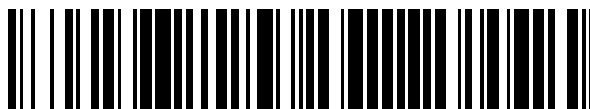


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 798 427**

51 Int. Cl.:

A21D 8/04 (2006.01)

A21D 2/16 (2006.01)

A21D 13/00 (2007.01)

A21D 10/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.07.2017** **PCT/EP2017/067212**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.01.2018** **WO18011118**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2017** **E 17749368 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020** **EP 3481206**

54 Título: **Composición de panadería mejorada**

30 Prioridad:

11.07.2016 BE 201605578

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

11.12.2020

73 Titular/es:

PURATOS N.V. (100.0%)
Industrialaan 25
1702 Groot Bijgaarden, BE

72 Inventor/es:

DEVELTER, BRAM y
DAUVRIIN, THIERRY

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 798 427 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 de panadería mejorada

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la mejora de la mordida corta (*short bite*) de productos de panadería.

Antecedentes de la invención

Cuando los consumidores compran productos de panadería tienen en cuenta una serie de parámetros tales como el aspecto, la terneza, la humedad o el aroma. La forma en que un producto de panadería puede consumirse también es fundamental; el producto de panadería, por ejemplo, debe ser fácil de morder sin tener que masticarlo intensamente, dado que este aspecto particular se considera como una característica de frescura del producto. Los consumidores también prefieren comprar panes con el nivel más reducido posible de aditivos (etiquetados).

Durante el envejecimiento, las características de un producto de panadería cambian. En particular, cambia el perfil de aroma, el producto se vuelve más duro, más seco y se vuelve más difícil de masticar, y como resultado se considera que el producto de panadería se vuelve "menos fresco".

La mordida corta de un producto de panadería puede definirse como la facilidad para morder o arrancar un trozo del producto de panadería. Se refleja en la fuerza necesaria para romper una muestra y el número de masticaciones para masticar una muestra hasta una consistencia lista para deglutir. En cierto modo, la mordida corta es lo opuesto a la masticabilidad. Además, la mordida corta es muy diferente de la terneza. De hecho, la terneza de un pan se refleja en la fuerza necesaria para comprimir una muestra hasta una determinada deformación. La terneza también es opuesta a la dureza. Por lo tanto, un pan puede ser tierno aunque no posea mordida corta y viceversa.

Actualmente, se han propuesto ya algunos procedimientos para mejorar la mordida corta de un producto de panadería. El documento EP0776604 describe el uso de monoglicéridos insaturados para producir molletes crujientes para preparar en microondas que tienen mordida corta. El documento WO2009138447 describe el uso de una serina o metaloproteasa termoestable o intermedia termoestable para mejorar la mordida corta de productos de panadería. El documento EP1350432A1 divulga un procedimiento para retrasar el envejecimiento de productos de panadería mediante la adición de una proteasa termoestable y otro aditivo antienviejecimiento, preferentemente monoglicéridos, diglicéridos y/o estearoil-lactilatos.

El uso de una serina o metaloproteasa termoestable o intermedia termoestable mejora la mordida corta de los productos de panadería en una determinada medida, pero esta mejora de la mordida corta está de algún modo limitada a altas cantidades de enzima que tienden a ser perjudiciales para las otras propiedades del producto de panadería, tales como la friabilidad y la resiliencia. Altas cantidades de monoglicéridos provocan una importante reducción de la resiliencia de la masa y por lo tanto son bastante perjudiciales para productos de panadería. Además, tienden a dar un sabor metálico a los productos de panadería a altas dosis.

Por lo tanto, existe la necesidad de nuevos procedimientos y productos para mejorar adicionalmente la mordida corta.

Breve descripción de la invención

Los inventores han descubierto que el uso de una combinación de serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C y una cantidad suficiente de monoglicéridos en aplicaciones de panadería, y en particular en la elaboración de pan, tiene un efecto sinérgico sobre la mordida corta.

En consecuencia, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende:

- al menos una primera enzima, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 80 °C; y;
- uno o más monoglicéridos, particularmente en la que dichos, uno o más, monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior o igual a 5, preferentemente inferior o igual a 2, y, cuando la composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de tales monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma más preferida inferior a 120 µm.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila en la que la proporción entre la actividad de proteasa a una temperatura óptima y la actividad de proteasa a 25 °C es superior a 10, preferentemente superior a 15.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila neutra o alcalina.

5 En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una proteasa Taq, preferentemente aislada de *Thermus aquaticus*, preferentemente acualisina I o acualisina II, de forma más preferida acualisina I, de forma incluso más preferida acualisina I aislada de *Thermus aquaticus* LMG8924.

10 En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima está presente en una cantidad de 100 a 1200 unidades/100 kg de harina, preferentemente de 200 a 900 unidades/100 kg de harina, de forma más preferida de 350 a 700 unidades/100 kg de harina.

15 En consecuencia, en un aspecto más, la presente invención se refiere al uso de una composición tal como se divulga en el presente documento en aplicaciones de panadería.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, se usa en mejoradores de pan.

20 En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, se usa en productos de panadería tiernos y en productos de panadería crujientes, preferentemente pan, molletes, donuts, bollos para preparar en microondas, pasta danesa, cruasanes, pan para hamburguesas, pizza y pan de pita y pasteles.

25 En consecuencia, en un aspecto más, la presente invención se refiere a un mejorador de pan que comprende la composición tal como se divulga en el presente documento.

En consecuencia, en un aspecto más, la presente invención se refiere a un procedimiento para preparar un producto horneado, que comprende las etapas de añadir a la masa o pasta, antes del horneado:

30 - al menos una primera enzima, en el que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 80 °C; y;

35 - uno o más monoglicéridos, particularmente en el que dichos monoglicéridos se añaden en forma de polvo y en el que al menos el 70% de dicho polvo está formado por partículas con un tamaño inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma incluso más preferida inferior a 120 µm y en el que dichos monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior o igual a 5, preferentemente inferior o igual a 2.

40 En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicho producto horneado muestra una mordida corta mejorada, preferentemente en el que la fuerza máxima necesaria para romper el producto horneado, que se ha preparado utilizando al menos una primera enzima, que es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 80 °C, y utilizando uno o más monoglicéridos; se reduce en al menos el 15% en comparación con un producto horneado de referencia preparado sin utilizar ni dicha primera enzima ni dicho monoglicérido.

45 En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que no se observa ningún efecto adverso sobre la reología de la masa, sobre la estructura de las migas ni sobre el volumen del producto de panadería resultante.

50 En consecuencia, en un aspecto más, la presente invención se refiere a un producto horneado preparado a partir de una masa o pasta que comprende la composición tal como se divulga en el presente documento.

Breve descripción de las figuras

55 Las figuras 1A-1C representan diferentes aspectos de la evaluación de la mordida corta utilizando un analizador de textura. La figura 1A representa un analizador de textura equipado con un dispositivo de tracción para pizza (2 sondas con clavijas). La figura 1B representa la configuración de medición real, en la que un bollo se fija en el dispositivo de tracción para pizza y en la que la sonda superior se mueve hacia arriba a una velocidad constante hasta que se rompe el bollo. La figura 1C muestra un gráfico típico de la medición, en el que la fuerza necesaria expresada en gramos (g) se mide en función del tiempo (s).

