

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 461 842**

51 Int. Cl.:

A23L 3/3463 (2006.01)

A23L 3/3481 (2006.01)

A23L 3/3517 (2006.01)

A23L 3/3526 (2006.01)

A23F 3/16 (2006.01)

A23L 1/24 (2006.01)

A23L 2/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2010 E 10195488 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2014 EP 2465361**

54 Título: **Método para la inhibición de la actividad de levadura**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.05.2014

73 Titular/es:

PURAC BIOCHEM BV (100.0%)
Arkelsedijk 46
4206 AC Gorinchem, NL

72 Inventor/es:

HEINTZ, EELCO ANTHONIUS JOHANNES y
KUMAR, SAURABH

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 461 842 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

Método para la inhibición de la actividad de levadura

5 [0001] La presente invención se refiere a un método para inhibir la levadura en el alimento ácido, una composición para añadir al alimento y a un alimento ácido que incluye dicha composición.

10 [0002] Las levaduras componen una fracción significativa en el deterioro microbiano del alimento. La seguridad alimenticia y la prevención del deterioro alimenticio es un siempre presente interés a nivel mundial, particularmente de alimentos ácidos tales como bebidas, productos lácteos, preparados de comidas listas para comer, sopas o salsas, que responden de una parte importante de la industria alimentaria. El deterioro de los alimentos es un problema económico importante para el fabricante de alimentos. También hay una creciente demanda de alimentos sanos y completamente naturales, que combinan el buen gusto con alta calidad. Los fabricantes de alimentos necesitan proteger la salud y la seguridad del público a la vez que satisfacen las demandas de los consumidores mediante la entrega de productos que son seguros para el consumo y tienen una vida útil garantizada, ya sea a la temperatura de almacenamiento refrigerado o ambiente.

20 [0003] Los alimentos ácidos son difícil de mantener ya que las posibilidades en el uso de conservantes son limitadas. Sólo los agentes son adecuados que pueden resistir tal ambiente ácido en términos de preservar su estabilidad y actividad antimicrobiana. Esto hace que por ejemplo, muchas proteínas, aminoácidos y enzimas sean inadecuadas para su uso como agentes conservantes en alimentos ácidos.

25 [0004] Galato de epigallocatequina (EGCG) es un producto natural presente en el extracto de té verde que se conoce por sus propiedades fisiológicas beneficiosas. Se ha descrito que EGCG y catequina relacionada derivada actúan como antioxidantes y como supresores del aumento de presión sanguínea, nivel de azúcar en sangre y el nivel de colesterol (EP 1 297 757).

30 [0005] También se ha publicado que composiciones que incluyen EGCG y/o catequinas cercanamente relacionadas también tienen actividad antimicrobiana.

35 [0006] DE 199 17 836 describe conservantes a base de frutas cítricas y menciona EGCG como uno de los componentes flavonoides activos que pueden estar presentes en extractos de frutas cítricas. Este documento además divulga que composiciones de extracto de pomelo son activas contra diferentes microbios *in vitro*, incluyendo bacterias gram-positivas, bacterias gram-negativas y levaduras.

40 [0007] WO 2006/117029 describe composiciones que incluyen polilisina y compuestos polihidroxifenólicos para uso contra el mal aliento, que está predominantemente provocado por bacterias anaeróbicas. El compuesto polihidroxifenólico es extracto de té verde, que puede incluir EGCG, o extracto de oliva. La actividad antibacteriana de las composiciones se evalúa por la medición de la reducción en la cantidad de metabolitos de bacterias anaeróbicas en la cavidad bucal después del uso de, por ejemplo, una pulverización bucal o tabletas de menta que incluyen polilisina y extracto de té verde como componentes antibacterianos.

45 [0008] JP 11-292710 describe una composición germicida que incluye alcohol, un extracto natural, tensioactivo y agua. El extracto natural se selecciona de fenona de manzana, hinokitiol, polilisina y extracto de té verde. EGCG se menciona como una de las catequinas que se pueden contener en el extracto de té verde. Los ejemplos presentados en el documento muestran la actividad de diferentes composiciones contra bacterias gram-negativas y gram-positivas. JP 2003 088345 describe el uso de un extracto de Tencha (una especie de hierba china que es diferente del té verde), también se denomina té dulce, opcionalmente con un tipo de aminoácido, para mejorar la conservación del alimento.

