

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

- 5 1. Un polipéptido aislado que comprende una fosfolipasa A1 caracterizada por tener una relación de especificidad sn1/sn2 de aproximadamente 55/45 o mayor en donde dicha fosfolipasa A1 tiene una relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa inferior a 0.02 y/o una
10 relación de actividad NALPE/NAPE inferior a 0.12.
2. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de especificidad sn1/sn2 es aproximadamente 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 95/5 o 99/1.
3. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en
15 donde la relación de especificidad sn1/sn2 es aproximadamente 74/26 o 89/11.
4. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.009.
- 20 5. Un polipéptido aislado según la reivindicación 4, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.008.
6. Un polipéptido aislado según la reivindicación 5, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa
25 es inferior a 0.007.
7. Un polipéptido aislado según la reivindicación 6, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.006.
8. Un polipéptido aislado según la reivindicación 7, en
30 donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.005.

9. Un polipéptido aislado según la reivindicación 8, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.004.

5 10. Un polipéptido aislado según la reivindicación 9, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.003.

11. Un polipéptido aislado según la reivindicación 10, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.002.

10 12. Un polipéptido aislado según la reivindicación 11, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.001.

15 13. Un polipéptido aislado según la reivindicación 12, en donde la relación de especificidad sn1/sn2 es aproximadamente 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, 95/5 o 99/1.

14. Un polipéptido aislado según la reivindicación 12, en donde la relación de especificidad sn1/sn2 es aproximadamente 74/26 o 89/11.

20 15. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16.

25 16. Un polipéptido aislado según la reivindicación 15, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 6.

30 17. Un polipéptido aislado según la reivindicación 15, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6,

SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o
SEQ ID NO: 16.

18. Un polipéptido aislado según la reivindicación 17, en
donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una
5 secuencia de proteínas que tiene al menos 90 % de identidad
de secuencia con SEQ ID NO: 6.

19. Un polipéptido aislado según la reivindicación 15, en
donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una
secuencia de proteínas que tiene al menos 95 % de identidad
10 de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6,
SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o
SEQ ID NO: 16.

20. Un polipéptido aislado según la reivindicación 19, en
donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una
15 secuencia de proteínas que tiene al menos 95 % de identidad
de secuencia con SEQ ID NO: 6.

21. Un polipéptido aislado según la reivindicación 15, en
donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una
secuencia de proteínas que tiene 100 % de identidad de
20 secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6,
SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o
SEQ ID NO: 16.

22. Un polipéptido aislado según la reivindicación 21, en
donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una
25 secuencia de proteínas que tiene 100 % de identidad de
secuencia con SEQ ID NO: 6.

23. Un método de preparación de una masa, comprendiendo:
dicho método mezclar un componente de masa seleccionado del
grupo que consiste en harina, sal, agua, azúcar, grasa,
30 lecitina, aceite, emulsionante y levadura con un
polipéptido aislado que comprende una fosfolipasa A1 según
cualquiera de las reivindicaciones 1-22, 75-92 o 95-101.

24. Una masa que comprende un polipéptido aislado según cualquiera de las reivindicaciones 1-23, 75-92 o 95-101.

25. Una masa según la reivindicación 24 que tiene extensibilidad y/o estabilidad mejorada de la masa.

5 26. Una masa según la reivindicación 24 que comprende además al menos una enzima adicional útil para mejorar la masa y/o un producto horneado preparado a partir de la misma.

10 27. Una masa según la reivindicación 26, en donde la enzima adicional se selecciona del grupo que consiste en amilasa, ciclodextrina glucanotransferasa, peptidasa, transglutaminasa, lipasa, galactolipasa, fosfolipasa que es diferente de dicha fosfolipasa A1, celulasa, hemicelulasa, proteasa, proteína disulfuro isomerasa, glucosiltransferasa, peroxidasa, lipoxigenasa, lacasa y oxidasa.

15 28. Una masa según la reivindicación 27, en donde dicha amilasa es una exoamilasa.

29. Una masa según la reivindicación 28, en donde dicha exoamilasa es una amilasa maltogénica.

20 30. Una masa según la reivindicación 28, en donde dicha exoamilasa es una amilasa no maltogénica.

31. Una masa según la reivindicación 30, en donde dicha amilasa no maltogénica hidroliza almidón por escisión de uno o más malto-oligosacáridos lineales, que comprenden
25 predominantemente cuatro a ocho unidades de D-glucopiranosilo, desde los extremos no reductores de las cadenas laterales de amilopectina.

32. Una masa según la reivindicación 27, en donde dicha enzima adicional es una fosfolipasa.

30 33. Una masa según la reivindicación 32, en donde dicha fosfolipasa tiene actividad de galactolipasa.

