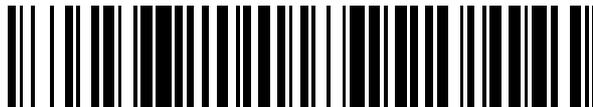


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 390**

51 Int. Cl.:

A23L 1/05 (2006.01)

A23L 1/054 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2009 E 09717568 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014 EP 2262378**

54 Título: **Composiciones de agentes espesantes que contienen alternano y otro agente espesante**

30 Prioridad:

07.03.2008 EP 08102413

11.03.2008 US 68897

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

09.02.2015

73 Titular/es:

BAYER CROPSCIENCE AG (100.0%)

Alfred-Nobel-Strasse 50

40789 Monheim, DE

72 Inventor/es:

PILLING, JENS

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 528 390 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

Composiciones de agentes espesantes que contienen alternano y otro agente espesante

La presente invención se refiere a una composición de agentes espesantes que comprenden alternano y al menos un agente espesante distinto, un producto alimenticios que comprende la composición de agentes espesantes y un procedimiento de incremento de la viscosidad de los productos alimenticios.

Los agentes espesantes usuales para productos alimenticios, que se han conocido durante un largo tiempo, son almidón, derivados de almidón, almidón modificado, pectinas, ácido alginico, alginatos, harina de guar, tragacanto, goma arábiga, gelatina, harina de semilla de algarrobo, galactomanano, xantana, carragenanos, goma de karaya, goma de tara, goma de tamarindo, goma gelán, manano, maltodextrina etc. Hay bibliografía extensa sobre este objeto, véanse por ejemplo Belitz, Grosch, Handbuch der Lebensmittelchemie [Manual de química de los alimentos], 4ª edición, 1992, Springer Verlag, Berlín-Heidelberg-Nueva York; R. L. Whistler, J. N. BeMiller, Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, 1997, Eagan Press, St. Paul, EE.UU.; A. Nussinovitch, Hydrocolloid Applications, 1997, Blackie Academic & Professional, Londres.

Composiciones de agentes espesantes sinérgicos para formulaciones de tintas de impresión y formulaciones cosméticas etc. se describen en el documento US 4.540.510. El documento US 4.540.510 describe una composición que comprende un polímero de un acrilamida-ácido metilpropanosulfónico con un peso molecular por encima de aproximadamente un millón y polímero soluble en agua, que se selecciona de goma de galactomanano, éteres de hidroxialquilo de goma de galactomanano, éteres de hidroxialquilcelulosa, polímeros de óxido de polialquileno y mezclas de los mismos, estando los polímeros presentes en la mezcla en proporciones tales que se logra en líquidos un efecto espesante sinérgico.

La solicitud de patente US20060141127 describe un sistema espesante para bebidas, especialmente para zumos. El sistema espesante está compuesto de dos componentes, un espesante y un auxiliar de espesante, que presenta un efecto sinérgico. El efecto sinérgico hace posible reducir la cantidad de agente espesante usado. El espesante se selecciona de harinas, gomas, almidones de alimentos modificados y mezclas de los mismos y el auxiliar se selecciona de aroma de cítricos, aceite de cítricos, corteza de limón y mezclas de los mismos.

Los documentos WO03008618 y US20060093720 describen alternano como espesante para productos alimenticios.

Lynn A. Kuntz describe en "Special Effects With Gums", publicado en www.foodproductdesign.com el 12-1-1999, el uso de agentes espesantes para productos alimenticios, así como composiciones espesantes sinérgicas que comprenden al menos dos espesantes diferentes. El artículo describe alternano como imitador de la acción voluminizadora de la goma arábiga.

El objetivo de la presente invención fue encontrar una composición de agentes espesantes altamente efectiva, que es adecuada en particular para su uso en productos alimenticios. Este objetivo se logra con la enseñanza técnica de acuerdo con las reivindicaciones de la patente adjuntas.

La presente invención se refiere al uso de alternano en una composición de agentes espesantes.

Alternano es, de acuerdo con la presente invención, un polisacárido que está compuesto de unidades de glucosa. Las unidades de glucosa están unidas conjuntamente por medio de enlaces α -1,3- y α -1,6-glucosídicos y estos dos tipos de enlaces aparecen principalmente alternativamente. El alternano puede contener ramificaciones (Seymour et al., Carbohydrate Research 74, (1979), 41-62). Alternano y procedimientos de producción de alternano se conocen de la técnica anterior y se describen por ejemplo en Jeanes et al. (1954) J. Am. Chem. Soc., 76: 5041-5052, Misaki et al. (1980) Carbohydr. Res., 84: 273-285, Cote y Robyt (1982), Carbohydr. Res., 101: 57-74, Cote (1992), Carbohydrate Polymers 19, 249-252, documentos WO 00/47727, US 5,702,942, US20060127328, PCT/EP2008/051760.

El alternano usado en la presente invención posee preferentemente un peso molecular promedio en peso P_m en el intervalo de aproximadamente 10000000 g/mol a aproximadamente 60000000 g/mol (determinado con GPC MALLS), incluso más preferentemente aproximadamente 12000000 g/mol a aproximadamente 50000000 g/mol.

En una realización el alternano usado se produce con la ayuda de la sacarosa de alternano a partir de Leuconostoc mesenteroides, como se describe en la solicitud de patente WO 00/47727 y preferentemente tiene un peso molecular promedio en peso P_m en el intervalo desde aproximadamente 33.000.000 g/mol hasta aproximadamente 60 000 000 g/mol (determinado con GPC MALLS), incluso más preferentemente aproximadamente 33000000 g/mol hasta aproximadamente 50000000 g/mol.

En otra realización preferida se usa un alternano que tiene un peso molecular promedio en peso P_m en el intervalo desde 12 000 000 hasta 30 000 000 g/mol (determinado con GPC MALLS), más preferentemente 14 000 000 hasta 28 000 000 g/mol, incluso más preferentemente 16 000 000 hasta 26 000 000 g/mol, lo más preferentemente 19 000 000 hasta 23 000 000 g/mol y se produce con la ayuda de una sacarasa de alternano acortada. Las sacarosas de alternano acortadas, el procedimiento de producción para dicho alternano y el alternano se describen en la solicitud internacional PCT/EP2008/051760.