50 [0009] WO 2009/031041 describe una composición que incluye arginato láurico (LAE) o un derivado como un compuesto antimicrobiano y un material antimicrobiano que puede ser extracto de té verde. En este documento la actividad de las composiciones contra una gama de diferentes microbios se analiza en medio del cultivo. En los ejemplos presentados donde la actividad contra la levadura es evaluada, ninguna actividad conservadora se observa para extracto de té verde, que presenta una concentración de inhibición mínima (MIC) por encima de 10000 ppm, mientras que LAE muestra que inhibe las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces marxianus* con un MIC de 24 y 7 ppm respectivamente. Además, ninguna interacción en la conservación de la levadura se observa para una combinación de LAE y extracto de té verde.

60 [0010] Ahora sorprendentemente se ha descubierto que el EGCG en combinación con un derivado de un aminoácido básico, y/o una sal de este, presenta una actividad inhibidora excelente contra la levadura en el alimento ácido (es decir, alimento con un pH entre 2 y 6)

65 [0011] El derivado de aminoácido básico es seleccionado del grupo que consiste en un polímero de un aminoácido básico y un éster de un aminoácido básico alfa-amida.

[0012] EGCG y derivados de aminoácido básicos en sí, no son conocidos por tener una actividad antilevadura alta. Los inventores ahora sorprendentemente han descubierto que la combinación de EGCG y un derivado de un aminoácido básico actúa como un agente de antilevadura eficaz en el alimento ácido. Inesperadamente, la actividad antilevadura de la combinación en el alimento ácido es significativamente superior a la suma de las actividades de los compuestos cuando se usa individualmente, probablemente debido a un efecto sinérgico de la combinación contra la levadura.

[0013] Por consiguiente, en un aspecto la presente invención se refiere a un método para controlar o prevenir el crecimiento de la levadura en un alimento con un pH entre 2 y 6 que incluye una adición a dicho alimento de una combinación de a) galato de epigallocatequina (EGCG) y b) un derivado de un aminoácido básico seleccionado del grupo que consiste en un polímero de un aminoácido básico y un éster de un aminoácido básico alfa amida, y/o un derivado de sal, como un agente de antilevadura.

[0014] El método como se describe en este caso no sólo usa compuestos totalmente naturales para controlar o prevenir el crecimiento de la levadura en el alimento ácido sino también requiere ventajosamente cantidades relativamente-bajas de conservantes (es decir, agentes de antilevadura)

[0015] El alimento utilizado, al que se añade la combinación de antilevadura como se describe en este caso, es un alimento ácido, que puede ser ácido por naturaleza o se puede acidificar mediante la adición de acidulantes. El alimento ácido es un alimento con un pH entre 2 y 6, preferiblemente entre 3 y 5, más preferiblemente entre 3 y 3.5 e incluso más preferiblemente aproximadamente 3.2. El alimento ácido puede ser un alimento sólido o un alimento líquido. Tales alimentos ácidos incluyen por ejemplo bebidas (tales como refrescos, zumos a base de fruta o vegetales, cerveza, vino, leche y yogur líquido), sopas, aderezos, salsas, purés, guarniciones, mermeladas, productos lácteos, carne y productos de pescado, productos tratados a temperatura alta y refrigerados y comidas listas para comer.

[0016] El método como se describe en este caso usa una combinación de a) EGCG y b) un derivado de un aminoácido básico seleccionado del grupo que consiste en un polímero de un aminoácido básico y un éster de un aminoácido básico alfa amida, y/o una sal de este, como un agente antilevadura.

[0017] En el contexto de la aplicación del tema un agente de antilevadura es una combinación de compuestos que tiene una actividad antilevadura es decir que inhibe el crecimiento de levaduras y/o tiene un efecto biocida contra las levaduras. Cuando se aplica a la alimentación el agente antilevadura como se describe en este caso actúa como un conservante mediante el control o la prevención del crecimiento de la levadura en los alimentos. Esto tiene como resultado una reducción o supresión de la presencia en el alimento de levaduras y/o compuestos tóxicos de deterioro de alimentos derivados de la actividad metabólica de levaduras. Así, la estabilidad del alimento es mejorada.

