

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 994**

51 Int. Cl.:

<b>C09K 15/00</b>	(2006.01)
<b>C11B 5/00</b>	(2006.01)
<b>A23G 3/32</b>	(2006.01)
<b>A23D 7/06</b>	(2006.01)
<b>A23L 27/60</b>	(2006.01)
<b>A23L 33/10</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.06.2016 PCT/EP2016/062861**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2017 WO17001154**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2016 E 16730746 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 3317372**

54 Título: **Composición que contiene aceite vegetal, caramelo y compuestos fenólicos**

30 Prioridad:

**30.06.2015 EP 15174544**

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

**13.03.2019**

73 Titular/es:

**UNILEVER NV (100.0%)  
Weena 455  
3013 AL Rotterdam, NL**

72 Inventor/es:

**ACHARYA, PARAG;  
BIALEK, JADWIGA, MALGORZATA;  
VAN DEN BROEK, JOHANNES, HENDRIKUS,  
MARIA y  
JANSEN, FRANCISCUS, JOHANNES, HENRICUS,  
MARIA**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**ES 2 703 994 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

Composición que contiene aceite vegetal, caramelo y compuestos fenólicos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición que comprende aceite vegetal, caramelo y uno o más compuestos fenólicos. La invención también se refiere a un método para preparar la composición. Finalmente, la invención se refiere al uso del caramelo y uno o más compuestos fenólicos para disminuir la oxidación del aceite vegetal.

**Antecedentes de la invención**

El aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados en los productos alimenticios presenta una tendencia a la oxidación durante el almacenamiento del producto alimenticio. Esto provoca rancidez, y hace que los consumidores rechacen el producto alimenticio. Por tanto, los productos alimenticios, con frecuencia, contienen antioxidantes para impedir la oxidación del aceite vegetal, en particular, los productos alimenticios que se almacenan durante un tiempo relativamente prolongado. Un antioxidante habitual es el EDTA (*ethylene-diamine-tetra-acetic acid*, ácido etilendiaminotetraacético), que se une a iones metálicos que, generalmente, fomentan la oxidación de los triglicéridos en el aceite vegetal. Dichos iones metálicos pueden estar presentes como parte de los ingredientes alimenticios habituales. No obstante, los consumidores consideran que el EDTA es una sustancia química y artificial, por tanto, existe la necesidad de contar con alternativas que sean naturales. En la industria alimentaria se hacen cada vez más esfuerzos para eliminar los ingredientes artificiales de los productos alimenticios y para reemplazarlos por alternativas naturales. A causa de su eficacia, coste razonable y debido a la falta de alternativas viables, no obstante, hasta el momento, el EDTA ha sido uno de los ingredientes artificiales más difíciles de reemplazar. Muchos compuestos son conocidos por sus propiedades antioxidantes, no obstante, no todos los compuestos resultan eficaces en grado suficiente.

El documento WO 96/34535 se refiere a una mezcla seca para bebida con aroma a chocolate y a un procedimiento para obtenerla.

El documento EP 1 446 020 B1 se refiere a un procedimiento para preparar una bebida, más específicamente un refresco, que se obtiene a partir de una mezcla de extracto de café con extracto fluido de nuez de cola (*Cola nitida*).

35 Takenaka Tetsuo *et al.* (Bulletin of the Faculty of Agriculture Tamagawa University, vol. 0, n.º 36, 1996, págs.1-9 (resumen accesible a través de la base de datos Biosis) se refiere a caramelos que se preparan fundiendo glucosa con citrato de sodio.

El documento WO 2013/189709 A1 se refiere a mayonesa sin EDTA, que contiene zumo de uva reducido.

40 El documento JPH10150949 A2 da a conocer el uso de caramelo como antioxidante para nata montada y crema de mantequilla. El caramelo se prepara usando pentosas y/o hexosas como materia prima de base. El caramelo se prepara mediante tratamiento térmico durante de 1 a 10 horas, a entre 120 y 150°C.

45 El documento CN 101708062 se refiere al uso de polifenoles de té modificados en alimentos grasos, para mejorar la actividad antioxidante.

50 En el documento de X. Zhang *et al.* (Food Chemistry, 141, págs. 3451-3458, 2013) se encuentra la investigación de la repercusión de seis polifenoles alimenticios (floretilina, naringenina, quercetina, epicatequina, ácido clorogénico y ácido rosmarínico) en la caramelización de fructosa en sistemas de modelos térmicos, ya sea a pH neutro o alcalino. La combinación de polifenol y fructosa en la preparación de caramelo conduce a la formación de antioxidantes.

55 En el documento de P.J. Tsai *et al.* (Abstracts of Papers, 234º ACS National Meeting, Boston, MA, EE.UU., 19 a 23 de agosto de 2007, AGFD-191) se da a conocer que una combinación de polifenol y azúcares en la preparación de caramelo conduce a la formación de antioxidantes.

60 En el documento de C. Severini *et al.* (Italian Journal of Food Science, 10(2) págs.147-153, 1998) se describe que los productos de la reacción de Maillard disminuyen la velocidad de oxidación del aceite de soja en una emulsión. Estos se prepararon mediante el calentamiento de una combinación de lisina y glucosa a 90°C durante un periodo de tiempo que osciló entre 1 y 120 horas. Los productos de caramelización preparados a partir de glucosa a 90°C durante un periodo de tiempo que osciló entre 1 y 120 horas no disminuyeron la velocidad de oxidación del aceite de soja en una emulsión.

65 En el documento de M.L. Chen *et al.* (International Journal of Food Engineering, vol.8, n.º 2, art. 15, 2012) se hace referencia al desarrollo de color durante la caramelización de disoluciones ácidas de glucosa, a una temperatura que oscila entre 75 y 95°C, durante periodos de tiempo que oscilan entre 500 y 2500 horas. Cuanto más prolongado es

el tiempo de calentamiento, mayor resulta la actividad antioxidante del azúcar calentado.

En el documento de P.J. Tsai *et al.* (Food Research International, 42(3), págs. 380-386, 2009), también se estudia la formación de compuestos coloreados durante la caramelización de fructosa, xilosa, glucosa y sacarosa, a 90°C, durante periodos de tiempo que oscilan entre 4 y 24 horas. Cuanto más oscuro es el caramelo, más intensa resulta la actividad antioxidante.

En el documento de J.S. Kim *et al.* (Food Science and Biotechnology, 17(5), págs. 931-939, 2008) se hace referencia a la actividad antioxidante de los productos de caramelización obtenidos mediante el pardeamiento (*browning*) de disoluciones de glucosa y fructosa, a un pH de 7,0-12,0 y a 80-180°C.

### Sumario de la invención

Generalmente, se requiere un antioxidante para impedir la oxidación de los triglicéridos en aceite vegetal en los productos alimenticios, en particular, en productos que se almacenan con frecuencia durante un lapso prolongado. Los consumidores están cada vez más interesados en productos alimenticios que no contengan ingredientes que se perciban como sustancias químicas o artificiales. Por este motivo, uno de los objetivos de la presente invención consiste en proporcionar un sistema de antioxidantes que se pueda considerar como un ingrediente natural o conocido, y que el consumidor no considere una sustancia química artificial. Otro objetivo de la presente invención consiste en proporcionar productos alimenticios que contengan aceite vegetal que contiene dicho sistema de antioxidantes, y que no contengan EDTA o que contengan muy poca cantidad. Más aun, la oxidación de los triglicéridos en el aceite vegetal en dichos productos alimenticios durante el almacenamiento no obstante, debe ser lo menor posible, por tanto, es otro objetivo de la presente invención proporcionar productos alimenticios que presenten esa propiedad. El producto alimenticio puede contener un sistema de antioxidantes, y dicho sistema no debe ejercer una influencia negativa sobre los productos alimenticios. La técnica anterior indica que está usándose caramelo como antioxidante, en particular, cuando el caramelo se ha calentado durante un largo tiempo y tiene un color oscuro. No obstante, dicho caramelo oscuro no resulta adecuado para utilizarlo en muchos productos alimenticios de color claro, ya que el producto alimenticio se volvería demasiado oscuro. Por tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar un sistema de antioxidantes que no proporcione un color no deseado al producto alimenticio. De manera adicional, se deberá percibir que es natural y apropiado para el producto alimenticio. Más en particular, es un objetivo de la presente invención proporcionar una mayonesa sin contenido, o casi sin contenido, de EDTA y que contiene un sistema de antioxidantes que no le proporciona un color no deseado al producto alimenticio, y que el consumidor considere como un ingrediente natural.

Se ha encontrado la solución a estos problemas al proporcionar un producto alimenticio que contiene aceite vegetal, en el que el producto alimenticio comprende caramelo y uno o más compuestos fenólicos. El caramelo se ha preparado mediante el calentamiento de una mezcla que comprende agua y uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos en ausencia de compuestos fenólicos durante un periodo de tiempo relativamente breve, para impedir que el color del caramelo sea (demasiado) oscuro.

De manera correspondiente, en un primer aspecto, la invención proporciona una composición en forma de una emulsión de aceite en agua que tiene un pH que oscila entre 3 y 5, que comprende aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados, en la que la concentración de aceite vegetal oscila entre el 5% y el 85% en peso de la composición, que comprende además caramelo y uno o más compuestos fenólicos, en la que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y en la que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y en la que el uno o más compuestos fenólicos comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina; y en la que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición; y

en la que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70.

El segundo aspecto de la invención proporciona un método para la preparación de una composición según el primer aspecto de la invención, que comprende las siguientes etapas:

- (i) proporcionar caramelo, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70;

(ii) proporcionar uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina;

(iii) proporcionar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados y

(iv) mezclar el caramelo de la etapa (i) y dichos uno o más compuestos fenólicos de la etapa (ii) con el aceite vegetal de la etapa (iii);

y en el que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

en el que la composición tiene un pH que oscila entre 3 y 5, y en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.