34. Una masa según la reivindicación 33, en donde dicha fosfolipasa comprende SEQ ID NO: 17 y/o SEQ ID NO: 18.

35. Un método de preparación de un producto horneado que comprende hornear una masa según cualquiera de las reivindicaciones 24-34.

36. Un producto horneado obtenible por el método según la reivindicación 35.

37. Un producto horneado según la reivindicación 36 que tiene al menos una propiedad mejorada seleccionada del grupo que consiste en tamaño de poro de la miga mejorado, uniformidad mejorada de las burbujas de gas, ausencia de separación entre la corteza y la miga, elevado volumen, elevada cualidad de crujiente de la corteza y leva en el horno mejorada.

38. Un producto horneado según la reivindicación 37, en donde la propiedad mejorada es cualidad de crujiente de la corteza.

39. Una premezcla para hornear que comprende harina y un polipéptido aislado según cualquiera de las reivindicaciones 1-22, 38, 75-92 o 95-101.

40. Una premezcla según la reivindicación 39 que comprende además al menos una enzima adicional útil para mejorar la masa y/o un producto horneado preparado a partir de la misma.

41. Una premezcla según la reivindicación 40, en donde la enzima adicional se selecciona del grupo que consiste en amilasa, ciclodextrina glucanotransferasa, peptidasa, transglutaminasa, lipasa, galactolipasa, fosfolipasa que es diferente de dicha fosfolipasa A1, celulasa, hemicelulasa, proteasa, proteína disulfuro isomerasa, glucosiltransferasa, peroxidasa, lipoxigenasa, lacasa y oxidasa.

42. Una premezcla según la reivindicación 41, en donde dicha amilasa es una exoamilasa.

43. Una premezcla según la reivindicación 42, en donde dicha exoamilasa es una amilasa maltogénica.

5 44. Una premezcla según la reivindicación 42, en donde dicha exoamilasa es una amilasa no maltogénica.

45. Una premezcla según la reivindicación 44, en donde dicha amilasa no maltogénica hidroliza almidón por escisión de uno o más malto-oligosacáridos lineales, que comprenden
10 predominantemente cuatro a ocho unidades de D-glucopiranosilo, desde los extremos no reductores de las cadenas laterales de amilopectina.

46. Una premezcla según la reivindicación 41, en donde dicha enzima adicional es una fosfolipasa.

15 47. Una premezcla según la reivindicación 46, en donde dicha fosfolipasa tiene actividad de galactolipasa.

48. Una premezcla según la reivindicación 47, en donde dicha fosfolipasa comprende SEQ ID NO: 17 y/o SEQ ID NO: 18.

49. Un mejorador del horneado que comprende un granulado o
20 polvo aglomerado que comprende un polipéptido aislado según cualquiera de las reivindicaciones 1-22, 48, 75-92 o 95-101.

50. Un mejorador del horneado según la reivindicación 49 que comprende además al menos una enzima adicional útil para mejorar la masa y/o un producto horneado preparado a
25 partir de la misma.

51. Un mejorador del horneado según la reivindicación 50, en donde la enzima adicional se selecciona del grupo que consiste en amilasa, ciclodextrina glucanotransferasa, peptidasa, transglutaminasa, lipasa, galactolipasa, fosfolipasa que es diferente de dicha fosfolipasa A1, celulasa, hemicelulasa, proteasa, proteína disulfuro
30

isomerasa, glucosiltransferasa, peroxidasa, lipoxigenasa, lacasa y oxidasa.

52. Un mejorador del horneado según la reivindicación 51, en donde dicha amilasa es una exoamilasa.

5 53. Un mejorador del horneado según la reivindicación 52, en donde dicha exoamilasa es una amilasa maltogénica.

54. Un mejorador del horneado según la reivindicación 52, en donde dicha exoamilasa es una amilasa no maltogénica.

55. Un mejorador del horneado según la reivindicación 54, en donde dicha amilasa no maltogénica hidroliza almidón por escisión de uno o más malto-oligosacáridos lineales, que comprenden predominantemente cuatro a ocho unidades de D-glucopiranosilo, desde los extremos no reductores de las cadenas laterales de amilopectina.

15 56. Un mejorador del horneado según la reivindicación 51, en donde dicha enzima adicional es una fosfolipasa.

57. Un mejorador del horneado según la reivindicación 56, en donde dicha fosfolipasa tiene actividad de galactolipasa.

58. Un mejorador del horneado según la reivindicación 57, en donde dicha fosfolipasa comprende SEQ ID NO: 17 y/o SEQ ID NO: 18.

59. Un método de preparación de una masa según la reivindicación 23, que comprende además añadir al menos una enzima adicional útil para mejorar la masa y/o un producto horneado preparado a partir de la misma.