Descripción detallada de la invención

65 Antes de describir los presentes productos, composiciones, usos y procedimientos de la invención, se entenderá que la presente invención no se limita a los productos, composiciones, usos y procedimientos o combinaciones descritos, dado que dichos productos, composiciones, usos y procedimientos y combinaciones, por supuesto, pueden variar.

También se entenderá que la terminología que se utiliza en el presente documento no pretende ser limitante, dado que el alcance de la presente invención estará limitado solamente por las reivindicaciones adjuntas.

Tal como se utilizan en el presente documento, las formas singulares “un”, “uno, una”, y “el, la”, incluyen tanto referentes singulares como plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Los términos “que comprende”, “comprende”, y “compuesto por”, tal como se utilizan 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 del procedimiento no mencionados adicionales. Se apreciará que los términos “que comprende”, “comprende” y “compuesto por”, tal como se utilizan en el presente documento, comprenden los términos “que consiste en”, “consiste” y “consiste en”.

La indicación de intervalos numéricos mediante puntos finales incluye todos los números y fracciones incluidos dentro de los intervalos respectivos, así como los puntos terminales finales.

El término “alrededor de” o “aproximadamente”, tal como se utiliza en el presente documento cuando se hace referencia a un valor medible, tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal, y similar, significa que abarca variaciones de +/-10% o inferiores, preferentemente de +/-5% o inferiores, de forma más preferida de +/-1% o inferiores, y de forma incluso más preferida de +/-0,1% o inferiores de, y a partir de, un valor especificado, siempre que dichas variaciones sean apropiadas para llevar a cabo la invención divulgada. Se entiende que el valor al que se refiere el modificador “alrededor de” o “aproximadamente” por sí mismo también se divulga específicamente y preferentemente.

Aunque los términos “uno o más” o “al menos uno”, tales como uno o más o al menos un miembro de un grupo de miembros, son evidentes por sí mismos, por medio de una ejemplificación adicional, el término abarca, entre otras cosas, una referencia a uno cualquiera de dichos miembros, o a cualquiera de dos o más de dichos miembros, como por ejemplo cualquiera de ≥ 3 , ≥ 4 , ≥ 5 , ≥ 6 o ≥ 7 etc., de dichos miembros, y hasta todos los miembros.

Todas las referencias citadas en la presente memoria descriptiva se incorporan al presente documento por referencia en su totalidad. En particular, las enseñanzas de todas las referencias del presente documento indicadas específicamente se incorporan al mismo por referencia.

A menos que se definan de otra forma, todos los términos utilizados en la divulgación de la invención, incluidos los términos técnicos y científicos, tienen el significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la invención. Por medio de instrucciones adicionales, se incluyen definiciones de términos para apreciar mejor las enseñanzas de la presente invención.

En los pasajes siguientes se definen diferentes aspectos y formas de realización de la invención con mayor detalle. Cada aspecto y forma de realización así definido puede combinarse con cualquier otro aspecto o aspectos y forma de realización o formas de realización, a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica que se indica que es preferida o ventajosa puede combinarse con otra característica o características que se indican que son preferidas o ventajosas.

La referencia a lo largo de la presente memoria descriptiva a “una forma de realización” o “1 forma de realización” significa que una característica, estructura o rasgo particulares descritos con respecto a la forma de realización se incluye en al menos una forma de realización de la presente invención. De esta forma, las apariciones de las frases “en 1 forma de realización” o “en una forma de realización” en varios lugares a lo largo de la presente memoria descriptiva no se refieren todas necesariamente a la misma forma de realización, pero puede ser así. Además, las características, estructuras o rasgos particulares pueden combinarse de cualquier forma adecuada, como será evidente para un experto en la técnica a partir de la presente divulgación, en una o más formas de realización. Además, a pesar de que algunas formas de realización descritas en el presente documento incluyen algunas, pero no todas las otras características incluidas en otras formas de realización, se pretende que las combinaciones de características de diferentes formas de realización se encuentren dentro del alcance de la invención, y formen diferentes formas de realización, tal como lo entendería un experto en la técnica. Por ejemplo, en las reivindicaciones adjuntas, cualquiera de las formas de realización reivindicadas pueden usarse en cualquier combinación.

Los inventores han encontrado sorprendentemente que utilizando una nueva combinación de ingredientes, en particular la combinación de una serina proteasa termófila y uno o más monoglicéridos, era posible obtener una mejora en la mordida corta que era mucho más significativa en comparación con la mordida corta esperada mediante la adición de los efectos de los ingredientes individuales utilizados individualmente.

La mordida corta, también definida algunas veces como lo opuesto a la masticabilidad y/o a la tenacidad, se usa para designar la fuerza necesaria para romper una muestra de un producto de panadería y/o al número de masticaciones necesarias para masticar un producto de panadería y/o el número de masticaciones necesarias para masticar una muestra de un producto de panadería hasta una consistencia que la haga apta para su deglución. La

mordida corta también puede medirse fácilmente mediante un panel de degustación de personas entrenadas y puede cuantificarse razonablemente utilizando una escala de mordida corta arbitraria. Dichas técnicas son bien conocidas en la industria alimentaria y se denominan generalmente pruebas organolépticas. En dicho procedimiento, se organiza una sesión de entrenamiento inicial para familiarizar a los panelistas con la serie de productos que degustarán. En esta sesión se presentan patrones de referencia para entrenar a los panelistas a reconocer las diferencias entre los atributos del producto que se van a medir. En una segunda etapa, los panelistas reciben un número de productos que van a calificar con respecto a su mordida corta, en una escala de 0 a 10.

La mordida corta también puede evaluarse con la ayuda de un analizador de textura, tal como se describe en la figura 1. En dicho procedimiento, se fija un bollo a un dispositivo de tracción para pizza (2 sondas con clavijas (véase la figura 1A)). La sonda superior se moverá hacia arriba a una velocidad constante y de esta forma romperá el bollo (véase la figura 1B). La fuerza necesaria expresada en gramos (g) se mide por medio del analizador de textura. A lo largo de este proceso, la fuerza requerida aumentará hasta que el bollo se rompa y la fuerza se reduzca. Un gráfico típico de esta medición se muestra en la figura 1C. La fuerza máxima ($F_{\text{máx}}$) medida es un parámetro común para evaluar la mordida corta.

Los inventores han encontrado sorprendentemente que el uso simultáneo de una cantidad suficiente de una serina proteasa termófila y una cantidad suficiente de monoglicéridos en una masa antes del horneado muestra un efecto sinérgico inesperado sobre la mejora de la mordida corta en el producto horneado. Particularmente, dichos monoglicéridos se añaden en forma de polvo y al menos el 70% de dicho polvo está formado por partículas con un tamaño inferior a 200 μm , preferentemente inferior a 160 μm , de forma incluso más preferida inferior a 120 μm y dichos monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior o igual a 5, preferentemente inferior o igual a 2.

