



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: 2 622 442

51 Int. Cl.:

A21D 8/04 (2006.01) **A21D 10/04** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 29.09.2015 E 15187308 (0)
 (97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 15.02.2017 EP 3000324

(54) Título: Masas de tarta mejoradas

(30) Prioridad:

29.09.2014 BE 201405000

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **06.07.2017**

(73) Titular/es:

PURATOS (100.0%) Industrialaan 25 1702 Groot-Bijgaarden, BE

(72) Inventor/es:

VAN HAESENDONCK, INGRID; ØSTDAL, HENRIK; NGUYEN, FANNY y VAN DER BIEST, GOEDELE

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

DESCRIPCIÓN

Masas de tarta mejoradas

Campo de la invención

5

10

30

35

40

45

La invención se refiere a nuevos procedimientos para producir tartas con parámetros de textura y sensación en boca mejorados.

Antecedentes de la invención

Las tartas son productos horneados a base de masa preparados con tres ingredientes principales presentes en diferentes proporciones dependiendo del tipo de tarta: harina, azúcar y huevos (huevos enteros y/o clara de huevo y/o yema de huevo). Los ingredientes adicionales pueden ser, por ejemplo, grasas y/o lípidos, agentes leudantes, emulsionantes, proteínas de la leche, hidrocoloides, almidón (natural, química o físicamente modificado), cacao en polvo, chocolate, agentes colorantes, sabores, etc. Las tartas se pueden leudar debido a la adición de ingredientes (por ejemplo, levadura química, huevo, emulsionante, proteína,...) y/o debido al proceso de preparación de tarta (por ejemplo, batido de la masa). Los tipos de tartas típicos son bizcochos cuatro cuartos y de nata, magdalenas cuatro cuartos y de nata, bizcochos, panecillos, rosquillas, brownies, etc.

El enranciamiento de la tarta es un fenómeno que se produce durante el almacenamiento. El enranciamiento de la tarta (también denominado pérdida de frescura) es una combinación del deterioro de diferentes parámetros de textura de la tarta, entre ellos, la pérdida de blandura, pérdida de humedad, pérdida de cohesión, aumento de la gomosidad y pérdida de elasticidad.

La blandura de una tarta es la sensación relacionada con la fuerza requerida para comprimir y morder la miga de tarta. La humedad de la tarta es la sensación húmeda (opuesta a la sequedad) percibida al tocar y comer la tarta. Tocar una tarta húmeda con los labios y/o las manos da una sensación más fría en los labios y/o en comparación con una tarta seca. En la boca, una tarta húmeda se percibe hidratada y jugosa. Cuando se come una tarta húmeda, no hay sensación de que absorba el agua del interior de la boca. La blandura y la humedad en las tartas son parámetros diferentes. Por ejemplo, los bizcochos tradicionales son muy blandos, a pesar de que no se perciben como húmedos (muy secos). Por otra parte, algunos *brownies* se pueden percibir como muy húmedos y sin embargo ser duros y densos. La migración de humedad de la miga a la corteza y la retrogradación de la amilopectina se identifican como las principales causas del endurecimiento de la tarta y del secado de la tarta durante el almacenamiento.

Se han propuesto diversas soluciones para retardar la evolución negativa de la textura de las tartas durante el almacenamiento prolongado. Entre éstas están tipos especiales de emulsionantes, grasas, azúcares, gomas e hidrocoloides. También se han descrito enzimas tales como alfa-amilasas. Las amilasas hidrolizan la fracción de almidón en la tarta y reducen la retrogradación de amilopectina durante el almacenamiento. Sin embargo, una hidrólisis demasiado extensa del almidón usando amilasas no específicas o demasiado agresivas puede influir negativamente en el volumen y la forma de la tarta dando como resultado, por ejemplo, la deformación de la tarta y/o una tarta que tiene propiedades de textura de tarta inferiores.

El documento WO 2006/032281 describe el efecto antienranciamiento en la tarta de una alfa-amilasa maltogénica activa en concentraciones altas de azúcar. Además, se han ensayado procedimientos para producir tartas en las que la masa de tarta comprende una enzima lipolítica y una amilasa antienranciamiento, como se divulga por ejemplo en el documento WO2013/160370. Todas estas enzimas o combinaciones de enzimas tienen principalmente un efecto sobre la blandura de las tartas. Los intentos de aumentar adicionalmente la frescura añadiendo cantidades aumentadas de enzimas dan lugar a tartas que tienen la tendencia a percibirse como más gomosos o duros. También para productos de pan se han añadido diferentes tipos de enzimas para tratar de aumentar la blandura de los productos de pan. Sin embargo, hay una diferencia importante entre las recetas de productos de pan y las recetas de productos de repostería. Típicamente, las masas de pan se leudan con levadura (y pueden comprender huevos, azúcar y/o grasa en cantidades bajas) o se leudan químicamente (que típicamente no contienen huevos, azúcar y/o grasa), mientras que las masas de tarta contienen huevos, azúcar y grasa en cantidades mayores y opcionalmente comprenden agentes leudantes químicos. Debido a las diferencias en las recetas y los procesos químicos entre las masas de pan y las masas de tarta, los efectos obtenidos con las recetas de masa de pan normalmente no son válidos para las recetas de masa de tarta.

Hoy en día, los consumidores buscan tartas con frescura mejorada y/o prolongada, que tengan propiedades de textura simultáneamente mejoradas o al menos conservadas/mantenidas (cohesión y elasticidad) para resistir manipulaciones como el envasado, corte y decoración. Por tanto, existe la necesidad de obtener recetas de tarta nuevas y mejoradas.

La presente invención resuelve los problemas indicados anteriormente proporcionando productos de repostería que tienen frescura mejorada y/o prolongada, manteniendo al mismo tiempo las propiedades organolépticas y calidad del producto de repostería, incluyendo la textura.

Sumario de la invención

5

15

En un primer objetivo de la presente invención se proporciona un procedimiento para preparar una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de la masa, que comprende añadir en cualquier orden una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas, y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento a los ingredientes de la masa de tarta, y preparar la masa de tarta. Preferentemente, se mejora la humedad de dicho producto de repostería, determinándose preferentemente la humedad mediante un grupo de expertos en tartas. Más preferentemente, se mejora la humedad del producto de repostería en al menos 0,5 unidades cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo.

En un modo de realización particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es una alfa-amilasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1.

En un modo de realización particular, la fosfolipasa es una fosfolipasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2.

En un modo de realización particular, la amilasa antienranciamiento conserva más del 20 % de su actividad en presencia del 10 % de sacarosa.

La presente invención proporciona además un procedimiento de acuerdo con la invención en el que la masa de tarta o producto de repostería se leuda químicamente. Más particularmente, dicha masa de tarta comprende:

- 15-30 % en peso de harina y/o almidón, tales como harina no tratada, harina tratada térmicamente, harina clorada, almidón modificado y/o almidón natural;
- 15-30 % en peso de azúcar;
 - 10-25 % en peso de huevos, tales como huevos enteros, clara de huevo y/o yema de huevo;
 - 0-2 % en peso de emulsionante, tal como mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de propilenglicol de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, y/o estearoil-2-lactilato de sodio;
- 25 0,3-1 % en peso de levadura química, tal como que contiene bicarbonato sódico y ácido o sales de ácidos;
 - 0-1 % en peso de hidrocoloides, tales como goma de algarrobo, goma guar, goma de tara, goma xantana, carragenina, goma arábiga, celulosa, celulosa modificada y/o pectina;
 - 10-25 % en peso de mantequilla o grasa vegetal, tal como, por ejemplo, aceite, margarina, manteca, pasta grasa o grasa en polvo; y
- 30 0-15 % en peso de agua;

con % en peso comparado con el peso total de la masa de tarta.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una masa de tarta o producto de repostería que comprende una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento.

- En un modo de realización particular, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la invención comprende una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo que es una alfa-amilasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1 (véase la tabla A).
- En un modo de realización particular, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la invención comprende una fosfolipasa que es una fosfolipasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2 (véase la tabla B).

En un modo de realización particular, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la invención comprende una amilasa antienranciamiento que conserva más del 20 % de su actividad en presencia del 10 % de sacarosa.

45 Más particularmente, la masa de tarta de acuerdo con la invención es una masa de tarta de nata.

Más particularmente, el producto de repostería de acuerdo con la invención es un producto de repostería de nata.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento para mejorar la humedad, en el que la humedad se determina preferentemente mediante un grupo de expertos en tartas.

Más particularmente, el uso de acuerdo con la invención prevé que la humedad del producto de repostería se mejora en al menos 0,5 unidades cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo.

Estos y otros aspectos y modos de realización se describen en las secciones siguientes y en las reivindicaciones.

5 Descripción detallada de la invención

10

15

20

30

40

45

50

55

Antes de describir el presente procedimiento y productos de acuerdo con la invención, se debe entender que la presente invención no se limita a los procedimientos, productos o dispositivos particulares descritos, ya que, por supuesto, dichos procedimientos, productos y dispositivos pueden variar. También se debe entender que la terminología usada en el presente documento no pretende ser limitante, dado que el alcance de la presente invención quedará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque se puede usar cualquier procedimiento y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o la prueba de la presente invención, ahora se describen los procedimientos y materiales preferentes.