El término agente espesante de acuerdo con esta invención quiere decir una sustancia de molécula grande que absorbe líquidos, preferentemente agua, se hincha y finalmente se convierte en una solución auténtica viscosa o en una solución coloidal.

5 El alternano se puede usar como agente espesante para incrementar la viscosidad de líquidos o para incrementar las propiedades tixotrópicas de los geles.

10 El alternano se usa preferentemente para el espesamiento de preparaciones industriales, cosméticas, farmacéuticas o dietéticas, por ejemplo de pinturas, cremas, agentes limpiadores, acabado textil, tintas, dispersiones de revestimiento, adhesivos, papel, productos alimenticios (dietéticos), intermedios de productos alimenticios y productos iniciales de productos alimenticios. El término productos alimenticios de acuerdo con la presente invención incluye también bebidas.

El uso para espesante de productos alimenticios (dietéticos) es bastante especialmente preferido, ya que el alternano es comestible pero no es calórico.

15 Los productos alimenticios pueden sin limitación seleccionarse a partir de salsas, jugos de la carne, sopas, aliños, salsas para mojar, productos lácteos, tales como yogur, yogur para beber, crema, leche entera, leche desnatada, suero de mantequilla, leche agria, kéfir, suero de leche, mousse, gelatina, pudin, margarinas, mermelada, helado, productos de panadería y masas.

El alternano se puede mezclar con un producto alimenticio (dietético) durante la producción del producto alimenticio o directamente antes del consumo del producto alimenticio. El alternano está preferentemente en forma de un polvo o una pasta, por ejemplo mezclado con agua.

20 Se añade alternano a un producto alimenticio en una cantidad que proporciona el grado deseado de espesamiento. Las cantidades usuales son 0,1-10 % en peso en base al peso total del producto alimenticio, 0,1-5 % en peso, 0,1-4 % en peso, o 0,1-3 % en peso.

25 La invención se refiere a una composición de agentes espesantes que comprende alternano y al menos un agente espesante diferente de acuerdo con la reivindicación 1. Se estableció que dichas composiciones tienen un efecto espesante sinérgico. El término "agente espesante" tiene el significado ya indicado previamente.

30 El otro agente espesante, que conjuntamente con alternano forma la composición de agentes espesantes, es un polisacárido. Los agentes espesantes se seleccionan del grupo que consiste en almidón, derivados de almidón, almidones modificados, fosfatos de almidón, alginatos, carragenanos, celulosa derivatizada y mezclas de dos o más de estas sustancias. Las sustancias indicadas pertenecen a la técnica anterior y se describen en más detalle en la bibliografía técnica y en los diccionarios, tales como Römpp Lexikon Chemie, 10ª edición, 1997, Thieme Verlag, Stuttgart; Belitz, Grosch, Handbuch der Lebensmittelchemie, 4ª edición, 1992, Springer Verlag, Berlín-Heidelberg-Nueva York; R. L. Whistler, J. N. BeMiller, Carbohydrate Chemistry for Food Scientists, 1997, Eagan Press, St. Paul, EE.UU.; A. Nussinovitch, Hydrocolloid Applications, 1997, Blackie Academic & Professional, Londres.

35 Un efecto espesante sinérgico bastante especialmente bueno se logra con una composición de agentes espesantes que comprende alternano y un agente espesante que se selecciona de almidón, almidones modificados, derivados de almidón y fosfatos de almidón. Se pueden usar también mezclas que comprenden alternano y dos o más agentes espesantes seleccionados de almidón, almidones modificados, derivados de almidón y fosfatos de almidón. En una realización especial, las composiciones mencionadas anteriormente consisten solo en alternano y uno o más agentes espesantes seleccionados de almidón, almidones modificados, derivados de almidón y fosfatos de almidón.

40 El almidón polisacárido es un polímero de unidades estructurales básicas químicamente homogéneas, las moléculas de glucosa. El almidón es una mezcla de diferentes formas moleculares, que difieren con respecto a su grado de polimerización, la aparición de ramificaciones de las cadenas de glucosa y sus longitudes de cadena y que puede modificarse además, por ejemplo fosforilarse. Los constituyentes principales de almidón son amilasa y amilopectina. La amilosa es un polímero esencialmente no ramificado de moléculas de glucosa unidas alfa-1,4-glucosídicamente. La amilopectina es una mezcla compleja de cadenas de glucosa ramificadas diferencialmente: las unidades de glucosa están unidas de una manera lineal con enlaces $\alpha(1\rightarrow4)$ y las ramificaciones se producen aquí como un resultado de la aparición de enlaces alfa-1,6-glucosídicos. En plantas típicas usadas para la producción industrial de algodón o como alimentos, tales como, por ejemplo, maíz, arroz, trigo o patatas, el almidón sintetizado consiste en aproximadamente un 20 %-25 % de amilosa y en aproximadamente un 70 %-75 % de amilopectina. Información básica sobre almidón y procedimientos para producción de almidón se pueden encontrar por ejemplo en la siguiente bibliografía. Römpp Dictionary of Chemistry, J. Falbe y M. Regitz (Editores), 10. Ed., Thieme, Stuttgart, Nueva York (1999); Tegge, G., Hrsg., Stärke und Stärkederivate, 3. Ed.; Behr's: Hamburgo, (2004); Galliard, T., Starch: Properties and Potential, Wiley: Nueva York, (1987); Zobelein, H., Hrsg., Dictionary of Renewable Resources, 2. Ed., Wiley-VCH: Weinheim, (1997); Klingler, R. W., Grundlagen der Getreidetechnologie, Behr's: Hamburgo, (1995); p. 128; Loncin, Marcel Grundlagen der Verfahrenstechnik in der Lebensmittelindustrie [Fundamentos de ingeniería de procedimientos en la industria alimentaria]. Fráncfort del Meno: Verlag Sauerländer 1969; Tscheuschner, H.D. Grundzüge der Lebensmitteltechnik [Fundamentos de tecnología de los alimentos]. Hamburgo: Behr's Verlag 2004; Kessler, H.G. Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik [Alimento y tecnología de bioprocesamiento]. Múnich: Verlag A. Kessler 1996;

Martin, A.M. Bioconversion of waste materials to industrial products. Londres, Nueva York: Blackie Academic&Professional 1998.