En un tercer aspecto la invención proporciona el uso de caramelo y uno o más compuestos fenólicos en una composición que tiene un pH que oscila entre 3 y 5, que comprende aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, para reducir la velocidad de oxidación del aceite vegetal, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos, y en el que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y en el que el uno o más compuestos fenólicos comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina; y en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición; y

en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70.

### Descripción detallada de la invención

Todos los porcentajes, a menos que se indique de otra forma, hacen referencia al porcentaje en peso (%/p). "D4,3" es el diámetro medio ponderado en volumen de un conjunto de gotas o partículas. El diámetro con base volumétrica equivale al diámetro de una esfera que tiene el mismo volumen que una partícula dada (M. Alderliesten, Particle & Particle Systems Characterization 8 (1991) 237-241). Una composición que puede tomarse "en cucharadas" significa que la composición es semisólida, pero no fluye libremente en una escala temporal típica para realizar una comida, es decir, que no presenta flujo libre dentro del periodo de tiempo de una hora. Una muestra de dicha sustancia es apta para que se sumerja en ella una cuchara y se extraiga la composición de un recipiente que contiene la composición.

En un primer aspecto, la invención proporciona una composición en forma de una emulsión de aceite en agua tal como se define en la reivindicación 1.

El término "aceite", tal como se usa en el presente documento, se refiere a lípidos seleccionados de triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y sus combinaciones. Preferiblemente, el aceite en el contexto de esta invención comprende al menos el 90% en peso de triglicéridos; más preferiblemente, al menos el 95% en peso. Preferiblemente, el aceite contiene menos del 20% en peso de aceite sólido a 5°C; preferiblemente, menos del 10% en peso de aceite sólido. Más preferiblemente, el aceite carece de aceite sólido a 5°C. Lo más preferiblemente, el aceite es líquido a 5°C. Los aceites preferidos para su uso en el contexto de esta invención son aceites vegetales que están en estado líquido a 5°C. Preferiblemente, el aceite comprende aceite de girasol, aceite de colza, aceite de oliva, aceite de soja, y combinaciones de estos aceites. Por tanto, preferiblemente el aceite vegetal es un aceite comestible. Los ácidos grasos monoinsaturados, tal como están comprendidos en el aceite, comprenden preferiblemente ácido oleico. Los ácidos grasos poliinsaturados, tal como están comprendidos en el aceite, comprenden preferiblemente ácido linoleico y ácido linolénico.

La concentración del aceite vegetal oscila entre el 5% y el 85% en peso de la composición. Preferiblemente, la composición de la invención comprende entre el 10% y el 80% en peso de aceite vegetal, preferiblemente entre el 15% y el 75% en peso de aceite. Preferiblemente, la cantidad de aceite es de al menos el 20% en peso, preferiblemente de al menos el 30% en peso, preferiblemente de al menos el 35% en peso. Preferiblemente, la concentración de aceite vegetal es, como máximo, del 70% en peso, preferiblemente como máximo, del 65%. Cualquier combinación de intervalos que use los puntos finales mencionados también se consideran parte integrante de la invención.

Preferiblemente, la composición se encuentra en forma de una emulsión de aceite en agua. Preferiblemente, la composición es una emulsión comestible. Los ejemplos de emulsión de aceite en agua que abarca la presente invención incluyen mayonesa, aderezos y salsas. Preferiblemente la emulsión de aceite en agua es una mayonesa o una salsa, lo más preferiblemente, es una mayonesa. Por lo general, dicha mayonesa puede tomarse en cucharadas.

La mayonesa, por lo general, se conoce como una salsa cremosa y espesa que se puede usar como condimento con otros alimentos. La mayonesa es una emulsión de fase acuosa continua, estable, que contiene aceite vegetal, yema de huevo y o bien vinagre o bien zumo de limón. En muchos países, el término "mayonesa" solamente se puede usar en caso de que la emulsión cumpla con la "norma de identidad" que define la composición de una mayonesa. Por ejemplo, la norma de identidad puede definir un nivel mínimo de aceite, y una cantidad mínima de yema de huevo. Asimismo, los productos del tipo mayonesa que tienen niveles de aceite menores que los definidos en una norma de identidad pueden considerarse mayonesas. Esta clase de productos, con frecuencia, contienen agentes espesantes, tales como almidón, para estabilizar la fase acuosa. La mayonesa puede variar de color, pero generalmente es de color blanco, crema o amarillo pálido. La textura puede variar desde ligeramente cremosa hasta espesa y, por lo general, la mayonesa puede tomarse en cucharadas. En el contexto de la presente invención, la "mayonesa" incluye emulsiones con niveles de aceite que abarcan desde el 5% hasta el 85% en peso del producto. Las mayonesas en el contexto de la presente invención no deben cumplir necesariamente con la norma de identidad de cualquier país.

En caso de que la composición de la invención sea una emulsión de aceite en agua, entonces la composición comprende un agente emulsionante de aceite en agua. El agente emulsionante sirve para dispersar las gotas de aceite en la fase acuosa continua. Preferiblemente, la emulsión de aceite en agua preferida de la invención comprende yema de huevo. La presencia de yema de huevo puede resultar beneficiosa en términos de sabor, emulsión y/o estabilidad de las gotas de aceite en la composición de la invención. La yema de huevo contiene fosfolípidos, los cuales actúan como agente emulsionante para las gotas de aceite. Preferiblemente, la concentración de yema de huevo en la composición de la invención oscila entre el 1% y el 8% en peso de la emulsión, más preferiblemente entre el 2% y el 6% en peso de la emulsión. La yema de huevo puede añadirse como componente de yema de huevo, lo que significa que en gran medida es sin clara de huevo. De manera alternativa, la composición también puede contener huevo entero, que contiene tanto clara de huevo como yema de huevo. La cantidad total de yema de huevo en la composición de la invención incluye yema de huevo que puede estar presente como parte de huevo entero. Preferiblemente, la concentración de fosfolípidos que provienen de la yema de huevo oscila entre el 0,05% y el 1% en peso, preferiblemente oscila entre el 0,1% y el 0,8% en peso de la emulsión.

Parte o toda la yema de huevo puede someterse a un proceso de conversión enzimática con el uso de fosfolipasa. Preferiblemente, la fosfolipasa que se emplea para tratar yema de huevo es fosfolipasa A2. Este proceso hace que se separen las cadenas de ácidos grasos de las moléculas de fosfolípidos, y proporciona yema de huevo modificada por enzimas. Los productos de reacción de este proceso enzimático se retienen en la yema de huevo modificada por enzimas, lo que significa que la yema de huevo modificada por enzimas contiene ácidos grasos separados de los fosfolípidos. Una fuente adecuada de yema de huevo modificada por enzimas es la 'yema de huevo termoestabilizada (92-8)', suministrada por Bouwhuis Enthoven (Raalte, Países Bajos). Preferiblemente, la concentración de yema de huevo que se ha modificado por medio del tratamiento con fosfolipasa oscila entre el 0,5% y el 4% en peso de la composición, preferiblemente entre el 1% y el 4% en peso de la composición.

La composición de la invención tiene un pH que oscila entre 3 y 5, preferiblemente que oscila entre 3 y 4,6. Preferiblemente, este pH de la composición se obtiene mediante el uso de ácido acético o vinagre. La composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva, y cualquiera de sus combinaciones. Estos vinagres contienen naturalmente compuestos fenólicos y, por tanto, preferiblemente estos vinagres sirven no sólo para acidificar la composición de la invención, sino también como la fuente de dichos uno o más compuestos fenólicos. Los proveedores adecuados de dichos vinagres son, por ejemplo, Kühne (Hamburgo, Alemania), Mizkan Euro Ltd. (Londres, R.U.), y J.R. Sabater S.A. (Murcia, España).

Dado que la combinación de caramelo y uno o más compuestos fenólicos funciona como sistema de antioxidantes, preferiblemente la concentración de EDTA es inferior al 0,005% en peso, preferiblemente inferior al 0,002% en peso de la composición. Más preferiblemente, la concentración de EDTA es inferior al 0,001% en peso y, lo más preferiblemente, EDTA no se encuentra presente en la composición de la invención. La ventaja de la combinación del caramelo y dichos uno o más compuestos fenólicos consiste en que puede, al menos parcialmente, o incluso de manera total, reemplazar el EDTA, y funcionar como antioxidante para el aceite vegetal en la composición.

El caramelo se obtiene al mezclar uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, y al calentar la mezcla. Preferiblemente, la mezcla se agita mientras se la calienta, para obtener una temperatura homogénea de la mezcla. Preferiblemente, la razón entre, por una parte, uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y, por otra parte, agua en la mezcla que se calienta, para obtener el caramelo, oscila entre 5:1 y 1:5 en peso, preferiblemente la razón oscila entre 5:1 y 1:2 en peso. La razón más preferida entre uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua oscila entre 2:1 y 1:1 en peso. Preferiblemente, esta mezcla tiene un pH que oscila

## ES 2 703 994 T3

entre 3 y 10, más preferiblemente entre 3,5 y 8, más preferiblemente entre 4 y 7,5 y, lo más preferiblemente entre 6,5 y 7,5.

5 Se considera que el caramelo es un ingrediente alimenticio habitual, ya que se prepara al calentar azúcar natural. Por tanto, muchos consumidores estiman que el caramelo es natural.

10 Preferiblemente dichos uno o más disacáridos que se calientan para obtener el caramelo comprenden sacarosa. Preferiblemente, se prepara el caramelo a partir de sacarosa como único disacárido, sin monosacárido. Preferiblemente, se prepara el caramelo al calentar sacarosa disuelta en agua a su pH natural, así sin ningún otro aditivo.

15 Preferiblemente, dichos uno o más monosacáridos que se calientan para obtener el caramelo comprenden fructosa o glucosa, o una combinación de las dos. En el caso de usar una combinación, entonces, preferiblemente están presentes fructosa y glucosa en una razón en peso que oscila entre 10:1 y 1:10.