De hecho, la mordida corta proporcionada por la combinación de la serina proteasa termófila y los monoglicéridos es superior a la suma de los efectos de la serina proteasa termófila y los monoglicéridos tomados individualmente. Existe una sinergia cuando el efecto proporcionado por una cantidad x de la serina proteasa termófila combinada con una cantidad y de monoglicéridos es superior que la suma del efecto proporcionado por la cantidad x de la serina proteasa termófila y el efecto proporcionado por la cantidad y de monoglicéridos. En consecuencia, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende:

- al menos una primera enzima, en la que primera enzima es una serina proteasa termófila; y
- uno o más monoglicéridos. Particularmente, dichos, uno o más, monoglicéridos están completamente hidrogenados con un índice de yodo inferior a 5, preferentemente inferior a 2,5, de forma más preferida inferior o igual a 2 y, cuando la composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de los, uno o más, monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 μm , preferentemente inferior a 160 μm , de forma más preferida inferior a 120 μm .

En una forma de realización particular, dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C.

Además se ha encontrado que el efecto sinérgico al que se refiere el presente documento está particularmente presente cuando la serina proteasa termófila, tal como se contempla en el presente documento, tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "proteasa" se refiere en general a enzimas (también denominadas peptidasas o proteinasas) que hidrolizan los enlaces peptídicos que unen aminoácidos entre sí en una cadena polipeptídica, preferentemente tal como se define por la entrada de enzimas EC 3.4. Estas se clasifican en varias clases según sus residuos catalíticos. Entre estas clases, las serina proteasas (o serina endopeptidasas) son proteasas que escinden enlaces peptídicos en proteínas, en las que la serina actúa como el aminoácido nucleófilo en el sitio activo. Las serina proteasas se definen por la entrada de enzimas EC 3.4.21. Las serina proteasas además pueden subclasificarse según su especificidad de sustrato como de tipo tripsina, de tipo quimiotripsina, de tipo trombina, de tipo elastasa o de tipo subtilisina.

En el contexto de la presente invención, la actividad de proteasa se mide usando caseína entrelazada con azurina (AZCL-caseína) como sustrato. La hidrólisis por proteasas produce fragmentos teñidos solubles en agua y la velocidad de liberación de los mismos (por ejemplo, un aumento en la absorbancia a 590 nm) puede estar directamente relacionada con la actividad enzimática (comprimidos Protazyme AK, Megazyme, Irlanda). Más detalles sobre la medición de la actividad de proteasa se proporcionan en los ejemplos. La actividad de proteasa también puede medirse con otros ensayos para evaluar actividades de proteasa conocidos por los expertos en la técnica. Entre los mismos se encuentra el procedimiento calorimétrico que utiliza caseína como sustrato seguido de la detección de los aminoácidos liberados con el reactivo fenol de Folín y Ciocalteu.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "termófilo" y en particular "proteasa termófila", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a proteasas activas a temperaturas elevadas. En particular, la o las proteasas termófilas tienen una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "monoglicéridos" se refiere en general a una clase de glicéridos que están compuestos por una molécula de glicerol enlazada a un ácido graso por medio de un enlace de éster.

Los monoglicéridos son uno de muchos tipos de emulsionantes usados en aplicaciones de panadería: entre los mismos se encuentran los monoglicéridos (o mezclas de monoglicéridos y diglicéridos; denominados E471 por el Sistema de numeración internacional para aditivos alimentarios (INS) o 184.1505 por la Agencia de alimentos y fármacos de Estados Unidos), derivados de monoglicéridos (tales como, por ejemplo, monoglicéridos succinilados lactilados o acetilados, ésteres de ácido diacetiltartárico de monoglicéridos (DATEM), monoestearato de glicerol (GMS), monoéster de propilenglicol, ...), emulsionantes de sorbitán (monoestearato de sorbitán), polisorbatos, estearoil-lactilato de sodio (SSL), ésteres de poliglicerol, ésteres de sacarosa y lecitina.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila en la que la relación entre la actividad de proteasa a una temperatura óptima y la actividad de proteasa a 25 °C es superior a 10, preferentemente superior a 15. Al establecer que dicha relación sea superior a 10, la serina proteasa termófila, tal como se utiliza en el presente documento, hace que se obtengan efectos mejorados con respecto a la mordida corta.

En una forma de realización particular la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima se obtiene por extracción de organismos eucariotas o procariotas de origen natural, por medio de síntesis o por ingeniería genética. En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila neutra o alcalina. A pesar de que las proteasas fúngicas son sensibles a altas temperaturas, las proteasas bacterianas neutras y alcalinas son más resistentes a tratamientos con mayor calor.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una proteasa Taq, preferentemente aislada de *Thermus aquaticus*, preferentemente acualisina I o acualisina II, de forma más preferida acualisina I, y de forma incluso más preferida acualisina I aislada de *Thermus aquaticus* LMG8924.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima, preferentemente acualisina I, está presente en una cantidad de 100 a 1200 unidades/100 kg de harina, preferentemente a 200 a 900 unidades/100 kg de harina, de forma más preferida de 350 a 700 unidades/100 kg de harina. La acualisina I se añade ventajosamente a la masa/pasta a de 100 a 1200 unidades/100 kg de harina, preferentemente de 200 a 900 unidades/100 kg de harina, de forma más preferida de 350 a 700 unidades/100 kg de harina, obteniéndose la actividad enzimática usando el procedimiento descrito en el presente documento.

En la composición tal como se divulga en el presente documento los monoglicéridos (E471) son cualquier tipo de monoglicéridos. Particularmente, los, uno o más, monoglicéridos tal como se contemplan en el presente documento están completamente hidrogenados con un índice de yodo inferior a 5, preferentemente inferior a 2,5, de forma más preferida inferior o igual a 2 y, cuando la composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de los monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma más preferida inferior a 120 µm. Se ha encontrado que el efecto sinérgico al que se refiere el presente documento se presenta particularmente con monoglicéridos tal como se contemplan en el presente documento con el índice de yodo y el tamaño de partícula que se han definido anteriormente.

En el contexto de la presente invención el índice de yodo ventajosamente se determina usando un ensayo derivado del procedimiento de Wijs - Hoffmann - Green, tal como se describe en el presente documento.

En el contexto de la presente invención el tamaño de partícula se determina ventajosamente por medio del procedimiento de difracción láser tal como se describe en el presente documento.

Los monoglicéridos se añaden ventajosamente a la masa en una concentración de entre 100 y 2000 g/100 kg de harina, preferentemente entre 200 y 1500 g/100 kg de harina, de forma más preferida entre 400 y 1200 g/100 kg de harina.

En una forma de realización particular la composición comprende entre 0,29 unidades y 1,87 unidades de dicha primera enzima, preferentemente acualisina I/g de monoglicéridos.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, es un mejorador de pan, una mezcla de pastelería, o una premezcla de pastelería, preferentemente un mejorador de pan.