El almidón se puede obtener por procedimientos conocidos (véase, por ejemplo la bibliografía anteriormente mencionada) a partir de las fuentes usuales, tales como patatas, maranta (arrurruz), mandioca (tapioca), boniato, trigo, 5 choclo (maíz), centeno, arroz, cebada, mijo, avena, sorgo, castañas, bellotas, guisantes, judías, plátanos. El almidón de expansión en frío ha demostrado ser muy ventajoso. Así el algodón que se usa en la composición de la presente invención puede ser almidón de patatas, de maranta (arrurruz), de mandioca (tapioca), de boniato, de trigo, de choclo (maíz), de centeno, de cebada, de mijo, de avena, de sorgo, de castañas, de bellotas, de guisantes, de judías, o de plátanos. En realizaciones especiales el almidón que se usa en la composición de la presente invención puede ser un 10 almidón ceroso. El almidón ceroso de acuerdo con la presente invención es un almidón que contiene menos del 10 %, preferentemente menos del 5 %, más preferentemente menos del 3 %, incluso más preferentemente menos del 2 % y lo más preferentemente menos del 1% de amilosa. Los almidones cerosos de patata, arroz y choclo (maíz) son particularmente adecuados, sin estar limitados a estos.

En conjunto con la presente invención, el término "almidón modificado" debe entenderse que quiere decir un almidón, 15 las características del cual se han cambiado después de aislamiento a partir de células vegetales con la ayuda de procedimientos químicos, enzimáticos, térmicos y/o mecánicos. Los almidones se pueden modificar para, entre otras cosas, incrementar su estabilidad contra calor excesivo, ácido y congelación; para cambiar su textura; o para alargar o acortar el tiempo de gelatinización. En una realización de la presente invención, el almidón modificado es almidón que se ha tratado con calor y/o se ha tratado con ácidos. En una realización adicional, el almidón modificado es un almidón 20 reticulado. En aún otra realización, el almidón modificado es un polímero de injerto de almidón. En aún otras realizaciones, el almidón modificado es un almidón oxidado, un almidón modificado con sustancias alcalinas, un almidón blanqueado, un almidón tratado con enzimas, un almidón acetilado, un almidón oxidado acetilado, o un almidón pregelatinizado. En una realización adicional, el almidón modificado es un éster de almidón, en particular un éster de almidón, en el que los grupos de éster que se han introducido en el almidón lo han hecho usándose ácidos 25 orgánicos. De forma particularmente preferente estos son almidones de fosfato, nitrato, sulfato, xantato, acetato o citrato. Ejemplos particulares de almidones modificados son dextrinas (tales como la N.º: E 1400), almidones tratados con ácidos (tales como el N.º: E 1401), almidones modificados con sustancias alcalinas (tales como el N.º: E 1402), almidones blanqueados (tales como el N.º: E 1403), almidones oxidados (tales como el N.º: E 1404), almidones tratados con enzimas (tales como el N.º: E 1405), fosfatos de monoalmidón (tales como el N.º: E 1410), fosfatos de dialmidón (tales como el N.º: E 1412), fosfatos de dialmidón fosfatados (tales como el N.º: E 1413), fosfatos de dialmidón acetilados (tales como el N.º: E 1414), almidones acetilados (tales como el N.º: E 1420), almidones acetilados (tales como el N.º: E 1421), adipatos de dialmidón acetilados (tales como el N.º: E 1422), gliceroles de dialmidón acetilados (tales como el N.º: E 1423), gliceroles de dialmidón (tales como el N.º: E 1430), hidroxipropilalmidones (tales como el N.º: E 1440), gliceroles de hidroxipropilalmidones (tales como el N.º: E 1441), 30 fosfatos de hidroxipropilalmidones (tales como el N.º: E 1442), succinatos de octenil sodio almidón (almidones emulsionantes, tales como el N.º: E 1450), almidones oxidados acetilados (tales como el N.º: E 1451).

Los procedimientos para fabricar almidones modificados se conocen por la persona experta en la técnica y se describen adecuadamente en la bibliografía general. Una visión general de la elaboración de almidones modificados y 40 derivados se puede encontrar, por ejemplo, en el documento Orthoefer (en Corn, Chemistry and Technology, 1987, eds. Watson und Ramstad, Capítulo 16, 479-499); Modified Starch, Ridgwell Press, 2002

En conjunto con la presente invención, el término "derivado de almidón" debe entenderse que quiere decir almidones cuya proporción amilasa/amilopeptina está alterada, que están parcialmente hidrolizados o que están químicamente modificados. La modificación química puede hacerse por ejemplo haciendo reaccionar con reactivos mono-, bi- o 45 polifuncionales o con agentes oxidantes. Tales reacciones se basan principalmente en la conversión de grupos hidroxilo de los poliglucanos por eterificación (por ejemplo hidroxialquilalmidones), esterificación, oxidación y/o copolimerización de injerto. Los derivados de almidón se definen y describen adicionalmente en la siguiente bibliografía, que se incorpora por referencia: Römpp Dictionary of Chemistry, palabras clave "derivados de almidón", J. Falbe y M. Regitz (Editores), 10. Ed., Thieme, Stuttgart, Nueva York (1999); Houben-Weyl 14/2, 900; Schriftenr. Fonds Chem. Ind. 1986, H. 25, 5. Los términos "derivado de almidón" y "almidón modificado" pueden, en algunos casos, 50 comprender sustancias idénticas. Sin embargo, ambos términos son términos comunes en la bibliografía estándar.

Los fosfatos de almidón y los procedimientos de producción de los mismos se conocen a partir de la técnica anterior (por ejemplo: Römpp Dictionary of Chemistry, J. Falbe y M. Regitz (Editores), 10. Ed., Thieme, Stuttgart, Nueva York (1999); Nakano, T.; Salvador, A. S.; Tamochi, J.; Sugimoto, Y.; Ibrahim, H. R.; Toba, Y.; Aoe, S.; Kawakami, H.; Aoki, T., Nahrung/Food, (2003) 47(4), 274-278; Marques, A. P.; Reis, R. L.; Hunt, J. A., Biomaterials, (2002) 23, 1471-1478; 55 Whistler u. BeMiller (Hrsg.), Industrial Gums (3.), S. 592, San Diego: Academic Press, 1993). Ejemplos particulares de fosfatos de almidón son fosfatos de monoalmidón (tales como N.º: E 1410), fosfatos de dialmidón (tales como N.º: E 1412), fosfatos de almidón fosfatado (tales como N.º: E 1413), fosfato de dialmidón acetilado (tal como N.º E 1414) y fosfato de dialmidón hidroxipropílico (tal como N.º: E 1442).

