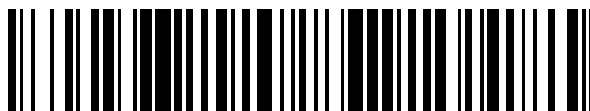


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 488 098**

51 Int. Cl.:

A23J 1/20 (2006.01)

A23J 3/34 (2006.01)

A23L 1/035 (2006.01)

B01F 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2008 E 08170653 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.06.2014 EP 2196097**

54 Título: **Complejos de proteína-polisacárido hidrolizados**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.08.2014

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**SCHMITT, CHRISTOPHE JOSEPH ETIENNE;
LANEUVILLE BALLESTER, SANDRA;
TURGEON, SYLVIE y
GAUTHIER, SYLVIE**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 488 098 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

Complejos de proteína-polisacárido hidrolizados

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a complejos de proteína-polisacárido hidrolizados, y más específicamente a los obtenidos por formación de complejos entre una proteína y un polisacárido seguido de hidrólisis. Los complejos resultantes tienen buenas propiedades emulsionantes y estabilizantes y pueden utilizarse en productos alimenticios, cosméticos o farmacéuticos. La invención también se refiere al método de fabricación de dichos complejos.

Antecedentes de la invención

Los complejos de proteína-polisacárido son muy conocidos en la técnica por su capacidad para estabilizar emulsiones y espumas. Por ejemplo, el documento US 3.944.680 describe el uso de estos complejos como una alternativa favorita a la proteína globular sola en la conservación de emulsiones batibles estables.

El documento US 6.197.319 se refiere al uso de estos complejos en composiciones cosméticas como un medio para impedir productos inestables que pueden obtenerse cuando las proteínas o los polisacáridos se utilizan individualmente.

En el documento EP 340 035 se describe el uso de una dispersión compleja de polisacárido iónico/proteína microfragmentada como sustituto de grasa en productos alimenticios tales como helado, aderezos para ensaladas, salsas para mojar, productos para untar y salsas.

En el documento WO 2004/078334 se describe un emulgente que tiene alta capacidad emulsionante. El emulgente se produce por la formación de complejos entre un polisacárido ácido y una proteína o proteína hidrolizada con calor a un pH de 2 a 5.

Además, Pilosof, A. M. R. *et al.* en Food Hydrocolloids, 19, 2005, 361-369 analizan los efectos de proteínas de girasol hidrolizadas sobre la interacción con polisacáridos en espumas. Se observa que la hidrólisis limitada de la proteína potencia sus propiedades espumantes y también afecta a las interacciones proteína-polisacárido.

El documento WO2004/028281 desvela el uso de un complejo proteína-polisacárido unido electroestáticamente como un tensioactivo y un estabilizante en cualquier tipo de emulsiones o espumas.

Objeto de la invención

Es por lo tanto un objeto de la invención mejorar adicionalmente las propiedades emulsionantes y estabilizantes de los complejos proteína-polisacárido.

Sumario de la invención

Este objeto se soluciona mediante las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan adicionalmente la idea principal de la invención.

Por tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere a un complejo proteína-polisacárido hidrolizado obtenido y/u obtenible por hidrólisis de un complejo proteína-polisacárido por una enzima, en el que el complejo proteína-polisacárido es un complejo unido electroestáticamente y en el que la proteína se selecciona de una o más de proteínas lácteas, de soja, de huevo, de carne, de pescado o de vegetales, preferentemente de una proteína láctea tal como proteína de suero o caseína, más preferentemente de una proteína láctea bovina, incluso más preferentemente de una proteína de suero bovino.

El uso de un complejo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 como un emulgente y/o estabilizante en productos alimenticios, preferentemente seleccionados de postres, postres congelados, productos lácteos, piensos, productos culinarios, productos de nutrición clínica; productos cosméticos preferentemente seleccionados de cremas, espumas, mousses, geles, champús, emulsiones, o productos farmacéuticos preferentemente seleccionados de comprimidos, cápsulas, jarabes también forma parte de la invención.

Finalmente, la invención también se refiere a un método para la fabricación de un complejo proteína-polisacárido hidrolizado que comprende las etapas de:

- a. Mezclar una solución de proteína con un polisacárido tal como para inducir la formación de un complejo
- b. Hidrolizar el complejo formado con una enzima preferentemente a un grado de hidrólisis de la proteína en el complejo proteína-polisacárido hidrolizado del 1 al 50 %, más preferentemente del 2 al 25 %, incluso más preferentemente del 3,5 al 20 %,

para obtener dicho complejo proteína-polisacárido hidrolizado.

