiones elevadas, tales como en el interior de un extrusor caliente, en cuyo caso se puede ajustar de manera apropiada la temperatura. Sin dejar que se enfríen las disoluciones poliméricas, se mezclan las disoluciones poliméricas con carga opuesta, lo que posibilita que al menos dos reacciones ocurran de forma casi instantánea: (1) coacervación: se forma un complejo que comprende un primer y segundo polímeros debido a la atracción electrostática entre los dos polímeros con carga opuesta; y (2) reticulación: se neutraliza el pH de la mezcla dando como resultado de este modo la retirada de las fuerzas repulsivas entre los polímeros con carga similar inicial y dando como resultado la reticulación entre las moléculas del primer polímero a través de un enlace covalente disulfuro. El polímero polimerizado tiene como resultado la reticulación de las proteínas no plegadas por medio de enlace -S-S-. En general, el consiguiente aumento del peso molecular indica una mayor reticulación con el polímero. En principio, se puede conseguir al menos aproximadamente 50 por ciento de reticulación de disulfuro, aunque generalmente se prefiere una reticulación dentro del intervalo de aproximadamente al menos 80 por ciento. Por ejemplo, se puede estimar el grado de reticulación, usando electroforesis de gel de poliacrilamida con agentes de reducción de disulfuro tales como ditiotreitól (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N.º. 4.885.183 y Laemi, Nature, 227:680-685 (1970), ambas incorporadas completamente en la presente memoria por referencia). La matriz polimérica estructurada mixta resultante comprende reticulaciones del primer polímero y coacervados del primer y segundo polímero. Se puede enfriar la matriz polimérica estructurada hasta la temperatura de refrigeración y se puede almacenar para uso posterior, o se puede procesar la matriz polimérica estructurada inmediatamente después de la formación de la matriz para la incorporación en productos alimentarios, tal como para la adición a una corriente de queso cremoso como aglutinante de textura o mimético de grasa.

El uso simultáneo de coacervación y reticulación térmica proporciona varios beneficios. Se pueden usar concentraciones poliméricas más bajas cuando se prepara la matriz usando el método simultáneo. Por ejemplo, mediante el uso de un mecanismo de reticulación convencional por sí mismo, se calienta de 5 a 8 por ciento de disolución de proteína de suero lácteo durante aproximadamente 30 a 60 minutos a una temperatura elevada para formar proteína de suero lácteo reticulada. Por el contrario, el proceso de acervación múltiple simultáneo descrito en la presente memoria requiere menos de 3 por ciento de proteína de suero lácteo y forma una matriz estructurada de forma casi instantánea. El método simultáneo es un proceso casi más eficaz y consume menos energía que otros métodos. Generalmente, en los mecanismos de reticulación convencionales, se requiere mezcla o alta cizalladura constantes para controlar el tamaño de partícula de las reticulaciones. De manera convencional, se usan varias operaciones unitarias para producir proteína de suero lácteo reticulada de tamaño de partícula deseable y con frecuencia se generan aromas no deseados debido a la exposición prolongada a temperatura elevada. Además, la producción de proteína de suero lácteo es costosa y consume energía debido a que la concentración de proteína de suero lácteo en el suero del queso es extremadamente baja (menor que 0,5 por ciento) y es preciso concentrar y someter a extracción, tal como por medio de ultrafiltración.

#### Precipitación Isoeléctrica

El punto isoelectrico es el pH al cual la carga neta del polímero, especialmente en polímeros anfóteros, se hace cero. La precipitación isoelectrica tiene lugar cuando las moléculas poliméricas en disolución que se encuentran en el punto isoelectrico del polímero o en sus alrededores se vuelven insolubles y/o colapsan unas sobre otras debido a la falta de estabilización electrostática y a mayores fuerzas hidrófobas intra- e inter-moleculares. La precipitación isoelectrica se puede iniciar por medio del ajuste del pH de la disolución o fuerza iónica. Por ejemplo, la precipitación isoelectrica se usa comúnmente para preparar caseinato comercial a partir de leche ajustando el pH de la leche con un ácido comestible hasta el pH isoelectrico de la caseína (aproximadamente 4,6). La caseína insoluble forma un precipitado o requesón denso y se puede separar fácilmente del suero lácteo restante. Se puede usar la precipitación isoelectrica en el diseño de un proceso de coacervación múltiple simultáneo.

#### Precipitación Iónica

La precipitación iónica de polímeros normalmente implica la reticulación iónica entre moléculas poliméricas con carga negativa en presencia de iones minerales catiónicos multivalentes. Muchos polímeros alimentarios, incluyendo la mayoría de proteínas alimentarias y la mayoría de los polisacáridos alimentarios aniónicos, pueden experimentar precipitación iónica a un pH mayor que sus respectivos pH isoelectricos. Los polisacáridos alimentarios aniónicos incluyen, pero sin limitarse a, carragenina, xantano, alginato, agar, carboximetilcelulosa, metoxi pectina inferior, gelano, agar, y similares y sus mezclas. Por ejemplo, cuando se añade una disolución de cationes divalentes (tales como  $\text{CaCl}_2$ ) a una disolución de polímero con carga negativa (tal como alginato), se forman puentes de calcio entre moléculas de alginato adyacentes. Generalmente, se usa aproximadamente 0,01 por ciento de cationes divalentes. Dependiendo de las concentraciones relativas de los ingredientes y de las condiciones físicas, la neutralización de la

carga negativa del polisacárido por parte de los iones de calcio con carga positiva y la formación de puentes de calcio entre las moléculas de alginato provoca la precipitación y/o la formación de gel del polímero. En teoría, la precipitación iónica puede tener lugar entre polímeros con carga positiva y aniones apropiados (por ejemplo, iones de fosfato), pero este tipo de precipitación iónica es menos común en los sistemas alimentarios.

- 5 Se pueden proporcionar los mecanismos relacionados por medio de modificación de la concentración del polisacárido y/o cationes minerales. Una concentración baja de cationes  $\text{Ca}^{2+}$  provoca la formación de gel de una disolución de alginato diluida. Por el contrario, una concentración elevada de cationes  $\text{Ca}^{2+}$  provoca la neutralización completa del polisacárido y la precipitación de alginato de calcio denso e insoluble.