El fosfato de almidón puede ser un fosfato de almidón en forma de un monoéster en la posición C2, C3 o C6 de los 60 monómeros de glucosa polimerizados (Takeda y Hizukuri, 1971, Starch/Stärke 23, 267-272). La distribución de fosfato del fosfato en almidón sintetizado por plantas se distingue en general porque aproximadamente 30 % al 40 % de los

- radicales fosfato en la posición C3 y aproximadamente 60 % al 70 % de los radicales fosfato en la posición C6 de las moléculas de glucosa están unidos covalentemente (Blennow et al., 2000, Int. J. of Biological Macromolecules 27, 211-218). Blennow et al. (2000, Carbohydrate Polymers 41, 163-174) determinaron un contenido de fosfato de almidón que está unido en la posición C6 de las moléculas de glucosa para diversos almidones, tales como, por ejemplo,
- 5 almidón de patata (entre 7,8 y 33,5 nmol por mg de almidón, dependiendo de la variedad de cultivo), almidón de diversas especies de Curcuma (entre 1,8 y 63 nmol por mg, dependiendo de la variedad de cultivo), almidón de tapioca (2,5 nmol por mg de almidón), almidón de arroz (1,0 nmol por mg de almidón), almidón de frijol mungo (3,5 nmol por mg de almidón) y almidón de sorgo (0,9 nmol por mg de almidón).
- El almidón que se usa en la composición de la presente invención puede en otra realización ser un almidón resistente, particularmente uno de los tipos de almidón resistente 1 a 4.
- 10 Un efecto espesante sinérgico bastante especialmente bueno se logra también con una composición de agentes espesantes que comprenden alternano y celulosa derivatizada. Ejemplos de celulosa derivatizada son, sin limitación, éteres de celulosa, acetato de celulosa, propionato de celulosa, butirato de celulosa, nitrato de celulosa, xantogenato de celulosa, carbamato de celulosa y éteres de celulosa.
- 15 En una realización los derivados de celulosa son éteres de celulosa, especialmente éteres de alquilo y éteres de aralquilo, que pueden, sin limitación, seleccionarse de carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de sodio reticulada, carboximetilcelulosa hidrolizada (enzimáticamente), carboximetilhidroxietilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, etilmetilcelulosa, propilcelulosa, bencilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, metilhidroxipropilcelulosa,
- 20 metilhidroxibutilcelulosa etilhidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y cianoetilcelulosa. Véase también: Whistler u. BeMiller (Hrsg.), Industrial Gums (3.), S. 475ff., San Diego: Academic Press 1993.
- Un efecto espesante sinérgico bastante especialmente bueno se logra adicionalmente con alginatos y carragenanos.
- Aún otras realizaciones beneficiosas de la invención son mezclas que comprenden alternano y otro agente espesante que se selecciona de almidón, almidones modificados, fosfatos de almidón, derivados de almidón, celulosa derivatizada, alginato, carragenanos y una mezcla de dos o más de estas sustancias.
- 25 En la composición de agentes espesantes de acuerdo con la invención el alternano y el otro agente espesante están preferentemente en una proporción en peso desde 10:1 hasta 1:10, más preferentemente 8:1 a 1:8, incluso más preferentemente 5:1-1:5, especialmente preferentemente 2,5:1-1:2,5 y lo más preferentemente 1,5:1-1:1,5.
- La composición de agentes espesantes puede estar en una gran diversidad de formas, por ejemplo como gránulos o polvo y un polvo es lo más preferido.
- 30 En otra variante de la presente invención los componentes anteriormente descritos, alternano y el otro agente espesante, se preparan en forma de un kit. Esto quiere decir que los dos componentes están presentes sin mezclar pero están puestos juntos en una unidad de envasado, por ejemplo en una unidad de envasado con dos recipientes separados, con el alternano contenido en un recipiente y el otro agente espesante en el otro recipiente. Por medio del
- 35 kit, una composición de agentes espesantes de acuerdo con la invención puede prepararse según se requiere en forma de una mezcla de los componentes y se puede usar después adicionalmente. Ambos componentes del kit están preferentemente en forma de polvo.
- El otro agente espesante en el kit es el mismo que se estableció anteriormente para las composiciones, aunque es bastante especialmente preferentemente almidón, almidón modificado, fosfato de almidón, derivados de almidón, o una mezcla de dos o más de estas sustancias. Las proporciones en peso de los componentes del kit se seleccionan preferentemente como se describió anteriormente ya para las composiciones de agentes espesantes.
- 40 En otro aspecto la presente invención se refiere al uso de la composición de agentes espesantes previamente descrita o del kit previamente descrito para el espesamiento de productos alimenticios, productos de partida de productos alimenticios o intermedios de productos alimenticios.
- 45 El uso para el espesamiento de productos alimenticios (dietéticos) es una realización de la invención. Los productos alimenticios pueden sin limitación seleccionarse a partir de salsas, jugos de la carne, sopas, aliños, salsas para mojar, productos lácteos, tales como yogur, yogur para beber, crema, leche entera, leche desnatada, suero de mantequilla, leche agria, kéfir, suero de leche, mousse, gelatina, pudín, margarinas, mermelada, helado, productos de panadería y masas.
- 50 La composición de agentes espesantes previamente descrita o el kit previamente descrito puede mezclarse con productos alimenticios (dietéticos) durante la producción del producto alimenticio o directamente antes del consumo del producto alimenticio.
- La composición se añade a un producto alimenticio en una cantidad con la que se logra el grado deseado de espesamiento. Las cantidades usuales son 0,1-10 % en peso en base al peso total del producto alimenticio, 0,1-5 % en peso, 0,1-4 % en peso, o 0,1-3 % en peso.
- 55

En aún otro aspecto, la presente invención se refiere a un producto alimenticio, producto de partida de productos alimenticios o intermedio de productos alimenticios que contiene una composición de agentes espesantes como se describe anteriormente. El contenido de composición de agentes espesantes es preferentemente como se establece anteriormente. La composición de agentes espesantes se puede mezclar con un producto alimenticio durante la producción del producto alimenticio o directamente antes del consumo de los productos alimenticios.