Figuras

5 La invención se ilustra adicionalmente mediante las figuras adjuntas, en las que

- 10 - La Figura 1 muestra perfiles de RP-HPLC obtenidos en columnas C18 de complejos hidrolizados de APS (BiPRO)/goma arábiga o hidrolizado de APS a un pH de 4,2 por: A) concentrado de proteasa fúngico Enzeco; B) Proteasa Ácida II; C) concentrado de Bromelaína Enzeco. En todas las muestras, las enzimas se inactivaron con calor antes del análisis RP-HPLC y de la descomplejación.
- 15 - La Figura 2 ilustra la altura de la capa de crema (%) medida a lo largo del tiempo para emulsiones preparadas con (◇) 0,1 % en peso; (△) 0,5 % en peso o (□) 1,0 % en peso de APS o complejos de APS/goma arábiga sin enzima (a, b); o hidrolizados con Proteasa Fúngica de Enzeco (c, d); Bromelaína de Enzeco (e, f) y Proteasa Ácida II (g, h).
- 20 - La Figura 3 es una tabla que resume los valores del grado de hidrólisis (GH) obtenidos de la hidrólisis del APS y del complejo APS/goma arábiga (durante 2 horas) a un pH de 4,2 medido por el método OPA.

20 Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a complejos proteína-polisacárido hidrolizados. En el contexto de la presente invención, la expresión “complejo proteína-polisacárido hidrolizado” describe un complejo entre una proteína y un polisacárido que, después de la formación del complejo entre la proteína intacta y el polisacárido se ha sometido a hidrólisis.

25 El término “complejo” significa cualquier forma de asociación entre la proteína y el polisacárido. Dicha asociación puede implicar interacciones hidrófobas, interacciones de van der Waal, interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones covalentes o interacciones dipolo-dipolo inducidas.

30 Los complejos de la invención son complejos unidos electrostáticamente. Por tanto, la proteína tiene una carga neta global opuesta a la carga neta global del polisacárido. Sin embargo, en esta solicitud también se incluyen complejos electrostáticos formados mediante parches con cargas de proteína, es decir en condiciones en las que la proteína y el polisacárido tienen carga neta similar.

35 En el contexto de la presente invención, el término “hidrólisis” se refiere a la hidrólisis de la proteína, una vez unida al polisacárido.

40 La hidrólisis se realiza preferentemente utilizando una enzima. La enzima se selecciona de tal manera que pueda actuar en la proteína en el complejo proteína-polisacárido. Dicha enzima puede seleccionarse de endoproteasas tales como pepsina, tripsina, quimotripsina, α -quimotripsina, bromelaína, papaína, ficina, endoproteasas de páncreas porcino, de páncreas bovino, de mucosa de estómago porcino, de mucosa gástrica porcina, de paredes de estómago porcino, de *Bacillus subtilis*, *Bacillus spp.*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus niveus*, *Carica papaya*, *Ananas comosus*, de la familia *Bromeliceae*, de especies de *Ficus*, exoproteasas de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus spp.*, *Carica papaya*. Preferentemente, la enzima es una endoproteasa.

45 Las enzimas que pueden utilizarse en la presente invención se encuentran disponibles en el comercio de Novozymes, por ejemplo, con el nombre de Alcalase®, Neutrase®, Protamex®, Flavourzyme®.

50 Se ha observado que el grado de hidrólisis de la proteína en el complejo proteína-polisacárido con una enzima es menor que el grado de hidrólisis con la misma enzima cuando la proteína está libre (véase la Figura 3). Este resultado se espera como el acceso al sitio de escisión en la proteína algo oculto por la presencia del polisacárido. Sin embargo, el grado de hidrólisis más bajo obtenido en el complejo proteína-polisacárido no tiene efectos sobre el comportamiento de los complejos como agentes estabilizantes. De hecho, se ha descubierto que un grado de hidrólisis del 1 al 50 %, preferentemente del 2 al 25 %, más preferentemente del 3,5 al 20 % es adecuado para obtener los efectos ventajosos de la invención.

60 La proteína del complejo proteína-polisacárido antes de la hidrólisis se selecciona de una o más de proteínas lácteas, de soja, de huevo, de carne, de pescado o de vegetales. Preferentemente, es una proteína láctea tal como proteína de suero o caseína, más preferentemente una proteína láctea bovina. Incluso más preferentemente es una proteína de suero bovino.

65 El polisacárido utilizado en la presente invención puede ser cualquier polisacárido capaz de asociación intermolecular con una proteína. Por tanto, es preferentemente un polisacárido aniónico o catiónico. El polisacárido de la invención puede seleccionarse de gomas, hidrocoloides, exopolisacáridos microbianos o fúngicos. Preferentemente se selecciona de uno o más de goma arábiga, pectinas, carragenanos, gelatina de mamífero tal

como gelatina de cerdo, gelatina de pescado, arabinogalactanos, arabinosilanos de centeno, arabinosilanos de trigo, alginato, alginato de propilenglicol, carboximetilcelulosa, quitosano, goma xantana, agar, exopolisacáridos de bacterias lácticas. Más preferentemente el polisacárido se selecciona de goma arábica y/o quitosano.