#### Precipitación Isoeléctrica y Precipitación Iónica Simultáneas

- 10 Es posible la precipitación isoelectrica de un polímero y la precipitación iónica de otro polímero llevadas a cabo de forma simultánea para formar una matriz polimérica mixta y estructurada, basándose en el proceso de la invención. Generalmente, se preparan dos o más disoluciones poliméricas. Se ajusta una primera disolución polimérica a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 usando una base de calidad alimentaria para formar una disolución polimérica con carga negativa. Se ajusta una segunda disolución polimérica a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 usando un ácido de calidad alimentaria para formar una disolución polimérica con carga negativa. Se añaden cationes minerales multivalentes que contienen sal a cualquiera de las disoluciones poliméricas, tal como aproximadamente 0,01 por ciento de cationes. El pH de la primera y segunda disoluciones poliméricas, así como también su proporción de mezcla, están seleccionados de manera que el pH final tras la mezcla de las dos disoluciones poliméricas, tienen lugar varios cambios de forma simultánea, incluyendo: (1) neutralización de la mezcla hasta un pH sustancialmente próximo al pH isoelectrico del polímero objeto de precipitación; (2) precipitación isoelectrica del primer polímero; y (3) precipitación iónica del segundo polímero con los cationes minerales. Como resultado de ello, se forma una matriz estructurada mixta que tiene un aspecto similar a requesón y una textura diferente de las matrices producidas por medio de acervación individual o mecanismos de acervación secuenciales llevados a cabo con el(los) mismo(s) polímero(s). Por ejemplo, las diferencias de textura pueden incluir diferencias sensoriales (por ejemplo, aspecto, sensación en boca, y similares), físicas (mecánicas, densidad y similares) y funcionales (por ejemplo, capacidad de retención de agua).

- Como resultará evidente para el experto en la técnica, se pueden llevar a cabo varias combinaciones de mecanismos de acervación de forma simultánea para formar matrices poliméricas estructuradas que tengan propiedades texturales, físicas y funcionales deseadas. También resultará evidente que se pueden usar diferentes métodos de activación simultánea de los mecanismos de acervación, distintos de los proporcionados anteriormente. De manera sorprendente, se descubrió que la acción de llevar a cabo dos o más mecanismos de acervación de forma simultánea tiene como resultado una matriz polimérica estructurada que es única y superior a la que se forma como resultado de los mismos dos o más mecanismos de acervación llevados a cabo por separado o de forma secuencial. Aunque no se pueden discutir todas las combinaciones posibles de mecanismos y/o polímeros en la presente memoria, se piensa que el proceso de acervación múltiple simultáneo descrito en la presente memoria aplica a una amplia gama de mecanismos de acervación y combinaciones poliméricas.

- Si se desea, se puede añadir una o más sustancias de relleno opcionales a una o más de las disoluciones poliméricas. Las sustancias de relleno se deberían seleccionar para que no interfieran sustancialmente con la formación de estructuras de la matriz polimérica pretendida. Se pueden añadir las sustancias de relleno en una cantidad de aproximadamente 0 a aproximadamente 70 por ciento, basado en la matriz final. Las sustancias de relleno de la presente memoria se definen como ingredientes comestibles que son sustancialmente inertes o ingredientes alimentarios que son no reactivos y que actúan funcionalmente como espaciador estructural. La sustancia de relleno está seleccionada entre, pero sin limitarse a, almidón natural o modificado, maltodextrina, derivados de cereales o de almidón (por ejemplo, jarabe de maíz, sólidos, salvado de arroz), alfa celulosa, celulosa microcristalina, fibra, proteína desnaturalizada (por ejemplo, lactoalbúmina, sólido de suero de mantequilla y similares), gomas neutras (por ejemplo, goma de algarrobbillo, gomar guar y similares), lípidos y sus mezclas. Las sustancias de relleno inertes se usan en la presente memoria principalmente para modificar la estructura última de la matriz formada por medio de un proceso de acervación múltiple simultáneo. Por ejemplo, el sólido de suero de mantequilla, una proteína de mantequilla de membrana de leche desnaturalizada y no reactiva, no contribuye sustancialmente a la textura durante la formación de estructura de la matriz de un producto alimentario terminado (por ejemplo, queso cremoso), pero se puede incorporar a una estructura de matriz co-polimérica, o puede quedar estructuralmente atrapada en ella, de otros dos polímeros formados usando el método simultáneo descrito en la presente memoria. Los beneficios prácticos de incorporar sustancias de relleno pueden variar e incluir, pero sin limitarse a, mayor rendimiento/volumen, mayor capacidad de retención de agua, menor densidad, menor firmeza/tenacidad, y mejor sensación en boca de la matriz polimérica final o del producto alimentario final que contiene la matriz polimérica.

- Si se desea, se pueden añadir ingredientes opcionales, tales como un emulsionante, sal, edulcorante, acidulante, colorante, aromatizante, estabilizador y similares, en cualquiera o en ambas de las al menos dos disoluciones poliméricas en una cantidad total de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 por ciento, para no interferir

5 sustancialmente con la formación de estructura de la matriz polimérica deseada. Los aromatizantes incluye, por ejemplo, aroma de mantequilla, aroma de leche, aroma de queso, aroma de carne, condimentos, hierbas y purés o polvos de fruta o verdura. También se pueden usar colorantes tales como, por ejemplo,  $\beta$ -caroteno, anato, colorante alimentario artificial y similares. Los estabilizadores apropiados incluyen, pero sin limitarse a, antioxidantes, antimicrobianos y similares. Estos ingredientes opcionales se deberían seleccionar de manera que no interfieran sustancialmente con, o afecten, a la formación de la matriz polimérica estructurada de manera negativa, pero pueden estar seleccionados para que interfieran de manera beneficiosa.

10 La matriz polimérica estructurada producida por medio de los métodos simultáneos descritos en la presente memoria se puede usar directamente en un producto alimentario o se puede recuperar a partir de la mezcla de reacción usando cualquiera método apropiado, tal como por medio de centrifugación, filtración, o similar, y posteriormente se puede usar en un producto alimentario, si se desea. La matriz polimérica estructurada producida por medio de los métodos simultáneos descritos en la presente memoria se puede usar en la producción de queso, tal como queso cremoso, queso natural, productos de tipo queso, productos de carne o análogos, productos de soja (tal como productos de soja texturizados), salsas, aliños, postres, dulces, rellenos de repostería o similares.

15 Los siguientes ejemplos describen e ilustran los procesos y productos de la invención. Se pretende que estos ejemplos sean simplemente ilustrativos de la presente invención, y no limitantes de la misma en cuanto a alcance o espíritu. Los expertos en la técnica comprenderán fácilmente que se pueden usar variaciones de los materiales, condiciones, y procesos descritos en estos ejemplos. Todas las referencias citadas en la presente memoria se incorporan por referencia en su totalidad. A menos que se cite lo contrario, todos los porcentajes están en peso de la composición citada.