En la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno/una" y "el/la" incluyen las referencias al plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

Los términos "que comprende", "comprende" y "compuesta de" como se usan en el presente documento son sinónimos de "que incluye", "incluye" o "que contiene", "contiene" y son inclusivos o abiertos y no excluyen miembros, elementos o etapas de procedimiento no enumerados, adicionales. Los términos "que comprende", "comprende" y "compuesta de" cuando se refieren a miembros, elementos o etapas de procedimiento enumerados también incluyen modos de realización que "consisten en" dichos miembros, elementos o etapas del procedimiento enumerados.

Además, los términos primero, segundo, tercero y similares en la descripción y en las reivindicaciones, se usan para distinguir entre elementos similares y no necesariamente para describir un orden secuencial o cronológico, a menos que se especifique. Se debe entender que los términos usados de este modo son intercambiables en circunstancias apropiadas y que los modos de realización de la invención descrita en el presente documento pueden funcionar en otras secuencias distintas de las descritas o ilustradas en el presente documento.

El término "aproximadamente" como se usa en el presente documento cuando se refiere a un valor medible tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal y similares, se pretende que englobe variaciones de +/-10 % o menos, preferentemente +/-5 % o menos, más preferentemente +/-1 % o menos y aún más preferentemente +/-0,1 % o menos de y desde el valor especificado, en la medida en que dichas variaciones sean apropiadas para llevarse a cabo en la invención divulgada. Se debe entender que el valor al que se refiere el modificador "aproximadamente" también se divulga por sí mismo específica y preferentemente.

La enumeración de intervalos numéricos por valores extremos incluye todos los números y fracciones incluidas dentro de los intervalos respectivos, así como los valores extremos enumerados.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos usados en divulgar la invención, incluyendo términos técnicos y científicos, tienen el significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Por medio de guía adicional, se incluyen definiciones para los términos usados en la descripción para apreciar mejor la enseñanza de la presente invención. Los términos o definiciones usados en el presente documento se proporcionan exclusivamente para ayudar en la comprensión de la invención.

La referencia a lo largo de esta memoria descriptiva a "un modo de realización" significa que un rasgo, estructura o característica particulares descritos en relación con el modo de realización se incluye en al menos un modo de realización de la presente invención. Por lo tanto, la aparición de las oraciones "en un modo de realización" en diversos lugares a lo largo de esta memoria descriptiva no necesariamente se refieren al mismo modo de realización, pero puede. Además, los rasgos, estructuras o características particulares se pueden combinar de cualquier manera adecuada, como sería evidente para un experto en la técnica a partir de esta divulgación, en uno o más modos de realización. Además, aunque algunos modos de realización descritos en el presente documento incluyen algunas características pero no otras incluidas en otros modos de realización, las combinaciones de características de diferentes modos de realización deben estar dentro del alcance de la invención, y formar modos de realización diferentes, como entenderán los expertos en la técnica. Por ejemplo, en las siguientes reivindicaciones, cualquier de los modos de realización reivindicados se puede usar en cualquier combinación.

Los inventores han descubierto sorprendentemente que, añadiendo una combinación específica de enzimas a una masa de tarta, fue posible mejorar algunos de los parámetros sensoriales y de textura de la tarta, en particular la humedad, mientras que no tiene efecto negativo en los otros parámetros.

Al añadir amilasas de degradación del almidón crudo (RSD) a una receta de tarta a dosis lo suficientemente altas como para reducir la dureza del producto de repostería resultante, se ha observado que esto compromete la forma de la tarta (es decir, deformación de la superficie superior). Otro efecto negativo se ve en las propiedades de textura tales como la cohesión de la miga de tarta.

- Ahora se ha observado sorprendentemente que la combinación de una amilasa de degradación del almidón crudo con una fosfolipasa mejora significativamente la humedad de los productos de repostería obtenidos y esto sin influencia negativa en la cohesión del producto de repostería, en comparación con un producto de repostería que contiene la fosfolipasa sola. Este efecto se mejoró adicionalmente cuando se combinaron las amilasas RSD y las fosfolipasas con amilasas antienranciamiento maltogénicas.
- Por lo tanto, un primer objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para preparar una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de la masa, que comprende añadir en cualquier orden una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo y una o más fosfolipasas a los ingredientes de la masa de tarta, y preparar la masa de tarta. Debe entenderse que el orden en que se añaden los diferentes ingredientes, incluyendo enzimas, no es relevante. Como tal, en primer lugar se puede preparar una masa de tarta a partir de ingredientes de masa de tarta, seguido de la adición en cualquier orden de una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo y una o más fosfolipasas a la masa de tarta, y mezcla de los ingredientes de la masa de tarta.

Para preparar además dicho producto de repostería, dicha masa de tarta se hornea para obtener un producto de repostería. Por lo tanto el procedimiento comprende típicamente la etapa de hornear la masa de tarta para obtener un producto de repostería.

En otro modo de realización, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de la masa, que comprende añadir en cualquier orden una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y una o más alfa-amilasas antienranciamiento a los ingredientes de la masa de tarta, y preparar la masa de tarta. Debe entenderse que el orden en que se añaden los diferentes ingredientes, incluyendo enzimas, no es relevante. Como tal, en primer lugar se puede preparar una masa de tarta a partir de ingredientes de masa de tarta, seguido de la adición en cualquier orden de una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y una o más amilasas antienranciamiento a la masa de tarta.

De acuerdo con un modo de realización particular, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un producto de repostería, en el que el producto de repostería es preferentemente un producto de repostería leudado químicamente obtenido a partir del horneado de una masa de tarta, comprendiendo preferentemente dicha masa de tarta como ingredientes principales harina, huevos y azúcar. En modos de realización preferentes, dicha masa de tarta comprende además uno o varios agentes leudantes y/o grasa.

En modos de realización particulares, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un producto de repostería no leudado microbiológicamente que comprende harina, huevos, azúcar y opcionalmente uno o más agentes leudantes y/o grasa.

Como se denomina en el presente documento, el término "agente leudante" se refiere a una cualquiera de las diversas sustancias usadas en masas que provoca el aligeramiento y el ablandamiento del producto acabado. La formación de dióxido de carbono se induce por agentes químicos que reaccionan con la humedad, calor, acidez, u otros factores desencadenantes. Una alternativa o complemento a los agentes leudantes es el leudado mecánico de la masa durante el que se incorpora aire en la masa usando medios mecánicos. Los agentes leudantes como se denominan en el presente documento son compuestos químicos tales como levadura química. La levadura química comprende típicamente un portador de dióxido de carbono (típicamente una sal de bicarbonato) y un ácido leudante (típicamente un ácido orgánico de bajo peso molecular). Los agentes leudantes generalmente reconocidos pueden incluir fosfatos monocálcicos (Ca(H₂PO₄)₂), sulfato de sodio y aluminio (NaAl(SO₄)₂.12H₂O), pirofosfato disódico (Na₂H₂P₂O₇), y fosfatos de sodio y aluminio (NaH₁₄Al₃(PO₄)₈.4H₂O y Na₃H₁₅Al₂(PO₄)₈). Estos compuestos se combinan con bicarbonato de sodio para dar dióxido de carbono de manera predecible.

Se pueden elegir ingredientes adicionales de la lista de grasas, lípidos, emulsionantes, proteínas (de leche), hidrocoloides, gomas, almidones (naturales, química o físicamente modificados), cacao en polvo, chocolate, agentes colorantes, sabores, etc. El experto en la técnica sabe cómo combinar estos ingredientes para obtener el tipo deseado de producto de repostería.

Una masa de tarta puede comprender, por ejemplo, los siguientes ingredientes, típicamente en las siguientes cantidades (en % en peso de la masa):

- harina (por ejemplo sin tratar, tratada con calor, clorada, tamizada por viento, ... y combinaciones de las mismas) y/o almidón (modificado/natural) en una cantidad entre el 15 y el 30 %;
- azúcar en una cantidad entre el 15 y el 30 %;

30

35

40

45

50

55

- huevos (huevos enteros y/o clara de huevo y/o yema de huevo) en una cantidad entre el 10 y el 25 % (calculado como huevos enteros con cáscara);
- emulsionante (por ejemplo, mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de propilenglicol de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato de sodio) en una cantidad entre el 0 y el 2 %;
- levadura química (que comprende bicarbonato de sodio y ácido o sales ácidas) en una cantidad entre el 0,3 y el 1 %
- hidrocoloides (por ejemplo, goma de algarroba, goma guar, goma de tara, goma xantana, carragenina, goma arábiga, celulosa, celulosa modificada, pectina) en una cantidad entre el 0 y el 1 %;
- grasa vegetal (por ejemplo, aceite, margarina, manteca, pasta grasa, grasa en polvo) o mantequilla en una cantidad entre el 10 y el 25 %; y;
 - agua en una cantidad entre el 0 y el 15 %.