20 La mezcla que contiene uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, se calienta hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, para obtener el caramelo. Esto deberá interpretarse como que la mezcla se encuentra dentro de este intervalo de temperatura durante el tiempo indicado. Cualquier periodo de tiempo que sea necesario, por ejemplo, para calentar la mezcla entre temperatura ambiente y 110°C no se incluye en el periodo de tiempo indicado. Normalmente, cuando la mezcla se calienta, primero se evapora el agua y la temperatura permanece aproximadamente a 100°C hasta que el agua se haya evaporado. Posteriormente, la temperatura aumenta nuevamente. Las temperaturas y los periodos de tiempo indicados en el presente documento están relacionados con las condiciones atmosféricas.

25 El calentamiento dentro del intervalo indicado no requiere que sea realizado en una sola vez, durante el proceso de calentamiento puede añadirse agua a la mezcla calentada, de manera que la temperatura de la mezcla disminuya, y posteriormente, se eleva una vez más, después de la evaporación de esa cantidad de agua adicional. Esto se puede repetir una o más veces, creando por tanto posiblemente una temperatura variable de la mezcla. La temperatura de la mezcla debe ser, en total, de entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos.

30 Preferiblemente, la mezcla se calienta hasta una temperatura que oscila entre 150°C y 230°C durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 10 minutos. Preferiblemente, la mezcla se calienta hasta una temperatura que oscila entre 170°C y 230°C durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 8 minutos. Preferiblemente, la mezcla se calienta hasta una temperatura que oscila entre 180°C y 230°C durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 5 minutos, preferiblemente entre 40 segundos y 3 minutos, para obtener el caramelo. Más preferiblemente, la mezcla se calienta durante un periodo de tiempo preferiblemente de entre 40 segundos y 2 minutos, para obtener el caramelo, más preferiblemente entre 40 segundos y 90 segundos. La temperatura oscila preferiblemente entre 180°C y 220°C, más preferiblemente oscila entre 190°C y 220°C, más preferiblemente entre 200°C y 220°C, y más preferiblemente entre 200°C y 210°C.

35 La concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición. Más preferiblemente, la concentración oscila entre el 1% y el 3% en peso de la composición.

40 La ventaja de los caramelos que se usan en la presente invención, consiste en que tienen un color claro, relativamente suave, de manera que no son muy oscuros y no proporcionan mucho color a la composición a la que se incorporan. El color de los caramelos puede determinarse disolviéndolos al 10% en peso en agua, y determinando los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  según el sistema CIE de espacio de color. La comparación con agua proporciona el color del caramelo, al determinar el valor de  $\Delta E^*$ , que se determina usando la siguiente fórmula:

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

45 Cuanto mayor es el valor de  $L^*$ , más translúcida es una muestra. Una muestra oscura tiene un valor de  $L^*$  bajo. Cuanto mayor es el valor de  $a^*$ , más rojiza es la muestra. Preferiblemente, una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70. Preferiblemente, el valor de  $a^*$  oscila entre -2 y 30, más preferiblemente entre -1 y 25. Preferiblemente, el valor de  $b^*$  oscila entre 15 y 60. El valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua oscila entre 0 y 70, más preferiblemente entre 0 y 60.

50 Los compuestos fenólicos pueden encontrarse en la naturaleza, en muchos tipos. Pueden añadirse uno o más compuestos fenólicos que se usan en la composición como ingredientes independientes. Preferiblemente, aunque dichos uno o más compuestos fenólicos se añaden a la composición como elemento de otro ingrediente en la composición de la invención, por ejemplo, en los vinagres mencionados previamente en este documento. Dichos uno o más compuestos fenólicos comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato

de DL-catequina.

Un método habitual para determinar la concentración de los compuestos fenólicos de una muestra, es la concentración en "equivalentes de ácido gálico" (GAE, *Gallic Acid Equivalents*). Siempre que en el presente documento se hace referencia a "equivalentes de ácido gálico" se trata de la cantidad de equivalentes de ácido gálico, tal como se determina mediante la prueba de Folin-Ciocalteu. El ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) es el ácido fenólico que se emplea como patrón para determinar el contenido fenólico de diversos análisis mediante la prueba de Folin-Ciocalteu (véase V.L. Singleton *et al.*, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology* 299, 152-178, 1999).

Preferiblemente, la concentración total de dichos uno o más compuestos fenólicos en la composición de la invención oscila entre el 0,0001 y el 0,1%/p de GAE. Más preferiblemente, la concentración de dichos uno o más compuestos fenólicos oscila entre el 0,0002 y el 0,05%/p de GAE.

Si no se expresa como equivalentes de ácido gálico, preferiblemente la concentración total de dichos uno o más compuestos fenólicos oscila entre el 0,0001% y el 0,1% en peso de la composición. Más preferiblemente, la concentración de dichos uno o más compuestos fenólicos oscila entre el 0,0002 y el 0,05% en peso de la composición.

Si se expresa como concentración individual de dichos uno o más compuestos fenólicos preferidos, se prefieren las siguientes concentraciones en la composición de la invención:

Ácido 3,4-dihidroxi-benzoico:	0,001-0,002%/p, y/o
Ácido siríngico:	0,001-0,002%/p, y/o
Ácido p-cumárico:	0,0015-0,0025%/p, y/o
Ácido gálico · H <sub>2</sub> O:	0,0005-0,0015%/p, y/o
Ácido cafeico:	0,00065-0,00075%/p, y/o
Ácido trans-ferúlico:	0,0005-0,0015%/p, y/o
Ácido vanílico:	0,0007-0,0008%/p, y/o
Hidrato de DL-catequina:	0,0075-0,0085%/p.

La composición de la invención puede contener un agente estructurante para estabilizar la fase acuosa y para espesar la composición, en particular, para productos con bajos niveles de aceite, por ejemplo, inferiores al 60% de aceite. Muchos agentes estructurantes son oligómeros o polímeros de origen vegetal, microbiano o animal. Los agentes estructurantes pueden ser solubles en agua o insolubles en agua, y pueden emplearse en estado nativo o en forma modificada a nivel químico o físico. Los ejemplos de agentes estructurantes de origen vegetal son los polisacáridos solubles en agua como almidones nativos, almidones químicamente modificados, carragenanos, goma garrofín, carboximetilcelulosa y pectina. Además, los oligosacáridos y polisacáridos presentes en jarabe de maíz o jarabe de glucosa se pueden emplear como agente estructurante en emulsiones similares a la mayonesa. Adicionalmente, se pueden usar proteínas de origen vegetal como agente estructurante en emulsiones de aceite en agua, por ejemplo, se pueden usar semillas de legumbres molidas para proporcionar estructura a una emulsión. Ejemplos de agentes estructurantes insolubles en agua de origen vegetal son fibras celulósicas como las fibras de cítricos y fibras de tomate. Ejemplos de agentes estructurantes de origen microbiano o de algas son los polisacáridos goma xantana, agar y alginato. Ejemplos de agentes estructurantes poliméricos de origen animal son proteínas, como la caseína de la leche de vaca y gelatina.

La composición de la invención puede contener adecuadamente uno o más ingredientes adicionales. Los ejemplos de dichos ingredientes opcionales incluyen sal, especias, azúcares (en particular, mono y/o disacáridos), mostaza, vitaminas, agentes aromatizantes, colorantes, conservantes, antioxidantes, hierbas y verduras en trozos. Cuando se usan dichos aditivos opcionales, con la inclusión de los agentes estructurantes, de manera colectiva no suman más del 40%, más preferiblemente, no más del 20% en peso de la emulsión.

#### Método para la preparación de una composición según la invención

En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un método para la preparación de una composición según el primer aspecto de la invención, que comprende las siguientes etapas:

- (i) proporcionar caramelo, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70;
- (ii) proporcionar uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico,

ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina;

(iii) proporcionar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados y

5 (iv) mezclar el caramelo de la etapa (i) y dichos uno o más compuestos fenólicos de la etapa (ii) con el aceite vegetal de la etapa (iii);

y en el que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

10 en el que la composición tiene un pH que oscila entre 3 y 5, y en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.

15 Preferiblemente, el caramelo en la etapa (i) se mezcla en primer lugar con agua para crear una disolución del caramelo en agua. En la etapa (iv) el mezclado de los diversos compuestos se lleva a cabo sin un orden en particular. Otros ingredientes opcionales de la composición que se prepara pueden mezclarse con caramelo en la etapa (i), o con dichos uno o más compuestos fenólicos en la etapa (ii), o con el aceite en la etapa (iii) antes de que estos ingredientes se mezclen en la etapa (iv). Otros ingredientes opcionales pueden mezclarse con los ingredientes después de la etapa (iv).

20 El segundo aspecto de la invención también proporciona un método para la preparación de una emulsión de aceite en agua según el primer aspecto de la invención. Por tanto, la presente invención proporciona un método para la preparación de una composición en forma de una emulsión de aceite en agua, que comprende las siguientes etapas:

25 (i) proporcionar una mezcla acuosa que comprende un agente emulsionante de aceite en agua

y que comprende caramelo, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70;

35 (ii) mezclar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados con la mezcla de la etapa (i) para preparar una emulsión de aceite en agua y

40 (iii) proporcionar uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina; y añadirlos a la mezcla de la etapa (ii) y, de manera simultánea o posterior, añadir un ácido a la mezcla de la etapa (ii) para llevar el pH de la mezcla a un valor que oscila entre 3 y 5; y en el que el ácido comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

45 y en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.