**Ejemplos**

**Ejemplo 1**

25 Este ejemplo demuestra la importancia de llevar a cabo reacciones de acervación simultáneas (de la invención) frente a varias reacciones de control en las que se lleva a cabo una reacción de acervación en cada momento. Se prepararon dos disoluciones. La Disolución A incluyó 3 por ciento de fracción aislada de proteína de suero lácteo (Bipro de Davisco Foods International, Inc., Le Sueur, MN) en agua desionizada y se ajustó el pH hasta 3,45 con HCl 5N. La Disolución B incluyó 0,3 por ciento de carragenina pre-disuelta (Gelcarin GP 911 de FMC Corp., Philadelphia, PA) en agua desionizada y se ajustó el pH hasta 11,55 con NaOH 5N. Se llevaron a cabo cuatro experimentos para demostrar la importancia de las reacciones de acervación simultáneas.

30 Control A: Se mezclaron cantidades iguales de la disolución A y de la disolución B a temperatura ambiente y se dejó reaccionar durante al menos 10 minutos. El Control A demuestra la coacervación típica de carragenina y proteína de suero lácteo.

35 Control B: Se mezclaron cantidades iguales de la disolución A y de la disolución B a temperatura ambiente y se dejó reaccionar durante al menos 10 minutos y posteriormente se calentó hasta 82,2 °C (180 °F) para reticular térmicamente la proteína de suero lácteo. Tras la coacervación, el pH de la mezcla permite la reticulación. Posteriormente se deja enfriar en condiciones ambientales en un recipiente de vidrio sellado. El Control B demostró coacervación de carragenina y proteína de suero lácteo y reticulación térmica de la proteína de suero lácteo formada de manera secuencial.

40 Control C: Se calentaron por separado cantidades iguales de la disolución A y de la disolución B hasta 82,2 °C (180 °F) y se dejó enfriar en condiciones ambientales en un recipiente de vidrio sellado. Debido al pH de las disoluciones, tuvo lugar escasa o nula reticulación (es decir, 30 por ciento o menos). Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se mezclaron las disoluciones A y B y se dejó reaccionar durante al menos 10 minutos. El Control C demostró una variación diferente de coacervación con una pequeña cantidad de reticulación llevada a cabo de forma secuencial.

45 Invención: Se calentaron por separado cantidades iguales de disoluciones A y B hasta 82,2 °C (180 °F). Inmediatamente después de alcanzar la temperatura objetivo, se mezclaron las disoluciones A y B y se dejó enfriar en condiciones ambientales en un recipiente de vidrio cerrado. Este proceso tuvo como resultado la coacervación y la reticulación térmica simultáneas.

50 Se midió la cantidad de requesón generada en cada experimento por medio de filtración. Se hizo pasar cada muestra de los experimentos descritos anteriormente a través de una manga US50 y se midió la masa retenida en la parte superior de la manga. La Tabla 1 siguiente proporciona los resultados.

Tabla 1. Efecto del diferente control y tratamiento experimental sobre la formación de requesón

	Control A	Control B	Control C	Invención
% de Requesón	8,1 %	12,9 %	9,0 %	27,9 %

La muestra de la invención procedente de la reacción simultánea de la invención tuvo significativamente más requesón que el que se formó por medio de la coacervación individual (control A) o la coacervación y la reticulación térmica en forma secuencial (control B y control C).

### Ejemplo 2

5 Para demostrar de manera adicional la importancia de las reacciones simultáneas, se llevó a cabo otro conjunto de experimentos a varias temperaturas de reacción. Se calentaron cuatro disoluciones separadas de cada disolución A y B preparadas como se ha descrito en el Ejemplo 1, hasta 54,4, 65,6, 76,7 y 82, 2 °C (130 °F, 150 °F, 170 °F y 180 °F), respectivamente. Inmediatamente después del calentamiento hasta la temperatura objetivo, se mezclaron cantidades iguales de la disolución A y la disolución B a la misma temperatura (es decir, se mezcló la disolución A a 54,4 °C (130 °F) con la disolución B a 54,4 °C (130 °F), se mezcló la disolución A a 65,6 °C (150°F) con la disolución B a 65,6 °C (150 °F) y así sucesivamente). Posteriormente, se dejó enfriar cada mezcla en condiciones ambientales en un recipiente de vidrio sellado. Se midió la cantidad de requesón generada por medio de filtración, como se ha descrito anteriormente, y la Tabla 2 siguiente muestra los resultados.

Tabla 2. Efecto de la temperatura de reacción sobre la formación de requesón

	Temperatura de Reacción			
	54,4 °C (130 °F)	65,6 °C (150 °F)	76,7 °C (170 °F)	82,2 °C (180 °F)
% de Requesón	9,4 %	9,6 %	21,1 %	27,9 %

15 Las disoluciones a 54,4 °C (130 °F) y 65,6 °C (150 °F) formaron cantidades significativamente menores de requesón en comparación con las disoluciones mezcladas a 76,7 °C (170 °F) y 82,2 °C (180 °F). Se piensa que esto es debido a que la reticulación térmica mínima de la proteína de suero lácteo tiene lugar a 65,6 °C (150 °F) y por debajo de esta temperatura. Las muestras preparadas con disoluciones a 76,7 °C (170 °F) y con disoluciones a 82,2 °C (180 °F) demuestran ambas las reacciones simultáneas de coacervación y reticulación térmica. Se piensa que las muestras preparadas con disoluciones a 54,4 °C (130 °F) y 65,6 °C (150 °F) demuestran reacción de coacervación de forma mayoritaria. Este experimento además demuestra la unicidad de tener reacciones múltiples de forma simultánea.

### Ejemplo 3

25 Método de Uso de Dos Mecanismos de Acervación Llevados a Cabo en Serie con Polímeros Diferentes. Reticulación térmica y coacervación entre fracción aislada de proteína de suero lácteo (WPI) y concentrado de proteína de leche (MPC): Se prepararon disoluciones de WPI ácida (pH = 3,45) y MPC básico (Nutrilac 7318, Arla Foods Ingredients, NJ) mezclando polvo de proteína de 10 por ciento en agua desionizada y ajustando el pH de la disolución hasta un valor de 3,45 y 8,0 usando HCl y NaOH de calidad alimentaria, respectivamente. Se calentaron las dos disoluciones de proteínas en un horno microondas hasta una temperatura de aproximadamente 90 °C. 30 Ambas disoluciones calientes conservaron un aspecto transparente, lo que indica que es improbable que se alterara significativamente la microestructura de las proteínas. Se mezclaron las dos disoluciones calientes de manera inmediata (es decir, en aproximadamente 60 segundos) después de alcanzar 90 °C con una proporción de 1:1.