5

30

35

En un modo de realización particular, dicha masa de tarta es una masa de tarta de nata que comprende, por ejemplo, los siguientes ingredientes, típicamente en las siguientes cantidades (en % en peso de la masa):

- harina (sin tratar, tratada con calor, clorada) en una cantidad entre el 20 y el 30 %;
 - azúcar en una cantidad entre el 20 v el 30 %:
 - huevos (huevos enteros y/o clara de huevo y/o yema de huevo) en una cantidad entre el 10 y el 25 % (calculado como huevos enteros);
 - almidón (modificado, natural) en una cantidad entre el 0 y el 10 %;
- emulsionante (por ejemplo, mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de propilenglicol de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, estearoil-2-lactilato de sodio) en una cantidad entre el 0,5 y el 1 %;
 - levadura química (que comprende bicarbonato de sodio y ácido o sales ácidas) en una cantidad entre el 0,5 y el 1 %;
- hidrocoloides (por ejemplo, goma de algarroba, goma guar, goma de tara, goma xantana, carragenina, goma arábiga, celulosa, celulosa modificada, pectina) en una cantidad entre el 0 y el 0,5 %;
 - grasa vegetal (por ejemplo, aceite) en una cantidad entre el 15 y el 20 %; y;
 - agua en una cantidad entre el 10 y el 15 %.

De acuerdo con la presente invención, el término "alfa-amilasa de degradación del almidón crudo" o "alfa-amilasa RSD", también conocida como una "alfa-amilasa de hidrólisis del almidón crudo" o una "alfa-amilasa de hidrólisis del almidón en gránulos", se refiere a una enzima (o en algunos casos a una combinación de enzimas) que puede degradar directamente gránulos de almidón crudo a una temperatura por debajo de la temperatura de gelatinización del almidón, una propiedad que las alfa-amilasas "clásicas" no tienen. La temperatura de gelatinización del pende de la fuente del almidón (por ejemplo almidón de trigo, maíz, cebada, centeno o arroz). La temperatura de gelatinización del almidón puede variar de 51 °C a 78 °C mientras que la temperatura de inicio de gelatinización puede variar de aproximadamente 51 °C a 68 °C. Una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es una enzima que puede degradar directamente gránulos de almidón crudo bajo las siguientes condiciones:

- Cuando se usa harina de trigo para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón crudo cuando la temperatura de gelatinización es de 52 °C a 75 °C.
- Cuando se usa harina de maíz para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón crudo cuando la temperatura de gelatinización es de 62 °C a 74 °C.
 - Cuando se usa harina de centeno para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón crudo cuando la temperatura de gelatinización es de 55 °C a 70 °C.
- Cuando se usa harina de cebada para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón crudo cuando la temperatura de gelatinización es de 53 °C a 63 °C.
 - Cuando se usa harina de avena para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón crudo cuando la temperatura de gelatinización es de 55 °C a 62 °C.

- Cuando se usa la harina de arroz para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón crudo cuando la temperatura de gelatinización es de 65 °C a 75 °C.
- Cuando se usa harina de sorgo para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón cuando la temperatura de gelatinización es de 70 °C a 78 °C.
- Cuando se usa almidón de patata para hacer la masa, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede degradar directamente el almidón cuando la temperatura de gelatinización es de 56 °C a 69 °C.

10

15

35

En un modo de realización particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo se define como una enzima que tiene un índice de degradación del almidón crudo de al menos 0,2, al menos 0,3, al menos 0,4, al menos 0,5, al menos 0,6, al menos 0,7, al menos 0,8, al menos 0,9, al menos 1,1, al menos 1,2, al menos 1,3, al menos 1,4, al menos 1,5, al menos 1,6, al menos 1,7, al menos 1,8, al menos 1,9, al menos 2, en el que el índice de degradación de crudo es una proporción de la actividad para degradar almidón crudo respecto a la actividad para degradar el almidón gelatinizado (Ra/Ga). Preferentemente, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo se define como una enzima que tiene un índice de degradación del almidón crudo mayor que 1. La actividad del almidón gelatinizado se mide midiendo la liberación de la glucosa producida por la enzima en una mezcla de reacción de almidón gelatinizado (por ejemplo, de maíz) al 2 %. La actividad se mide por la liberación de azúcares reductores producidos en 4 moles por hora por mg de enzima activa pura. El mismo ensayo se puede usar a continuación para medir la actividad de la enzima sobre almidón crudo, pero sustituyendo el almidón gelatinizado al 2 % (por ejemplo, de maíz). En ambos ensayos, la temperatura es de 40 °C, se usa el mismo pH y solución tampón y el tiempo de incubación es de 6 horas.

20 En modos de realización particulares, las alfa-amilasas de degradación del almidón crudo son ubicuas y se producen por plantas, animales y microorganismos, tales como, alfa-amilasas de degradación del almidón crudo de hongos, bacterias y levaduras. En modos de realización particulares, las alfa-amilasas de degradación del almidón crudo como se usa en la presente invención se pueden obtener por modificación genética de enzimas conocidas.

En modos de realización particulares, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede ser preferentemente una alfa-amilasa que comprende un dominio de unión a almidón (SBD) y un dominio catalítico de alfa-amilasa (CD). Los ejemplos de dichas alfa-amilasas incluyen los divulgados en los documentos WO 2005/003311, US 2005/0054071, US 7,326,548, WO 2010/124206 y WO 2011/154529. Los ejemplos también incluyen las enzimas divulgadas en la tabla 1 a 5 de los ejemplos en el documento US 7,326,548, en la tabla 3 en la página 15 del documento US 2005/0054071, así como las enzimas divulgadas en los documentos WO 2004/020499 y WO 2006/06929 y las enzimas divulgadas en el documento WO 2006/066579 como SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 4. Una enzima alfa-amilasa ácida de degradación del almidón crudo preferente es el híbrido de alfa-amilasa que consiste en la alfa-amilasa de *Rhizomucor pusillus* con el ligando glucoamilasa de *Aspergillus niger* y SBD divulgado como V039 en la tabla 5 en el documento WO 2006/069290.

En un modo de realización particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo puede ser una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo comercial adecuada tal como SP288 (Novozymes A/S).

Más en particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es una alfa-amilasa que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1 (véase la tabla A). En un modo de realización particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es la alfa-amilasa con SEQ ID NO 1.

40 La alfa-amilasa de degradación del almidón crudo se puede añadir en una cantidad de 0,6 a 8,0 unidades FAU-F por kg de masa, preferentemente en una cantidad de 2 a 6 FAU-F por kg de masa, más preferentemente en una cantidad de 3,5 a 5.

Un procedimiento adecuado para poner a prueba la actividad de la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es el uso de un kit que contiene el sustrato (4,6-etilideno (G7)-p-nitrofenil(G1)-a,D-maltoheptaósido (etiliden-G7PNP) y la enzima α-glucosidasa. La presencia de una alfa-amilasa en una muestra convierte el sustrato en glucosa y el p-nitrofenol de color amarillo que se puede detectar y medir espectrofotométricamente a 405 nm. Las condiciones de reacción son 37 °C, pH 7,15 y la concentración de sustrato 1,86 mM. La actividad de la alfa-amilasa se expresa en FAU(F), unidades de alfa-amilasa fúngica (Fungal alpha-Amylase Units) y se mide en relación a un patrón enzimático de potencia conocida. Un ejemplo de patrón enzimático es Fungamyl 4000 BG (Novozymes A/S) que contiene 4.000 FAU(F)/g de producto.

Tabla A

Nombre	Secuencia
SEQ ID NO 1	ATSDDWKGKAIYQLLTDRFGRADDSTSNCSNLSNYCGGTYEGITKHLDYISGMGF
	DAIWISPIPKNSDGGYHGYWATDFYQLNSNFGDESQLKALIQAAHERDMYVMLDV
	VANHAGPTSNGYSGYTFDDASLYHPKCTIDYNNQTSIEQCWVADELPDIDTENSD
	NVAILNDIVSGWVGNYSFDGIRIDTVKHIRKDFWTGYAEAAGVFATGEVFNGDPA
	YVGPYQKYLPSLINYPMYYALNDVFVSKSKGFSRISEMLGSNRNAFEDTSVLTTFVD
	NHDNPRFLNSQSDKALFKNALTYVLLGEGIPIVYYGSEQGFSGGADPANREVLWTT
	NYDTSSDLYQFIKTVNSVRMKSNKAVYMDIYVGDNAYAFKHGDALVVLNNYGSGS
	TNQVSFSVSGKFDSGASLMDIVSNITTTVSSDGTVTFNLKDGLPAIFTSATGGTTT
	TATPTGSGSVTSTSKTTATASKTSTSTSSTSCTTPTAVAVTFDLTATTTYGENIYLV
	GSISQLGDWETSDGIALSADKYTSSDPLWYVTVTLPAGESFEYKFIRIESDDSVEW
	ESDPNREYTVPQACGTSTATVTDTWR