[0018] El componente a) de la combinación, galato de epigallocatequina (EGCG), es un compuesto polihidroxifenólico natural, que está presente en extractos derivados de plantas, por ejemplo, en el extracto de té verde. EGCG puede ser añadido al alimento ácido en forma aislada o ser parte de un extracto de té verde. Típicamente, un extracto de té verde adecuado tiene una combinación de propiedades sensoriales aceptables y solubilidad. Otras fuentes de EGCG, tal como extracto de fruta cítrica, también se pueden usar. EGCG se puede obtener comercialmente, puede ser extraído de fuentes naturales según métodos conocidos por el experto en la materia o se pueden preparar por vías sintéticas.

[0019] El componente b) de la combinación es un derivado de un aminoácido básico seleccionado del grupo que consiste en un polímero de un aminoácido básico y un éster de un aminoácido básico alfa amida, y/o una sal derivada.

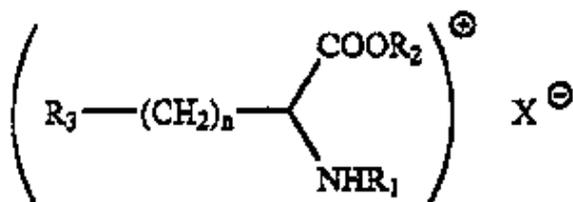
[0020] El derivado de aminoácido básico se puede añadir al alimento como compuesto libre, como una sal o como una combinación del compuesto libre y una sal. Cualquier sal del derivado del aminoácido básico que se adecúe a la adición a los alimentos puede ser utilizada, por ejemplo cumpliendo con los requisitos de GRAS (Generalmente Reconocido Como Seguro, bajo el código de reglamentos federales como 21 CFR 182). Sales adecuadas incluyen, por ejemplo, la sal cloruro, la sal de bromuro y la sal de sulfato de hidrógeno.

[0021] Los aminoácidos básicos en el contexto de la presente aplicación son aminoácidos con un punto isoeléctrico (pI) por encima de 7. Los aminoácidos preferidos en el grupo de aminoácidos básicos son los aminoácidos naturales, es decir los aminoácidos que se producen en la naturaleza. Ellos abarcan lisina (pI es 9.74), arginina (pI es 10.76) e histidina (pI es 7.59). El uso de derivados de lisina y arginina es preferido.

[0022] En el contexto de la presente descripción del término polímero de un aminoácido básico abarca polímeros de 5-1000 monómeros de aminoácidos básicos incluyendo polilisina, poliarginina y polihistidina. El grado de polimerización puede preferiblemente variar entre 5 y 500 monómeros, más preferiblemente entre 5 y 100 y de la forma más preferible entre 10 y 50 monómeros. Polilisina es el homopolímero de L-lisina y es preferiblemente usada. Polilisina se puede utilizar como α -polilisina, ϵ -polilisina o una mezcla de estas y es preferiblemente usada como ϵ -polilisina. ϵ -polilisina preferiblemente incluye de 25 a 35 monómeros de L-lisina enlazados por los enlaces peptídicos entre los grupos carboxilo libres y los grupos ϵ -amino. La polilisina está comercialmente disponible y es generalmente producida por fermentación bacteriana aeróbica.

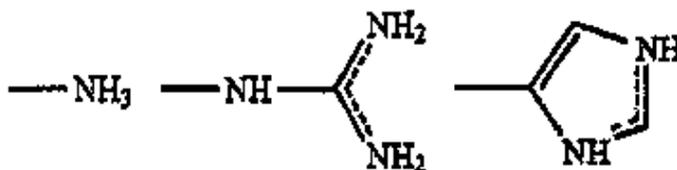
[0023] En el contexto de la presente descripción el término éster de un aminoácido básico alfa amida significa que un aminoácido básico que, en vez de un grupo de ácido carboxílico y un grupo amino, tiene un grupo de éster y un grupo amídico fijado al carbono alfa del aminoácido. La cadena lateral básica del aminoácido está libre o en forma de una sal. La forma de sal de tal éster de un aminoácido básico amida alfa tiene la siguiente estructura:

5



donde X es un contraión tal como Br, Cl, o HSO₄; R₁ es una cadena de alquilo lineal de 8 a 14 átomos de carbono; R₂ es un grupo aromático o una cadena lineal o ramificada de alquilo de 1 a 18 átomos de carbono; y R₃ es uno de los siguientes:

10



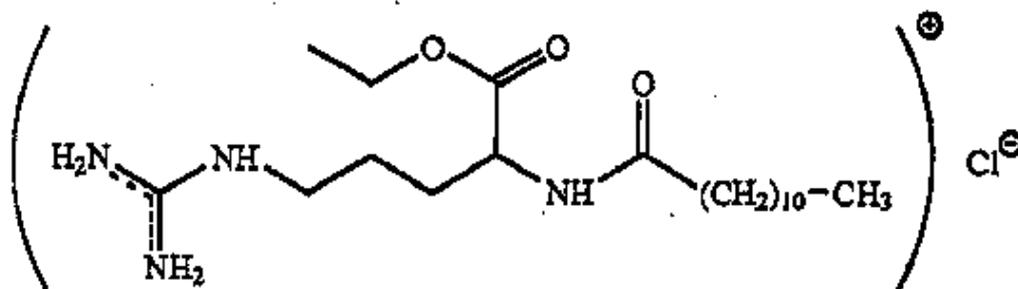
y n es de 0 a 4.

15

[0024] El éster del aminoácido básico amida alfa es preferiblemente un éster de un amida alfa de arginina. Un ejemplo particular de tal éster es arginato láurico. Arginato láurico es derivado de ácido láurico y arginina, en particular, el éster etílico del lauramida del monohidrocloruro de arginina. Arginato láurico (también conocido como Minerat®-N y lauramida arginina ester etílico, es decir LAE) se puede sintetizar a partir de ácido láurico, etanol y L-arginina. LAE está comercialmente disponible en un rango de concentraciones, como polvo unido en un portador de maltodextrina y como una solución de monohidrocloruro de LAE en el propilenglicol que puede ser directamente añadida al alimento.

20

[0025] La estructura química de la sal de cloruro de LAE es como sigue:



25

[0026] Una combinación de diferentes derivados de aminoácidos básicos que se pueden utilizar como componentes b). Por ejemplo, componente b) puede ser una combinación de diferentes polímeros de aminoácidos básicos, una combinación de diferentes ésteres de aminoácidos básicos alfa amida, o una combinación de un polímero de aminoácido básico y un éster de aminoácido básico amida alfa.

30

[0027] Por consiguiente, EGCG puede ser utilizado, por ejemplo, en combinación con LAE, en combinación con polilisina o en combinación con ambos LAE y polilisina.

35

[0028] El método como se describe en este caso requiere ventajosamente que cantidades relativamente bajas de cada componente a) y b) tengan que ser añadidas al alimento ácido.