Los productos alimenticios de acuerdo con la invención pueden sin limitación seleccionarse a partir de salsas, jugos de la carne, sopas, aliños, salsas para mojar, productos lácteos, tales como yogur, yogur para beber, crema, leche entera, leche desnatada, suero de mantequilla, leche agria, kéfir, suero de leche, mousse, gelatina, pudín, margarinas, mermelada, helado, productos de panadería y masas.

Finalmente la invención también se refiere a un procedimiento de incrementar la viscosidad de productos alimenticios, productos de partida de productos alimenticios o intermedios de productos alimenticios, en los que una composición de agentes espesantes como se describe anteriormente se mezcla con el producto alimenticio, con el producto de partida de productos alimenticios o con el intermedio de productos alimenticios.

Un efecto espesante particularmente bueno puede lograrse si el producto alimenticio, el producto de partida de productos alimenticios o el intermedio de productos alimenticios sufre un tratamiento térmico después de añadir la composición de agentes espesantes de acuerdo con la invención. Los medios de tratamiento térmico que calientan el producto alimenticio, el producto de partida de productos alimenticios o el intermedio de productos alimenticios a 80-100 °C y el calentamiento pueden tener lugar durante el procedimiento de producción o tras el procedimiento de producción. La duración del calentamiento es variable y depende del producto alimenticio particular. Usualmente, sin embargo, el calentamiento puede tener lugar durante al menos 10 segundos.

La presente invención se describe más adelante con ejemplos, pero estos no han de considerarse de ninguna manera como limitantes del ámbito de la invención.

Ejemplos

1. Producción de alternano

25 Procedimiento 1

El plásmido pAI-B-AISu Q29 se transformó en E. coli dH5a. pAI-B-AISu contiene la secuencia codificante de sacarasa de alternano de longitud total de cepa NRRL B-1355 de Leuconostoc mesenteroides (cf. documento WO 00/47727), sin los 39 aminoácidos N-terminales del péptido señal, unida a una etiqueta strep octapeptídica en el extremo C-terminal. La etiqueta strep está unida por medio de un engarce dipeptídico a la proteína. La expresión de la sacarasa de alternano está por debajo del control de transcripción del promotor/operador y del represor de tetA. El promotor de tetA está fuertemente regulado por el represor de tet, que está codificado en el mismo plásmido y está expresado constitutivamente por el promotor de β -lactamasa. De este modo la expresión de sacarasa de alternano se suprime rigurosamente hasta que la inducción química eficiente por tetraciclina o anhidrotetraciclina, AHT, tiene lugar.

Las células se precultivaron en medio mineral (Horn et al., 1996) con 100 μ g/ml de ampicilina y medio LB al 10 %. El medio mineral, sin LB, se inoculó con este precultivo. Las células se cultivaron a 37 °C y se indujeron con anhidrotetraciclina (AHT) (0,2 mg/l) y se cultivaron adicionalmente a 25 °C. Las células se cosecharon, se resuspendieron en [MOPS 10 mM pH 7,6; CaCl₂ 2,5 mM y Tritón X-100 al 0,05 %] y se extrajeron usando un homogeneizador de alta presión. El lisado celular se centrifugó durante 20 minutos a 4 °C y 20000 revoluciones/minuto. El sobrenadante se filtró en un filtro de 0,22 μ m y se obtuvo un extracto de sacarasa.

El alternano se produjo en una biotransformación de 60 litros, que contenía ácido acético al 0,13 %, NaAc 100 mM a pH 5,3, sacarosa al 20 %, DTT 1 mM y 1600 ml de extracto de sacarasa de alternano filtrado (aproximadamente 3900 unidades). La mezcla de reacción se incubó durante 60 horas a 37 °C. El alternano obtenido se precipitó con 60 litros de etanol técnico durante 40 horas a 4 °C, después se lavó dos veces con 60 litros de etanol técnico y una vez con 60 litros de etanol absoluto al 60 %. El producto se secó por liofilización. El peso molecular promedio en peso del alternano fue aproximadamente 37000000 g/mol.

Procedimiento 2 (para Ejemplo 3)

El plásmido pAI-B-AISu Q29 (para descripción véase anteriormente) se transformó en E. coli dH5a. Las células se precultivaron en medio mineral (Horn et al., 1996) con 100 μ g/ml de ampicilina y medio LB al 10 %. El medio mineral, sin LB, se inoculó con este precultivo. Las células se cultivaron a 37 °C y a una densidad óptica (DO₆₀₀) de 50 se indujeron con anhidrotetraciclina (AHT) (0,2 mg/l) y se cultivaron durante 22 horas adicionales hasta una densidad óptica de DO₆₀₀ de 140 a 25 °C. Las células se cultivaron por centrifugación, se resuspendieron en NaAc 100 mM, pH 5,3 y se disgregaron con un homogeneizador de alta presión (2 ciclos, 0,01200 pascales (1200 bar)). El lisado celular se trató con ADNasa/ARNasa (3 mg/l). El extracto resultante se centrifugó con el fin de obtener los constituyentes celulares no disueltos incluyendo los cuerpos de inclusión. El sobrenadante se descartó, el sedimento se resuspendió

en urea 8 M, NaAc 50 mM pH 5,3 y se incubó durante una hora en hielo, con agitación. Los constituyentes celulares no disueltos se retiraron por centrifugación. Para renaturalización se diluyó el sobrenadante 1:18,75 veces en urea 0,5 M, CaCl₂ 2,5 mM, NaAc 100 mM pH 5,3. Los cuerpos de inclusión renaturalizados se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -20 °C.

- 5 La actividad se determinó en un ensayo de actividad (López-Mungía et al., 1993). Una unidad de sacarasa de alternano corresponde a la conversión de fructosa 1 µmol por minuto a 37 °C.