Como se usa en el presente documento, el término "identidad de secuencia" u "homología de secuencia" indica al menos la similitud de estructura primaria entre dos macromoléculas, en particular entre dos polipéptidos o polinucleótidos, de taxones iguales o diferentes, en la que dicha similitud se debe a ascendencia compartida. Preferentemente, los polipéptidos homólogos también mostrarán similitud en la estructura secundaria o terciaria. Por lo tanto, el término "homólogos" indica macromoléculas relacionadas de este modo que tienen dicha similitud de estructura primaria y opcionalmente, para macromoléculas proteicas, secundaria o terciaria. Para comparar dos o más secuencias polipeptídicas, el '(porcentaje de) identidad de secuencia' entre una primera secuencia polipeptídica y una segunda secuencia polipeptídica se puede calcular usando procedimientos conocidos por el experto en la técnica, por ejemplo, dividiendo el número de polipéptidos en la primera secuencia polipeptídica que son idénticos a los polipéptidos en las posiciones correspondientes en la segunda secuencia polipeptídica entre el número total de polipéptidos en la primera secuencia polipeptídica y multiplicando por 100 % o usando un algoritmo de ordenador conocido para la alineación de secuencias tal como NCBI Blast. Para determinar el grado de identidad de secuencia entre dos polipéptidos, el experto en la técnica puede tener en cuenta las denominadas sustituciones de aminoácidos "conservadoras", que en general se pueden describir como sustituciones de aminoácidos en las que un residuo de aminoácido se reemplaza por otro residuo de aminoácido de estructura química similar y que tiene poca o esencialmente ninguna influencia sobre la función, actividad u otras propiedades biológicas del polipéptido. Las posibles sustituciones de aminoácidos conservadoras serán evidentes para el experto en la técnica. Dos o más polipéptidos se dice que son "exactamente el mismo" si tienen una identidad de secuencia del 100 % a lo largo de toda su longitud.

10

15

20

25

30

De acuerdo con la presente invención, el término "fosfolipasa," se refiere a una enzima (o en algunos casos a una combinación de enzimas) que cataliza la liberación de grupos acilo grasos a partir de un fosfolípido. En modos de realización particulares, dicha fosfolipasa es una fosfolipasa A2 (PLA2, EC 3.1.1.4) o una fosfolipasa A1 (EC 3.1.1.32). En otros modos de realización particulares, dicha fosfolipasa puede tener o no otras actividades, tales como triacilglicerol lipasa (EC 3.1.1.3) y/o galactolipasa (EC 3.1.1.26).

En modos de realización particulares, la fosfolipasa puede ser una enzima natural derivada de fuentes microbianas o mamíferas. Un ejemplo particular de una fosfolipasa de mamífero es PLA2 pancreática, por ejemplo PLA2 bovina o porcina tal como el producto comercial Lecitase® 10L (PLA2 porcina, producto de Novozymes A/S).

En modos de realización particulares, las fosfolipasas microbianas pueden derivar de *Fusarium*, por ejemplo, fosfolipasa A1 de *F. oxysporum* (documento WO 1998/026057), fosfolipasa A2 de *F. venenatum* (una fosfolipasa A2 llamada FvPLA2 descrita en el documento WO 2004/097012), de *Tuber*, por ejemplo, fosfolipasa A2 de *T. borchii* (denominada TbPLA2 en el documento WO 2004/097012).

En modos de realización particulares, las fosfolipasas microbianas están disponibles comercialmente como Lipopan F BG o Lipopan Xtra (Novozymes A/S).

En modos de realización particulares, la fosfolipasa también puede ser una variante de la enzima lipolítica con actividad fosfolipasa, por ejemplo, como se describe en los documentos WO2000/032758 o WO 2003/060112 (ambos se incorporan en el presente documento como referencia).

En modos de realización particulares, la fosfolipasa también puede catalizar la liberación de grupos acilo grasos de otros lípidos presentes en la masa, particularmente lípidos de trigo. Por lo tanto, la fosfolipasa puede tener actividad triacilglicerol lipasa (EC 3.1.1.3) y/o actividad galactolipasa (EC 3.1.1.26).

Más en particular, la fosfolipasa es una lipasa que tiene una identidad de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2 (véase la tabla B). En un modo de realización particular, la fosfolipasa es la fosfolipasa con SEQ ID NO 2.

En modos de realización particulares, la fosfolipasa se puede añadir en una cantidad de 100-3000 unidades LU por kg de masa, preferentemente en una cantidad de 150 a 2000 unidades LU por kg de masa, más preferentemente en una cantidad de 200 a 800 unidades por LU kg de masa.

La actividad de la lipasa se puede determinar usando tributirina como sustrato. Este procedimiento se basa en la hidrólisis de tributirina por la enzima, y el consumo de álcali para mantener constante el pH durante la hidrólisis se registra en función del tiempo. Una unidad lipasa (LU) se define como la cantidad de enzima que, bajo condiciones estándar (es decir, a 30 °C; pH 7,0; con 0,1 % p/v de goma arábiga como emulsionante y tributirina 0,16 M como sustrato) libera 1 mmol de ácido butírico valorable por minuto. Un experto en la técnica comprenderá que se pueden usar otros procedimientos para determinar la actividad de la fosfolipasa, por ejemplo usando lecitina como sustrato. En este caso, la lecitina se hidroliza bajo pH y temperatura constantes, y la actividad de la fosfolipasa se determina como la tasa de consumo de valorante (NaOH 0,1 N) durante la neutralización del ácido graso liberado.

Tabla B

Nombre	Secuencia
SEQ ID NO 2	MLLLPLLSAITLAVASPVALDDYVNSLEERAVGVTTTDFGNFKFYIQHGAAAYCNSE
	AAAGSKITCSNNGCPTVQGNGATIVTSFGSKTGIGGYVATDSARKEIVVSFRGSIN
	IRNWLTNLDFGQEDCSLVSGCGVHSGFQRAWNEISSQATAAVASARKANPSFKVI
	STGHSLGGAVAVLAAANLRVGGTPVDIYTYGSPRVGNVQLSAFVSNQAGGEYRVT
	HADDPVPRLPPLIFGYRHTTPEFWLSGGGGDTVDYTISDVKVCEGAANLGCNGGT
	LGLDIAAHLHYFQATDACNAGGFSWRRYRSAESVDKRATMTDAELEKKLNSYVQM
	DKEYVKNNQARS

De acuerdo con la presente invención, el término "amilasa antienranciamiento", se refiere a una enzima que puede retardar el endurecimiento de la miga de la tarta cuando se usa en una cantidad eficaz en los ingredientes de la masa de tarta. Preferentemente, la amilasa antienranciamiento es una alfa-amilasa antienranciamiento. De acuerdo con un modo de realización particular de la presente invención, la alfa-amilasa antienranciamiento se elige del grupo de alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento y alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento. Las alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento y las alfa-amilasas formadoras de maltotetraosa antienranciamiento pueden reducir el enranciamiento de la tarta evitando la pérdida de blandura durante períodos prolongados de almacenamiento.

Preferentemente, la alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento es una enzima clasificada en EC 3.2.1.133. La actividad enzimática principal de la alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento es la catálisis de la liberación de maltosa a partir de amilopectina y amilosa. La alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento también puede hidrolizar maltotriosa y ciclodextrinas.

30

40

Las alfa-amilasas antienranciamiento, como se definen en el presente documento, se pueden obtener de cualquier fuente adecuada, en particular, de cualquier microorganismo adecuado y también se pueden obtener por modificación genética de enzimas conocidas.

Las alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento preferentes son las descritas en los documentos WO91/04669, WO99/43793, WO99/43793, WO2006/032281, WO2008/148845 o EP2486799.

En modos de realización particulares, las alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento toleran altas concentraciones de sacarosa. En modos de realización particulares, dichas alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento tienen una tolerancia al azúcar especificada. En comparación con la actividad de las alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento en ausencia de sacarosa, las alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento pueden tener una actividad de más del 20 % con sacarosa al 10 %, una actividad de más del 10 % con sacarosa al 20 %, o una actividad de más del 4 % con sacarosa al 40 %. La tolerancia al azúcar se puede determinar como se describe en los ejemplos del documento WO 2006/032281.

En modos de realización particulares, las alfa-amilasas maltogénicas antienranciamiento están disponibles comercialmente como Novamyl®, Opticake® 50 BG, Opticake® Fresh de Novozymes A/S.

Una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento, preferentemente una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento tolerante a altas concentraciones de sacarosa, se puede añadir por ejemplo en una cantidad de 10 a 60 SDMU/kg de masa, preferentemente en una cantidad de 15 a 50 SDMU/kg de masa, más preferentemente en una cantidad de 20 a 40 SDMU/kg de masa.

5

10

15

30

35

50

55

Un procedimiento adecuado para poner a prueba la actividad de la alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento es el uso de maltotriosa como sustrato. La alfa-amilasa maltogénica cataliza la hidrólisis de enlaces (1-4)-alfa-D-glucosídicos en maltotriosa para liberar maltosa y glucosa. La reacción de hidrólisis se lleva a cabo a 37 °C en la siguiente solución: maltotriosa 10 mg/ml, CaCl₂.2H₂O 4 mM, Brij 35 112,5 mg/l, citrato de sodio 50 mM pH 5,0. La glucosa liberada se convierte en 6 fosfogluconato y NADH usando hexocinasa y glucosa-6-P-deshidrogenasa. NADH se mide espectrofotométricamente a 340 nm. La cantidad de NADH formada es proporcional a la glucosa formada y a la actividad de la enzima presente en la muestra. La glucosa se puede determinar de forma ventajosa usando un kit comercialmente disponible que contiene todos los reactivos necesarios, tales como el kit de ensayo de glucosa (HK) de Sigma-Aldrich. La actividad de la alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento se expresa en SDMU (unidad maltogénica de masa dulce, *Sweet Dough Maltogenic Unit*) y se mide con relación a un patrón enzimático de potencia conocida. Un ejemplo de patrón enzimático es Opticake 50BG (Novozymes A/S) que contiene 50 SDMU/g de producto.