5 En los complejos de la invención, el grado de hidrólisis de la proteína puede variar entre el 1 al 50 %. Preferentemente, es del 2 al 25 %, más preferentemente es del 3,5 al 20 %.

10 El perfil peptídico resultante de la hidrólisis de la proteína dentro del complejo puede determinarse después de la descomplejación de la fracción de la proteína del polisacárido. Por "descomplejación" se entiende la disociación del complejo proteína-polisacárido. La descomplejación puede realizarse por cambio de pH y precipitación del polisacárido en acetonitrilo, por ejemplo.

15 Después de la descomplejación, los perfiles proteicos pueden analizarse, por ejemplo por RP-HPLC C18. Este es un método conocido en la técnica para la caracterización de perfiles peptídicos. Se ha descubierto que los perfiles proteicos eran diferentes a los de la proteína hidrolizada con la misma enzima pero en ausencia de formación de complejo con un polisacárido. Esto se ilustra en la Figura 1 (A, B y C) que muestra que la hidrólisis de la proteína con tres enzimas diferentes no se produce en los mismos sitios en las proteínas asociadas con un polisacárido en forma de un complejo en comparación con las proteínas que previamente no se han asociado con un polisacárido.

20 Por lo tanto, puede observarse que los complejos obtenidos por hidrólisis de un complejo proteína-polisacárido en comparación con los complejos formados por asociación de proteína hidrolizada con un polisacárido difieren en cuanto a estructura.

25 Además, se ha observado que los complejos de la invención proporcionan estabilidad emulsionante aumentada a lo largo del tiempo en comparación con complejos no hidrolizados, con la proteína sola no hidrolizada, o con la proteína hidrolizada. Esto se ilustra en la Figura 2 que muestra la mejor estabilidad durante la formación de crema a lo largo del tiempo para complejos que se han hidrolizado con proteasas fúngicas, bromelaína o proteasas ácidas. Los complejos proteína-polisacárido hidrolizados obtenidos por hidrólisis del complejo con proteasa ácida mostraron resultados particularmente buenos en cuanto a la estabilidad durante la formación de crema. En los ejemplos mostrados en la Figura 2 la proteasa fúngica y la bromelaína se obtuvieron en el comercio de Enzyme Development Corporation. Estas comprenden endoproteasas de *Aspergillus oryzae* y endoproteasas de *Bromeliceae* respectivamente. La proteasa ácida II se encontraba disponible en el comercio de Amano y comprendía endoproteasas de *Rhizopus niveus*.

35 Los complejos de la invención pueden por tanto utilizarse como emulgentes y/o estabilizantes en productos alimenticios cosméticos o farmacéuticos.

40 Los productos alimenticios que comprenden los complejos de la invención se seleccionan preferentemente de postres, postres congelados, productos lácteos, piensos, productos culinarios, productos de nutrición clínica, etc. En particular, pueden incluir salsas, sopas, mayonesas, aderezos para ensaladas, cremas, helados, chocolate, mousses, leche, etc.

45 Los complejos de la invención pueden utilizarse en productos cosméticos tales como cremas, espumas, mousses, geles, champús, emulsiones, etc.

Los productos farmacéuticos a los que pueden añadirse los complejos de la invención incluyen comprimidos cápsulas, jarabes, etc.

50 Cuando se utilizan como un emulgente y/o estabilizante, los complejos están preferentemente presentes en el producto en una cantidad del 0,01 al 10 % en peso, preferentemente del 0,1 al 5 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 0,5 % en peso de dicho producto. De hecho se ha descubierto que las propiedades emulsionantes y estabilizantes son óptimas a bajas concentraciones. Por tanto, los productos de la invención proporcionan la ventaja de que son emulgentes y/o estabilizantes altamente eficaces.

55 La invención también se refiere a un método de fabricación de estos complejos de proteína-polisacárido hidrolizados.

La primera etapa en el método incluye la mezcla de una solución de proteína y polisacárido tal como para inducir la formación de un complejo.

60 Preferentemente, la proteína utilizada en el método de la presente invención no se ha sometido a ninguna etapa de hidrólisis antes de mezclarse con el polisacárido.

65 La proteína puede seleccionarse de una o más de proteína láctea, de soja, de huevo, de carne, de pescado o vegetal. Preferentemente, es una proteína láctea tal como proteína de suero o caseína, más preferentemente una proteína láctea de bovino. Incluso más preferentemente, es una proteína de suero bovino.