10 El alternano se produjo en una biotransformación de 30 litros, que contenía NaAc 75 mM pH 5,3, sacarosa al 20 % y 5000 ml de cuerpos de inclusión renaturalizados (aprox. 11950 unidades). La mezcla de reacción se incubó durante 47 horas a 37 °C. El alternano obtenido se precipitó con 30 litros de etanol técnico durante 40 horas a 4 °C, después se lavó dos veces con 30 litros de etanol técnico y una vez con 30 litros de etanol absoluto al 60 %. El producto se secó por liofilización. El peso molecular promedio en peso del alternano fue aproximadamente 4000000 g/mol.

Referencia:

- 15 Horn U, Strittmatter W, Krebber A, Knupfer U, Kujau M, Wenderoth R, Muller K, Matzku S, Pluckthun A, Riesenberg D. High volumetric yields of functionally dimeric miniantibodies in Escherichia coli, using an optimized expression vector and high-cell-density fermentation under nonlimited growth condition. Appl Microbiol Biotechnol 1996; (46): 524-532.

2. Espesamiento de salsa

Un sistema de salsas simple se seleccionó para poner a prueba las propiedades formadoras de viscosidad de alternano.

Receta básica

Caldo de pollo	89,85 %
Almidón	2,83 %
Aceite de soja	3,63 %
Harina	2,12 %
Harina	1,21 %
Xantana	0,25 %
Sal	0,10 %

- 20 Alternano, producido como en Ejemplo 1, y/o almidón (Resista®, un almidón de choclo ceroso de Tate & Lyle company) se usaron como espesantes.

Cocinado: definido como calentar la receta con alternano a una temperatura de 85-87 °C y mantener a esta temperatura durante 10 minutos. Si no se llevó a cabo ninguna etapa de cocinado con alternano, el alternano se agitó dentro de la salsa después del tiempo de retención de 10 minutos.

- 25 Medida de viscosidad: medida con un viscosímetro Brookfield RV. La velocidad se fijó a una constante 20 rev/min. Las mazorcas se cambiaron dependiendo del espesamiento de la mezcla. La salsa se llevó a temperatura ambiente (21 °C). Las viscosidades estaban en el intervalo desde 20 cP to 80000 cP (cP = centipoise).

Procedimiento:

a) Procedimiento sin cocinar

- 30 1. Medir el caldo de pollo
2. Premezclar la harina con almidón, si está presente
3. Añadir la mezcla seca para enfriar el caldo de pollo, batir vigorosamente
4. Determinar la viscosidad en frío (escala desde 1 hasta 10, donde 1 denota viscosidad baja y 10 denota viscosidad muy alta)
- 35 5. Añadir el consomé de pollo y la sal
6. Añadir el aceite
7. Calentar la mezcla a una temperatura de 85-88 °C

8. Determinar la viscosidad en caliente (escala desde 1 hasta 10, donde 1 denota viscosidad baja y 10 denota viscosidad muy alta)
9. Cubrir la bandeja y mantener la temperatura durante 10 minutos
- 5 10. Retirar la cobertura y batir la salsa mientras que se enfría lentamente. La salsa aún está caliente (65-71 °C)
11. Añadir el alternano en fases hasta que se mezcla cuidadosamente
12. Determinar la viscosidad después de añadir el alternano (escala desde 1 hasta 10, donde 1 denota viscosidad baja y 10 denota viscosidad muy alta)
13. Poner la salsa terminada en un frasco de preservación y sellar
- 10 b) Procedimiento con cocinado
1. Medir el caldo de pollo
2. Premezclar la harina y el alternano y si está presente, el almidón,
3. Añadir la mezcla seca para enfriar el caldo de pollo, batir vigorosamente
- 15 4. Determinar la viscosidad en frío (escala desde 1 hasta 10, donde 1 denota viscosidad baja y 10 denota viscosidad muy alta)
5. Añadir el consomé de pollo y la sal
6. Añadir el aceite
7. Calentar la mezcla a una temperatura de 85-88 °C
- 20 8. Determinar la viscosidad en caliente (escala desde 1 hasta 10, donde 1 denota viscosidad baja y 10 denota viscosidad muy alta)
9. Cubrir la bandeja y mantener la temperatura durante 10 minutos
10. Retirar la cobertura y batir la salsa mientras que se enfría lentamente
11. Poner la salsa terminada en un frasco de preservación y sellar

Resultados:

- 25 El almidón y el alternano tienen un efecto significativo sobre la viscosidad. A altas concentraciones de almidón y alternano se puede observar un efecto sinérgico. Al 0 % de almidón se observa un incremento en viscosidad cuando la concentración de alternano se incrementa del 2 % al 6,25 % (aproximadamente 10000 cP). A una concentración de almidón del 2,83 % hay un incremento de 4 a 5 veces en viscosidad (aprox. 45000 cP) cuando la concentración de alternano se incrementa desde el 2 % hasta el 6,25 %. Estos resultados se muestran en la Fig. 1.
- 30 El cocinado tiene un efecto sobre la viscosidad y hay interacción entre el cocinado y la concentración de alternano. Cuando la concentración de alternano es del 2 %, cocinar no incrementa la viscosidad significativamente. Cuando, sin embargo, la concentración de alternano es del 6,25 %, la diferencia en viscosidad entre cocinar y no cocinar llega a aproximadamente 20000 cP. Estos resultados se presentan en la Fig. 2.