35 Este experimento demuestra que se llevaron a cabo dos mecanismos de acervación de forma simultánea (reticulación térmica de la proteína de suero lácteo y coacervación entre las dos proteínas diferentes) para formar un requesón cohesivo, suave y blando que se pareció al requesón de queso fresco y normal en cuanto a textura y aspecto. Coadyuvada por medio de co-acervación entre las dos moléculas de proteína con carga opuesta y diferente, se hizo posible la reticulación térmica de la proteína de suero lácteo al pH local.

### Ejemplo 4

40 Este ejemplo ilustra los efectos diferentes de llevar a cabo dos mecanismos de acervación en serie frente a llevar a cabo los mismos dos mecanismos de acervación de forma simultánea.

45 Ejemplo de la invención: Este experimento ilustra una realización de la invención en la que se llevaron a cabo dos mecanismos de acervación (reticulación térmica de proteína de suero lácteo y co-acervación entre una proteína con carga positiva y un polisacárido con carga negativa) de forma simultánea para formar un requesón cohesivo suave y blando. Se preparó una disolución ácida de fracción aislada de proteína de suero lácteo mezclando fracción aislada de proteína de suero lácteo de 10 % con agua desionizada y ajustando el pH a 3,45 usando HCl de calidad alimentaria. Se preparó una disolución básica de xantán por medio de mezcla de xantán de 0,5 % (Keltrol 519 de CP Kelco) en agua desionizada y ajustando el pH hasta 11,6 usando NaOH de calidad alimentaria.

50 Se calentaron las dos disoluciones poliméricas con carga opuesta en un horno microondas hasta una temperatura de aproximadamente 90 °C. Se añadió NaOH 5N adicional a la disolución de xantán básica en una cantidad eficaz

para proporcionar un pH de aproximadamente 5,5 tras la mezcla con la disolución ácida de proteína de suero lácteo. Ambas disoluciones calientes permanecieron transparentes en cuanto aspecto, indicando de este modo que no se alteró significativamente la microestructura de los polímeros por medio del tratamiento térmico. Se mezclaron inmediatamente las dos disoluciones poliméricas calientes tras el tratamiento térmico con una proporción de disolución de fracción aislada de proteína de suero lácteo con respecto a disolución de xantán de 2,5:1. La mezcla formó un cuerpo de requesón completo que tenía un pH de aproximadamente 5,7.

Ejemplo Comparativo: Se preparó una disolución ácida (pH 3,45) de fracción aislada de proteína de suero lácteo y una disolución básica de xantán (pH 11,6) como se ha descrito anteriormente. Se mezclaron las disoluciones con carga opuesta a temperatura ambiente sin tratamiento térmico previo. La mezcla resultante formó una dispersión lechosa de fluidez relativamente elevada (presumiblemente por medio de coacervación) pero no se formó requesón tras mantener a temperatura ambiente durante aproximadamente 20 minutos. Se sometió esta mezcla de manera adicional a tratamiento térmico a 90 °C durante 2 minutos y de nuevo se produjo el fallo en cuanto a la formación de requesón cohesivo. Se dejó enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente y no se formó requesón trascurridas 24 horas de almacenamiento a temperatura de refrigeración. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se piensa que la coacervación de la proteína de suero lácteo con una cantidad significativa de xantán impidió la capacidad de reticulación de la proteína de suero lácteo.

Los resultados de este experimento indican que los mecanismos de acervación simultáneos son eficaces para una amplia gama de polímeros.

### Ejemplo 5

Este ejemplo ilustra como el hecho de llevar a cabo mecanismos de acervación múltiples de forma simultánea (reticulación iónica y precipitación isoeléctrica) tiene como resultado una matriz estructurada muy diferente del producto de un mecanismo de acervación individual (precipitación isoeléctrica) que usa alginato y concentrado de proteína de leche como polímeros.

Ejemplo de la invención. Se preparó una disolución ácida de alginato por medio de mezcla de agua desionizada con alginato de 1 % (Kimica Corp., Japón) y ajustando el pH hasta 3,0 usando HCl de calidad alimentaria. Se preparó una disolución de concentrado de proteína de leche básico añadiendo una pocas gotas de disolución de CaCl<sub>2</sub> 0,1 M a concentrado de proteína de leche de 10 % (Nutrilac de Arla Foods) en agua desionizada, seguido de ajuste de pH hasta 8,2 usando NaOH de calidad alimentaria. Se mezclaron las dos disoluciones con una proporción de 3:1 de disolución de alginato con respecto a disolución concentrada de proteína de leche a temperatura ambiente, sin ningún tratamiento térmico para proporcionar un pH final de 4,8. Los valores de pH de punto isoeléctrico de caseinato y proteína de suero lácteo son de aproximadamente 4,6 y 5,1, respectivamente, y tanto caseinato como la proteína de suero lácteo se vuelven insolubles en gran medida a pH 4,8. El CaCl<sub>2</sub> provocó la reticulación iónica de caseinato tras la mezcla al tiempo que tenía lugar de forma simultánea la precipitación isoeléctrica de las proteínas de la leche. La mezcla resultante presentó una textura de tipo requesón con clara evidencia de sinéresis (separación de suero lácteo).

Ejemplo Comparativo. Se prepararon una disolución ácida de alginato y una disolución básica de concentrado de proteína de leche como se ha mostrado anteriormente, exceptuando que no se añadió CaCl<sub>2</sub> a la disolución básica de proteína de leche. Se mezclaron las dos disoluciones con una proporción de 3:1 de disolución de alginato con respecto a concentrado de proteína de leche a temperatura ambiente sin ningún tratamiento térmico para proporcionar la precipitación isoeléctrica de las proteínas de la leche. No tuvo lugar reticulación iónica. El alginato no es un polímero anfótero y no tiene carga a un valor de pH 3,0. Por tanto, se piensa que la coacervación entre las proteínas de la leche y alginato es improbable. La mezcla resultante fue opaca y fluida sin formación de requesón.

Este ejemplo además demuestra que el proceso de la invención es generalmente aplicable a combinaciones de mecanismos de acervación no térmicos.

### Ejemplo 6

Queso con Proteína de Suero Lácteo de 100 %. De hecho muchos quesos comúnmente denominados como "quesos de suero lácteo", tales como el queso de Ricotta, se fabrican comúnmente a partir de caseína (> 75 % en forma de leche entera) complementada simplemente con suero de queso para permitir la formación de requesón-escamas a temperatura elevada (en lugar de usar cuajo). Este ejemplo demuestra que se puede llevar a cabo el uso simultáneo de tres mecanismos de acervación para preparar un queso duro con proteína de suero lácteo de 100 % (carente de caseína).