El polisacárido utilizado en la presente invención puede ser cualquier polisacárido capaz de asociación intermolecular con una proteína. Por tanto, esto es preferentemente un polisacárido aniónico o catiónico. El polisacárido de la invención puede seleccionarse de gomas, hidrocoloides, exopolisacáridos microbianos o fúngicos. Preferentemente se selecciona de uno o más de goma arábica, pectinas, carragenanos, gelatina de mamíferos tal como gelatina de cerdo, gelatina de pescado, arabinogalactanos, arabinosilanos de centeno, arabinosilanos de trigo, alginato, alginato de propilenglicol, carboximetilcelulosa, quitosano, goma xantana, agar, exopolisacáridos de bacterias lácticas. Más preferentemente el polisacárido se selecciona de goma arábica y/o quitosano.

Las condiciones para inducir la formación de un complejo, en particular para inducir la formación de un complejo unido electrostáticamente varían dependiendo de la fuente de proteína y del polisacárido que se utilice.

La proteína y el polisacárido pueden mezclarse en una proporción en peso de proteína: polisacárido de 20:1 a 1:20. Preferentemente, la proteína y el polisacárido se mezclan en una proporción en peso de proteína: polisacárido de 5:1 a 1:5, más preferentemente de 2:1 a 1:2. Más preferentemente, la proteína y el polisacárido se mezclan en una proporción en peso de proteína: polisacárido de 2:1.

La cantidad de polisacárido en la solución es preferentemente del 0,1 al 10 %, más preferentemente del 0,4 al 5 %.

En la presente invención, se ha descubierto que el pH de la solución puede ajustarse tal como para inducir asociación electrostática de la proteína con el polisacárido. El pH de una solución que contiene la proteína y el polisacárido puede variar de 3,0 a 8,0, preferentemente de 3,0 a 7,0. En una realización preferida, el pH puede variar de 3,0 a 5,0. En otra realización, el pH puede variar de 6,0 a 7,0.

Por ejemplo, cuando las proteínas del suero se mezclan con un polisacárido aniónico tal como goma arábica, se prefiere que el pH sea entre 3,0 y 5,0, más preferentemente aproximadamente 4,2. Cuando las proteínas del suero se mezclan con un polisacárido catiónico tal como quitosano, se prefiere que el pH sea entre 6,0 y 7,0, más preferentemente aproximadamente 6,5.

El ajuste del pH puede realizarse utilizando ácidos convencionales tales como ácido clorhídrico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido acético, ácido fórmico o bases tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio.

La solución se mezcla durante la cantidad de tiempo necesaria para inducir la formación del complejo entre la proteína y el polisacárido. El tiempo puede variar de 1 segundo a 30 minutos. La formación del complejo puede ser instantánea. La formación del complejo puede ponerse de manifiesto por métodos conocidos por un experto tales como mediciones de turbidez, mediciones de dispersión de luz o mediciones de conductividad.

Después los complejos proteína-polisacárido intactos se hidrolizan, por ejemplo, con una enzima.

La enzima se selecciona de tal manera que pueda actuar sobre la proteína en el complejo proteína-polisacárido. Dicha enzima puede seleccionarse de endoproteasas tales como pepsina, tripsina, quimotripsina, α -quimotripsina, bromelaína, papaína, ficina, endoproteasas de páncreas porcino, páncreas bovino, mucosa de estómago porcino, mucosa gástrica porcina, paredes de estómago porcino, *Bacillus subtilis*, *Bacillus spp.*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus niveus*, *Carica papaya*, *Ananas comosus*, familia *Bromeliceae*, especies de *Ficus*, exoproteasas de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus spp.*, *Carica papaya*. Preferentemente, la enzima es una endoproteasa.

Las enzimas que pueden utilizarse en la presente invención se encuentran disponibles en el comercio de Novozymes por ejemplo con el nombre comercial de Alcalase®, Neutrase®, Protamex®, Flavourzyme®. La proporción de proteína con respecto a enzima en la solución es de 1:5 a 1:1000, preferentemente de 1:10 a 1:100, más preferentemente de 1:50.

La hidrólisis puede realizarse a una temperatura que varía de 30 a 70 °C. La temperatura óptima depende de la elección de la enzima. Preferentemente, la temperatura a la cual se realiza la hidrólisis es entre 40 y 50 °C.

La hidrólisis puede realizarse durante 10 minutos a 3 horas, preferentemente durante aproximadamente 2 horas.

El complejo proteína-polisacárido se hidroliza preferentemente a un grado de hidrólisis del 1 al 50 %, más preferentemente del 2 al 25 %, incluso más preferentemente del 3,5 al 20 %. El grado de hidrólisis se determina por el método OPA (o-ftaldialdehído.) conocido por un experto en la materia para realizar la hidrólisis de proteínas.