- 5 [0029] Los dos componentes se agregan en cantidades y en proporciones suficientes para provocar una inhibición de levadura. Para elegir las cantidades óptimas y proporciones de cada uno de los componentes del agente de antilevadura para un alimento ácido específico está dentro de las competencias del experto en la materia. Las cantidades óptimas y proporciones se pueden evaluar por ejemplo comparando la cantidad de unidades formadoras de colonias de levadura (UFC), por métodos conocidos por el experto en la materia, en alimentos ácidos a los que combinaciones diferentes de EGCG y derivados de aminoácidos básicos son agregados.
- 10 [0030] El EGCG puede ser generalmente añadido al alimento ácido en una concentración entre 0.0001 y 2 % en peso preferiblemente entre 0.001 % en peso y 1 % en peso, más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.5 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.1 % en peso.
- 15 [0031] El derivado de aminoácido básico puede ser generalmente añadido al alimento ácido en una concentración entre 0.00001 % en peso y 1 % en peso preferiblemente entre 0.0001 % en peso y 0.1 % en peso más preferiblemente entre 0.0005 % en peso y 0.01 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.001 % en peso y 0.005 % en peso. Cuando una combinación de diferentes derivados de aminoácido básico se usan como componente b) la concentración de la suma de los derivados de aminoácido básico diferentes (p. ej. LAE y polilisina) está también generalmente entre 0.00001 % en peso y 1 % en peso, preferiblemente entre 0.0001 % en peso y 0.1 % en peso, más preferiblemente entre 0.0005 % en peso y 0.01 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.001 % en peso y 0.005 % en peso.
- 20 [0032] Los porcentajes de peso se refieren al peso del compuesto activo por peso total del alimento ácido, el compuesto activo es EGCG (y no el extracto del té verde) y el derivado de aminoácido básico excluye el anión de sal. La proporción en peso en el que los componentes a) y b) de la combinación se agregan al alimento ácido pueden ser entre 0.01a:1b y 5000a:1b, particularmente entre 5a:1b y 2000a:1b, preferiblemente entre 10a:1b y 1000a:1b, más preferiblemente entre 50a:1b y 500a:1b e incluso más preferiblemente 100a:1b.
- 25 [0033] EGCG y el derivado de aminoácido básico se puede añadir al alimento ácido individualmente o como una premezcla. Cada uno de los componentes o la pre-mezcla se pueden añadir en la forma sólida (p. ej. como un polvo) o en forma líquida (p. ej. como una solución, una dispersión o un jarabe). El agente de antilevadura también se puede añadir al alimento mediante un portador. Portadores adecuados incluyen sílice, ciclodextrina y/o maltodextrina. Generalmente, para el líquido, alimentos molidos o granulosos, la adición se realiza mediante la mezcla el agente de antilevadura con el alimento ácido. El agente de antilevadura también se puede aplicar sobre la superficie del alimento por ejemplo por pulverización.
- 30 [0034] Otros aditivos pueden ser también añadidos al alimento ácido bien individualmente o premezclados con EGCG y/o el derivado de aminoácido básico. Aditivos preferidos, que también muestran algún realce de actividad de antilevadura, incluyendo vainillina, extracto de canela, mono- y/o diglicéridos, extracto de lúpulo, ácido cinámico o su sal, ácido caproico, hexametáfosfato de sodio, lactilatos de ácido graso (p. ej. Caproil lactilato de sodio y lauroil lactilato de sodio), ácido sórbico o su sal, ácido propiónico o su sal y azúcar cultivado de PURAC (p. ej. PuraQ Verdad NV10 y PuraQ Verdad NV15, que consisten en productos de fermentación de azúcar de maíz tales como azúcares, ácidos orgánicos, péptidos y aromas). Otros aditivos incluyen, por ejemplo, potenciadores de sabor, reguladores de pH, antioxidantes, emulsionantes y conservantes. Aunque el método de la invención evita generalmente la necesidad del uso de otros conservantes de alimentos, se pueden añadir si es necesario.
- 35 [0035] En general se prefiere que todos componentes añadidos al alimento ácido satisfagan GRAS. También se prefiere que los aditivos no afecten negativamente a la calidad organoléptica del alimento ácido en cuanto a por ejemplo sabor, textura y color.
- 40 [0036] El método como se describe en este caso se encuentra que es muy eficaz contra las levaduras que están comúnmente asociadas a deterioro alimenticio, tal como *Candida* (p. ej. *C. albicans*), *Saccharomyces* (p. ej. *S. cerevisiae*) y *Zigosaccharomycos* (p. ej. *Z. bailii*).
- 45 [0037] En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que incluye galato de epigallocatequina (EGCG), arginato láurico (LAE) y polilisina para la adición al alimento, y a un alimento ácido que incluye EGCG, LAE y polilisina.
- 50 [0038] Como se ha descrito anteriormente la composición que incluye a) EGCG y b) tanto LAE como polilisina puede ser eficazmente usada según el método descrito aquí. Por consiguiente, la composición puede incluir los componentes a) y b) en una proporción en peso entre 0.01a:1b y 5000a:1b, particularmente entre 5a:1b y 2000a:1b, preferiblemente entre 10a:1b y 1000a:1b, más preferiblemente entre 50a:1b y 500a:1b e incluso más preferiblemente 100a:1b.
- 55 [0039] El alimento ácido que incluye a) EGCG y b) tanto LAE como polilisina generalmente incluye a) en concentración de entre 0.0001 % en peso y 2 % en peso preferiblemente entre 0.001 % en peso y 1 % en peso, más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.5 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.1 % en peso y b) es decir la suma de LAE y polilisina, en una concentración entre 0.00001 % en peso y 1 % en peso, preferiblemente entre 0.0001 % en peso y 0.1 % en peso, más preferiblemente entre 0.0005 % en peso y 0.01 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.001 % en peso y 0.005 % en peso.
- 60 [0039] El alimento ácido que incluye a) EGCG y b) tanto LAE como polilisina generalmente incluye a) en concentración de entre 0.0001 % en peso y 2 % en peso preferiblemente entre 0.001 % en peso y 1 % en peso, más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.5 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.1 % en peso y b) es decir la suma de LAE y polilisina, en una concentración entre 0.00001 % en peso y 1 % en peso, preferiblemente entre 0.0001 % en peso y 0.1 % en peso, más preferiblemente entre 0.0005 % en peso y 0.01 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.001 % en peso y 0.005 % en peso.
- 65