En la etapa (i), la mezcla acuosa puede contener otros ingredientes solubles en agua opcionales, como azúcares, sal, aromas, mostaza. Preferiblemente, la totalidad del caramelo presente en la composición de la invención está presente en la mezcla de la etapa (i). El agente emulsionante de aceite en agua comprende preferiblemente fosfolípidos que provienen de yema de huevo. En la etapa (ii) el aceite se dispersa en la mezcla acuosa de la etapa (i) y, preferiblemente la mezcla se homogeneiza durante un periodo de tiempo lo suficientemente prolongado como para crear una emulsión de aceite en agua en la que las gotas de aceite tienen un tamaño de gota medio ponderado en volumen  $D_{4,3}$  inferior a 10 micrómetros, preferiblemente que oscila entre 0,3 y 10 micrómetros, preferiblemente que oscila entre 0,5 y 8 micrómetros. Este diámetro medio puede determinarse adecuadamente con el uso del método descrito por Goudappel *et al.* (Journal of Colloid and Interface Science 239, págs. 535-542, 2001). Preferiblemente entre el 80 y el 100% del volumen total de las gotas de aceite contenidas en la presente emulsión tienen un diámetro inferior a 15 micrómetros, más preferiblemente un diámetro que oscila entre 0,5 y 10 micrómetros.

60 La homogeneización puede realizarse con una mezcladora convencional para preparar emulsiones de aceite en agua, tales como un molino coloidal, u otro molino tal como se describe en el documento WO 02/069737 A2. Un proveedor conveniente de dicho equipo para emulsiónamiento es Charles Ross & Son Company, (Hauppauge, Nueva York, EE.UU.).

65 En la etapa (iii), dichos uno o más compuestos fenólicos se añaden a la emulsión de aceite en agua de la etapa (ii). Preferiblemente, todos los compuestos fenólicos presentes en la composición de la invención se añaden en la etapa

(iii). Además, la acidificación para llevar el pH de la emulsión de aceite en agua a un valor de entre 3 y 5, preferiblemente entre 3 y 4,6, se lleva a cabo en esta etapa (iii). En caso de que la fuente de dichos uno o más compuestos fenólicos sea vinagre, tal como se describió previamente en este documento, entonces la adición de uno o más compuestos fenólicos y la acidificación tienen lugar de manera simultánea.

5 De manera alternativa, el segundo aspecto proporciona un método para la preparación de una emulsión de aceite en agua según el primer aspecto de la invención. Por tanto, la presente invención también proporciona un método para preparar una composición en forma de una emulsión de aceite en agua, que comprende las siguientes etapas:

- 10 (i) proporcionar una mezcla acuosa que comprende un agente emulsionante de aceite en agua;
- (ii) mezclar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados y con la mezcla de la etapa (i) para preparar una emulsión de aceite en agua;
- 15 (iii) proporcionar una mezcla de caramelo y uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y
- 20 en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70; y
- 25 (iv) mezclar la mezcla de la etapa (iii) con la mezcla de la etapa (ii) y, de manera simultánea o posterior, añadir un ácido a la mezcla de la etapa (ii) para llevar el pH de la mezcla a un valor que oscila entre 3 y 5; y en el que el ácido comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.
- 30

En la etapa (i), la mezcla acuosa puede contener otros Ingredientes solubles en agua opcionales, como azúcares, sal, aromas, mostaza. El agente emulsionante de aceite en agua comprende preferiblemente fosfolípidos que provienen de yema de huevo. De manera similar, tal como se describió con anterioridad, en la etapa (ii) el aceite se dispersa en la mezcla acuosa de la etapa (i) y, preferiblemente se homogeneiza la mezcla durante un periodo de tiempo lo suficientemente prolongado como para crear una emulsión de aceite en agua en la que las gotas de aceite tienen un tamaño de gota medio ponderado en volumen D<sub>4,3</sub> inferior a 10 micrómetros, preferiblemente que oscila entre 0,3 y 10 micrómetros, preferiblemente que oscila entre 0,5 y 8 micrómetros. Preferiblemente entre el 80 y el 100% del volumen total de las gotas de aceite contenidas en la presente emulsión tienen un diámetro inferior a 15 micrómetros, más preferiblemente un diámetro que oscila entre 0,5 y 10 micrómetros.

35

40

En la etapa (iii) se prepara una mezcla del caramelo y dichos uno o más compuestos fenólicos. Preferiblemente, esto se realiza en una mezcla acuosa. Preferiblemente, esta mezcla contiene todos los compuestos fenólicos y el caramelo presentes en la composición de la invención. En caso de que la fuente de dichos uno o más compuestos fenólicos sea vinagre, tal como se describió previamente en este documento, el caramelo puede añadirse a dicho vinagre. Luego, esta mezcla se añade a la emulsión de aceite en agua de la etapa (ii) en la etapa (iv). Además, la acidificación para llevar el pH de la emulsión de aceite en agua a un valor que oscila entre 3 y 5, preferiblemente entre 3 y 4,6, se lleva a cabo en esta etapa. En caso de que la fuente de dichos uno o más compuestos fenólicos sea vinagre, entonces la adición de caramelo, de uno o más compuestos fenólicos y la acidificación tienen lugar de manera simultánea.

45

50

La preparación de esta premezcla de la etapa (iii) puede tener la ventaja de que se aumente el efecto antioxidante de la combinación de caramelo y uno o más compuestos fenólicos frente a cuando el caramelo y dichos uno o más compuestos fenólicos no se añaden de manera simultánea.

55

Preferiblemente, la concentración de EDTA es inferior al 0,005% en peso de la composición, preferiblemente inferior al 0,002% en peso de la composición. Más preferiblemente, la concentración de EDTA es inferior al 0,001% en peso y, lo más preferiblemente, no se encuentra presente EDTA en la composición.

60

#### 60 *Uso de caramelo y uno o más compuestos fenólicos*

En un tercer aspecto, la invención proporciona el uso de caramelo y uno o más compuestos fenólicos en una composición que tiene un pH que oscila entre 3 y 5, que comprende aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, para reducir la velocidad de oxidación del aceite vegetal, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila

65

entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos, y en el que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y en el que el uno o más compuestos fenólicos comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina; y en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición; y

en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de L\* que oscila entre 30 y 65, y un valor de a\* que oscila entre -5 y 30, y un valor de b\* que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70. Preferiblemente, la composición está en forma de una emulsión de aceite en agua. Preferiblemente, la concentración del aceite vegetal oscila entre el 5% y el 85% en peso de la composición.

Preferiblemente, la concentración de EDTA es inferior al 0,005% en peso de la composición, preferiblemente inferior al 0,002% en peso de la composición. Más preferiblemente, la concentración de EDTA es inferior al 0,001% en peso y, lo más preferiblemente, no se encuentra presente EDTA en la composición.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos no taxativos ilustran la presente invención.

#### Materias primas

- Agua: se usa agua desmineralizada en todos los experimentos.
- Aceite de soja de Cargill (Ámsterdam, Países Bajos).
- Azúcar: azúcar blanca de sacarosa W4 de Suiker Unie (Oud Gastel, Países Bajos).
- Ácido sórbico: de Univar (Zwijndrecht, Países Bajos).
- Sal: NaCl suprasel de Akzo Nobel (Amersfoort, Países Bajos).
- EDTA: ácido etilendiaminotetraacético, complejo de calcio y sodio, deshidratado; Dissolvine E-CA-10 de Akzo Nobel (Amersfoort, Países Bajos).
- Yema de huevo estabilizada: yema de huevo termoestabilizada (92-8), de Bouwhuis Enthoven (Raalte, Países Bajos); contiene el 92% de yema de huevo modificada con enzima fosfolipasa A2 y el 8% de sal de mesa (los fragmentos se retienen en el producto).
- Fructosa: de Suiker Unie (Oud Gastel, Países Bajos).
- Vinagre de vino blanco: vinagre de vino blanco al 10% de Kühne (Hamburgo, Alemania).
- Vinagre de manzana: Amora Cider Vinegar de Unilever France (París, Francia).
- Ácido acético: al 100% de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.).
- Vinagre de alcohol (ácido acético al 12%) de Mizkan (R.U.).
- Zumo de limón: concentrado de 45° brix de Döhler (Darmstadt, Alemania).
- Mezcla de compuestos fenólicos: los siguientes compuestos fenólicos se obtuvieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.), y se disolvieron en agua desmineralizada para obtener una disolución madre de compuestos fenólicos tal como se indica en la tabla 1. Después de la disolución, el pH de la disolución fue de 3,1, y este se llevó a 3,4 con NaOH diluido. Esta disolución se usa en los experimentos siguientes.

Tabla 1: Composición de la mezcla de compuestos fenólicos en agua

Compuesto	Concentración [mg/kg]	Mw [g/mol]	Concentración molar [mM]
Ácido 3,4-dihidroxi-benzoico	287	154,16	1,86
Ácido siríngico	339	198,17	1,71
Ácido p-cumárico	375	164,16	2,28
Ácido gálico · H <sub>2</sub> O	225	188,16	1,20
Ácido cafeico	141	180,16	0,78
Ácido trans-ferúlico	212	194,16	1,09
Ácido vanílico	147	168,15	0,87
Hidrato de DL-catequina	1631	290,28	5,63

#### Métodos - Prueba de vida útil en almacenamiento en condiciones aceleradas para seguir la oxidación de lípidos.

Se somete el aceite vegetal a condiciones que fomentan la oxidación, sin requerir la vida útil en almacenamiento típica de 4 y 9 meses de la mayonesa.

Se preparan muestras de mayonesa con diversas composiciones (tal como se describe en el ejemplos a continuación) y se coloca 1 g de cada muestra en un vial de vidrio con tapa (20 ml de volumen) y se mantiene en un

horno de temperatura controlada a 50°C. Se llevan a cabo los experimentos de oxidación durante un periodo de tiempo de hasta 42 días y se toma una muestra en varios puntos temporales para la medición mediante CG de espacio de cabeza-EM de marcadores volátiles de oxidación (por ejemplo, hexanal). Habitualmente, cada punto de datos se mide por triplicado. Las mediciones se realizan con una combinación de CG-EM de Agilent (7890A/5975C).

5 La columna de CG usada es una DB-Wax (20 m – 0,18 d – 0,3 µm) de J&W. El volumen de inyección es de 500 µl con un fraccionamiento de 40:1 y un flujo de columna de 1 ml/min. Se analiza un total de nueve sustancias volátiles (principalmente, aldehídos y alcanos, considerados marcadores para la oxidación de lípidos), de los cuales el hexanal es el marcador de máxima importancia y se informa en este documento. La respuesta de hexanal se obtiene en unidades arbitrarias, cuanto más alta es la respuesta, mayor es la cantidad de hexanal y mayor es la oxidación de triglicéridos.