El complejo proteína-polisacárido hidrolizado resultante tiene la ventaja de ser altamente eficaz como un emulgente y/o estabilizante en las composiciones en las que se añade. Además, comprende ingredientes solo naturales de tal manera que es más atractivo que los emulgentes tradicionales que consisten en productos químicamente modificados o sintéticos. Además, los complejos de la invención son versátiles en cuanto a los productos que pueden incluirse en los mismos. Por ejemplo, adecuando la elección de la proteína y del polisacárido, estos actúan como emulgentes y/o estabilizantes sobre un amplio intervalo de pH. Por ejemplo, pueden utilizarse en productos

ácidos que tengan un pH de aproximadamente 4,5 tal como la mayonesa así como en productos que tengan un pH mayor de 6,5 tal como la leche.

5 Después de la hidrólisis, puede ser ventajoso inactivar la enzima. La inactivación de la enzima puede realizarse por tratamiento térmico, tratamiento con presión o adición de un inhibidor específico de la enzima. Preferentemente, se realiza por tratamiento térmico de la solución que comprende el complejo proteína-polisacárido hidrolizado y las enzimas. El tratamiento térmico se realiza preferentemente a una temperatura de 80 a 100 °C durante 5 a 30 minutos.

10 Adicionalmente, la solución después de la hidrólisis, y opcionalmente después de la inactivación enzimática, puede someterse a ultrafiltración. Esto tiene la ventaja de separar los complejos de la invención de los péptidos libres generados por la etapa de hidrólisis.

15 En una realización preferida, la solución se deshidrata después mediante cualquier método conocido en la materia tal como secado por pulverización, secado por congelación o secado al vacío.

Los complejos de la invención pueden por tanto estar en forma de una solución, un gel, o un polvo deshidratado.

20 En una realización adicional, los complejos proteína-polisacáridos hidrolizados pueden deshidratarse en presencia de ingredientes adicionales. Como alternativa, el complejo proteína-polisacárido hidrolizado deshidratado puede mezclarse con otros ingredientes deshidratados.

25 Los productos resultantes pueden por ejemplo ser una leche en polvo o una sopa deshidratada que comprende los complejos en la invención.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

30 Ejemplo 1 - preparación de un complejo de goma arábiga-proteína de suero hidrolizado

Se mezcló aislado de proteína de suero (APS - BiPro de Davisco Foods International) con goma arábiga (goma Instant de Colloides Naturels International) a una proporción en peso de proteína con respecto a polisacárido de 2:1, a una concentración de APS total del 2 % en peso (base de proteína) y el pH se ajustó a 4,2. Después a la solución se añadió concentrado enzimático de Bromelaína de Enzeco® a una proporción de proteína con respecto a enzima de 1:50. Después de 2 horas, el grado de hidrólisis fue del 3,7 % y el complejo hidrolizado se trató con calor (90 °C, 15 minutos) para inactivar la enzima y se ultrafiltró para retirar los péptidos no unidos generados por la proteasa. El complejo proteína-polisacárido hidrolizado resultante se deshidrató por congelación para dar un polvo.

40 Ejemplo 2 - preparación de un complejo de quitosano-proteína de suero hidrolizado

En este ejemplo, el quitosano y las proteínas de suero se utilizaron como el polisacárido y la proteína respectivamente.

45 El quitosano 252 (grado de desacetilación > 90 %, Mahtani Chitosan PVT Ltd) se obtuvo en France Chitine. El aislado de proteína de suero se obtuvo en Davisco Foods International con el nombre comercial de BiPro®.

50 Una dispersión acuosa de quitosano a 50 °C se ajustó a un pH de 5,9 antes de mezclar con la proteína. Después, la proteína (en una solución acuosa) se añadió a la dispersión de quitosano y el pH se ajustó a 6,5 con ácido acético.

La concentración de la proteína de suero en la mezcla fue del 0,9 % en peso. La concentración de quitosano en la mezcla fue del 0,45 % en peso. Después de 20 minutos de mezclado, se añadió una proteasa fúngica de *Bacillus subtilis* (Corolase 7089) a una concentración del 0,018 % en peso. La mezcla se mantuvo a 50 °C con agitación durante 2 horas para obtener un grado de hidrólisis del 12 %.

55 Después, la mezcla se ultrafiltró a 50 °C utilizando un Módulo PZHK TFF 1 de Prep/Scale Spiral Wound con un MWCO (*Molecular Weight Cut-Off*, límite de peso molecular) de 100 kDa (0,09 m²). La presión de entrada se estableció a 0,07 MPa (0,75 bares) (velocidad 6 de la bomba).

60 Primero la mezcla se concentró 2X, después la diafiltración comenzó añadiendo 1 diavolumen (800 ml) de agua desionizada.

65 Para desnaturalizar la enzima en el filtrado se aplicó un tratamiento térmico de 90 °C durante 15 minutos. Después, el filtrado se deshidrató por congelación para dar un producto de acuerdo con la invención.

Ejemplo 3

La capacidad emulsionante del complejo goma arábica-proteína de suero hidrolizado obtenido en el ejemplo 1 se ensayó a tres concentraciones diferentes (0,1, 0,5 y 1 % en peso).