Los "mejoradores de pan" (también denominados "acondicionadores de masa", "mejoradores de masa", o "agente de mejora", o "agente de tratamiento de harina") se añaden típicamente a la masa durante el horneado con el fin de mejorar la textura, el volumen, el sabor y la frescura del producto horneado, así como para mejorar la procesabilidad en máquinas y la estabilidad de la masa. Típicamente, un mejorador de pan comprende o consiste en: una o más enzimas (tales como, por ejemplo, amilasas, xilanasas, fosfolipasas, oxidasas, lipasas, lipoxigenasas, deshidrogenasas y lacasas), uno o más agentes oxidantes o reductores (tales como, por ejemplo, ácido ascórbico, glutatión, cisteína), uno o más emulsionantes (tales como, por ejemplo, derivados de monoglicéridos (tales como por ejemplo, monoglicéridos succinilados lactilados o acetilados, ésteres de ácido diacetiltartárico de monoglicéridos (DATEM), monoestearato de glicerol (GMS), monoéster de propilenglicol, ...), emulsionantes de sorbitán (monoestearato de sorbitán), polisorbatos, estearoil-lactilato de sodio (SSL), ésteres de poliglicerol, ésteres de sacarosa y lecitina), uno o más materiales lipídicos (tales como, por ejemplo, margarina, mantequilla, aceite, manteca), una o más vitaminas (tales como, por ejemplo, ácido pantoténico y vitamina E), una o más gomas, y/o una o más fuentes de fibra (tales como, por ejemplo, fibra de avena). Las mezclas de pastelería típicamente comprenden todos los ingredientes de una receta de un producto de pastelería con la excepción de agua, grasa (aceite, mantequilla, margarina) y huevos. Las premezclas de pastelería son típicamente mezclas de pastelería en las que la totalidad o parte de la harina y el azúcar se han eliminado.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, es una masa o pasta que comprende harina y al menos una primera enzima, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila preferentemente con una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C; y; uno o más monoglicéridos tal como se contemplan en el presente documento.

En una forma de realización más la composición, tal como se divulga en el presente documento, puede comprender también cantidades apropiadas de una o más enzimas (tales como, por ejemplo, amilasas, xilanasas, fosfolipasas, lipasas, oxidasas, lipoxigenasas, deshidrogenasas y lacasas), uno o más agentes oxidantes o reductores (tales como, por ejemplo, ácido ascórbico, glutatión, cisteína), uno o más emulsionantes (tales como, por ejemplo, derivados de monoglicéridos (tales como, por ejemplo, monoglicéridos succinilados lactilados o acetilados, ésteres de ácido diacetiltartárico de monoglicéridos (DATEM), monoestearato de glicerol (GMS), monoéster de propilenglicol, ...), emulsionantes de sorbitán (monoestearato de sorbitán), polisorbatos, estearoil-lactilato de sodio (SSL), ésteres de poliglicerol, ésteres de sacarosa y lecitina), uno o más materiales lipídicos (tales como, por ejemplo, margarina, mantequilla, aceite, manteca), una o más vitaminas (tales como, por ejemplo, ácido pantoténico y vitamina E), una o más gomas, y/o una o más fuentes de fibra (tales como, por ejemplo, fibra de avena).

En una forma de realización más la composición, tal como se divulga en el presente documento, comprende:

- al menos una primera enzima, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila preferentemente con una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C;
- uno o más monoglicéridos, tal como se contemplan en el presente documento; y;
- al menos una segunda enzima, en la que dicha segunda enzima es una lipasa.

Tal como se usa en el presente documento, el término "lipasa" se refiere en general a triacilglicerol lipasas o triacilglicerol acilhidrolasa, tal como se definen mediante la entrada de enzimas EC 3.1.1.3. Las lipasas se definen en el presente documento como enzimas que catalizan la hidrólisis de triacilgliceroles para dar ácidos grasos libres, diacilgliceroles, monoacilgliceroles y glicerol. La lipasa utilizada en las composiciones definidas en el presente documento puede comprender actividades enzimáticas secundarias, tales como, por ejemplo, actividad de fosfolipasa.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que la segunda enzima es una triacilglicerol lipasa o triacilglicerol acilhidrolasa tal como se definen mediante la entrada de enzimas EC 3.1.1.3, preferentemente seleccionadas de lipasa obtenidas de *Thermomyces lanuginosus*, *Rhizopus oryzae* y *Rhizomucor miehei*.

Además, en un aspecto más, la presente invención se refiere al uso de una composición tal como se divulga en el presente documento en aplicaciones de panadería. En el contexto de la presente invención, aplicaciones de panadería se refiere a aplicaciones relacionadas tanto con productos de pan como de pastelería. En particular dichos productos de panadería son productos de panadería tiernos y/o productos de panadería crujientes, preferentemente pan, molletes, donuts, bollos para preparar en microondas, pasta danesa, cruasanes, pan para hamburguesa, pizza y pan de pita y pasteles.

En una forma de realización particular se proporciona el uso de la composición tal como se divulga en el presente documento en mejoradores de pan, en mezclas de pastelería o en premezclas de pastelería.

En consecuencia, es un objeto de la presente invención proporcionar el uso de las composiciones según la presente invención para mejorar la mordida corta de productos de panadería que comprende la etapa de añadir a la masa antes del horneado una cantidad suficiente de una o más serina proteasas termófilas y una cantidad suficiente de uno o más monoglicéridos tal como se contemplan en el presente documento.

En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, se usa para mejorar la mordida corta en productos horneados.

En un aspecto más se divulga en el presente documento un procedimiento para preparar un producto horneado, que comprende las etapas de añadir a la masa o pasta, antes del horneado:

- al menos una primera enzima, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila; y;
- uno o más monoglicéridos; particularmente, en la que dichos, uno o más, monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior a 5, preferentemente inferior a 2, y, cuando la composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de los, uno o más, monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma más preferida inferior a 120 µm.

En una forma de realización particular, dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y preferentemente a una temperatura superior a 80 °C.

En el contexto de la presente invención la actividad de proteasa se mide usando caseína entrelazada con azurina (AZCL-caseína) como sustrato. La hidrólisis por medio de proteasas produce fragmentos teñidos solubles en agua, y la velocidad de liberación de los mismos (por ejemplo, aumento de la absorbancia a 590 nm) puede estar directamente relacionada con la actividad enzimática (comprimidos Protazyme AK, Megazyme, Irlanda). Más detalles sobre la medición de la actividad de proteasa se proporcionan en los ejemplos. La actividad de proteasa también puede medirse con otros ensayos para evaluar la actividad de proteasa conocidos por los expertos en la técnica. Entre los mismos se encuentra el procedimiento calorimétrico que utiliza caseína como sustrato seguido de la detección de los aminoácidos liberados con el reactivo fenol de Folin y Ciocalteu.

En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila en la que la relación entre la actividad de proteasa a una temperatura óptima y la actividad de proteasa a 25 °C es superior a 10, preferentemente superior a 15. Estableciendo que dicha relación sea superior a 10, la serina proteasa termófila tal como se utiliza en el presente documento proporciona la obtención de efectos mejorados sobre la mordida corta.

En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima se obtiene mediante extracción de organismos eucariotas y procariotas de origen natural, por medio de síntesis o por ingeniería genética. En una forma de realización particular, la composición, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila neutra o alcalina.

En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicha primera enzima es una proteasa Taq, preferentemente aislada de *Thermus aquaticus*, preferentemente acualisina I o acualisina II, de forma más preferida acualisina I, y de forma incluso más preferida acualisina I aislada de *Thermus aquaticus* LMG8924.