[0040] La presente invención está posteriormente ilustrada por los siguientes ejemplos, sin estar limitado a los mismos o de ese modo.

5 Ejemplo 1: inhibición de levaduras.

[0041] El extracto de té verde EGCG 50 con un 53 % en peso de EGCG, fue comprado de Layn, Lijiang, China. ϵ -polilisina (50 % en peso de polilisina) fue comprada de Chisso, Japón. LAE, Minerat®-N (40 % en peso) fue comprado de Vedeqsa, España.

10

[0042] *Candida albicans* fue aislada de una bebida comercial, *Saccharomyces cerevisiae* (CBS 2190) y *Zygosaccharomyces bailii* (CBS 6708) fueron obtenidos de CBS (cultivos Centraalbureau voor Schimmel).

15

A) Determinación de la concentración de inhibidor mínima.

[0043] Los cultivos de levadura se cultivaron en el medio líquido (por litro: 5 gramos de extracto de malta filtrada de Oxoid Ltd. Inglaterra, 40 gramos de glucosa y 5 gramos de bacto-peptona de Becton Dickinson EE. UU. a pH 3.5 preparado según las instrucciones del fabricante) en los tubos de tapón de rosca al menos 48 horas a 25 °C.

20

[0044] Para la determinación del MIC, el medio líquido fue preparado como se ha descrito anteriormente con cantidades en aumento de inhibidor. 200 μ l de cada medio que incluye inhibidor se transfirieron a un panel de una placa de microtitulación estéril de 96 pocillos. Placas de pocillos completadas se almacenaron a 4 °C hasta su uso posterior. Para la inoculación del líquido de los medios líquidos que contienen inhibidor 5 μ l de un cultivo crecido durante 72 a 84 horas se utilizan. La densidad óptica (OD) para cada composición fue medida 96 horas después de la inoculación. El MIC de los valores obtenidos se muestran en la tabla 1.

25

Tabla 1

Levadura	EGCG MIC (ppm)	ϵ -polilisina MIC (ppm)	LAE MIC (ppm)
<i>C. Albicans</i>	9000	>40*	>70*
<i>S. cerevisiae</i>	5000	30-80	30-80
<i>Z. bailii</i>	2000	>40*	>70*
* cantidad máxima ensayada			

30

B) Pruebas de combinación.

[0045] La inhibición de levadura fue evaluada para combinaciones de EGCG y polilisina o LAE.

35

[0046] Los cultivos de levadura se cultivaron en el modelo de bebida que contenía por litro de agua desmineralizada: 40 g de sacarosa, 0.35 g de aroma de manzana (Givaudan) 8.3 g de concentrado de jugo de manzana (Gargill) y 1 g de ácido cítrico. El pH fue aproximadamente 3.5. Los cultivos se crecieron en los tubos de tapón de rosca por lo menos durante 48 horas a 25 °C.

40

[0047] Las pruebas que combinan dos componentes se llevaron a cabo en placas de microtitulación de 96 pocillos estériles. El modelo de bebida fue preparado como se ha descrito anteriormente con cantidades en aumento de dos inhibidores diferentes. Las concentraciones de cada inhibidor fueron presentadas en 8 pasos de concentración iguales que variaban en el rango de 0 a 1 - 2 veces el valor estimado MIC de levadura particular para un inhibidor particular. 200 μ l de cada medio fueron transferidos a un panel de una placa de microtitulación de 96 pocillos estériles. Placas de pocillos completadas se almacenaron a 4 °C hasta su uso posterior. Para la inoculación de esta prueba 5 μ l de 72 a 84 horas fue usado un crecimiento de cultivo. El OD para cada composición fue medido 96 horas después de la inoculación. Los resultados se muestran en la tabla 2.