10 La oxidación de triglicéridos se produce en varias etapas, en las que la primera etapa es la de mayor importancia. Esta primera etapa consiste en la fase de retardo, que es la fase en la que no se produce mucha oxidación y, después de esta fase, la oxidación comienza a acelerarse. Esto significa que la cantidad de productos de oxidación comienza a aumentar rápidamente. Cuanto más prolongada es la fase de retardo, más lento es el proceso de oxidación, y mejor será el resultado.

Ejemplo 1 – Preparación de caramelos

20 Se prepararon caramelos con base de sacarosa de la siguiente manera. Para todas las muestras A a G en la tabla 2, se añadieron 400 gramos de sacarosa a 300 gramos de agua, y se ajustó el pH con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio para obtener pH 4 ó 7. Se calentó la disolución en una sartén sobre una placa de inducción. Se agitó la disolución con una cuchara durante el calentamiento. Después de detenerse la reacción (cuando se alcanzó la temperatura requerida), se vertió el producto desde la sartén sobre una placa plana para que se enfriase. El caramelo se solidificó al enfriarse sobre la placa.

*Tabla 2: Descripción de muestras de caramelo.*

Muestra	pH	Tipo de sartén	Temperatura final [°C]
A	4	15 cm de diámetro	201
B	4	15 cm de diámetro	200
C	7	15 cm de diámetro	202
D	7	17 cm de diámetro	217
E	7	17 cm de diámetro	203
F	7	17 cm de diámetro	180
G	7	17 cm de diámetro	> 220

30 Los caramelos se usaron para evaluar la repercusión del aumento de temperatura durante la preparación de caramelo debido a diferentes parámetros: pH, velocidad de evaporación (en relación con el diámetro de la sartén) y la temperatura final. El uso de una sartén de mayor tamaño, hace que se acelere la evaporación de agua y que el aumento de la temperatura del azúcar sea más rápido.

35 El perfil de calentamiento típico de las muestras C y E se muestra en la siguiente tabla, donde se observa la diferencia en términos de tiempo entre la sartén más pequeña y la de mayor tamaño. Estos perfiles también son típicos para otras muestras de caramelo, y se muestran para ilustrar el perfil de la temperatura durante la preparación de caramelo.

*Tabla 3: Perfil de temperatura de las muestras de caramelo C y E de la tabla 2.*

Muestra de caramelo C		Muestra de caramelo E	
Tiempo [s]	Temperatura [°C]	Tiempo [s]	Temperatura [°C]
0	19	0	19
40	38,9	20	27,4
80	48	40	38,9
120	62,8	60	52,1
160	76,3	80	62,5
200	89,3	100	74,9
220	99,3	120	86,7
260	103	140	96
320	103,3	160	103,3
400	103,5	180	99,4
460	104	200	102
520	103,8	240	103
560	104,3	280	105,2
620	105,7	300	104,8
680	107,2	320	103

720	106,9	360	106,1
760	108,5	400	106,3
800	110	440	109,9
840	111,3	480	113,2
880	114,6	500	116,7
920	117,9	520	119,1
960	120,8	540	123,3
1000	126,6	560	132,8
1040	132,2	600	142
1080	142	620	148
1100	148,1	640	156,9
1120	145,4	660	165,6
1140	160,1	680	172
1160	167,5	700	186,5
1180	177	720	195,8
1200	185,3	740	203
1220	193,5		
1240	202		

El calentamiento del caramelo muestra que un calentamiento rápido hasta que se llega a la temperatura de aproximadamente 100°C, la temperatura permanece más o menos constante cuando se evapora el agua, seguido por un rápido aumento a una temperatura más alta, cuando se ha evaporado el agua.

5 Se determinó el color de estos caramelos, con la preparación de una disolución al 10%/p de cada caramelo en agua, usando el espacio de color CIE Lab. El equipo empleado fue un sistema de obtención de imágenes a color DigeEye, Nikon D70, con 3008 x 2000 px. Cuanto mayor es el valor de  $L^*$ , más translúcida es la muestra. Una muestra oscura tiene un valor de  $L^*$  bajo. Cuanto mayor es el valor de  $a^*$ , más rojiza es la muestra. Se realiza una comparación entre agua pura, al determinar el valor de  $\Delta E^*$ , que se determina usando la siguiente fórmula:

$$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

15 Se obtiene la diferencia para cada parámetro frente al agua. Los resultados de la medición de color se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Medición de color  $L^*a^*b^*$  de caramelo al 10% en agua, muestras de la tabla 2.

Muestra	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
A	55,9	6,6	63,8	63,0
B	50,7	14,4	71,4	72,7
C	53,1	10,2	67,2	67,4
D	35,1	30,3	58,6	72,0
E	51,5	12,7	69,5	70,3
F	64,5	-2,3	19,5	17,6
G	10,6	29,2	17,4	66,3
Agua	67,9	-0,4	2,3	0

20 En esta tabla se observa que las muestras que se calentaron hasta la temperatura más alta (D, G), tienen el valor de  $L^*$  más bajo (lo que significa que es una muestra más oscura).

25 De manera similar, como los caramelos en la tabla 2, se prepararon más muestras de caramelo a diferentes temperaturas finales y fue diferente el tiempo necesario para alcanzar esa temperatura específica (entre 9 y 12 minutos, partiendo de 0 a temperatura ambiente). Se usaron sacarosa y fructosa como azúcares para preparar caramelos, véase la tabla 5.

Tabla 5: Descripción de muestras de caramelo basadas en sacarosa o fructosa, calentadas durante tiempos diversos.

Muestra	Azúcar	pH	Temperatura final [°C]	Tiempo transcurrido hasta alcanzar la temperatura final a partir de la temperatura ambiente [min:s]
H	sacarosa	7	158	9:00
J	sacarosa	7	180	10:30
K	sacarosa	7	230	12:00
L	fructosa	7	200	12:00
M	sacarosa	7	180	12:00

30 Ejemplo 2 – Caramelos en mayonesa

Se usaron los caramelos de la tabla 2 en el ejemplo 1 para preparar mayonesas según las recetas en la tabla 6. Para comparar, también se prepararon mayonesas que contenían EDTA, sin caramelo.

5 **Tabla 6: Recetas de mayonesas que contienen diversos caramelos.**

Mayonesa	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6
Ingrediente	conc. [%/p]					
Aceite de soja	75	75	75	75	75	75
Yema de huevo estabilizada	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
Ácido acético	0,3	0,3	0	0	0	0
Vinagre de vino blanco	0	0	3	3	3	3
Sacarosa	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Sal (NaCl)	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Aroma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
EDTA	0,0075	0	0	0	0	0
Muestra de caramelo B				2		
Muestra de caramelo C					2	
Muestra de caramelo D						2
Muestra de caramelo E						
Muestra de caramelo F						
Muestra de caramelo G						
Agua	Hasta 100%					

  

Mayonesa	2-7	2-8	2-9
Ingrediente	conc. [%/p]	conc. [%/p]	conc. [%/p]
Aceite de soja	75	75	75
Yema de huevo estabilizada	4,2	4,2	4,2
Ácido acético	0	0	0
Vinagre de vino blanco	3	3	3
Sacarosa	1,3	1,3	1,3
Sal (NaCl)	1,3	1,3	1,3
Aroma	0,2	0,2	0,2
EDTA	0	0	0
Muestra de caramelo B			
Muestra de caramelo C			
Muestra de caramelo D			
Muestra de caramelo E	2		
Muestra de caramelo F		2	
Muestra de caramelo G			2
Agua	Hasta 100%	Hasta 100%	Hasta 100%

10 Se prepararon las mayonesas con una preparación inicial de una fase acuosa, que se obtuvo mezclando agua, yema de huevo, sacarosa, sal, caramelo y EDTA, de manera pertinente. Posteriormente, se añadió aceite lentamente a la fase acuosa, mientras se mezclaba con una mezcladora de alto cizallamiento (Silverson). El aceite se añadió en el lapso de aproximadamente 10 minutos, mientras que la velocidad de mezclado se aumentó lentamente desde aproximadamente 1600 hasta aproximadamente 7200 rpm. Después de que se hubo homogeneizado el aceite, y la emulsión se había vuelto suave, se añadió lentamente ácido acético y/o vinagre mientras se mantuvo la mezcladora a 7200 rpm. El pH final de las mayonesas después de la acidificación se ajustó a 3,9 antes de someterlas a mediciones de oxidación (con el uso de hidróxido de sodio si el pH después de añadir vinagre era inferior a 3,9).

15 Como las muestras de caramelo eran sólidas y quebradizas, en primer lugar se rompieron las muestras en pedazos pequeños y luego se disolvieron en agua para crear disoluciones madre al 40%. Estas disoluciones madre se usaron en los experimentos para preparar las emulsiones.

20 Los compuestos fenólicos presentes en las mayonesas en la tabla 6 provienen de vinagre de vino blanco. Se estima que la concentración de compuestos fenólicos en el vinagre de vino blanco es de aproximadamente 80 µg/ml como equivalentes de ácido gálico (GAE) (véase P. Pinsirodom, Asian Journal of Food and Agro-Industry, 3(04), págs. 389-397, 2010). Esto significa que se estima que la concentración de compuestos fenólicos en las muestras 2-3 a 2-9 es de aproximadamente el 0,00024% de GAE.

25 Las mayonesas se sometieron a pruebas de oxidación tal como se describió con anterioridad, y se determinó la duración de la fase de retardo. Los resultados se muestran en la tabla siguiente. Cada punto de datos se basa en

ES 2 703 994 T3

dos duplicados o tres triplicados, de los cuales se indica el valor promedio.

Tabla 7: Respuesta de hexanal x 10<sup>-6</sup> (unidades arbitrarias) en una prueba de oxidación en condiciones aceleradas de mayonesas de la tabla 6 y la desviación estándar en los puntos de datos de respuesta.