Preferentemente, la alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento es una enzima clasificada en EC 3.2.1.60. La actividad enzimática principal de la enzima formadora de maltotetraosa antienranciamiento es la catálisis de la liberación de maltotetraosa de amilopectina y amilosa. Las alfa-amilasas formadoras de maltotetraosa antienranciamiento, como se definen en el presente documento, se pueden obtener de cualquier fuente adecuada, en particular, de cualquier microorganismo adecuado y también se pueden obtener por modificación genética de enzimas conocidas.

25 En modos de realización particulares las alfa-amilasas formadoras de maltotetraosa antienranciamiento son las descritas en el documento WO99/50399.

En modos de realización particulares, la alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento está disponible comercialmente como la enzima de repostería POWERSoft® de DuPont Industrial Biosciences. En modos de realización particulares, la alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento se puede añadir en una cantidad de 20 a 500 SKB por kg de masa, preferentemente en una cantidad de 50 a 400 SKB por kg de masa, más preferentemente en una cantidad de 100 a 300 SKB por kg de masa.

La actividad de la alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento se puede medir usando la prueba de amilasa Phadebas® (Magle AB, Suecia). El protocolo del kit se modifica para llevar a cabo el ensayo a 45 °C en un acetato de sodio 100 mM, CaCl₂.2H₂O 20 mM, tampón de pH 5,5. Las unidades dadas por la curva estándar del kit se convierten en SKB/unidades multiplicando el valor por 1,43. La actividad de la alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento también se puede medir como se describe en el documento WO99/ 50399. Una unidad se define como la cantidad de enzima que libera productos de hidrólisis equivalentes a 1 mmol de azúcar reductor por minuto cuando se incuba a 50 °C en un tubo de ensayo con 4 ml de 10 mg/ml de almidón de maíz ceroso en tampón MES 50 mM, cloruro de calcio 2 mM, pH 6,0.

En un modo de realización particular, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de la masa de tarta en el que dicha masa de tarta comprende una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo y una fosfolipasa, teniendo dicha alfa-amilasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1, teniendo dicha fosfolipasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2. En un modo de realización particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es la alfa-amilasa con SEQ ID NO 1 y la fosfolipasa es la fosfolipasa con SEQ ID NO 2.

En un modo de realización particular, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de la masa de tarta en el que dicha masa de tarta comprende una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo, una fosfolipasa y una amilasa antienranciamiento, teniendo dicha alfa-amilasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1, teniendo dicha fosfolipasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2, siendo dicha amilasa antienranciamiento una alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento, preferentemente una amilasa antienranciamiento caracterizada por que conserva más del 20 % de su actividad en presencia de sacarosa al 10 %. En un modo de realización particular, la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es la alfa-amilasa con SEQ ID NO 1, la fosfolipasa es la fosfolipasa con SEQ ID NO 2 y siendo dicha amilasa antienranciamiento una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento o una alfa-amilasa formadora de maltotetraosa

antienranciamiento, preferentemente una amilasa antienranciamiento caracterizada por que conserva más de 20 % de su actividad en presencia de sacarosa al 10 %.

En la presente invención, la dureza (como opuesto de blandura) y la cohesión de una tarta (en particular de la miga de tarta) se pueden evaluar por el uso de un analizador de textura. En este procedimiento, los parámetros de textura se calculan a partir de la curva registrada cuando se realiza un análisis del perfil de textura (TPA) en una muestra de tarta usando un analizador de textura. Se realizan dos deformaciones consecutivas de una muestra de miga cilíndrica (diámetro = 45 mm) con una sonda cilíndrica (diámetro = 100 mm) con una deformación máxima del 50 % de la altura inicial del producto a una velocidad de deformación de 2 mm/s y un tiempo de espera entre las dos deformaciones consecutivas de 3s. La fuerza necesaria para deformar la muestra se registra en función del tiempo.

5

30

40

55

- La dureza es la fuerza máxima necesaria para aplicar una deformación fija del 50 % de la altura inicial de la muestra de tarta. La cohesión se calcula como la proporción (expresada en porcentaje) entre la superficie bajo la segunda curva de deformación (hacia abajo + hacia arriba) y la proporción bajo la primera curva de deformación (hacia abajo + hacia arriba). Se establece un valor de 100 para los respectivos parámetros de textura de la tarta que se usa como referencia en una prueba dada. Todos los demás valores se expresan en relación con esta referencia.
- Los parámetros de textura de la tarta también se pueden evaluar realizando un análisis sensorial usando un grupo 15 de expertos en tartas. Los expertos en tartas son consumidores de tartas que se han entrenado para describir y puntuar las diferentes propiedades de textura de la tarta que describen la frescura de la tarta: blandura, humedad y cohesión, todas de forma individual e independiente. Los expertos en tartas usan una tarjeta de puntuación con una escala con puntuaciones entre 1 y 9 para cada parámetro. Para la blandura, una puntuación de 1 indica una tarta 20 extremadamente dura, difícil de morder, y una puntuación de 9 indica una tarta sumamente blanda, necesitándose mucha menos fuerza para morder la miga de tarta. Para la humedad, una puntuación de 1 indica una miga de tarta sumamente seca y una puntuación de 9 indica una tarta sumamente húmeda. Para la cohesión, una puntuación de 1 indica una tarta muy desmenuzable y una puntuación de 9 indica una tarta muy cohesionada que permanece de una sola pieza. Los miembros del grupo reciben una tarta de referencia con una puntuación fija para el/los parámetro(s) de frescura que tienen que evaluarse y se les pide que puntúen las tartas de prueba con respecto a la tarta de 25 referencia. Se calibran análisis sensoriales como se describe anteriormente y una diferencia de valor de 0,5 se considera significativa.

En un modo de realización particular, el procedimiento de acuerdo con la presente invención proporciona un producto de repostería que tiene una humedad mejorada, determinándose preferentemente la humedad por un grupo de expertos en tartas. En un modo de realización particular, la humedad de dicho producto de repostería se mejora en al menos 0,5 unidades cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo. Más en particular, la humedad de dicho producto de repostería se mejora en al menos 1 unidad cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo.

Para la cohesión y la blandura, se puede encontrar una buena correlación entre el análisis de la textura y los resultados del análisis sensorial. Sin embargo, hoy en día no existe ningún procedimiento físico fiable para evaluar la humedad de las tartas de una manera tal que se correlacione con las sensaciones sentidas por un consumidor de tarta.

Los parámetros de textura de las tartas se pueden evaluar adicionalmente por un grupo de personas no entrenadas en la evaluación sensorial. Normalmente se pide a un grupo de consumidores lambda que comparen dos o más muestras de tarta y que indiquen cuál es la más blanda, húmeda y/o cohesionada o bien que las clasifiquen en una escala de la menos dura/húmeda/cohesionada a la más dura/húmeda/cohesionada.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona en un producto de masa de tarta o producto de repostería que comprende una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas, y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento.

Más en particular, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la presente invención proporciona una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de dicha masa de tarta, en el que la masa de tarta comprende una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo y una fosfolipasa, teniendo dicha alfa-amilasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1, teniendo dicha fosfolipasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2.

Más en particular, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la presente invención proporciona una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de dicha masa de tarta, en el que la masa de tarta comprende una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo, una fosfolipasa y una amilasa antienranciamiento, teniendo dicha alfa-amilasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1, teniendo dicha fosfolipasa una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2, siendo dicha amilasa antienranciamiento una alfa-amilasa maltogénica o una alfa-amilasa antienranciamiento formadora de maltotetraosa.

En modos de realización particulares, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la invención proporciona una amilasa antienranciamiento que retiene más del 20 % de su actividad en presencia del 10 % de sacarosa.

En modos de realización particulares, la masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la presente invención proporciona una masa de tarta de nata o producto de repostería de nata.

La presente invención también se refiere a mezclas para tartas y premezclas para tartas que comprenden una fosfolipasa y una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo, preferentemente en combinación con una alfa-amilasa antienranciamiento maltogénica. Típicamente, una mezcla para tartas comprende todos los ingredientes de una receta de tarta con la excepción de agua, grasa (aceite, mantequilla, margarina) y huevos. Típicamente, una premezcla para tartas es una mezcla para tartas donde se ha eliminado la totalidad o parte de la harina y el azúcar.

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento para mejorar la humedad, en el que la humedad se determina preferentemente mediante un grupo de expertos en tartas. En particular, la humedad del producto de repostería se mejora en al menos 0,5 unidades cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo.