45

50

55

Tabla 2

	Levadura	EGCG (% en peso)	ϵ -polilisina (% en peso)	LAE (% en peso)	Máximo OD
5	<i>C. Albicans</i>	-	-	-	0.47*
	<i>C. Albicans</i>	0.07	-	-	0.40*
10	<i>C. Albicans</i>	-	-	0.002	0.30
	<i>C. Albicans</i>	-	0.0005	-	0.32
	<i>C. Albicans</i>	0.07	-	0.002	<0.05
15	<i>C. Albicans</i>	0.07	0.0005	-	<0.05
	<i>Z. bailii</i>	-	-	-	0.38*
	<i>Z. bailii</i>	0.07	-	-	0.28*
20	<i>Z. bailii</i>	-	-	0.002	0.38
	<i>Z. bailii</i>	-	0.0005	-	0.40
	<i>Z. bailii</i>	0.07	0.0005	-	<0.05
25	<i>Z. bailii</i>	0.07	-	0.002	<0.05
	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	0.32*
	<i>S. cerevisiae</i>	0.07	-	-	0.28*
30	<i>S. cerevisiae</i>	-	-	0.001	0.19
	<i>S. cerevisiae</i>	0.07	-	0.001	<0.05
35	* promedio de dos experimentos				

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para controlar o prevenir el crecimiento de levaduras en un alimento con un pH entre 2 y 6 que incluye la adición a dicho alimento de una combinación de a) galato de epigallocatequina (EGCG) y b) un derivado de un aminoácido básico seleccionado del grupo que consiste en un polímero de un aminoácido básico y un éster de un aminoácido básico amida alfa, y/o una sal de esta, como un agente de antilevadura.
- 10 2. Método según la reivindicación 1 donde el galato de epigallocatequina se añade al alimento como un extracto de té verde.
3. Método según la reivindicación 1 o 2 donde el polímero de un aminoácido básico es polilisina.
- 15 4. Método según la reivindicación 3 donde la polilisina es ϵ -polilisina.
5. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el éster de un aminoácido básico alfa amida es arginato láurico.
- 20 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde galato de epigallocatequina se añade al alimento en una concentración entre 0.0001 % en peso y 2 % en peso, preferiblemente entre 0.001 % en peso y 1 % en peso, más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.5 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.01 peso. % y 0.1 % en peso.
- 25 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el derivado de un aminoácido básico se añade al alimento en una concentración entre 0.00001 % en peso y 1 % en peso, preferiblemente entre 0.0001 % en peso y 0.1 % en peso, más preferiblemente entre 0.0005 % en peso y 0.01 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.001 % en peso y 0.005 % en peso.
- 30 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el alimento tiene un pH entre 3 y 5, preferiblemente entre 3 y 3.5 y más preferiblemente aproximadamente 3.2.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde el alimento es una bebida.
- 35 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes donde la levadura es *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* y/o *Zygosaccharomyces bailii*.
- 40 11. Composición para añadir a un alimento que incluye a) galato de epigallocatequina y b) tanto arginato láurico como polilisina.
12. Composición según la reivindicación 11 donde la proporción en peso entre a) y b) está entre 0.01a:1b y 5000a:1b, particularmente entre 5a:1b y 2000a:1b, preferiblemente entre 10a:1b y 1000a:1b, más preferiblemente entre 50a:1b y 500a:1b e incluso más preferiblemente 100a:1b.
- 45 13. Alimento con un pH entre 2 y 6 que incluye a) galato de epigallocatequina y b) tanto arginato láurico como polilisina.
- 50 14. Alimento según la reivindicación 13 que incluye a) en una concentración entre 0.0001 % en peso y 2 % en peso, preferiblemente entre 0.001 % en peso y 1 % en peso, más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.5 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.01 % en peso y 0.1 % en peso y b) en una concentración entre 0.00001 % en peso y 1 % en peso, preferiblemente entre 0.0001 % en peso y 0.1 % en peso, más preferiblemente entre 0.0005 % en peso y 0.01 % en peso e incluso más preferiblemente entre 0.001 % en peso y 0.005 % en peso.