Muestra	2-1		2-2		2-3	
Tiempo [días]	respuesta	desv. est.	respuesta	desv. est.	respuesta	desv. est.
0	0,01	0,00	0,03	0,01	0,02	0,01
2	0,01	0,01	0,51	0,05	0,17	0,05
4	0,02	0,01	1,42	0,08	0,76	0,08
7	0,03	0,01	2,12	0,36	1,65	0,05
9	0,05	0,03	4,33	1,02	2,21	0,16
11	0,05	0,01	8,62	0,91	6,36	4,20
14	0,07	0,01	4,32	0,65	6,21	1,64
16	0,14	0,06	12,94	7,15	6,35	3,05
18	0,21	0,03	26,17	19,18	6,38	0,64
21	0,24	0,01	9,89	4,33	23,40	9,53
23	0,39	0,09	10,59	5,18	19,47	26,27
25	1,85	0,80	17,14	20,57	12,31	12,47
28	0,50	0,19	44,37	33,53	9,99	5,13
31	0,60	0,09				
Muestra	2-4		2-5		2-6	
Tiempo [días]	respuesta	desv. est.	respuesta	desv. est.	respuesta	desv. est.
0	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00
2	0,12	0,00	0,12	0,01	0,12	0,01
4	0,22	0,02	2,55	3,96	0,35	0,15
7	0,44	0,05	0,52	0,05	0,45	0,03
9	0,66	0,07	0,86	0,06	0,64	0,11
11	1,38	0,37	1,90	0,16	1,10	0,09
14	8,72	2,88	4,69	1,24	5,47	2,12
16	5,92	3,39	9,94	2,05	6,13	2,09
18	19,25	11,90	9,81	6,13	19,85	1,61
21	11,05	7,66	16,21	4,66	10,70	7,16
23	26,80	17,72	11,21	1,77	24,36	15,83
25	23,95	15,73	15,27	10,54	18,28	10,60
28	37,36	3,04	13,06	12,38	6,15	1,00
Muestra	2-7		2-8		2-9	
Tiempo [días]	respuesta	desv. est.	respuesta	desv. est.	respuesta	desv. est.
0	0,01	0,01	0,02	0,00	0,02	0,00
2	0,13	0,02	0,20	0,03	0,12	0,05
4	0,94	1,20	0,86	0,12	0,16	0,01
7	0,34	0,29	1,39	0,12	0,30	0,00
9	1,13	0,21	2,05	0,30	0,38	0,02
11	2,75	0,36	4,03	0,38	0,63	0,10
14	7,83	1,49	6,58	3,83	0,81	0,08
16	9,90	5,23	4,43	0,25	1,80	0,57
18	17,07	5,41	9,91	5,84	3,29	0,97
21	16,37	4,91	8,45	3,69	6,36	0,87
23	13,24	7,04	25,08	9,89	10,48	4,23
25	7,21	0,45	6,08	0,85	19,32	5,38
28	14,54	1,71	27,49	11,63	13,48	6,90

5 Basándose en la respuesta de hexanal, puede determinarse la duración de la fase de retardo, comenzando el día en que se inició la prueba de oxidación. Esto se indica en la tabla siguiente.

Tabla 8: Duración de la fase de retardo, basándose en la respuesta de hexanal de la tabla 7.

Muestra	Duración de la fase de retardo [días]
2-1 (+EDTA)	~ 23
2-2 (sin EDTA)	~ 2
2-3 (sólo vinagre de vino blanco, sin car.)	~ 4
2-4 (car. B)	~ 11
2-5 (car. C)	~ 11

2-6 (car. D)	~ 11
2-7 (car. E)	~ 9
2-8 (car. F)	~ 7
2-9 (car. G)	~ 16

Estos resultados muestran que la adición de caramelos conduce a un cambio en la fase de retardo, de manera que se demora la oxidación rápida en comparación con muestras que no contienen EDTA (2-2). La presencia de vinagre de vino blanco conduce a una demora de la velocidad de oxidación (2-3), aunque los caramelos se precisan para extender más el tiempo de retardo. La muestra que contiene EDTA (2-1) rinde mejor que los caramelos, de todas formas, como se considera que EDTA es una sustancia química artificial para un producto alimenticio, se prefiere el uso de caramelo. Se estima que el caramelo es un ingrediente alimenticio habitual, dado que se prepara al calentar azúcar natural.

5

10

La temperatura es el factor que determina la actividad antioxidante del caramelo: cuanto mayor es dicha actividad, mejor resulta. Por otro lado, una temperatura más alta hace que el color del caramelo sea más oscuro (tal como se observa en la tabla 4), por lo que, hace que el caramelo sea menos adecuado para su uso en una mayonesa cuando el color de la mayonesa debe seguir siendo blanco-pálido-amarillento. El pH (4 frente a 7) durante la preparación de caramelo no tuvo una influencia importante sobre la actividad antioxidante.

15

Ejemplo 3 – Caramelos en mayonesa

Se usaron los caramelos de la tabla 5 en el ejemplo 1 para preparar mayonesas según las recetas en la tabla 9. Para comparar, también se prepararon mayonesas que contenían EDTA, sin caramelo.

20

*Tabla 9: Receta de mayonesas que contienen diversos caramelos.*

Mayonesa	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6
Ingrediente	conc. [%/p]					
Aceite de soja	75	75	75	75	75	75
Yema de huevo estabilizada	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
Ácido acético	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Mezcla de compuestos fenólicos	0	0	5	5	5	5
Sacarosa	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Sal (NaCl)	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Aroma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
EDTA	0,0075	0	0	0	0	0
Muestra de caramelo H			2			
Muestra de caramelo J				2		
Muestra de caramelo K					2	
Muestra de caramelo L						2
Agua	Hasta 100%					

Se prepararon se prepararon las mayonesas de manera similar, como en el ejemplo 2. Los compuestos fenólicos presentes en las mayonesas en la tabla 9 provienen de la mezcla de compuestos fenólicos. Esto significa que la concentración de compuestos fenólicos en las mayonesas 3-3 a 3-6 se puede calcular basándose en la concentración en la mezcla de compuestos fenólicos, que se incorpora en estas muestras a una concentración del 5%:

25

*Tabla 10: Concentración de compuestos fenólicos en muestras de mayonesa 3-3 a 3-6 de la tabla 9.*

Compuesto	Concentración en mayonesa [mg/kg]	Concentración en mayonesa [%/p]
Ácido 3,4-dihidroxi-benzoico	14,4	0,0014
Ácido siríngico	17,0	0,0017
Ácido p-cumárico	18,8	0,0019
Ácido gálico · H <sub>2</sub> O	11,3	0,0011
Ácido cafeico	7,1	0,00071
ácido trans-ferúlico	10,6	0,0011
Ácido vanílico	7,4	0,00074
Hidrato de DL-catequina	81,6	0,0082

30

Estas se sometieron a pruebas de oxidación, tal como se describió con anterioridad, y se determinó la duración de la fase de retardo. Los resultados se muestran en las tablas siguientes. Cada punto de datos se basa en dos duplicados o tres triplicados, de los cuales se indica el valor promedio, al igual que el error resultante en el punto de datos.

Tabla 11: Respuesta de hexanal x 10<sup>-6</sup> (unidades arbitrarias) en una prueba de oxidación en condiciones aceleradas de mayonesas de la tabla 9 y error absoluto en los puntos de datos de respuesta.

Muestra	3-1		3-2		3-3	
Tiempo [días]	respuesta	error	respuesta	error	respuesta	error
0	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00
4	0,02	0,01	2,14	0,11	0,20	0,01
5	0,03	0,01	3,07	0,47	0,18	0,14
7	0,03	0,01	4,98	0,27	0,44	0,07
10	0,03	0,00	19,58	4,86	1,11	0,19
12	0,04	0,00	11,82	1,24	3,70	0,32
14	0,04	0,00	11,20	1,87	6,72	2,36
17	0,07	0,02	10,47	2,13	7,08	0,26
19	0,20	0,04	38,02	4,77	5,23	0,90
21	0,61	0,60	13,31	1,47	21,78	8,63
24	0,30	0,01	28,85	16,40	5,69	0,58
26	0,88	0,26	28,61	14,95	19,35	15,72

Muestra	3-4		3-5		3-6	
Tiempo [días]	respuesta	error	respuesta	error	respuesta	error
0	0,02	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00
4	0,17	0,00	0,15	0,01	0,21	0,01
5	0,23	0,02	0,20	0,02	0,22	0,02
7	0,33	0,01	0,23	0,02	0,30	0,01
10	0,54	0,03	0,33	0,02	0,50	0,17
12	0,97	0,08	0,43	0,06	0,56	0,02
14	3,67	1,85	0,53	0,14	0,70	0,10
17	7,08	2,56	0,55	0,06	0,94	0,02
19	4,30	0,52	0,77	0,09	1,20	0,02
21	4,59	0,14	2,37	1,98	3,44	0,57
24	4,15	1,30	1,14	0,32	6,89	4,33
26	16,86	16,32	1,53	0,13	13,90	4,49

- 5 Basándose en la respuesta de hexanal, puede determinarse la duración de la fase de retardo, comenzando el día en que se inició la prueba de oxidación. Esto se indica en la tabla siguiente.

Tabla 12: Duración de la fase de retardo, basándose en la respuesta de hexanal de la tabla 11.

Muestra	Duración de la fase de retardo [días]
3-1 (+EDTA)	> 26
3-2 (sin EDTA)	~ 7
3-3 (car. H)	~ 12
3-4 (car. J)	~ 15
3-5 (car. K)	> 26
3-6 (car. L)	~ 21

- 10 Estos resultados muestran que el añadido de caramelos conduce a un cambio en la fase de retardo, en comparación con la muestra sin EDTA (3-2). Cuanto más dura el calentamiento, más prolongada es la fase de retardo. Además, la fructosa (3-6) tiene una fase de retardo prolongada, aunque en este experimento fue menos prolongada que con el caramelo similar basado en sacarosa (3-5). La combinación del caramelo que se había
- 15 calentado durante 12 minutos con la mezcla de compuestos fenólicos (3-5) conduce a una duración de la fase de retardo que es similar a la fase de retardo de la muestra con EDTA (3-1). Esto significa que puede reemplazarse el EDTA por caramelo y compuestos fenólicos.