5 Las emulsiones se prepararon utilizando aceite de girasol (marca Merit Selection). A 90 g de agua desionizada se añadieron 10 g de aceite. Después se añadieron 0,1, 0,5 y 1 % en peso del complejo hidrolizado obtenido en el ejemplo 1 y reconstituido en agua destilada. Finalmente, como conservante, se añadió NaN_3 al 0,02 % en peso. La mezcla se prehomogeneizó con un Ultra-Turrax (Janke-Kunkel, GmbH) durante 30 segundos antes de la emulsificación.

La emulsificación se realizó en dos pasos utilizando un homogeneizador Emulsiflex-C5 (Avestin Co., Canadá), concretamente a ~ 400 bares (6000 psi) y a ~ 80 bares (1100 psi) a temperatura ambiente (23 °C).

15 Los resultados se muestran en la Figura 2. Puede observarse que la estabilidad de la formación de la crema, es decir la resistencia de las emulsiones a experimentar separación de fases, de los complejos de la invención (figura 2d, f, h) fue mejor durante más 28 días de conservación en comparación con la proteína de suero no hidrolizada sola (figura 2a), en comparación con complejos no hidrolizados (figura 2b) o en comparación con la proteína de suero hidrolizada sola (figura 2c, e, g).

20 Además, los resultados muestran que una concentración de los complejos hidrolizados de la invención tan solo del 0,1 % en peso es particularmente eficaz para establecer la emulsión.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Complejo proteína-polisacárido hidrolizado obtenible por hidrólisis de un complejo proteína-polisacárido por una enzima, en el que el complejo proteína-polisacárido es un complejo unido electrostáticamente, y en el que la proteína se selecciona de una o más de proteína láctea, de soja, de huevo, de carne, de pescado o de vegetales, preferentemente de una proteína láctea tal como una proteína de suero o caseína, más preferentemente de una proteína láctea bovina, incluso más preferentemente de una proteína de suero bovino, y en el que la enzima es una proteasa.
- 10 2. El complejo de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, en el que el polisacárido se selecciona de uno o más de gomas, hidrocoloides, exopolisacáridos microbianos o fúngicos, seleccionado preferentemente de uno o más de goma arábica, pectinas, carragenanos, gelatina de mamífero, tal como gelatina de cerdo, gelatina de pescado, arabinogalactanos, arabinoxilanos de centeno, arabinoxilanos de trigo, alginato, alginato de propilenglicol, carboximetilcelulosa, quitosano, goma xantana, agar, exopolisacáridos de bacterias lácticas, más preferentemente seleccionado de goma arábica y/o quitosano.
- 15 3. El complejo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el grado de hidrólisis de la proteína en el complejo proteína-polisacárido hidrolizado es del 1 al 50 %, preferentemente del 2 al 25 %, más preferentemente del 3,5 al 20 %.
- 20 4. El uso de un complejo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 como emulgente y/o estabilizante en productos alimenticios, seleccionados preferentemente de postres, postres congelados, productos lácteos, piensos, productos culinarios, productos de nutrición clínica; productos cosméticos seleccionados preferentemente de cremas, espumas, mousses, geles, champús, emulsiones; o productos farmacéuticos seleccionados preferentemente de comprimidos, cápsulas, jarabes.
- 25 5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en una cantidad del 0,01 al 10 % en peso, preferentemente del 0,1 al 5 % en peso, más preferentemente del 0,1 al 0,5 % en peso de dicho producto.
- 30 6. El método para la fabricación de un complejo proteína-polisacárido hidrolizado que comprende las etapas de:
- a. Mezclar una solución de proteína y polisacárido para inducir la formación de un complejo
- b. Hidrolizar el complejo formado con una enzima, preferentemente a un grado de hidrólisis de la proteína en el complejo proteína-polisacárido hidrolizado del 1 al 50 %, más preferentemente del 2 al 25 %, incluso más
- 35 preferentemente del 3,5 al 20 %, para obtener dicho complejo proteína-polisacárido hidrolizado, y en el que la enzima es una proteasa.
- 40 7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la mezcla se realiza a un pH tal como para inducir la formación del complejo electrostático entre la proteína y el polisacárido.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, en el que el pH de la solución es de 3,0 a 8,0, preferentemente de 3,0 a 7,0, más preferentemente de 3,0 a 5,0 o de 6,0 a 7,0.
- 45 9. El método de acuerdo con la reivindicación 6 a 8, en el que la proporción en peso de la proteína con respecto al polisacárido es de 20:1 a 1:20, preferentemente de 5:1 a 1:5, más preferentemente de 2:1 a 1:2, más preferentemente de 2:1.
- 50 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en el que la enzima se selecciona de endoproteasas tales como pepsina, tripsina, quimotripsina, α -quimotripsina, bromelaína, papaína, ficina, endoproteasas de páncreas porcino, de páncreas bovino, de mucosa de estómago porcino, de mucosa gástrica porcina, de paredes de estómago porcino, de *Bacillus subtilis*, *Bacillus spp.*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus niveus*, *Carica papaya*, *Ananas comosus*, familia *Bromeliceae*, de especies de *Ficus*, exoproteasas de *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus spp.*, *Carica papaya*. Preferentemente, la enzima es una endoproteasa.
- 55 11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en el que después de la etapa de hidrólisis la enzima está inactivada, preferentemente por tratamiento térmico, tratamiento con presión o adición de un inhibidor específico de la enzima, más preferentemente por tratamiento térmico realizado a una temperatura de 60-100 °C durante 5 a 30 minutos.
- 60 12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, en el que después de la etapa de hidrólisis se realiza ultrafiltración de la mezcla obtenida.
- 65 13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, en el que después de la etapa de hidrólisis se realiza una etapa de secado.