En una forma de realización particular, en el procedimiento tal como se divulga en el presente documento, dicha primera enzima, preferentemente acualisina I, se añade a la masa o pasta en una cantidad de 100 a 1200 unidades/100 kg de harina, preferentemente de 200 a 900 unidades/100 kg de harina, de forma más preferida de 350 a 700 unidades/100 kg de harina. La acualisina I se añade ventajosamente a la masa/pasta a de 100 a 1200 unidades/100 kg de harina, preferentemente de 200 a 900 unidades/100 kg de harina, de forma más preferida de 350 a 700 unidades/100 kg de harina, obteniéndose la actividad enzimática utilizando el procedimiento descrito en el presente documento.

En una forma de realización particular del procedimiento tal como se divulga en el presente documento, se pueden añadir cantidades apropiadas de enzimas y monoglicéridos directamente a la masa o a la pasta durante su preparación o antes del mezclado de los ingredientes. En otras formas de realización, las enzimas y los monoglicéridos pueden añadirse como parte de un mejorador (pan), una mezcla o premezcla de pastelería, preferentemente como parte de un mejorador de pan. En particular las enzimas y los monoglicéridos o el mejorador de pan se añaden antes de la fermentación.

En el procedimiento tal como se divulga en el presente documento los monoglicéridos (E471) son de cualquier tipo de monoglicéridos. Particularmente, dichos monoglicéridos están completamente hidrogenados con un índice de yodo inferior a 5, preferentemente inferior a 2,5, de forma más preferida inferior o igual a 2 y, cuando la composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de los monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma más preferida inferior a 120 µm.

En una forma de realización particular del procedimiento tal como se divulga en el presente documento, dichos monoglicéridos se añaden en forma de polvo y al menos el 70% de dicho polvo está formado por partículas con un tamaño inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma incluso más preferida inferior a 120 µm, y dichos monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior a 5, preferentemente inferior a 2,5, de forma más preferida inferior o igual a 2.

En una forma de realización particular, se divulga en el presente documento un procedimiento para preparar un producto horneado que comprende las etapas de añadir a la masa o pasta, antes del horneado:

- al menos una primera enzima, en el que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene preferentemente una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C;

- uno o más monoglicéridos, particularmente en el que dichos, uno o más, monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior a 5, preferentemente inferior a 2, y, cuando la composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de los, uno o más, monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm, preferentemente inferior a 160 µm, de forma más preferida inferior a 120 µm; y

- al menos una segunda enzima, en el que dicha segunda enzima es una lipasa.

En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicho producto horneado muestra una mordida corta mejorada, preferentemente en el que la fuerza máxima necesaria para romper el producto horneado, que se ha preparado utilizando al menos una primera enzima que es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y preferentemente a una temperatura superior a 80 °C, y utilizando al menos un monoglicérido tal como se contempla en el presente documento; se reduce al menos el 15% en comparación con un producto horneado de referencia preparado sin utilizar ni dicha primera enzima ni al menos un monoglicérido tal como se contempla en el presente documento. En formas de realización particulares, la fuerza máxima necesaria para romper un producto en el que se ha utilizado dicha primera enzima y al menos un monoglicérido tal como se contempla en el presente documento se reduce al menos el 20% en comparación con un producto horneado de referencia preparado sin utilizar ni dicha primera enzima ni al menos un monoglicérido tal como se contempla en el presente documento. En formas de realización particulares, la fuerza máxima necesaria para romper un producto en el que se ha utilizado dicha primera enzima y al menos un monoglicérido tal como se contempla en el presente documento se reduce al menos el 25% en comparación con un producto horneado de referencia preparado sin utilizar ni dicha primera enzima ni al menos un monoglicérido, particularmente al menos un monoglicérido con un índice de yodo superior a 5 o en el que menos del 70% de dichos, uno o más, monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm o 160 µm.

En una forma de realización particular, el procedimiento, tal como se divulga en el presente documento, establece que dicho producto horneado muestra una mordida corta mejorada, preferentemente en el que la fuerza máxima necesaria para romper el producto horneado, que se ha preparado utilizando al menos una primera enzima que es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y preferentemente a una temperatura superior a 80 °C, y utilizando al menos un monoglicérido tal como se contempla en el presente documento; se reduce al menos el 10% en comparación con un producto horneado de referencia preparado utilizando o bien dicha primera enzima o bien dicho, al menos un, monoglicérido tal como se contempla en el presente documento. En formas de realización particulares, la fuerza máxima necesaria para romper el producto horneado en el que se ha utilizado dicha primera enzima y dicho, al menos un, monoglicérido tal como se contempla en el presente documento se reduce al menos el 15% en comparación con un producto horneado de referencia preparado utilizando o bien dicha primera enzima o bien dicho, al menos un, monoglicérido tal como se contempla en el presente documento. Esto demuestra que la combinación de dicha primera enzima y uno o más monoglicéridos tal como se contemplan en el presente documento proporciona una acción sinérgica que proporciona una mordida corta mejorada mejor que la esperada. En formas de realización particulares, la mordida corta se mide el día después del horneado.

En una forma de realización particular, el procedimiento tal como se divulga en el presente documento establece que no se observen efectos adversos sobre la reología de la masa, sobre la estructura de las migas ni sobre el volumen del producto de panadería resultante.

Además, en un aspecto más, la presente invención se refiere un producto horneado preparado a partir de una masa o pasta que comprende la composición tal como se describe en el presente documento.

En el contexto de la presente invención un producto horneado es un producto de panadería o de pastelería conocido en la técnica, tal como, por ejemplo, aquellos seleccionados del grupo que consiste de pan, molletes, *bagels*, donuts, pasta danesa, pan para hamburguesa, pizza, pan de pita, chapata, bizcochos, pasteles de crema, panqués, *muffins*, magdalenas, pasteles al vapor, barquillos, *brownies*, donuts de pastel, donuts inflados con levadura, baguetes, bollos, galletas saladas, *biscuits*, galletas, pasteles de masa quebrada, *rusks*, y otros productos horneados. De forma más preferida, la presente invención se refiere a pan, baguetes y bollos. En particular, en el caso de dichos productos horneados se trata de productos de panadería tiernos y de productos de panadería crujientes, preferentemente pan, molletes, donuts, bollos, bollos para preparar en microondas, pasta danesa, cruasanes, pan para hamburguesas, pizza y pan de pita y pasteles.

Ejemplos

Ejemplo 1: procedimientos

Determinación de actividades enzimáticas

La actividad de proteasa se mide sobre caseína entrelazada con azurina (AZCL-caseína). Se prepara por medio de la tinción y el entrelazamiento de caseína para producir un material que se hidrata en agua, pero que es insoluble en agua. La hidrólisis por proteasas produce fragmentos teñidos solubles en agua, y la velocidad de liberación de los mismos (aumento en la absorbancia a 590 nm) puede estar directamente relacionada con la actividad enzimática (comprimidos Protazyme AK, Megazyme, Irlanda). Un comprimido de Protazyme AK se incuba en $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 100 mM; pH 7,0, a 60 °C durante 5 min. Se añade una parte alícuota de la enzima (1,0 ml) y la reacción se deja continuar durante exactamente 10 minutos. La reacción se termina mediante la adición de fosfato trisódico (10 ml, 2% p/v, pH 12,3). El tubo se deja en reposo durante aproximadamente 2 min a temperatura ambiente y el contenido se filtra. La absorbancia del filtrado se mide a 590 nm frente a un blanco del sustrato.