20 Ejemplo 4 – Caramelos en mayonesa con diversas fuentes de compuestos fenólicos

Se usó la muestra de caramelo M de la tabla 5 en el ejemplo 1 para preparar mayonesas según las recetas en la tabla 13. Para comparar, también se prepararon mayonesas que conetnían EDTA, sin caramelo.

Tabla 13: Receta de mayonesas que contienen caramelo y diversas fuentes de compuestos fenólicos.

Mayonesa	4-1	4-2	4-3	4-4	4-5
Ingrediente	conc. [%/p]				
Aceite de soja	75	75	75	75	75
Yema de huevo estabilizada	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
Acido acético	0,3	0,3			
Vinagre de vino blanco			2,5		
Vinagre de manzana				5	
Mezcla de compuestos fenólicos					5
Sacarosa	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Sal (NaCl)	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Aroma	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
EDTA	0,0075	0	0	0	0
Muestra de caramelo M			2	2	2
Agua	Hasta 100%				

Se prepararon las mayonesas de manera similar, como en el ejemplo 2. Se sometieron a pruebas de oxidación, tal como se describió con anterioridad, y se determinó la duración de la fase de retardo. Los resultados se muestran en la tabla siguiente. Cada punto de datos se basa en dos duplicados o tres triplicados, de los cuales se indica el valor promedio, al igual que el error resultante en el punto de datos.

Se pueden estimar las concentraciones de compuestos fenólicos en las mayonesas:

- 10 • Muestra 4-3: se estima que la concentración de compuestos fenólicos en vinagre de vino blanco es de aproximadamente 80 µg/ml como equivalentes de ácido gálico (GAE) (véase P. Pinsiroadom, Asian Journal of Food and Agro-Industry, 3(04), págs. 389-397, 2010), lo que conduce a una concentración estimada de compuestos fenólicos en la muestra 4-3 de aproximadamente el 0,0002% de GAE.
- 15 • Muestra 4-4: se estima que la concentración de compuestos fenólicos en vinagre de manzana es de aproximadamente 180 µg/ml como equivalentes de ácido gálico (GAE) (véase P. Pinsiroadom, Asian Journal of Food and Agro-Industry, 3(04), págs. 389-397, 2010), lo que conduce a una concentración estimada de compuestos fenólicos en la muestra 4-4 de aproximadamente el 0,0009% de GAE.
- 20 • Muestra 4-5: la concentración total de compuestos fenólicos es de aproximadamente el 0,017% (véase la tabla 10)

Tabla 14: Respuesta de hexanal x 10<sup>-6</sup> (unidades arbitrarias) en una prueba de oxidación en condiciones aceleradas de mayonesas de la tabla 13 y error absoluto en los puntos de datos de respuesta.

Muestra	4-1		4-2		4-3	
Tiempo [días]	respuesta	error	respuesta	error	respuesta	error
0	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01
3	0,03	0,01	0,11	0,00	0,04	0,00
6	0,02	0,00	0,50	0,01	0,09	0,00
7	0,02	0,00	0,85	0,16	0,12	0,01
10	0,03	0,00	1,45	0,19	0,17	0,01
13	0,08	0,02	5,98	0,34	0,47	0,11
14	0,08	0,03	4,78	0,28	0,43	0,02
17	0,09	0,03	4,80	0,46	0,64	0,02
19	0,10	0,01	5,98	1,22	0,81	0,12
24	0,18	0,01	18,49	2,17	3,10	0,15
26	0,18	0,02	15,77	3,08	6,88	3,78
28	0,29	0,03	8,21	3,86	4,12	0,35
31	1,60	1,15	7,82	0,93	22,32	6,47
33	0,73	0,17	6,80	1,19	11,67	3,06
35	1,92	0,70	12,73	8,95	35,96	28,92
38	10,62	1,80				
40	11,98	0,47				
42	26,85	14,41				
Muestra	4-4		4-5			
Tiempo [días]	respuesta	error	respuesta	respuesta		
0	0,01	0,00	0,01	0,00		
3	0,06	0,02	0,06	0,01		

6	0,09	0,01	0,10	0,01
7	0,11	0,01	0,12	0,02
10	0,19	0,03	0,16	0,01
13	0,51	0,05	0,41	0,02
14	0,42	0,04	0,37	0,02
17	0,60	0,04	0,56	0,16
19	0,85	0,17	0,54	0,05
24	5,44	0,58	1,16	0,35
26	5,83	2,57	1,11	0,22
28	5,90	2,36	1,25	0,20
31	5,63	1,03	2,04	0,28
33	23,78	5,63	2,04	0,15
35	7,15	3,23	2,40	0,52
38			14,51	1,87
40			8,94	6,86
42			23,86	16,84

Basándose en la respuesta de hexanal, puede determinarse la duración de la fase de retardo comenzando el día en que se inició la prueba de oxidación. Esto se indica en la tabla siguiente.

- 5 *Tabla 15: Duración de la fase de retardo, basándose en la respuesta de hexanal de la tabla 14.*

Muestra	Duración de la fase de retardo [días]
4-1 (+EDTA)	~ 35
4-2 (sin EDTA)	~ 10
4-3 (vinagre de vino blanco)	~ 24
4-4 (vinagre de manzana)	~ 26
4-5 (Mezcla de compuestos fenólicos)	~ 35

- 10 Estos resultados muestran que el uso del caramelo M (véase la tabla 5) que se ha calentado a una temperatura de 180°C, y que tiene un color claro (similar al caramelo F de la tabla 2 y de la tabla 4), en combinación con la mezcla de compuestos fenólicos, conduce a una fase de retardo similar a la que se obtiene con el uso de EDTA. Por tanto, la muestra 4-5 con la mayor concentración de compuestos fenólicos mostró los mejores resultados de oxidación, en comparación con las muestras con una menor concentración de compuestos fenólicos, las muestras 4-3 y 4-4. No obstante, también estas muestras demuestran que la combinación de caramelo y compuestos fenólicos presentes en vinagres, conduce a un intenso efecto antioxidante, y una reducción de la oxidación de aceite vegetal en las mayonesas. Por tanto, el uso de un caramelo de color claro, en combinación con un vinagre que contiene compuestos fenólicos conduce a la disminución de la reducción de triglicéridos en una mayonesa, y resulta adecuado para su uso en una mayonesa, sin oscurecer intensamente el color de la mayonesa.

#### Ejemplo 5 – Caramelos comerciales en mayonesa

- 20 Se usó un caramelo comercial (NCS 23P de Buisman, Zwartsluis, Países Bajos) para comparar el efecto antioxidante del caramelo con o sin una mezcla de compuestos fenólicos. Este caramelo es de color oscuro, no obstante, se usó como prueba del principio. Se prepararon mayonesas según las recetas en la tabla 16. Para comparar, también se prepararon mayonesas que contenían EDTA, sin caramelo.

- 25 *Tabla 16: Receta de mayonesas que contienen caramelo y compuestos fenólicos.*

Mayonesa	5-1	5-2	5-3	5-4
Ingrediente	conc. [%/p]	conc. [%/p]	conc. [%/p]	conc. [%/p]
Aceite de soja	75	75	75	75
Yema de huevo estabilizada	4,2	4,2	4,2	4,2
Acido acético	0,3	0,3	0,3	0,3
Caramelo Buisman			2	2
Mezcla de compuestos fenólicos				5
Sacarosa	1,3	1,3	1,3	1,3
Sal (NaCl)	1,3	1,3	1,3	1,3
Aroma	0,2	0,2	0,2	0,2
EDTA	0,0075	0	0	0
Agua	Hasta 100%	Hasta 100%	Hasta 100%	Hasta 100%

Se prepararon las mayonesas de manera similar, como en el ejemplo 2. La concentración de compuestos fenólicos en la mayonesa 5-4 fue de aproximadamente el 0,017% (véase la tabla 10). Se sometieron a pruebas de oxidación,

tal como se describió con anterioridad, y se determinó la duración de la fase de retardo. Los resultados se muestran en la tabla siguiente. Cada punto de datos se basa en dos duplicados o tres triplicados, de los cuales se indica el valor promedio.

5 **Tabla 17: Respuesta de hexanal x 10<sup>-6</sup> (unidades arbitrarias) en una prueba de oxidación en condiciones aceleradas de mayonesas de la tabla 16.**

Muestra	5-1	5-2	5-3	5-3
Tiempo [días]	respuesta	respuesta	respuesta	respuesta
0	< 1	0	< 1	< 1
2	< 1	< 1	< 1	< 1
5	< 1	2	< 1	< 1
9	< 1	4	< 1	< 1
12	< 1	19	1	< 1
14	< 1	24	13	< 1
16	< 1		8,5	< 1
19	< 1	43	9,5	1
21	< 1	40,5	10	1
24	< 1			1
26	< 1	57	14	2
28	1,5	48	13	2
30	1	41,5	9	3

Basándose en la respuesta de hexanal, puede determinarse la duración de la fase de retardo comenzando el día en que se inició la prueba de oxidación. Esto se indica en la tabla siguiente.

10

**Tabla 18: Duración de la fase de retardo, basándose en la respuesta de hexanal de la tabla 17.**

Muestra	Duración de la fase de retardo [días]
5-1 (+EDTA)	> 30
5-2 (sin EDTA)	~ 9
5-3 (car.)	~ 12
5-4 (car. + mezcla de compuestos fenólicos)	~ 30

Estos resultados muestran que el uso de caramelo solamente conduce a una reducción de la velocidad de oxidación, en comparación con la muestra sin EDTA. Cuando se añaden adicionalmente compuestos fenólicos, la combinación de caramelo y dichos compuestos conduce a que la duración de la fase de retardo sea casi tan buena como la de la muestra con EDTA.