60. Un método según la reivindicación 59, en donde la enzima adicional se selecciona del grupo que consiste en amilasa, ciclodextrina glucanotransferasa, peptidasa, transglutaminasa, lipasa, galactolipasa, fosfolipasa que es diferente de dicha fosfolipasa A1, celulasa, hemicelulasa, proteasa, proteína disulfuro isomerasa, glucosiltransferasa, peroxidasa, lipoxigenasa, lacasa y oxidasa.

61. Un método según la reivindicación 60, en donde dicha amilasa es una exoamilasa.

62. Un método según la reivindicación 61, en donde dicha exoamilasa es una amilasa maltogénica.

5 63. Un método según la reivindicación 61, en donde dicha exoamilasa es una amilasa no maltogénica.

64. Un método según la reivindicación 63, en donde dicha amilasa no maltogénica hidroliza almidón por escisión de uno o más malto-oligosacáridos lineales, que comprenden
10 predominantemente cuatro a ocho unidades de D-glucopiranosilo, desde los extremos no reductores de las cadenas laterales de amilopectina.

65. Un método según la reivindicación 60, en donde dicha enzima adicional es una fosfolipasa.

15 66. Un método según la reivindicación 65, en donde dicha fosfolipasa tiene actividad de galactolipasa.

67. Un método según la reivindicación 66, en donde dicha fosfolipasa SEQ ID NO: 17 y/o SEQ ID NO: 18.

68. Un método de modificación de un emulsionante de fosfolípido que comprende el tratamiento del emulsionante con una enzima que comprende un polipéptido aislado según cualquiera de las reivindicaciones 1-22, 67, 75-92 o 95-101.
20

69. Un método según la reivindicación 68, en donde dicho emulsionante de fosfolípido es lecitina o lisolecitina

25 70. Un método de creación de un lisofosfolípido en una matriz alimentaria que contiene lípidos que comprende añadir a la matriz alimentaria que contiene lípidos un polipéptido aislado según las reivindicaciones 1-22, 69, 75-92 o 95-101.

30 71. Un método de creación de un lisofosfolípido en una matriz alimentaria que contiene lípidos según la reivindicación 70, en donde dicha matriz alimentaria que

contiene lípidos se selecciona del grupo que consiste en huevos y productos alimenticios que contienen huevos, masa para artículos de pastelería, carne procesada, productos basados en leche y aceite vegetal.

- 5 72. Un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica el polipéptido aislado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, 71, 75-92 o 95-101.
73. Un vector de expresión recombinante que comprende un
10 polinucleótido según la reivindicación 72.
74. Una célula hospedadora que comprende el vector de expresión recombinante según la reivindicación 73.
75. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa
15 es inferior a 0.019.
76. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.018.
77. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en
20 donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.017.
78. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.016.
- 25 79. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.015.
80. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en
30 donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.014.

81. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.013.

5 82. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.012.

83. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.011.

10 84. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad lisofosfolipasa/fosfolipasa es inferior a 0.01.

15 85. Un polipéptido aislado según la reivindicación 1, en donde la relación de actividad relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.11.

86. Un polipéptido aislado según la reivindicación 85, en donde la relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.10.

20 87. Un polipéptido aislado según la reivindicación 86, en donde la relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.09.

88. Un polipéptido aislado según la reivindicación 87, en donde la relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.08, preferentemente inferior a 0.07.

25 89. Un polipéptido aislado según la reivindicación 88, en donde la relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.06.

90. Un polipéptido aislado según la reivindicación 89, en donde relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.05.

30 91. Un polipéptido aislado según la reivindicación 90, en donde la relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.04.

92. Un polipéptido aislado según la reivindicación 91, en donde la relación de actividad NALPE/NAPE es inferior a 0.03.

5 93. Un método de preparación de una masa según la reivindicación 23 que comprende además añadir un emulsionante.

10 94. Un método de preparación de una masa según la reivindicación 93, en donde el emulsionante se selecciona del grupo que consiste en i) emulsionantes de fosfolípido tales como lecitina o lisolecitina; o ii) un emulsionante no de fosfolípido tal como DATEM, un monoglicérido o un diglicérido.

15 95. Un polipéptido aislado que comprende una enzima fosfolipasa A1 que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16.

20 96. Un polipéptido aislado según la reivindicación 95, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 6.

25 97. Un polipéptido aislado según la reivindicación 95, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16.

30 98. Un polipéptido aislado según la reivindicación 97, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 6.

99. Un polipéptido aislado según la reivindicación 95, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6,
5 SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16.

100. Un polipéptido aislado según la reivindicación 99, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene al menos 95 % de identidad
10 de secuencia con SEQ ID NO: 6.

101. Un polipéptido aislado según la reivindicación 95, en donde dicha fosfolipasa A1 es una enzima que comprende una secuencia de proteínas que tiene 100 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6,
15 SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 o SEQ ID NO: 16.

20

25

30