En primer lugar se preparó una fracción aislada de proteína de suero lácteo de diez por ciento (BiPro de Davisco Foods International, Inc., La Sueur, MN), se dividió y se ajustó el pH para proporcionar disoluciones ácidas (pH 3,5) y básicas (pH, 8,5) de fracción aislada de proteína de suero lácteo, respectivamente. Basándose en el contenido de proteína, se añadieron cantidades iguales de grasa de leche anhidra (AMF) a las disoluciones de fracción aislada de proteína de suero lácteo y se homogeneizó en un mezclador de laboratorio a aproximadamente 62,8 °C (145 °F) para formar disoluciones de fracción aislada de proteína de suero lácteo. Se calentaron las emulsiones de fracción

aislada de proteína de suero lácteo resultantes en un horno microondas a una temperatura de aproximadamente 87,8 °C a 98,9 °C (de 190 a 210 °F). Se mezclaron intensamente las dos emulsiones de fracción aislada de proteína de suero lácteo calientes (con una espátula durante 10 segundos) en un recipiente. Transcurridos aproximadamente 10 minutos de tiempo de residencia, se vertió la mezcla en un tamiz con tela para queso para separar el requesón (aproximadamente 64 por ciento) del suero lácteo (aproximadamente 36 por ciento). Posteriormente se saló el requesón con sal de mesa de 2,5 por ciento (basado en el peso de requesón) y se envasó/presó en un molde durante 2 horas para formar un queso en bloque. Tras refrigeración durante 12 horas, se evaluó el queso de suero lácteo de 100 % resultante por parte de un pequeño panel de expertos y se determinó que tenía un aroma, sabor, textura y aspecto aceptables, similares a los del queso Mejicano fresco que no contiene caseína. En este ejemplo, se piensa que las moléculas de proteína de suero lácteo experimentan de forma simultánea co-acervación, precipitación isoelectrica y reticulación térmica.

**Ejemplo 7**

Queso Cremoso con Firmeza Mejorada. Se preparó un complejo de queso de tipo requesón usando reacciones coacervación múltiple simultáneas de acuerdo con la fórmula y procedimiento siguientes y posteriormente se evaluó en un modelo de queso cremoso de bajo contenido en grasa.

Se preparó la Disolución "A1" mezclando una fracción aislada de proteína de 7 por ciento (Bipro) en agua desionizada y se ajustó a un pH de 3,5 usando 88 % de ácido láctico. Posteriormente, se calentó la Disolución A1 en un horno microondas hasta 73,9 °C (165 °F) seguido de enfriamiento inmediato hasta temperatura ambiente. Se preparó la Disolución "A2" mezclando fracción aislada de proteína de suero lácteo de 7 % (Bipro) en agua desionizada y se ajustó a un pH de 3,5 usando ácido láctico de 88 % y posteriormente se calentó hasta 90,6 °C (195 °F) en un horno microondas. Se mantuvo la Disolución A2 a 87,8 °C a 90,6 °C (de 190 a aproximadamente 195 °F) para mantener la disolución caliente pero sin hervir durante 20 minutos antes del enfriamiento por debajo de temperatura ambiente. Se preparó la Disolución "B1" mezclando sólidos de suero de mantequilla (25 %) y carboximetilcelulosa (0,16 %) en leche entera y se ajustó el pH hasta pH 8,5 usando NaOH 6N. Se preparó la disolución "B2" por medio de mezcla de sólidos de suero de mantequilla (25 %) y carragenina (0,16 %) en leche entera y se ajustó el pH hasta pH 8,5 usando NaOH 6N.

Posteriormente, se mezclaron las disoluciones A1 y A2 con una proporción de 43,7 a 8,3, respectivamente, para formar una mezcla de disolución A, como se muestra en la Tabla 3 siguiente. Por separado, se mezclaron las disoluciones B1 y B2 con una proporción de 33,3 a 16,7, respectivamente, para formar una mezcla de disolución B. Se calentaron por separado una parte de la mezcla de disolución A y una parte de la mezcla de disolución B hasta 87,8 °C (190 °F). Se añadió ácido láctico de 88 % adicional a la mezcla caliente de las disoluciones A hasta un pH final objetivo del complejo de 5,1. Se mezcló intensamente la mezcla de disolución B caliente con la mezcla de disolución A caliente en un Thermomix para formar un complejo. Se dejó enfriar el complejo hasta temperatura ambiente y se almacenó en un frigorífico antes de su uso para la preparación de queso cremoso. Se obtuvo un complejo de queso cremoso suave de tipo requesón.

Tabla 3

Proporción	Disolución A1	Disolución A2	Disolución B1	Disolución B2
		43,7	8,3	33,3
Composición del Complejo				
	Cantidad	Proteína	Carragenina + CMC	
	%	%	%	
Mezcla de Disolución A	50	3,325	0	
Mezcla de Disolución B	50	5,875	0,08	
Total	100	9,20	0,08	

Posteriormente, se usó el complejo de queso cremoso de tipo requesón para preparar un producto de queso cremoso de acuerdo con la Tabla 4 siguiente. Se preparó requesón UF sometiendo a cultivo y fermentación una mezcla de leche y nata y posteriormente usando ultrafiltración para separar el requesón del suero lácteo. Se mezclaron requesón UF, un complejo de tipo requesón, nata y suero de mantequilla de acuerdo con la receta de la Tabla 4 usando un mezclador Lightning (Grafton, Wisconsin). Se ajustó el pH a 4,9 con una pequeña cantidad de ácido láctico de 44 %. Posteriormente, se calentó la mezcla hasta 60 °C (140 °F) en un mezclador Thermomix. Se homogenizó la mezcla a 5000/500 psi usando un homogeneizador de dos etapas. Se añadieron los ingredientes restantes y se calentó la mezcla a 85 °C (185 °F) en el Thermomix. Se mantuvo la temperatura en 85 °C (185 °F)

durante al menos 30 minutos. Posteriormente, se homogeneizó a 5000/500 psi y se recogieron las muestras en tubos de plásticos de 8 onzas (226,8 g). A continuación, se enfriaron los tubos y se almacenaron en el frigorífico.

Se preparó un producto de queso cremoso de control (sin el complejo de tipo requesón) como se ha descrito anteriormente de acuerdo con la receta de la Tabla 4.