15

Ejemplo 6 – Caramelo en mayonesa

20 Se prepararon mayonesas según las recetas en la tabla 19.

**Tabla 19: Receta de mayonesas que contienen diversos caramelos.**

Mayonesa	502	503	504	505	506	507
Ingrediente	conc. [%/p]					
Aceite de soja	77,8	77,8	77,8	77,8	77,8	77,8
Yema de huevo estabilizada	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
Vinagre de alcohol	2,4	2,4		2,4		
Vinagre de manzana			5,8		5,8	5,8
Sacarosa	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Sal (NaCl)	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Zumo de limón	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
EDTA	0,0075					
Caramelo				2,0	2,0	2,0
Agua	Hasta 100%					

25 Se preparó el caramelo usado en estas emulsiones mediante el calentamiento de sacarosa a pH 7, a una temperatura de 220°C durante aproximadamente 12 minutos.

30 Se prepararon las mayonesas con una preparación inicial de una fase acuosa, que se preparó mezclando agua, yema de huevo, sacarosa, sal, y EDTA, de manera pertinente. Posteriormente, se añadió aceite lentamente a la fase acuosa, mientras se mezclaba con una mezcladora de alto cizallamiento (Silverson). El aceite se añadió en el lapso de aproximadamente 10 minutos, mientras que la velocidad de mezclado se aumentó lentamente desde aproximadamente 1600 hasta aproximadamente 7200 rpm. Después de que se hubo homogeneizado el aceite, y la emulsión se había vuelto suave, se añadió lentamente ácido acético, vinagre y zumo de limón mientras se mantuvo

la mezcladora a 7200 rpm. El pH final de las mayonesas después de la acidificación se ajustó a 3,9 antes de someterlas a mediciones de oxidación (con el uso de hidróxido de sodio 1 M o ácido clorhídrico 1 M).

5 Se prepararon las emulsiones 505 y 506 añadiendo el caramelo a la fase acuosa, antes de la adición del aceite a este fase acuosa. Se disolvió el caramelo en agua antes de la adición a la fase acuosa. La concentración del caramelo en la tabla 19 se basa en el caramelo seco.

10 Se preparó la emulsión 507 disolviendo caramelo en el vinagre en primer lugar. Se mantuvo la mezcla a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se añadió esta mezcla a la emulsión de aceite en agua para acidificar la emulsión. La fase acuosa (antes de la adición del aceite) no contenía caramelo.

15 Estas mayonesas se sometieron a pruebas de oxidación tal como se describió con anterioridad, y se determinó la duración de la fase de retardo. Los resultados se muestran en las tablas siguientes. Cada punto de datos se basa en dos duplicados o tres triplicados, de los cuales se indica el valor promedio, así como el error resultante en el punto de datos.

Tabla 20: Respuesta de hexanal (unidades arbitrarias) en una prueba de oxidación en condiciones aceleradas de mayonesas de la tabla 19 y la desviación estándar en los puntos de datos de respuesta.

Muestra	502		503		54	
Tiempo [días]	Área de pico	desv. est.	Área de pico	desv. est.	Área de pico	desv. est.
0	859	755	304	64	556	374
1	769	372	383	143	266	68
4	271	75	1180	62	1179	63
6	423	159	2597	194	2039	33
8	472	233	5288	407	3282	288
11	445	61	9906	1887	3545	2849
13	608	69	21180	2099	7233	286
15	4564	6030	41370	9348	15668	6126
18	1823	340	59041	6661	39157	7839
20	2260	218				
22	3152	880				
25	6942	3831	95559	48493	75286	39739
29	12017	4710	61916	9426	50692	5865
32	62129	21324	89596	35573	60630	7083
34	102199	52947				

Muestra	505		506		507	
Tiempo [días]	Área de pico	desv. est.	Área de pico	desv. est.	Área de pico	desv. est.
0	304	149	450	236	351	110
1	372	233	486	172	484	210
4	1042	374	1265	149	1461	255
6	1887	144	1681	170	2303	103
8	3009	194	2462	187	3397	231
11	4308	252	4353	369	4811	398
13	5743	740	5833	661	9634	6022
15	9888	3080	11207	872	7899	380
18	19816	14811	10247	1489	13190	2157
20						
22	30074	15090	14998	3158	14369	336
25	92691	17583	26617	17297	19495	3420
29	75325	28390	53488	12092	83800	40992
32	116066	47093	77192	28726	120295	51831
34						

20 Basándose en la respuesta de hexanal, puede determinarse la duración de la fase de retardo, comenzando el día en que se inició la prueba de oxidación. Esto se indica en la tabla siguiente.

Tabla 21: Duración de la fase de retardo, basándose en la respuesta de hexanal de la tabla 11.

Muestra	Duración de la fase de retardo [días]
502 (+EDTA)	29
503 (sin EDTA)	11
504 (vinagre de manzana)	15
505 (caramelo)	18

506 (vinagre de manzana y caramelo)	22
507 (vinagre de manzana y caramelo añadidos juntos)	22

Estos resultados confirman que la adición de caramelos en combinación con vinagre de manzana conduce a un cambio en la fase de retardo, en comparación con la muestra sin EDTA, o con caramelo solo, o con vinagre de manzana solo. En este experimento, la adición independiente de vinagre de manzana y caramelo, o la adición de vinagre de manzana en combinación con caramelo condujeron a la misma duración de la fase de retardo.

## REIVINDICACIONES

1. Composición en forma de una emulsión de aceite en agua que tiene un pH que oscila entre 3 y 5, que comprende aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados, en la que la concentración de aceite vegetal oscila entre el 5% y el 85% en peso de la composición, que comprende además caramelo y uno o más compuestos fenólicos, en la que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y en la que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y en la que el uno o más compuestos fenólicos comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina; y
- 5 en la que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición; y
- 10 en la que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70.
- 15
2. Composición según la reivindicación 1, en la que la composición comprende un agente emulsionante de aceite en agua, preferiblemente comprende yema de huevo.
- 20
3. Composición según las reivindicaciones 1 ó 2, en la que la concentración de EDTA es inferior al 0,005% en peso, preferiblemente inferior al 0,002% en peso de la composición.
- 25
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua se calienta hasta una temperatura que oscila entre 180°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 5 minutos, preferiblemente entre 40 segundos y 3 minutos, para obtener el caramelo.
- 30
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la concentración del caramelo oscila entre el 1% y el 3% en peso de la composición.
- 35
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 60.
- 40
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la concentración total del uno o más compuestos fenólicos oscila entre el 0,0001% y el 0,1% en peso de la composición.
- 45
8. Método para la preparación de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende las etapas:
- (i) proporcionar caramelo, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y
- 50 en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70;
- (ii) proporcionar uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina;
- 55
- (iii) proporcionar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados y
- 60
- (iv) mezclar el caramelo obtenido de la etapa (i) y el uno o más compuestos fenólicos de la etapa (ii) con el aceite vegetal de la etapa (iii);
- 65 y en el que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

en el que la composición tiene un pH que oscila entre 3 y 5, y

en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.

5 9. Método para la preparación de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, que comprende las etapas:

(i) proporcionar una mezcla acuosa que comprende un agente emulsionante de aceite en agua,

10 y que comprende caramelo, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y

15 en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70;

20 (ii) mezclar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados con la mezcla de la etapa (i) para preparar una emulsión de aceite en agua; y

(iii) proporcionar uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina;

25 y añadirlos a la mezcla de la etapa (ii) y, de manera simultánea o posterior, añadir un ácido a la mezcla de la etapa (ii) para llevar el pH de la mezcla a un valor comprendido entre 3 y 5; y en el que el ácido comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

30 en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.

10. Método para la preparación de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, que comprende las etapas:

35 (i) proporcionar una mezcla acuosa que comprende un agente emulsionante de aceite en agua;

(ii) mezclar aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados y/o poliinsaturados y con la mezcla de la etapa (i) para preparar una emulsión de aceite en agua;

40 (iii) proporcionar una mezcla de caramelo y uno o más compuestos fenólicos que comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido trans-ferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua, hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos; y

45 en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70; y

50 (iv) mezclar la mezcla de la etapa (iii) con la mezcla de la etapa (ii) y, de manera simultánea o posterior, añadir un ácido a la mezcla de la etapa (ii) para llevar el pH de la mezcla a un valor comprendido entre 3 y 5; y en el que el ácido comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

60 en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición.

11. Uso de caramelo y uno o más compuestos fenólicos en una composición que tiene un pH que oscila entre 3 y 5, que comprende aceite vegetal que comprende ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, para reducir la velocidad de oxidación del aceite vegetal, en el que el caramelo se obtiene mediante el calentamiento de una mezcla que comprende uno o más monosacáridos y/o uno o más disacáridos y agua hasta una temperatura que oscila entre 110°C y 230°C, durante un periodo de tiempo que oscila entre 30

65

## ES 2 703 994 T3

segundos y 30 minutos, en ausencia de compuestos fenólicos, y en el que la composición comprende vinagre seleccionado de vinagre de manzana, vinagre de vino blanco, vinagre de vino tinto, vinagre de malta y mosto de uva y cualquiera de sus combinaciones; y

5 en el que el uno o más compuestos fenólicos comprenden uno o más compuestos del grupo que consiste en ácido 3,4-dihidroxi-benzoico, ácido sirínico, ácido p-cumárico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido transferúlico, ácido vanílico e hidrato de DL-catequina; y

10 en el que la concentración del caramelo oscila entre el 0,5% y el 3% en peso de la composición; y

en el que una disolución al 10% en peso del caramelo en agua tiene un valor de color de  $L^*$  que oscila entre 30 y 65, y un valor de  $a^*$  que oscila entre -5 y 30, y un valor de  $b^*$  que oscila entre 10 y 70, y un valor de  $\Delta E^*$  en comparación con agua que oscila entre 0 y 70.