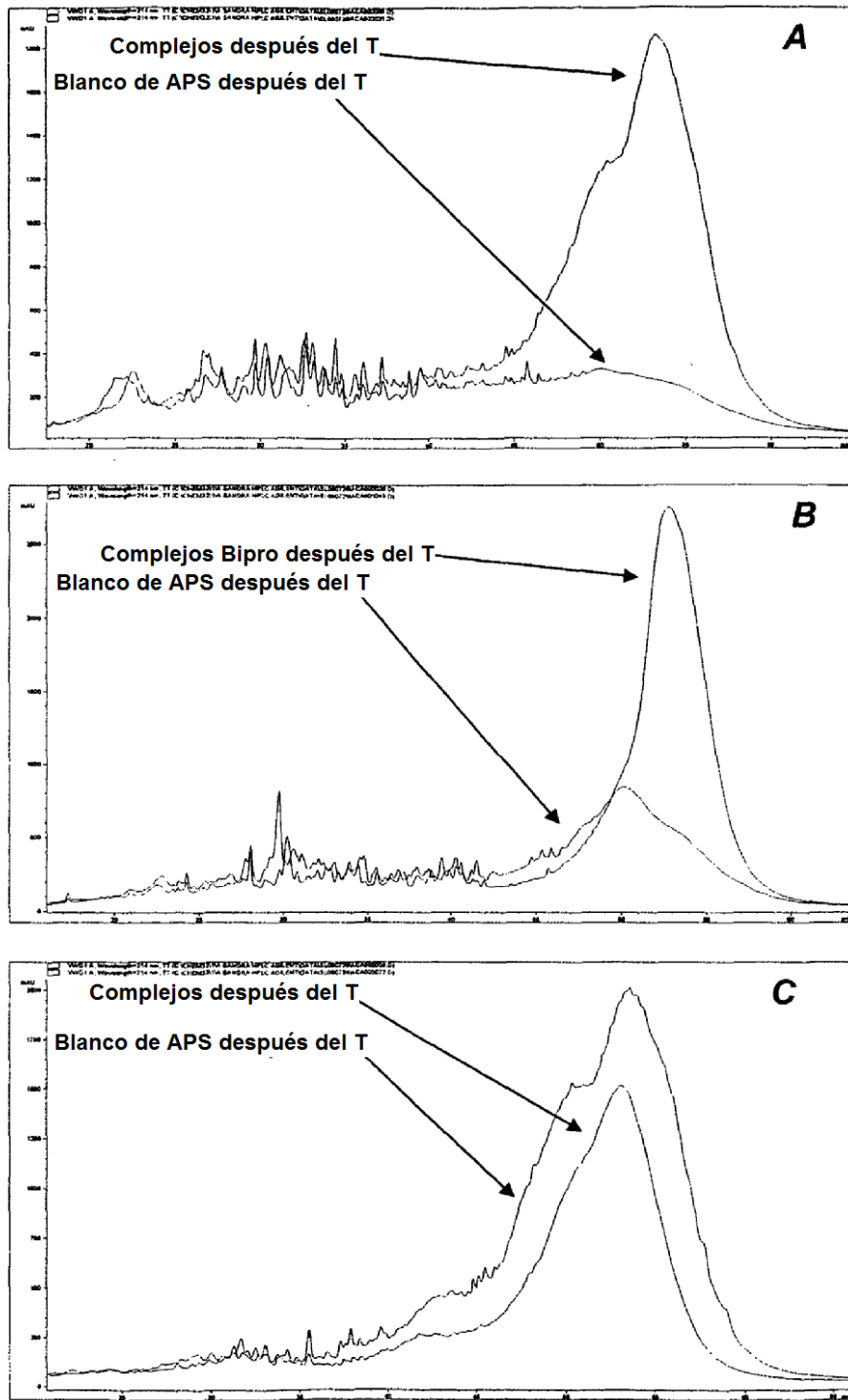


Figura 1

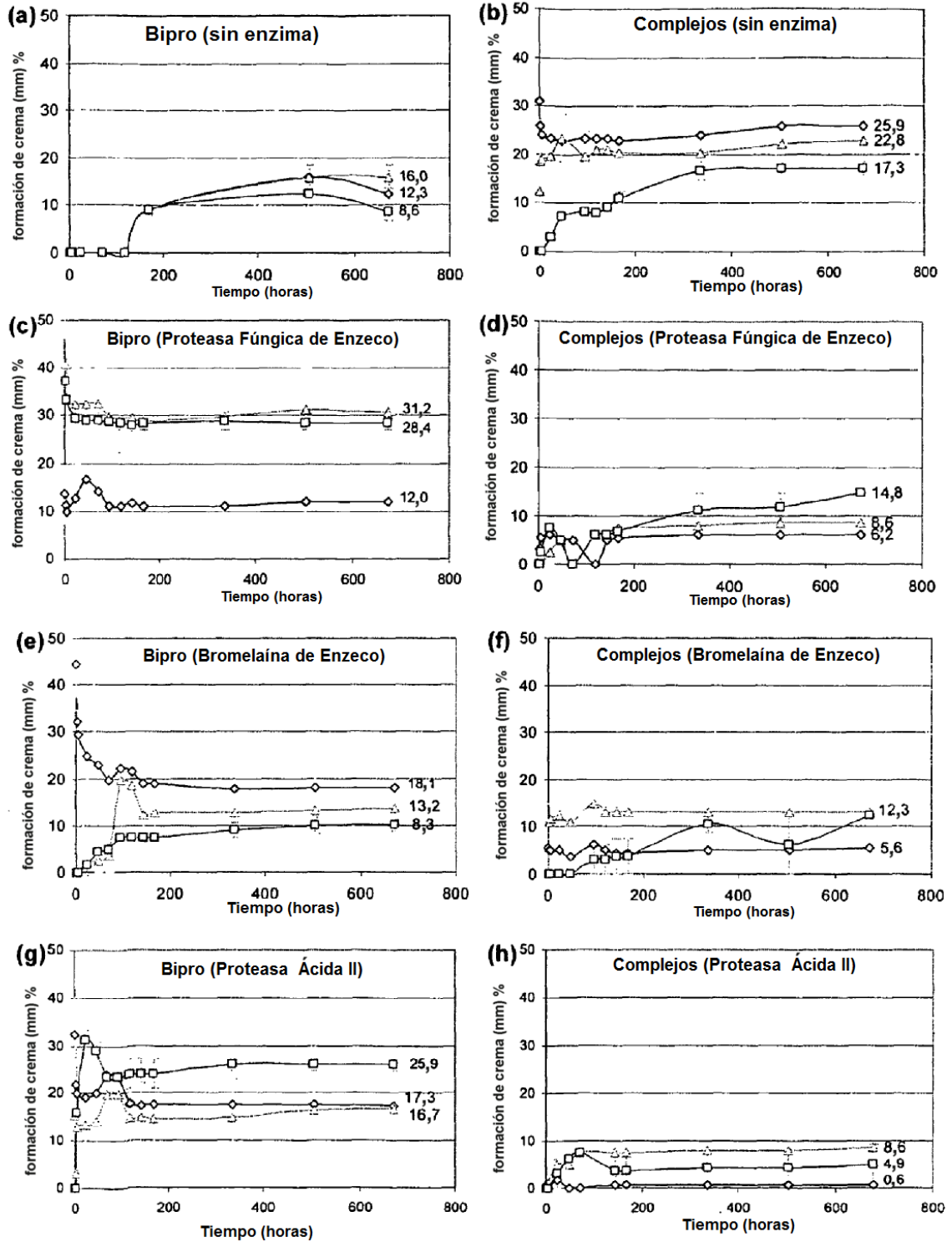


Figura 2

Muestra	Enzima	GH (%) OPA
Complejo proteína-polisacárido	Concentrado ¹ de proteasa fúngica de Enzeco	5,9 ± 0,5
Blanco de proteína	Concentrado ¹ de proteasa fúngica de Enzeco	16,8 ± 1,3
Complejo proteína-polisacárido	Proteasa ácida II ²	5,5 ± 0,2
Blanco de proteína	Proteasa ácida II ²	6,6 ± 0,8
Complejo proteína-polisacárido	Concentrado ¹ de bromelaína de Enzeco	3,7 ± 0,2
Blanco de proteína	Concentrado ¹ de bromelaína de Enzeco	4,6 ± 0,5

1: enzima obtenida en el comercio de Enzyme Development Corporation (EDC)

5

2: enzima obtenida en el comercio de Amano.

Figura 3