La presente invención también se refiere al uso de mezclas para tartas y premezclas para tartas como se describe anteriormente para preparar el producto de repostería y en particular productos de repostería de nata.

EJEMPLOS

10

15

25

30

35

EJEMPLO 1: Efecto de la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo sobre la textura de la tarta.

Se prepararon bizcochos de nata usando una receta de masa de tarta típica usando los ingredientes enumerados en la tabla 1.

Ingredientes %p en la masa Base de tarta de nata satinada * (Puratos N.V., Bélgica) 12 Azúcar 24 Almidón de trigo natural (Syral, Bélgica) 4 Harina (Brabomills NV, Bélgica) 13 Huevos enteros pasteurizados 19 Aceite de colza 16 12 Agua * Contiene emulsionantes, gomas, gluten, levadura química, almidón, suero en polvo

Tabla 1

Dosis crecientes (véase la tabla 2) de una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO 1 (denominada en este y en los siguientes ejemplos RSDE) se añaden a masas separadas.

Todos los ingredientes se pesan en un recipiente de mezcla empezando por los ingredientes líquidos: agua, huevos pasteurizados y aceite. Todos los ingredientes se mezclan manualmente en primer lugar con una espátula y posteriormente se mezclan con un mezclador planetario (Hobart tipo N50) durante 2 minutos a velocidad 1 y 2 minutos a velocidad 2. Porciones de 300 g de masa se pesan en un molde de hornear de aluminio, se coloca sobre una bandeja de horno y se hornea en un horno de pisos (MIWE Condo) a 180 °C durante 45 minutos. Después del horneado, las tartas (en los moldes) se enfrían en un estante durante dos horas a temperatura ambiente).

Dos horas después del horneado, la forma de las tartas se comprueba visualmente, las tartas se envasan en atmósfera modificada y se almacenan adicionalmente en una sala acondicionada a 20 °C hasta su evaluación adicional. Las propiedades de textura se miden usando un analizador de textura Stable Micro Systems (Tipo TAXT plus) usando el procedimiento de TPA como se describe anteriormente, respectivamente un día y 21 días después del horneado. Los resultados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2: Propiedades de la tarta

Enzima (unidades FAU-F/kg de masa)	Forma de la tarta	Cohesión		Dureza	l
		Día 1	Día 21	Día 1	Día 21
0	OK	100	75	100	160
0,91	OK	91	67	100	162

1,52	ОК	94	63	106	152
3,04	OK	90	61	105	168
4,56	Deformación	90	60	120	175
6,07	Deformación	86	49	130	154

La alfa-amilasa de degradación del almidón crudo tiene un efecto negativo sobre la forma y la cohesión de las tartas. A dosificaciones en las que las tartas no se deforman, no hay ningún efecto significativo sobre la dureza.

EJEMPLO 2: Humedad y blandura (dureza) no son el mismo parámetro.

5 Se prepararon masas de tarta de nata usando una receta de masa de magdalenas típica usando los ingredientes enumerados en la tabla 3. Las enzimas usadas son RSDE (véase el ejemplo 1), Lipopan F (fosfolipasa - Novozymes A/S - actividad 25.000 LU/g) y Opticake 50BG (amilasa maltogénica antienranciamiento - Novozymes A/S - actividad 50 SDMU/g).

Tabla 3

Ingredientes	REF2	PM2	PMR2		
Mezcla para tarta de nata* (%p en masa) (Puratos N.V.)	53	53	53		
Harina (Brabomills NV, Bélgica)	0,2	0,06	0,05		
Huevos enteros pasteurizados (%p en masa)	18,6	18,5	18,5		
Aceite de colza (%p en masa)	16	16	16		
Agua (%p en masa)	12	12	12		
RSDE (unidades FAU-F/kg de masa)	0	0	4,56		
Lipopan F (mg/kg de masa)	0	12	12		
Opticake 50BG (mg/kg de masa)	0	590	590		
*Contiene azúcar, harina, emulsionantes, levadura química					

10

La dureza de la tarta se mide un día después del horneado como se describe en el ejemplo 1 (tabla 4). El análisis sensorial se realiza un día después del horneado como se describe en el ejemplo 3 (tabla 5).

Tabla 4

Dureza de la miga de tarta	1 día
REF2	100
PM2	82
PMR2	81

15

Tabla 5

	Puntuación de humedad promedio después de 1 día
PM2	6,5
PMR2	7,5

La humedad de las magdalenas preparadas con la adición de una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo junto con una fosfolipasa y una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento es significativamente mayor que la humedad de las magdalenas preparadas con la adición solamente de una fosfolipasa y una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento. La dureza (blandura) de ambas migas de tarta se mantiene sin cambios.

EJEMPLO 3: La enzima de degradación de almidón crudo y la fosfolipasa actúan de forma sinérgica.

20

Se prepararon bizcochos de nata usando la misma receta y procedimiento que en el ejemplo 1. Las enzimas usadas en las dosis indicadas en la tabla 6 son RSDE (véase el ejemplo 1) y Lipopan F (fosfolipasa - Novozymes A/S).

Tabla 6

Ingredientes	REF3	P3	R3	PR3
RSDE (unidades FAU-F/kg de masa)	0	0	4,5	3
Lipopan F (mg/kg de masa)	0	16	0	16

- Dos horas después del horneado, la forma de las tartas se comprueba visualmente, las tartas se envasan en atmósfera modificada y se almacenan adicionalmente en una sala acondicionada a 20 °C hasta su evaluación adicional. Las propiedades de textura se miden usando un analizador de textura Stable Micro Systems (Tipo TAXT plus) usando el procedimiento de TPA como se describe anteriormente, respectivamente un día y 28 días después del horneado. Los resultados se presentan en la tabla 7.
- Se realiza un análisis sensorial de las tartas después de 4 semanas de almacenamiento por un grupo de 13 evaluadores cualificados a los que se les pide que puntúen la humedad de las tartas entre la puntuación 1 y la puntuación 9 en comparación con la tarta de referencia para la que la puntuación de humedad se fija en 5.

Tabla 7: Propiedades de la tarta 4 semanas después del horneado:

	Humedad	Cohesión	Dureza
REF3	5,0	100	100
P3	6,0	114	84
R3	6,1	99	84
PR3	7,0	119	56

EJEMPLO 4: Bizcochos de nata

15 Se prepararon bizcochos de nata usando una receta de masa de tarta típica usando los ingredientes enumerados en la tabla 8.

Tabla 8

Ingredientes	%p en masa			
Base de tarta de nata satinada * (Puratos N.V., Bélgica)	12			
Sorbato de potasio	0,2			
Azúcar	24			
Harina (Meneba, Bélgica)	17			
Huevos enteros pasteurizados	18,8			
Aceite de colza	16			
Agua 12				
* Contiene emulsionantes, gomas, gluten, levadura química, almidón, suero en polvo				

Las enzimas usadas en las dosis indicadas en la tabla 9 son RSDE (véase el ejemplo 1), Lipopan F (fosfolipasa - Novozymes A/S) y Opticake 50BG (amilasa maltogénica antienranciamiento - Novozymes A/S).

Tabla 9

	REF4	PM4	PMR4
RSDE (unidades FAU-F/kg de masa)	0	0	4,55
Lipopan F (mg/kg de masa)	0	12	12
Opticake 50BG (mg/kg de masa)	0	590	590

La textura de las tartas se mide como se describe en el ejemplo 1, respectivamente, después de un día y uno, dos, cuatro y cinco meses después del horneado (tabla 10).

Se realiza un análisis sensorial de las tartas por un grupo de evaluadores cualificados después de uno, dos, cuatro y cinco meses. Los evaluadores se han entrenado en la evaluación de la textura y la humedad de las tartas. Cada evaluador recibe un plato con dos muestras de tarta y se le pide que puntúe las muestras en una escala de 1-9 de acuerdo con la humedad percibida. Las pruebas se calibran estableciendo un valor fijo para la tarta de referencia. Se percibe una diferencia de puntuación de 0,5 puntos por los evaluadores entrenados y es significativa (tabla 11).

10 <u>Tabla 10</u>

		1 día	1 mes	2 meses	4 meses	5 meses
Dureza	REF4	100	172	194	225	223
	PM4	92	141	141	161	184
	PMR4	59	101	101	104	115
Cohesión	REF4	100	76	73	59	64
	PM4	98	95	94	86	90
	PMR4	96	97	97	86	92

Tabla 11

	Humedad promedio											
	1 mes (8 expertos)	2 meses (9 expertos)	4 meses (10 expertos)	5 meses (9 expertos)								
PM4	6,0	5,0	5,0	4,0								
PMR4	7,6	6,8	6,8	6,3								

Después de un almacenamiento prolongado, las tartas preparadas con la adición de una combinación de una alfaamilasa de degradación del almidón crudo, una fosfolipasa y una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento son menos duras, son más cohesionadas y se perciben como más húmedas que las tartas preparadas con la adición de fosfolipasa y amilasa maltogénica antienranciamiento.

EJEMPLO 5: Evaluación a gran escala.

Se preparan bizcochos de nata como en el ejemplo 3. Se usaron las mismas enzimas en las dosis indicadas en la tabla 12.