La actividad se expresa como:

mU (miliunidades)/ml $(34,2 * (\text{Abs}_{590} \text{ enzima} - \text{Abs}_{590} \text{ blanco}) + 0,6)/\text{dilución}$. Una unidad corresponde a 1000 mU.

Determinación del índice de yodo de monoglicéridos

El procedimiento se basa en los procedimientos oficiales AOCS Cd 1-25 y AOAC 981.11 con algunas modificaciones.

Se pesó una muestra de aproximadamente un gramo y se fundió a una temperatura máxima de 10 °C por encima del punto de fusión de la grasa. Se añadieron 15 ml de tetracloruro de carbono CCl_4 y 15 ml de dietiléter.

Se preparó una muestra en blanco con los reactivos, pero sin la muestra.

Se añadieron 25,0 mililitros de solución de Wijs a la muestra en un matraz, operación seguida de agitación. Los matraces se colocaron en un entorno oscuro durante una hora. Después de ello, se añadieron 3 g de yoduro de potasio y 150 ml de agua. Después, la solución se valoró con agitación continua con solución de tiosulfato de sodio 0,1 N hasta un color amarillo claro. Se añadió indicador de almidón (almidón soluble) y se continuó con la valoración hasta la desaparición del color azul. El índice de yodo expresado en g de I_2 / 100 g del producto es igual a $((B-T)/P) * 1,269$, donde B es la cantidad de mililitros de tiosulfato de sodio para el blanco.

T es la cantidad de mililitros de tiosulfato de sodio para la muestra.

P es el peso de la muestra en gramos.

1,269 es el peso molecular del yodo/100.

Determinación del tamaño de partícula de monoglicéridos

El tamaño de partícula se midió con un Lazer Diffractor LS 200 (Beckman Coulter) usando las recomendaciones del proveedor.

Ejemplo 2: Bollos tiernos preparados con Multec Mono 9402 sfp y proteasa Taq1 de *Thermus aquaticus*.

Los bollos tiernos se prepararon utilizando las composiciones de masa de la tabla 1. La proteasa y los monoglicéridos usados fueron los siguientes:

Multec Mono 9402 sfp: monoglicéridos destilados preparados a partir de aceite vegetal comestible; índice de yodo (como I_2) de entre 0 y 2 g/100g; tamaño de partícula: 70-100% < 150 μm (Puratos NV; Bélgica)

TaProt: proteasa Taq1 de *Thermus aquaticus*, (acualisina I) tal como se describe en el documento WO2009138447A1. La enzima tiene una temperatura de actividad óptima de 80 °C.

5

Tabla 1

Ingredientes (gramos)	REF	P	M ^A	2M ^A	4M ^A	PM ^A	P2M ^A	P4M ^A
Harina de trigo (Duo; Ceres; Bélgica))	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Agua	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
Levadura fresca (Bruggeman, Bélgica)	60	60	60	60	60	60	60	60
Cloruro de sodio	40	40	40	40	40	40	40	40
Margarina Aristo pan (Puratos, Bélgica)	60	60	60	60	60	60	60	60
Azúcar (sacarosa)	20	20	20	20	20	20	20	20
Propionato de calcio	4	4	4	4	4	4	4	4
Mejorador de pan*	40	40	40	40	40	40	40	40
Multec Mono 9402 sfp			5	10	20	5	10	20
TaProt (unidades)		7				7	7	7

* Contiene harina, ésteres de ácido mono- y diacetiltartárico de mono- y diglicéridos de ácidos grasos (E472e), dextrosa, ácido ascórbico, enzimas (alfa-amilasa, xilanasa)

Los ingredientes se mezclan durante 2 min a velocidad baja y 6 min a velocidad alta en un mezclador espiral de tipo Diosna (SP24). La temperatura final de la masa es de 27 °C. Después de una fermentación primaria de cinco minutos se redondean 1500 g de masa y se fermentan durante 10 minutos a temperatura de horneado (25 °C) y humedad (50-55%). Se forman piezas de 50 g de masa usando una compresora Eberhardt. Estas piezas de masa se fermentan a 35 °C durante 85 minutos a una humedad relativa del 95% en una caja de fermentación Koma. Los bollos se hornean después a 250 °C durante 9 minutos en un horno con plataforma Miwe Condo sin vapor. Es obvio para un experto en la técnica que se pueden obtener los mismos resultados finales usando equipos de otros proveedores.

La mordida corta de los bollos se evaluó con un analizador de textura TA-XT2™ equipado con un dispositivo de tracción para pizza usado a una velocidad de 20 mm/seg. Esto permite la medición de la fuerza (fuerza máxima necesaria para romper el bollo expresada en gramos (g)). Como factores tales como el lote de harina, la temperatura ambiente y la humedad, y el tiempo entre el horneado y la prueba pueden afectar a dichos parámetros, las mediciones se comparan con una referencia preparada usando los mismos ingredientes, horneada y evaluada en paralelo. Para cada prueba, se evaluaron 10 bollos. La desviación estándar de la medición (después de la eliminación de los valores atípicos) fue de 21. El intervalo de confianza se calculó multiplicando la desviación estándar por el coeficiente de la ley de Student obtenido utilizando un valor de riesgo α del 5% y un número de grados de libertad igual a 5. El intervalo de confianza fue de 55.

Dos ingredientes actúan de manera sinérgica si el efecto del uso simultáneo de los dos ingredientes es mayor que la suma de los efectos de los ingredientes tomados individualmente, teniendo en cuenta un intervalo de confianza del 95%. En otras palabras, existe una sinergia cuando el efecto de (x g de ingrediente A + y g de ingrediente B) es mayor que la suma del efecto de x g de ingrediente A y el efecto de y g de ingrediente B.

Los resultados de las mediciones de la mordida corta con el analizador de textura TA-XT2™ se enumeran en la tabla 2.

35

Tabla 2

	REF	P	M ^A	2M ^A	4M ^A	PM ^A	P2M ^A	P4M ^A
Fuerza máxima (g)	921	882	881	863	812	769	751	653
Reducción real de la fuerza en comparación con REF	-	-39	-40	-58	-109	<u>-152</u>	<u>-170</u>	<u>-268</u>
Reducción teórica de la fuerza por combinación	-	-	-	-	-	-79	-97	-148

Los resultados muestran que la reducción real de la fuerza obtenida cuando se combinan una serina proteasa termófila y los monoglicéridos es menor que el límite inferior del intervalo de confianza del valor teórico (efecto aditivo), demostrando un efecto sinérgico sobre la mordida corta.

40

La mordida corta de los bollos también se evaluó por medio de un panel entrenado de expertos panaderos. Se les solicitó que calificaran los productos de acuerdo con una referencia sobre una escala en línea de 0 a 10 puntos, siendo 0 el extremo inferior (chiclosos) y 10 el extremo superior (breve). La desviación estándar de la medición de la mordida corta sensorial es de 0,2. El intervalo de confianza se calculó multiplicando la desviación estándar por el coeficiente de la ley de Student usando un valor de riesgo α del 5% y un número de grados de libertad igual a 5. El intervalo de confianza fue de 0,64.