3. Espesamiento de pudín

- 35 Tres concentraciones diferentes de alternano (0, 2,5 y 5,0 %) y tres concentraciones de almidón diferentes (0, 2,25 y 4,5 %) se pusieron a prueba en pudín instantáneo y se evaluaron las sinergias entre alternano y almidón.
- El alternano se preparó de acuerdo con el Ejemplo 1. El almidón en los experimentos A-F fue Firm Tex®, un almidón modificado derivado de maíz ceroso de la compañía National Starch y en experimentos G, H y I con concentración al 4,5 % fue Ultrasperse 2000®, un almidón modificado derivado de maíz ceroso de National Starch.
- 40 Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Alternano y almidón tienen un efecto espesante. Se encontró una interacción sinérgica entre almidón y alternano y fue especialmente patente a una concentración de almidón más alta.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Concentración de almidón	-	-	-	2,25%	2,25%	2,25%	4,5%	4,5%	4,5%
Concentración de altermo	-	2,5%	5,0%	-	2,5%	5,0%	-	2,6%	5,0%
Observación inicial	espumoso, moderadamente espeso, uniforme	espumoso, espeso, capa uniforme de espuma	espumoso, dos capas	espumoso, uniforme	espumoso, uniforme	espuma clara	entremezclado con aire, uniforme	entremezclado con aire, uniforme	inclusiones de aire grandes, uniforme
Viscosidad inicial, cP (temp. ~ 11°C)	40	52	70	420	675	1,160	19,200	61,000	100,000
Resistencia de gel inicial (fuerza, g)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Observación a las 4 horas	similar a inicialmente, capa oscura al fondo	similar a inicialmente, capa oscura al fondo	similar a inicialmente, capa oscura al fondo	similar a inicialmente	espumoso, veteadado, uniforme	espuma clara, veteadado, uniforme	ligeramente entremezclado con aire, uniforme	entremezclado con aire, uniforme	inclusiones de aire grandes, uniforme
Viscosidad a las 4 horas, cP (temp. ~6,7°C)	48	58	80	850	2,480	5,736	80,400	180,000	261,200
Resistencia de gel a las 4 horas (fuerza, g)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,32	15,27	23,14	43,36
Observación de 1 día	poco consistente, líquido, separado con capa oscura al fondo, espumoso en la parte superior	poco consistente, líquido, separado con capa oscura al fondo, espumoso en la parte superior	poco consistente, líquido, separado con capa oscura al fondo, espumoso en la parte superior	veteadado, capa fina separada al fondo	veteadado, capa fina separada al fondo, oscura en la parte superior	sin separación, pero veteadado con motas aclaradas, sin sinéresis, brillante, bastante pobre	uniforme, ligeramente entremezclado con aire, sin sinéresis, brillante, bastante típica de pudín	ligeramente entremezclado con aire, sin sinéresis, brillante, bastante aceptable, pero pegajoso	inclusiones de aire grandes, uniforme, sin sinéresis, brillo intermedio cuando se agita, muy espeso y pegajoso, motas blancas visibles

(continuación)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Concentración de almidón	-	-	-	2,25 %	2,25 %	4,5 %	4,5 %	4,5 %	4,5 %
Concentración de alternano	-	2,5 %	5,0 %	-	2,5 %	5,0	-	2,6 %	5,0 %
Viscosidad tras 1 día cP (temp., 2,2 °C)	48	65	98	2,460	3,512	5,516	92,400	206,000	360,000
Resistencia de gel tras 1 día	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,86	17,67	29,57	53,73

3. Efecto sinérgico con almidones, derivados de celulosa, alginato y carragenanos

3.1 Caracterización de materiales:

Almidones:

- Almidón de maíz regular (Sigma)
- 5 ○ Almidón de maíz ceroso (Sigma)
- Almidón de arroz (amilosa al 12-14 %, 0,5 nmol/mg de C-6-fosfato)

Derivados de celulosa:

- Walocel CMC 50000PA (Na-carboximetilcelulosa) de la compañía de productos químicos DOW
- Methocel K4M (hidroxipropil metil celulosa) de la compañía de productos químicos DOW
- 10 ○ Methocel A4M (metilcelulosa) de la compañía de productos químicos DOW

Alginato: Na-alginato (Sigma)

Carragenanos: Carragenanos tipo iota (Sigma)

3.2 Procedimientos:

Viscoanalizador rápido (RVA):

- 15 El alternano en combinación con un segundo espesante se puso a prueba en una solución acuosa (25 g de peso total) en viscoanalizador rápido (Newport Scientific Pty Ltd., Investment Support Group, Warriewood NSW 2102, Australia). El perfil de ensayo consiste en lo siguiente:

	Temperatura (°C)	Tiempo (min.:seg.) 25,0 (temperatura de inactividad)	velocidad (rpm)
1	25,0	0:20	1000 (velocidad inicial)
2	25,0 Aumentar	5:20	160
3	95,0	10:20	160
	Mantener	13:20	160
	Enfriar		
4	25	18:20	160
	Mantener	22:20	160
Final de la prueba 23:00			

Las viscosidades medidas fueron como sigue:

- Viscosidad en frío inicial: viscosidad a 5:20 minutos
- 20 - viscosidad en caliente: pico de viscosidad a 95 °C
- viscosidad final: viscosidad al final

Analizador de texturas (TA):

- 25 La resistencia de gel de muestras de RVA se midió después de almacenamiento a temperatura ambiente (23 °C) durante aproximadamente 20 horas usando un analizador de textura TA XT2. Los ajustes del analizador de texturas fueron como sigue:

Principio de medida: fuerza en dirección de presión

Velocidad directa: 2 mm/s

ES 2 528 390 T3

Velocidad de prueba: 0,5 mm/s

Valor de activación: 2,0 g

Velocidad reversa: 0,5 mm/s

Distancia: 7 mm

- 5 Se determinaron el pico positivo (F1) y el pico negativo (F2) en gramos.

Viscosidad de alternano en combinación con un almidón:

	Alternano	goma			
Material	%	%	viscosidad fría inicial cP	Viscosidad caliente cP	Viscosidad final cP
Almidón de arroz	0	5	0	412	1075
	10	5	13	2558	3496
Almidón de maíz regular	0	5	0	287	335
	5	5	-3	463	1276
	10	5	118	2149	4503
Almidón de maíz ceroso (sigma)	0	5	-4	687	1017
	5	5	10	1492	1519
	10	5	197	3123	4362

Viscosidad de alternano en combinación con otros espesantes:

	Alternano	goma			
Material	%	%	viscosidad fría inicial cP	Viscosidad caliente cP	Viscosidad final cP
Walocel CMC 50000PA	0	1,5	653	404	1083
	3	1,5	1005	589	1319
Methocel K4M	0	1,5	65	0	247
	3	1,5	231	0	824
Methocel A4M	0	1,5	57	0	197
	3	1,5	405	0	747
Na-Alginato	0	1,5	15	0	16
	3	1,5	46	2	37
Iota-carragenanos	0	1,5	431	0	844
	3	1,5	625	0	1241