5 Tabla 4

Fórmula de Queso Cremoso	Invencción	Control
	con complejo de tipo requesón	sin complejo de tipo requesón
	%	%
Complejo de tipo requesón	50,44	0
Requesón UF	30	30
Nata	14,55	13,58
Agua	0	25,32
Leche entera	0	19,27
Suero de mantequilla	3,18	8,11
BiPro	0	1,79
Ácido láctico de 44 % (gm)	0,4	0,4
Carragenina	0,4	0,43
Xantán	0,25	0,25
CMC	0	0,03
Sal	0,73	0,77
Ácido ascórbico	0,05	0,05
Total	100	100

Los productos resultantes de queso cremoso de control y de la invención presentaron un contenido de humedad, grasa, proteínas, lactosa, sal y caseína/suero lácteo como se indica en la Tabla 5 siguiente.

Tabla 5

Composición de Queso Cremoso	Invencción	Control
	con complejo de tipo requesón	sin complejo de tipo requesón
	%	%
Humedad	72,67	72,76
Grasa	10	10
Proteína	8	8
Lactosa	6,52	6,46
Sal	0,81	0,80
Caseína/Suero lácteo	63/37	62/38

<b>Límite Elástico (Pa)</b>	3580	2928

5 La muestra de queso cremoso preparada con el complejo de tipo requesón de la invención fue más de 20 % más firme, basándose en el límite elástico, aunque el control presentó un contenido de humedad, grasa, proteína, lactosa y sal muy similar. Un panel de expertos en percepción sensorial verificó las diferencias entre las dos muestras de queso cremoso. Además, la mayoría de los integrantes del panel indicaron que la muestra de la invención era igual o ligeramente más cremosa que el control a pesar de su firmeza más elevada, que se sabe hace disminuir la cremosidad percibida.

10 De manera ventajosa, el contenido de grasa y proteínas es menor que el que normalmente se encuentra en los quesos cremosos suaves "ligeros" (es decir, por debajo de 3,4 g de grasa por cada pedazo de 1 onza (28,35 g)). Este ejemplo demuestra que se puede usar el complejo de tipo requesón de la invención para proporcionar un aroma de queso cremoso sin necesidad de aromas sometidos a cultivo. Este ejemplo demuestra además que el complejo de tipo requesón de la invención es un aglutinante de textura excelente en los sistemas de queso cremoso.

**Ejemplo 8**

15 Complejo de Tipo Requesón como Aglutinante de Textura y Mimético de Grasa en Queso Cremoso de Bajo Contenido en Grasa

20 Parte I: Se preparó un complejo de tipo requesón de acuerdo con la fórmula y procedimiento siguientes. Se preparó la Disolución A disolviendo fracción aislada de proteína de suero lácteo de 7 % (Provon 90 de Glanbia Nutritionalis) en agua desionizada y acidificando hasta pH 3,5 usando ácido láctico de 88 %. Se preparó la Disolución B disolviendo carragenina de 0,16 % y sólidos de suero de mantequilla de 25 % (3,62 % de humedad, 96,38 % de sólidos, 7,03 % de grasa, 33 % de proteína, 50 % de lactosa, 8 % de ceniza) en leche entera (87,4 % de humedad, 3,7 % de grasa, 3,5 % de proteína, 4,9 % de lactosa, 0,7 % de ceniza) y ajustando el pH hasta pH 8,5 con NaOH 6N. Se añadió ácido láctico adicional de 88 % a la Disolución A según fue necesario para obtener un complejo final con un pH de 5,1.

25 Se calentó la Disolución A en un Thermomix (Vorwerk USA Co., Longwood, FL) y se mantuvo a 82,2 °C (180 °F). Por separado, se calentó la Disolución B a 76,7-82,2 °C (170-180 °F). Se añadió la disolución B caliente al Thermomix y se mantuvo a 82,2 °C (180 °F) durante varios minutos con agitación intensa para formar un complejo con una composición de acuerdo con la Tabla 6. El complejo formado de este modo fue una masa de queso cremoso suave de tipo requesón. Se dejó enfriar el complejo hasta temperatura ambiente y se almacenó en el frigorífico antes de su uso para la preparación de queso cremoso.

30 Tabla 6

<b>Composición de Complejo</b>	Cantidad	Proteína	Carragenina
	%	%	%
Disolución A	50	3,15	0
Disolución B	50	5,88	0,16
Total	100	9,03	0,08

La masa de tipo requesón comprendió 78,3 % de humedad, 21,7 % de sólidos, 2,75 % de grasa, 9,03 % de proteína (con una proporción de caseína/suero lácteo de 52/48), 8,73 % de lactosa y 1,35 % de escoria.

35 Parte II: Se prepararon tres lotes de queso cremoso suave ligero de acuerdo con las recetas que se proporcionan en la Tabla 7 siguiente. Se preparó requesón UF sometiendo a cultivo y fermentación una mezcla de leche y nata y posteriormente concentrando o retirando el exceso de agua por medio de ultrafiltración. Se combinaron el requesón UF, el complejo SMAR preparado como anteriormente, suero de mantequilla y fracción aislada de proteína de suero lácteo (Bipro 95 de Danisco Food International) en un vaso de precipitados y se mezcló usando un mezclador Lighting (Grafton, Wisconsin). Se varió la cantidad de nata usada en cada muestra con el fin de ajustar el contenido total de grasa en el queso cremoso terminado ya que la grasa de mantequilla (principalmente procedente de nata) es un componente muy funcional del queso cremoso. Se ajustó el pH de cada mezcla a un valor de pH 4,9 con ácido láctico de 44 % y se calentó en un mezclador Thermomix a 60 °C (140 °F). Se comprobó el contenido de humedad y posteriormente se ajustó según fue necesario hasta un valor objetivo de aproximadamente 71 %. Posteriormente, se homogeneizó cada mezcla a 5000/500 psi y se añadieron a continuación los ingredientes restantes. Después se

calentó cada mezcla en un mezclador Thermomix a 82,2 °C (180 °F) y se mantuvo durante al menos 15 minutos al tiempo que se cubrió para minimizar la pérdida de agua. Posteriormente, se homogeneizaron las mezclas de nuevo a 5000/500 psi y se recogieron en tubos de plástico de 8 onzas (226,8 g). Se enfriaron los tubos y se almacenaron en el frigorífico.