Tabla 12

	PM5	PMR5
RSDE (unidades FAU-F/kg de masa)	0	4,55
Lipopan F (mg/kg de masa)	12	12
Opticake 50BG (mg/kg de masa)	590	590

La textura de las tartas se mide como se describe en el ejemplo 1, respectivamente, después de un día y dos meses después del horneado (tabla 13).

Tabla 13

		1 día	2 meses	
Dureza	PM5	100	182	
Duleza	PMR5	78	135	
Cohesión	PM5	100	87	
Coriesion	PMR5	101	87	

Se ha realizado una evaluación sensorial de las tartas después de un tiempo de almacenamiento de 2 meses por 115 consumidores del Reino Unido. El 66 % de los encuestados han estimado que las tartas etiquetadas como PM5 son más húmedas. Este valor es estadísticamente significativo (Prueba de Friedman : valor de p: <0,0001, riesgo alfa: 5 %).

EJEMPLO 6: Magdalenas de nata.

5

20

Las masas de tarta se preparan como se describe en el ejemplo 4 con las mismas enzimas en las dosis indicadas en la tabla 14.

10 <u>Tabla 14</u>

	REF6	PM6	PMR6
RSDE (unidades FAU-F/kg de masa)	0	0	4,55
Lipopan F (mg/kg de masa)	0	12	12
Opticake 50BG (mg/kg de masa)	0	590	590

Se pesan manualmente porciones de 40 g de las masas de tarta en vasos de papel para magdalenas y se hornean durante 23 minutos en un horno de pisos (MIWE Condo) a 180 °C. Después de 2 horas de enfriamiento a temperatura ambiente, las magdalenas se envasan en atmósfera modificada y se almacenan a 20 °C.

La textura de la magdalena se mide como se describe en el ejemplo 1 un día, uno, dos, cuatro y cinco meses después del horneado con la adaptación de la preparación de las magdalenas para la medición: se retira el vaso de papel y se retira la superficie superior de las magdalenas usando un cuchillo nivelador de bizcochos, dando como resultado una muestra de magdalena de 2,5 cm de altura. Los resultados se presentan en la tabla 15.

Se realiza un análisis sensorial de las tartas por un grupo de evaluadores cualificados después de uno, dos, cuatro y cinco meses. Los evaluadores se han entrenado en la evaluación de la textura y la humedad de las tartas. Cada evaluador recibe un plato con dos muestras de tarta y se le pide que puntúe las muestras en una escala de 1-9 de acuerdo con la humedad percibida. Las pruebas se calibran estableciendo un valor fijo para la tarta de referencia. Se percibe una diferencia de puntuación de 0,5 puntos por los evaluadores entrenados y es significativa. Los resultados se presentan en la tabla 16.

25 <u>Tabla 15</u>

		1 día	1 mes	2 meses	4 meses	5 meses
Dureza	REF6	100	135	153	201	253
	PM6	90	117	115	156	187
	PMR6	66	82	88	113	130
Cohesión	REF6	100	75	72	69	70
	PM6	95	81	78	75	79
	PMR6	87	80	77	73	76

Tabla 16

	Puntuación de humedad promedio después de un periodo de almacenamiento de												
	1 mes (8 expertos)	2 meses (9 expertos)	4 meses (10 expertos)	5 meses (9 expertos									
PM6	5,0	5,0	5,0	3,5									
PMR6	6,4	6,3	6,2	5,7									

Después de un almacenamiento prolongado, las magdalenas preparadas con la adición de una alfa-amilasa de degradación del almidón crudo, una fosfolipasa y una alfa-amilasa maltogénica antienranciamiento son menos duras y se perciben significativamente como más húmedas que las tartas preparadas con la adición de fosfolipasa y amilasa maltogénica antienranciamiento.

EJEMPLO 7: Otra amilasa antienranciamiento.

5

10

15

Se prepararon masas de tarta de nata y se procesaron como en el ejemplo 3. Las enzimas se usan en las dosis indicadas en la tabla 17: RSDE (véase el ejemplo 1), Lipopan F (fosfolipasa - Novozymes A/S) y enzima de repostería POWERSoft® (amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento - DuPont Industrial Biosciences).

Tabla 17

	REF9	РМ9	PMR9
RSDE (unidades FAU-F/kg de masa)	0	0	4,55
Lipopan F (mg/kg de masa)	0	12	12
Enzima de repostería PowerSoft® (SKB/kg de masa)	0	213	213

La textura de la tarta se mide uno y 21 días después del horneado como se describe en el ejemplo 1 (tabla 18). El análisis sensorial se realiza uno y 21 días después del horneado como se describe en el ejemplo 3 (tabla 19)

Tabla 18

		1 día	21 días
Dureza de la miga de tarta	REF7	100	167
	PM7	73	109
	PMR7	56	82

Tabla 19

	Puntuación de humedad promedio después de										
	1 día	21 días									
PM7	7	5,5									
PMR7	8,25 7										

Después de 21 días de almacenamiento, las tartas preparadas con la adición de una combinación de una alfaamilasa de degradación del almidón crudo, una fosfolipasa y una alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento son menos duras y se perciben como más húmedas que las tartas preparadas con la adición de la fosfolipasa y la alfa-amilasa formadora de maltotetraosa antienranciamiento.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Puratos NV

25 <120> MASAS DE TARTA MEJORADAS

<130> PURA-509-EP

```
<150> BE 2014/5000
     <151> 29/09/2014
    <160> 2
    <170> Patentln versión 3.5
    <210> 1
    <211> 583
     <212> PRT
     <213> Secuencia artificial
    <220>
10
    <223> alfa-amilasa
     <400> 1
       Ala Thr Ser Asp Asp Trp Lys Gly Lys Ala Ile Tyr Gln Leu Leu Thr
       Asp Arg Phe Gly Arg Ala Asp Asp Ser Thr Ser Asn Cys Ser Asn Leu
       Ser Asn Tyr Cys Gly Gly Thr Tyr Glu Gly Ile Thr Lys His Leu Asp
       Tyr Ile Ser Gly Met Gly Phe Asp Ala Ile Trp Ile Ser Pro Ile Pro
       Lys Asn Ser Asp Gly Gly Tyr His Gly Tyr Trp Ala Thr Asp Phe Tyr
       Gln Leu Asn Ser Asn Phe Gly Asp Glu Ser Gln Leu Lys Ala Leu Ile
       Gln Ala Ala His Glu Arg Asp Met Tyr Val Met Leu Asp Val Val Ala
       Asn His Ala Gly Pro Thr Ser Asn Gly Tyr Ser Gly Tyr Thr Phe Asp
       Asp Ala Ser Leu Tyr His Pro Lys Cys Thr Ile Asp Tyr Asn Asn Gln
                                135
       Thr Ser Ile Glu Gln Cys Trp Val Ala Asp Glu Leu Pro Asp Ile Asp
```

150

155

Thr	Glu	Asn	Ser	Asp 165	Asn	Val	Ala	Ile	Leu 170	Asn	Asp	Ile	Val	Ser 175	Gly
Trp	Val	Gly	Asn 180	Tyr	Ser	Phe	Asp	Gly 185	Ile	Arg	Ile	Asp	Thr 190	Val	Lys
His	Ile	Arg 195	Lys	Asp	Phe	Trp	Thr 200	Gly	Tyr	Ala	Glu	Ala 205	Ala	Gly	Val
Phe	Ala 210	Thr	Gly	Glu	Val	Phe 215	Asn	Gly	Asp	Pro	Ala 220	Tyr	Val	Gly	Pro
Tyr 225	Gln	Lys	Tyr	Leu	Pro 230	Ser	Leu	Ile	Asn	Tyr 235	Pro	Met	Tyr	Tyr	Ala 240
Leu	Asn	Asp	Val	Phe 245	Val	Ser	Lys	Ser	Lys 250	Gly	Phe	Ser	Arg	Ile 255	Ser
Glu	Met	Leu	Gly 260	Ser	Asn	Arg	Asn	Ala 265	Phe	Glu	Asp	Thr	Ser 270	Val	Leu
Thr	Thr	Phe 275	Val	Asp	Asn	His	Asp 280	Asn	Pro	Arg	Phe	Leu 285	Asn	Ser	Gln
Ser	Asp 290	Lys	Ala	Leu	Phe	Lys 295	Asn	Ala	Leu	Thr	Tyr 300	Val	Leu	Leu	Gly
Glu 305	Gly	Ile	Pro	Ile	Val 310	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Glu 315	Gln	Gly	Phe	Ser	Gly 320
Gly	Ala	Asp	Pro	Ala 325	Asn	Arg	Glu	Val	Leu 330	Trp	Thr	Thr	Asn	Tyr 335	Asp
Thr	Ser	Ser	Asp 340	Leu	Tyr	Gln	Phe	Ile 345	Lys	Thr	Val	Asn	Ser 350	Val	Arg
Met	Lys	Ser 355	Asn	Lys	Ala	Val	Tyr 360	Met	Asp	Ile	Tyr	Val 365	Gly	Asp	Asn
Ala	Tyr 370	Ala	Phe	Lys	His	Gly 375	Asp	Ala	Leu	Val	Val 380	Leu	Asn	Asn	Tyr
Gly 385	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn 390	Gln	Val	Ser	Phe	Ser 395	Val	Ser	Gly	Lys	Phe 400
Asp	Ser	Gly	Ala	Ser	Leu	Met	Asp	Ile	Val	Ser	Asn	Ile	Thr	Thr	Thr