Los resultados se enumeran en la tabla 3.

Tabla 3

	REF	P	M ^A	2M ^A	4M ^A	PM ^A	P2M ^A	P4M ^A
Mordida corta	4,5	5,0	5,0	5,5	6,3	6,5	7,3	7,8
Aumento real de la mordida corta en comparación con REF	-	+0,5	+0,5	+1,0	+1,8	+2,0	+2,8	+3,3
Aumento teórico de la mordida corta para la combinación	-	-	-	-	-	+1,0	+1,5	+2,3

Los resultados muestran que el aumento real de la mordida corta obtenida cuando se combinan una proteasa termófila y los monoglicéridos es más alto que el límite superior del intervalo de confianza del valor teórico (efecto aditivo), demostrando un efecto sinérgico sobre la mordida corta.

Ejemplo 3: Bollos tiernos preparados con Multec Mono 9602 msp y proteasa Taq1 de *Thermus aquaticus*

Los bollos tiernos se prepararon de acuerdo con la receta y el proceso del ejemplo 2 usando las combinaciones de enzimas enumeradas en la tabla 4. Los ingredientes utilizados fueron los siguientes:

Multec Mono 9602 msp: monoglicéridos destilados preparados a partir de aceite vegetal comestible; índice de yodo (como I₂) de entre 0 y 2 g/100g; tamaño de partícula: 70-100% < 100 μ m (Puratos NV; Bélgica);

TaProt como en el ejemplo 1.

Tabla 4

	REF 2	P	M ^B	2M ^B	4M ^B	PM ^B	P2M ^B	P4M ^B
TaProt (unidades)		7				7	7	7
Multec Mono 9602 sfp (g)			5	10	20	5	10	20

La mordida corta de los bollos se evaluó con los mismos procedimientos que en el ejemplo 1.

Los resultados se presentan en la tabla 5 (análisis de textura) y tabla 6 (análisis sensorial).

Tabla 5

	REF	P	M ^B	2M ^B	4M ^B	PM ^B	P2M ^B	P4M ^B
Fuerza máxima (g)	828	780	824	769	645	647	636	566
Reducción real de la fuerza en comparación con REF 2	-	-48	-4	-59	-183	-181	-192	-262
Reducción teórica de la fuerza para la combinación	-	-	-	-	-	-52	-107	-231

Tabla 6

	REF 2	P	M ^B	2M ^B	4M ^B	PM ^B	P2M ^B	P4M ^B
Mordida corta (puntuación sensorial)	3,5	3,8	4,0	4,3	6,3	5,5	6,5	7,5
Aumento real de la mordida corta en comparación con REF 2	-	+0,3	+0,5	+0,8	+2,8	+2,0	+3,0	+4,0
Aumento teórico de la mordida corta para la combinación	-	-	-	-	-	+0,8	+1,1	+3,1

Se observó el efecto sinérgico de la combinación de una serina proteasa termófila y monoglicéridos.

Ejemplo 4: Bollos tiernos preparados con Dimodan PH200 y proteasa Taq1 de *Thermus aquaticus* (ejemplo comparativo)

Los bollos tiernos se prepararon de acuerdo con la receta y el proceso del ejemplo 2 usando las combinaciones de ingredientes enumeradas en la tabla 7. Los ingredientes utilizados fueron los siguientes:

Dimodan PH200: monoglicéridos destilados basados en aceite de colza; índice de yodo (como I2) aproximadamente 15 g/100g; tamaño de partícula: 90% < 200 µm, 70% < 150 µm (DuPont Danisco);

TaProt como en el ejemplo 1.

Tabla 7

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
TaProt (unidades)		7				7	7	7
Dimodan PH200 (g)			5	10	20	5	10	20

La mordida corta de los bollos se evaluó con los mismos procedimientos que en el ejemplo 1.

Los resultados para el análisis de textura se presentan en la tabla 8.

Tabla 8

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
Fuerza máxima (g)	841	625	754	664	678	588	634	579
Reducción real de la fuerza en comparación con REF 3	-	-216	-87	-177	-163	<u>-253</u>	<u>-207</u>	<u>-262</u>
Reducción teórica de la fuerza para la combinación	-	-	-	-	-	-303	-393	-379

Los resultados muestran que la reducción real de la fuerza obtenida con la combinación de una serina proteasa termófila y los monoglicéridos Dimodan PH200 (con un índice de I2 de aproximadamente 15g/100g), está contenida dentro del intervalo de confianza del valor teórico (efecto aditivo), en particular que la reducción real es superior al límite inferior de este intervalo de confianza. Esto demuestra claramente la ausencia de un efecto sinérgico sobre la mordida corta para la combinación de esta preparación de monoglicérido y la proteasa termófila.

Ejemplo 5: Bollos tiernos preparados con Multec mono MM 9202 spw y proteasa Taq1 de *Thermus aquaticus* (ejemplo comparativo)

Se prepararon bollos tiernos de acuerdo con la receta y el proceso del ejemplo 2 usando las combinaciones de ingredientes enumeradas en la tabla 9. Los ingredientes utilizados fueron los siguientes:

Multec mono MM 9202 spw: monoglicéridos destilados basados en aceite vegetal; índice de yodo (como I2) de entre 0 y 2 g/100g; tamaño de partícula: 30% < 200 µm, 19% < 150 µm (Puratos; Bélgica);

TaProt como en el ejemplo 1.

Tabla 9

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
TaProt (unidades)		7				7	7	7
MM 9202 spw (g)			5	10	20	5	10	20

La mordida corta de los bollos se evaluó con los mismos procedimientos que en el ejemplo 1.

Los resultados del análisis de textura se presentan en la tabla 10

Tabla 10

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
Fuerza máxima (g)	954	834	948	918	938	904	908	855
Reducción real de la fuerza en comparación con REF 3	-	-120	-6	-36	-16	<u>-50</u>	<u>-46</u>	<u>-99</u>

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
Reducción teórica de la fuerza para la combinación	-	-	-	-	-	-126	-156	-136

Los resultados muestran que la reducción real de la fuerza obtenida con la combinación de una serina proteasa termófila y los monoglicéridos Multec mono MM 9202 spw (tamaño de partícula: 30% < 200 µm), está contenida dentro del intervalo de confianza del valor teórico (efecto aditivo), en particular que la reducción real es superior al límite inferior de este intervalo de confianza. Esto demuestra claramente la ausencia de un efecto sinérgico sobre la mordida corta para la combinación de esta preparación de monoglicérido y la proteasa termófila.

Ejemplo 6: Bollos tiernos preparados con Dimodan PH110 y proteasa Taq1 de *Thermus aquaticus* (ejemplo comparativo)

Se prepararon bollos tiernos de acuerdo con la receta y el proceso del ejemplo 2 usando las combinaciones de ingredientes enumeradas en la tabla 11. Los ingredientes utilizados fueron los siguientes:

Dimodan PH110: monoglicéridos destilados basados en aceite de palma; índice de yodo (como I2) de entre aproximadamente 30 y 40 g/100g; tamaño de partícula: 52% < 200 µm, 40% < 150 µm (DuPont Danisco);

TaProt como en el ejemplo 1.