REIVINDICACIONES

1. Una composición de agentes espesantes que comprende alternano y al menos un agente espesante distinto, que está seleccionado de almidón, almidones modificados, derivados de almidón, fosfatos de almidón, alginatos, carragenanos, celulosa derivatizada y mezclas de dos o más de estas sustancias.
- 5 2. La composición de agentes espesantes según la reivindicación 1, en la que el alternano y el otro agente espesante están en una proporción en peso desde 10:1 hasta 1:10.
3. La composición de agentes espesantes según una de las reivindicaciones 1-2, que está en forma de un polvo.
4. Un kit que comprende, como componentes, alternano y al menos un agente espesante distinto, que es seleccionado de almidón, almidones modificados, derivados de almidón, fosfatos de almidón, alginatos, carragenanos, celulosa derivatizada y mezclas de dos o más de estas sustancias.
- 10 5. El kit según la reivindicación 4, en el que el alternano y el otro agente espesante están en una proporción en peso desde 10: 1 hasta 1:10.
6. El kit según una de las reivindicaciones 4 o 5, en el que los componentes están adaptados para preparar una composición de agentes espesantes según una de las reivindicaciones 1-3.
- 15 7. Uso de una composición de agentes espesantes según una de las reivindicaciones 1-3 o de un kit según una de las reivindicaciones 4-6 para el espesamiento de productos alimenticios, productos de partida de productos alimenticios o intermedios de productos alimenticios.
8. El uso según la reivindicación 7, en el que el producto alimenticio es seleccionado de salsas, jugos de la carne, sopas, aliños, salsas para mojar, productos lácteos, tales como yogur, yogur para beber, crema, leche entera, leche desnatada, suero de mantequilla, leche agria, kéfir, suero de leche, mousse, gelatina, pudin, margarinas, mermelada, helado, productos de panadería y masas.
- 20 9. Un producto alimenticio, producto de partida de productos alimenticios o intermedio de productos alimenticios, que contiene una composición de agentes espesantes según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3.
10. El producto alimenticio, producto de partida de productos alimenticios o intermedio de productos alimenticios según la reivindicación 9, que es seleccionado de salsas, jugos de la carne, sopas, aliños, salsas para mojar, productos lácteos, tales como yogur, yogur para beber, crema, leche entera, leche desnatada, suero de mantequilla, leche agria, kéfir, suero de leche, mousse, gelatina, pudin, margarinas, mermelada, helado, productos de panadería y masas.
- 25 11. Un procedimiento de incremento de la viscosidad de productos alimenticios, productos de partida de productos alimenticios o intermedios de productos alimenticios, en el que una composición de agentes espesantes según una de las reivindicaciones 1-3 se añade al producto alimenticio, producto de partida de productos alimenticios o intermedio de productos alimenticios.
- 30 12. El procedimiento según la reivindicación 11, en el que el producto alimenticio, producto de partida de productos alimenticios o intermedio de productos alimenticios es sometido a un tratamiento térmico.
- 35

Fig. 1

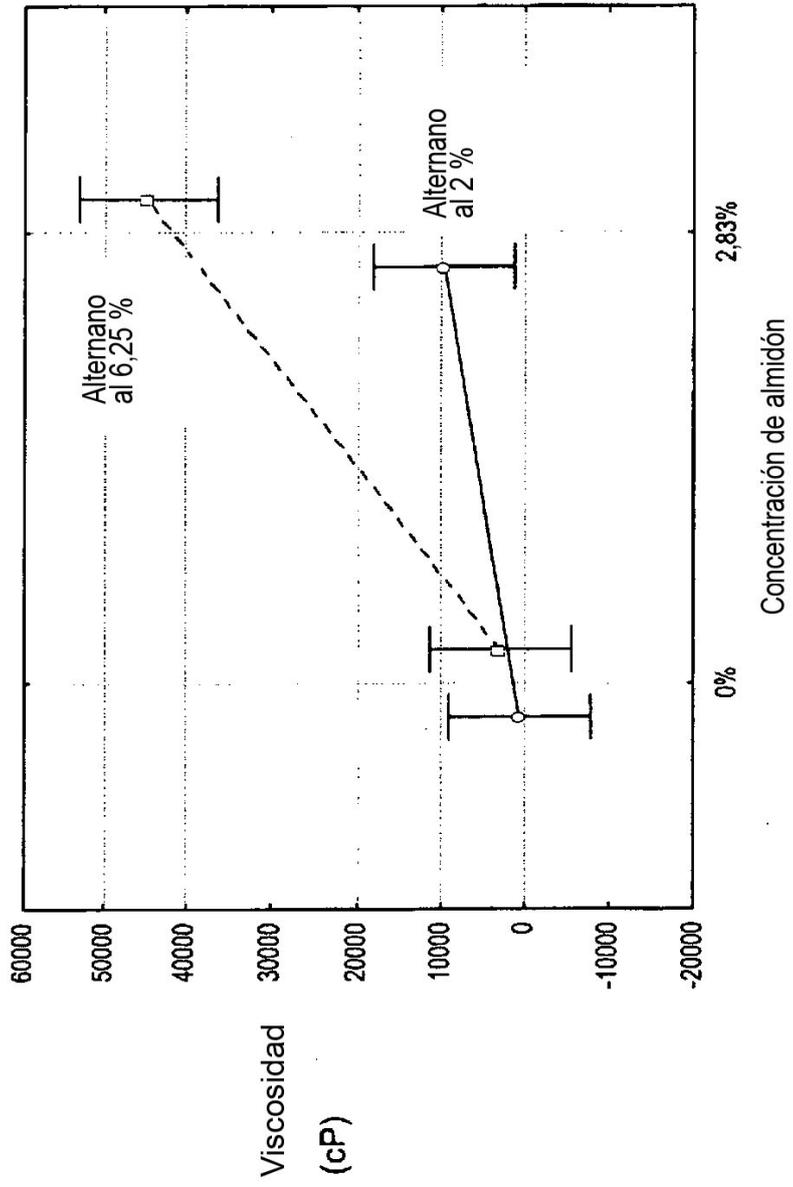


Fig. 2