					405					410					415	
	Val	Ser	Ser	Asp 420	Gly	Thr	Val	Thr	Phe 425	Asn	Leu	Lys	Asp	Gly 430	Leu	Pro
	Ala	Ile	Phe 435	Thr	Ser	Ala	Thr	Gly 440	Gly	Thr	Thr	Thr	Thr 445	Ala	Thr	Pro
	Thr	Gly 450	Ser	Gly	Ser	Val	Thr 455	Ser	Thr	Ser	Lys	Thr 460	Thr	Ala	Thr	Ala
	Ser 465	Lys	Thr	Ser	Thr	Ser 470	Thr	Ser	Ser	Thr	Ser 475	Cys	Thr	Thr	Pro	Thr 480
	Ala	Val	Ala	Val	Thr 485	Phe	Asp	Leu	Thr	Ala 490	Thr	Thr	Thr	Tyr	Gly 495	Glu
	Asn	Ile	Tyr	Leu 500	Val	Gly	Ser	Ile	Ser 505	Gln	Leu	Gly	Asp	Trp 510	Glu	Thr
	Ser	Asp	Gly 515	Ile	Ala	Leu	Ser	Ala 520	Asp	Lys	Tyr	Thr	Ser 525	Ser	Asp	Pro
	Leu	Trp 530	Tyr	Val	Thr	Val	Thr 535	Leu	Pro	Ala	Gly	Glu 540	Ser	Phe	Glu	Tyr
	Lys 545	Phe	Ile	Arg	Ile	Glu 550	Ser	Asp	Asp	Ser	Val 555	Glu	Trp	Glu	Ser	Asp 560
	Pro	Asn	Arg	Glu	Tyr 565	Thr	Val	Pro	Gln	Ala 570	Cys	Gly	Thr	Ser	Thr 575	Ala
	Thr	Val	Thr	Asp 580	Thr	Trp	Arg									
<210	> 2															
<211> 345																
<212	> PRT															
<213	> Secı	uencia	artific	ial												
<220	>															

5

<223> fosfolipasa

<400> 2

Met Leu Leu Leu Pro Leu Leu Ser Ala Ile Thr Leu Ala Val Ala Ser 1 5 10 15

Pro Val Ala Leu Asp Asp Tyr Val Asn Ser Leu Glu Glu Arg Ala Val 20 25 30

Gly	Val	Thr 35	Thr	Thr	Asp	Phe	Gly 40	Asn	Phe	Lys	Phe	Tyr 45	Ile	Gln	His
Gly	Ala 50	Ala	Ala	Tyr	Cys	Asn 55	Ser	Glu	Ala	Ala	Ala 60	Gly	Ser	Lys	Ile
Thr 65	Cys	Ser	Asn	Asn	Gly 70	Cys	Pro	Thr	Val	Gln 75	Gly	Asn	Gly	Ala	Thr 80
Ile	Val	Thr	Ser	Phe 85	Gly	Ser	Lys	Thr	Gly 90	Ile	Gly	Gly	Tyr	Val 95	Ala
Thr	Asp	Ser	Ala 100	Arg	Lys	Glu	Ile	Val 105	Val	Ser	Phe	Arg	Gly 110	Ser	Ile
Asn	Ile	Arg 115	Asn	Trp	Leu	Thr	Asn 120	Leu	Asp	Phe	Gly	Gln 125	Glu	Asp	Cys
Ser	Leu 130	Val	Ser	Gly	Cys	Gly 135	Val	His	Ser	Gly	Phe 140	Gln	Arg	Ala	Trp
Asn 145	Glu	Ile	Ser	Ser	Gln 150	Ala	Thr	Ala	Ala	Val 155	Ala	Ser	Ala	Arg	Lys 160
Ala	Asn	Pro	Ser	Phe 165	Lys	Val	Ile	Ser	Thr 170	Gly	His	Ser	Leu	Gly 175	Gly
Ala	Val	Ala	Val 180	Leu	Ala	Ala	Ala	Asn 185	Leu	Arg	Val	Gly	Gly 190	Thr	Pro
Val		Ile 195	Tyr	Thr	Tyr	Gly	Ser 200		Arg	Val	Gly	Asn 205	Val	Gln	Leu
Ser	Ala 210	Phe	Val	Ser	Asn	Gln 215	Ala	Gly	Gly	Glu	Tyr 220	Arg	Val	Thr	His
Ala 225	Asp	Asp	Pro	Val	Pro 230	Arg	Leu	Pro	Pro	Leu 235	Ile	Phe	Gly	Tyr	Arg 240
His	Thr	Thr	Pro	Glu 245	Phe	Trp	Leu	Ser	Gly 250	Gly	Gly	Gly	Asp	Thr 255	Val
Asp	Tyr	Thr	Ile 260	Ser	Asp	Val	Lys	Val 265	Cys	Glu	Gly	Ala	Ala 270	Asn	Leu
Gly	Cys	Asn	Gly	Gly	Thr	Leu	Gly	Leu	Asp	Ile	Ala	Ala	His	Leu	His

		275					280					285			
Tyr	Phe 290	Gln	Ala	Thr	Asp	Ala 295	Cys	Asn	Ala	Gly	Gly 300	Phe	Ser	Trp	Arg
Arg 305	Tyr	Arg	Ser	Ala	Glu 310	Ser	Val	Asp	Lys	Arg 315	Ala	Thr	Met	Thr	Asp 320
Ala	Glu	Leu	Glu	Lys 325	Lys	Leu	Asn	Ser	Tyr 330	Val	Gln	Met	Asp	Lys 335	Glu
Tyr	Val	Lys	Asn 340	Asn	Gln	Ala	Arg	Ser 345							

REIVINDICACIONES

- 1. Un procedimiento para preparar una masa de tarta o un producto de repostería preparado a partir de la masa, que comprende añadir en cualquier orden una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas, y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento a los ingredientes de la masa de tarta, y preparar la masa de tarta.
- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se mejora la humedad de dicho producto de repostería, determinándose preferentemente la humedad mediante un grupo de expertos en tartas.
- 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que se mejora la humedad del producto de repostería en al menos 0,5 unidades cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo.
- 4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es una alfa-amilasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1.
- 5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la fosfolipasa es una fosfolipasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2.
 - 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la amilasa antienranciamiento conserva más del 20 % de su actividad en presencia del 10 % de sacarosa.
- 7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha masa de tarta o producto de repostería se leuda químicamente.
 - 8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicha masa de tarta comprende:
 - 15-30 % en peso de harina y/o almidón, tales como harina no tratada, harina tratada térmicamente, harina clorada, almidón modificado y/o almidón natural;
- 15-30 % en peso de azúcar;

5

10

30

- 10-25 % en peso de huevos, tales como huevos enteros, clara de huevo v/o vema de huevo;
- 0-2 % en peso de emulsionante, tal como mono y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de propilenglicol de ácidos grasos, ésteres de ácido láctico de mono y diglicéridos de ácidos grasos, y/o estearoil-2-lactilato de sodio;
- 0,3-1 % en peso de levadura química, tal como que contiene bicarbonato sódico y ácido o sales de ácidos;
 - 0-1 % en peso de hidrocoloides, tales como goma de algarrobo, goma guar, goma de tara, goma xantana, carragenina, goma arábiga, celulosa, celulosa modificada y/o pectina;
 - 10-25 % en peso de mantequilla o grasa vegetal, tal como, por ejemplo, aceite, margarina, manteca, pasta grasa o grasa en polvo; y
- 0-15 % en peso de agua;

con % en peso comparado con el peso total de la masa de tarta.

- 9. Una masa de tarta o producto de repostería que comprende una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento.
- 10. La masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la alfa-amilasa de degradación del almidón crudo es una alfa-amilasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 1.
 - 11. La masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en el que la fosfolipasa es una fosfolipasa que tiene una homología de secuencia de al menos el 85 %, preferentemente al menos el 90 %, más preferentemente al menos el 95 % con SEQ ID NO 2.
- 45 12. La masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, en el que la amilasa antienranciamiento conserva más del 20 % de su actividad en presencia del 10 % de sacarosa.
 - 13. La masa de tarta o producto de repostería de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que dicha masa de tarta es una masa de tarta de nata o dicho producto de repostería es un producto de

repostería de nata.

- 14. Uso de una o más alfa-amilasas de degradación del almidón crudo, una o más fosfolipasas y opcionalmente una o más amilasas antienranciamiento para mejorar la humedad en un producto de repostería, en el que la humedad se determina preferentemente mediante un grupo de expertos en tartas.
- 5 15. El uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que se mejora la humedad del producto de repostería en al menos 0,5 unidades cuando se evalúa en una escala de 1 a 9 y se compara con una referencia que tiene un valor fijo.