Tabla 11

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
TaProt (unidades)		7				7	7	7
Dimodan PH110 (g)			5	10	20	5	10	20

La mordida corta de los bollos se evaluó con los mismos procedimientos que en el ejemplo 1.

Los resultados del análisis de textura se presentan en la tabla 12.

Tabla 12

	REF 3	P	M ^C	2M ^C	4M ^C	PM ^C	P2M ^C	P4M ^C
Fuerza máxima (g)	818	642	705	675	601	624	517	487
Reducción real de la fuerza en comparación con REF 3	-	-176	-113	-143	-217	-194	-301	-331
Reducción teórica de la fuerza para la combinación	-	-	-	-	-	-289	-319	-393

Los resultados muestran que la reducción real de la fuerza obtenida con la combinación de una serina proteasa termófila y los monoglicéridos Dimodan PH110 está contenida dentro del intervalo de confianza del valor teórico (efecto aditivo), en particular que la reducción real es superior al límite inferior de este intervalo de confianza. Esto demuestra claramente la ausencia de un efecto sinérgico sobre la mordida corta para la combinación de esta preparación de monoglicérido y la proteasa termófila.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:

- 5 - al menos una primera enzima, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 75 °C y de forma más preferida a una temperatura superior a 80 °C; y
- 10 - uno o más monoglicéridos, en la que dichos monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior o igual a 5 y, cuando dicha composición se encuentra en forma de polvo, al menos el 70% de dichos monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm.

2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila en la que la relación entre la actividad de proteasa a temperatura óptima y la actividad de proteasa a 25 °C es superior a 10, preferentemente superior a 15.

3. Composición según la reivindicación 1 o 2, en la que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila neutra o alcalina, preferentemente una proteasa Taq, preferentemente aislada de *Thermus aquaticus*, preferentemente acualisina I o acualisina II, de forma más preferida acualisina I, de forma incluso más preferida acualisina I aislada de *Thermus aquaticus* LMG8924.

4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha primera enzima está presente en una cantidad de 100 a 1200 unidades/100 kg de harina, preferentemente de 200 a 900 unidades/100 kg de harina, de forma más preferida de 350 a 700 unidades/100 kg de harina.

5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dichos monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior o igual a 2.

6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, estando dicha composición en forma de polvo, y en la que al menos el 70% de dichos monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 160 µm, de forma más preferida inferior a 120 µm.

7. El uso de una composición según las reivindicaciones 1 a 6 en aplicaciones de panadería.

8. El uso según la reivindicación 7 en mejoradores de pan.

9. El uso según la reivindicación 7 o 8 en productos de panadería blandos y en productos de panadería crujientes, preferentemente pan, molletes, donuts, bollos, bollos para preparar en microondas, pasta danesa, cruasanes, pan para hamburguesas, pizza y pan de pita y pasteles.

10. Mejorador de pan que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

11. Un procedimiento para preparar un producto horneado, que comprende las etapas de añadir a la masa o pasta, antes del horneado:

- al menos una primera enzima, en el que dicha primera enzima es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 80 °C; y;
- uno o más monoglicéridos; en el que dichos, uno o más, monoglicéridos tienen un índice de yodo inferior o igual a 5 y, cuando se añaden en forma de polvo, al menos el 70% de dichos, uno o más, monoglicéridos tienen un tamaño de partícula inferior a 200 µm.

12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que dichos monoglicéridos se añaden en forma de polvo y en el que al menos el 70% de dicho polvo está formado por partículas con un tamaño inferior a 160 µm, de forma incluso más preferida inferior a 120 µm.

13. Procedimiento según la reivindicación 11 o 12, en el que dicho producto horneado muestra una mordida corta mejorada, en el que la fuerza máxima necesaria para romper el producto horneado, que se ha preparado utilizando al menos una primera enzima que es una serina proteasa termófila que tiene una actividad óptima a una temperatura superior a 70 °C, preferentemente a una temperatura superior a 80 °C, y utilizando uno o más monoglicéridos; se reduce en al menos el 15% en comparación con un producto horneado de referencia preparado sin utilizar ni dicha primera enzima ni dichos, uno o más, monoglicéridos.

14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que no se observan efectos adversos sobre la reología de la masa, sobre la estructura de las migas ni sobre el volumen del producto de panadería resultante.

15. Producto horneado preparado a partir de una masa o pasta que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

Figura 1A

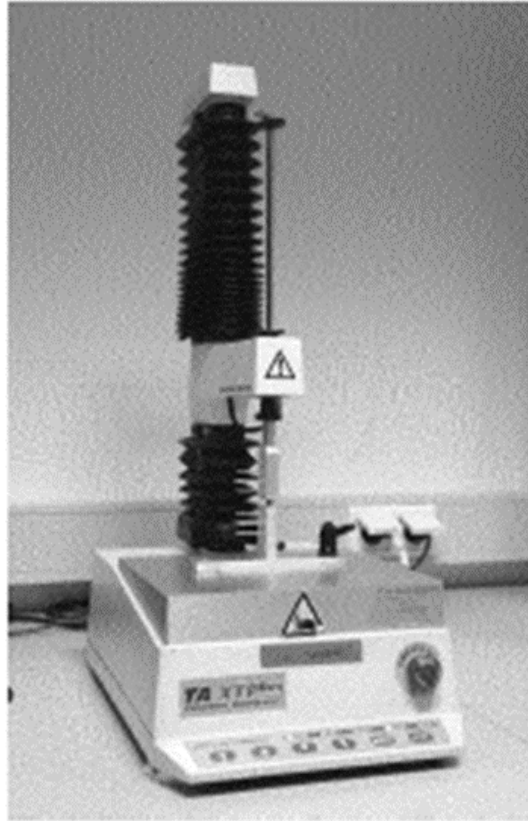


Figura 1B

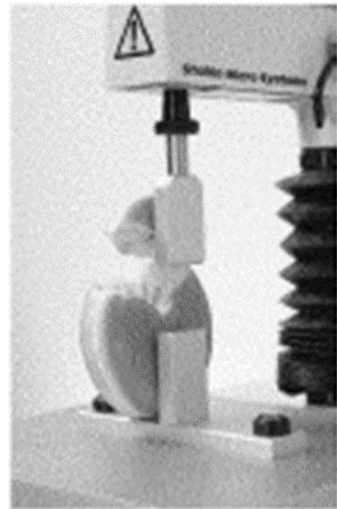
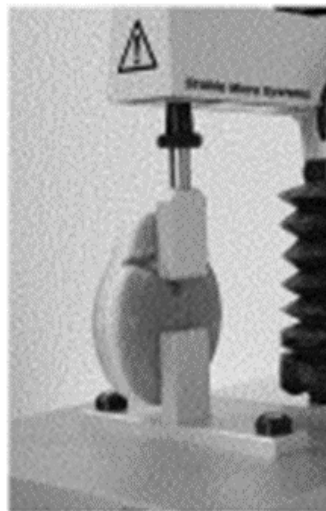




Figura 1C