5 Tabla 7

Composición de Complejo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
	%	%	%
Requesón UF	75,585	52,01	40,22
Complejo SMAR	10	30	40
Nata	7,92	13,13	15,75
Bipro 95	1,03	1,21	1,3
Suero de mantequilla	3,89	2,05	1,12
Ácido láctico de 44 %	0,4	0,4	0,4
Carragenina GP911	0,3	0,3	0,3
Goma xantán	0,15	0,15	0,15
Sal	0,675	0,7	0,71
Acido sórbico	0,05	0,05	0,05
Total	100	100	100
Límite Elástico (Pa)	1733	1773	2427
<b>Composición de Queso Cremoso</b>	%	%	%
Humedad	71,50	71,50	71,50
Grasa	12,00	12,00	12,00
Proteína	8	8	8
Lactosa	5,87	6,03	6,12
Sal	0,80	0,80%	0,80
Proporción de caseína/suero lácteo	66/34	58/42	54/46

10 Se descubrió que las muestras de queso cremoso suave ligero con composición global idéntica (por ejemplo, contenido de grasa) y con nivel creciente de sustitución de requesón de queso por complejo SMAR fueron más firmes y generalmente más cremosas. Se identificó la muestra 2 por parte de un panel de expertos en percepción sensorial como la más cremosa de las tres muestras. Aunque considerada muy cremosa, la cremosidad relativamente baja de la Muestra 3 (que tenía el nivel más elevado de sustitución de requesón) se puede explicar en parte por la firmeza significativamente más elevada (hasta 37 %) de la Muestra 3. Se concluyó que el complejo SMAR es un aglutinante de textura/firmeza excelente al tiempo que mantiene un elevado grado de cremosidad en  
15 productos de queso cremoso de bajo contenido de proteína, bajo contenido de grasa y elevado contenido de humedad.

#### Ejemplo 9

20 Fibra de Proteína de Carne. Se mezcló pavo separado mecánicamente ("MST") con agua ácida (pH 3,0) o agua básica (pH 11) con una proporción de 1 parte de MST y 4 partes de agua con pH ajustado para extraer la proteína de la carne con máxima solubilización de proteínas y mínima desnaturalización. Se añadieron periódicamente HCl o NaOH según fue necesario para mantener el pH inicial para una eficacia de extracción máxima durante un período de aproximadamente 20 minutos. Posteriormente, se centrifugó cada mezcla con pH ajustado a 3.000 rpm durante 30 minutos y se retiraron tanto la grasa como el precipitado para obtener disoluciones ácidas y básicas ricas en

proteínas. Posteriormente, se mezclaron las disoluciones ácidas y básicas ricas en proteínas con una proporción de 1:1 y se ajustó el pH para formar una mezcla con un pH final equilibrado de aproximadamente 5,5 en el que se precipitó isoelectricamente la proteína procedente de ambas disoluciones para dar lugar a un polvo fino y sin estructura capturado sobre un tamiz.

- 5 Se repitió el mismo experimento exceptuando que en primer lugar se calentaron las disoluciones de proteínas tanto ácida como básica hasta 87,8 °C (190 °F) durante 30 minutos antes de mezclar a 87,8 °C (190 °F). Tras la mezcla, tuvieron lugar de forma simultánea la precipitación isoelectrica y la reticulación térmica para producir una masa de proteína insoluble que tenía un estructura fibrosa, basta e inesperadamente grande.

**Ejemplo 10**

- 10 Pavo Molido con Capacidad Mejorada de Retención de Agua. Este ejemplo demuestra el uso de reacciones de acervación simultáneas para generar carne de pavo re-estructurada de elevado contenido de humedad y elevado volumen. Se preparó una emulsión de pavo molido ("emulsión A") mezclando una parte de pavo fino molido con dos partes de agua desionizada. Se dividió una parte de la emulsión en emulsiones A1 y A2. Se ajustó una parte de la emulsión de pavo A1 a un pH de 3,0 con HCl 5N. Se ajustó una parte de la emulsión A2 a un pH de 11,0 con NaOH 5N. Se llevaron a cabo tres conjuntos de experimentos para demostrar la importancia de las reacciones simultáneas.

En el primer experimento (a continuación "control 1"), se calentó la emulsión A hasta 82,2 °C (180 °F) durante 2 minutos. El control 1 demostró la desnaturalización térmica convencional de una emulsión de pavo.

- 20 En el segundo experimento (a continuación "control 2") se mezclaron cantidades iguales de emulsión A1 y emulsión A2 a temperatura ambiente y se calentaron posteriormente a 82,2 °C (180 °F) durante 2 minutos. El control 2 demostró coacervación y desnaturalización térmica de la proteína de pavo llevada a cabo de forma secuencial.

En el tercer experimento (a continuación "de la invención"), se calentaron cantidades iguales de emulsión A1 y emulsión A2 por separado hasta 82,2 °C (180 °F) y posteriormente se mezclaron y se mantuvo durante 2 minutos. Este experimento demuestra dos reacciones - coacervación y desnaturalización térmica - llevadas a cabo de forma simultánea.

- 25 Todos los experimentos tuvieron como resultado un pH final de 6,37 ±0,07. Posteriormente, se midió el porcentaje en peso de carne retenida en la parte superior de un tamiz US18. Los resultados se muestran en la Tabla 8. La muestra preparada a partir de reacciones simultáneas de la invención tuvo un peso capturado mucho más elevado en comparación con las preparadas a partir de desnaturalización térmica (control 1) y coacervación y desnaturalización térmica llevadas a cabo de forma secuencial (control 2). Como se muestra en la Tabla 8 siguiente,
- 30 los porcentajes de peso capturado para control 1, control 2, y muestra de la invención fueron de 41,1 %, 36,4 % y 50,1 %, respectivamente. La muestra de la invención mostró un 18 % de mejora con respecto al control 1 y aproximadamente 27 % de mejora con respecto al control 2.

Tabla 8

	<u>Control 1</u>	<u>Control 2</u>	<u>Invención</u>
	Únicamente desnaturalización térmica	Coacervación y Desnaturalización Térmica de Forma Secuencial	Coacervación y Desnaturalización Térmica Simultáneas
% de peso capturado*	41,1	36,4	50,1

\* porcentaje de peso de carne retenida en la parte superior del tamiz.

- 35 Tras la consideración de la siguiente descripción detallada, cabe esperar numerosas modificaciones y variaciones de la práctica de los procesos descritos en la presente memoria por parte de los expertos en la técnica. Por consiguiente, se pretende que dichas modificaciones y variaciones queden englobadas dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1.- Un método para producir una matriz polimérica estructurada, comprendiendo el método:

- 5 a-1) preparar el menos una disolución acuosa que contiene uno o más polímeros alimentarios, en el que uno o más polímeros alimentarios son capaces de experimentar al menos dos mecanismos de acervación, y en el que las condiciones son tales que no se activen al menos dos mecanismos de acervación antes de una etapa de activación;
- a-2) tratar al menos una disolución acuosa que contiene uno o más polímeros alimentarios para activar al menos dos mecanismos de acervación de forma simultánea; y
- 10 a-3) permitir que al menos dos mecanismos de acervación activados trascurren hasta que se obtenga la matriz polimérica estructurada,
- o
- b-1) preparar dos o más disoluciones poliméricas acuosas, comprendiendo cada disolución uno o más polímeros comestibles, en el que uno o más polímeros comestibles de cada disolución son capaces de experimentar al menos un mecanismo de acervación, y en el que las condiciones de cada disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación en cada disolución; y
- 15 b-2) combinar las dos o más disoluciones poliméricas acuosas para proporcionar condiciones en las cuales dos o más mecanismos de acervación ocurran de forma simultánea,
- o
- 20 c-1) preparar una disolución acuosa cargada positivamente que tiene un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 y una temperatura de al menos aproximadamente 71,1 °C (160°F), en el que la disolución comprende al menos un polímero alimentario capaz de experimentar al menos un mecanismo de acervación, en el que las condiciones en la disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación;
- c-2) preparar una segunda disolución polimérica cargada negativamente que tiene un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 11 y una temperatura de al menos 71,1 °C (160 °F), en el que la disolución comprende al menos un polímero alimentario capaz de experimentar al menos un mecanismo de acervación, en el que las condiciones en la disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación; y
- 25 c-3) combinar la dos disoluciones poliméricas calientes para proporcionar las condiciones en las cuales dos o más mecanismos de acervación ocurran de manera simultánea,
- o
- 30 d-1) preparar una primera disolución acuosa que contiene polímero cargada positivamente que tiene un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 5, en el que la disolución comprende al menos un polímero alimentario capaz de experimentar al menos un mecanismo de acervación, en el que el pH es menor que el pH isoeléctrico del polímero y las condiciones de la disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación;
- d-2) preparar una segunda disolución acuosa que contiene polímero cargada negativamente que tiene un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 11, en el que la disolución comprende al menos un polímero alimentario capaz de experimentar al menos un mecanismo de acervación y las condiciones en la disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación;
- 35 d-3) calentar la primera disolución polimérica hasta una temperatura mayor o igual que la temperatura a la cual el primer polímero formaría reticulaciones a un pH menor que aproximadamente 1 unidad de pH más bajo que el punto isoeléctrico del primer polímero;
- 40 d-4) calentar la segunda disolución polimérica hasta una temperatura mayor o igual que la temperatura de la primera disolución polimérica; y
- d-5) combinar las dos disoluciones poliméricas calientes para proporcionar un pH final tras la mezcla de manera que los mecanismos de coacervación y reticulación térmica ocurran de forma simultánea, o
- 45 e-1) preparar una primera disolución acuosa polimérica cargada positivamente que tiene un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 4, en la que la disolución comprende al menos un polímero alimentario capaz de experimentar al menos un mecanismo de acervación y las condiciones en la disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación,
- e-2) preparar una segunda disolución acuosa polimérica cargada negativamente que tiene un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 10, en la que la disolución comprende al menos un polímero alimentario
- 50

capaz de experimentar al menos un mecanismo de acervación y las condiciones en la disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación;

e-3) añadir cationes minerales multivalentes a una de las disoluciones poliméricas primera y segunda;

5 e-4) calentar las disoluciones poliméricas primera y segunda a una temperatura de al menos aproximadamente 71,1 °C (160 °F); y

e-5) combinar las dos disoluciones poliméricas calientes para proporcionar un pH final tal que la precipitación isoeléctrica ocurra de forma simultánea con la precipitación iónica.

10 2.- El método de la reivindicación 1, en el que al menos una disolución acuosa preparada en la etapa a-1) comprende al menos un polímero alimentario seleccionado entre el grupo que consiste en proteínas, polisacáridos y sus mezclas.

3.- El método de la reivindicación 1, en el que al menos una disolución acuosa preparada en la etapa a-1) comprende una proteína alimentaria y un polisacárido aniónico.

15 4.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que al menos dos mecanismos de acervación están seleccionados entre el grupo que consiste en polimerización, reticulación térmica, coacervación, formación química de complejos, precipitación isoeléctrica, precipitación iónica, precipitación con disolvente, formación de gel y desnaturalización.

5.- El método de la reivindicación 1, en el que cada una de las dos o más disoluciones poliméricas preparadas en la etapa b-1) comprende al menos un polímero alimentario seleccionado entre el grupo que consiste en proteínas, polisacáridos y sus mezclas.

20 6.- El método de las reivindicaciones 1 ó 5, en el que al menos una de las disoluciones poliméricas preparadas en la etapa b-1) se prepara usando un ingrediente alimentario entre el grupo que consiste en leche, suero de queso, huevo y suspensión de carne.

25 7.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 5 ó 6, en el que al menos una de las disoluciones poliméricas preparada en la etapa b-1) comprende una proteína alimentaria y al menos una de las disoluciones poliméricas comprende un polisacárido aniónico.

8.- El método de la reivindicación 1, en el cada una de la disoluciones poliméricas primera y segunda preparadas en las etapas c-1) y c-2) comprende al menos un polímero alimentario seleccionado entre el grupo que consiste en proteínas y polisacáridos.

9.- Un complejo polimérico estructurado formado por medio de un proceso que comprende:

30 f-1) preparar al menos una disolución acuosa que contiene uno o más polímeros alimentarios, en la que uno o más polímeros alimentarios son capaces de experimentar al menos dos mecanismos de acervación, y en el que las condiciones son tales que no se activen al menos dos mecanismos de acervación;

f-2) tratar al menos una disolución acuosa para activar al menos dos mecanismos de acervación de forma simultánea; y

35 f-3) permitir que al menos dos mecanismos de acervación activados trascurren hasta que se obtenga la matriz polimérica estructurada, teniendo la matriz polimérica estructurada una estructura diferente de la que se forma por medio de los mismos mecanismos de acervación llevados a cabo de forma individual o secuencial, o

40 g-1) preparar dos o más disoluciones poliméricas acuosas, comprendiendo cada disolución uno o más polímeros comestibles, en el que uno o más polímeros comestibles de cada disolución son capaces de experimentar al menos un mecanismo de acervación; y en el que las condiciones de cada disolución son tales que no se active al menos un mecanismo de acervación en cada disolución; y

45 g-2) combinar dos o más disoluciones poliméricas acuosas para proporcionar las condiciones en las que dos o más mecanismos de acervación ocurran de forma simultánea, teniendo la matriz polimérica estructurada una estructura diferente de la que se forma por medio de los mismos mecanismos de acervación llevados a cabo de forma individual o secuencial.

10.- Un producto alimentario que comprende el complejo polimérico estructurado de la reivindicación 9.