

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 315 801**

51 Int. Cl.:

**A23F 5/24** (2006.01)

**A23F 5/26** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA  
TRAS OPOSICIÓN

T5

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2005 E 05106563 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **07.11.2018 EP 1745702**

54 Título: **Producción de café soluble asistida por enzimas**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:  
**04.04.2019**

73 Titular/es:

**KONINKLIJKE DOUWE EGBERTS B.V. (100.0%)**  
**Vleutensevaart 35**  
**3532 AD Utrecht, NL**

72 Inventor/es:

**SILVER, RICHARD S.;**  
**WHALEN-PEDERSEN, ERIK;**  
**PERKINS, DANIELLE E.;**  
**PLUMB, SIAN;**  
**CERIALI, STEFANO y**  
**WRAGG, ANTHONY**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 315 801 T5

## DESCRIPCIÓN

Producción de café soluble asistida por enzimas

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un proceso para producir extractos de café soluble con la ayuda de enzimas hidrolasa y a los productos de café que se pueden obtener mediante este proceso.

10 **Antecedentes de la invención**

El café soluble comercial se produce típicamente por procesamiento térmico por etapas, una combinación de etapas de humectación, extracción e hidrólisis, que solubiliza un alto porcentaje de los sólidos de café tostado y molido. Las temperaturas muy altas requeridas para realizar la hidrólisis térmica conducen a sabores extraños y a procesos que requieren gastos e inversión elevados.

Se han descrito diversos intentos que usan procesamiento enzimático con enzimas carbohidrasa para preparar café soluble en un intento de mejorar la calidad de producto y la economía del proceso.

20 El documento JP-74012710 se refiere a producción de café instantáneo tratando granos de café con soluciones que contienen celulasa. Las mezclas de enzima hemicelulasa producidas en caldo de fermentación por hongos tales como *Rhizopus niveus* se purifican usando resinas de intercambio iónico para separar impurezas indeseadas tales como proteasa y amilasa. Las mezclas de enzima hemicelulasa purificadas se usan después para solubilizar café tostado molido en seco.

25 La Patente de Estados Unidos N° 4.938.408 describe el tratamiento con vapor de café tostado y molido a 220 °C a 250 °C durante 1 a 10 minutos seguido de despresurización rápida, para activar el café antes del tratamiento con al menos una enzima de las clases proteasas, celulasas, pectinasas, ligninasas, celobiasa y lipasas de 30 °C a 60 °C durante 1 a 6 h. Tal activación por "descarga de vapor" se conoce bien para el pre-tratamiento de biomasa lignocelulósica antes del tratamiento enzimático y se describe, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 4.133.207 y en la Patente de Estados Unidos N° 4.461.648. El proceso produce productos secundarios de daño térmico y el rendimiento es subóptimo y no supera el de la técnica de hidrólisis térmica convencional.

35 La Patente SU 1597151 describe un proceso para preparar extracto de café, en el que se produce un extracto primario extrayendo el café con agua caliente de 90 °C a 100 °C de 3 a 5 minutos a pH de 4,7 a 5,0. El extracto se separa y la fracción sólida se somete a hidrólisis mediante  $\beta$ -glucanasa y complejo enzimático de pectinasa añadido del 0,1 al 10 % por 100 g de materia seca de 43 °C a 63 °C durante 0,5 a 1 h a pH de 4,7 a 5,0 con agitación continua. El extracto secundario que se produce de este modo se combina después con la primera extracción (primaria) del café. Se dice que el proceso da una calidad de café soluble aumentada y se señala que se disminuye el consumo energético.

45 La solicitud de Patente Japonesa JP 2005-065558A describe un método para mejorar la eficacia de pulverización de café tostado (un proceso usado para disminuir el tamaño de partícula de un sólido) con el objetivo de obtener partículas de café tostado y molido que se puedan dispersar y/o suspender de forma sencilla en agua caliente para preparar una bebida con un sabor en boca suave. El café tostado se muele de forma general hasta un tamaño de partícula de 500 a 1000  $\mu\text{m}$  y se pone en contacto en una suspensión acuosa con una enzima, típicamente mananasa, para disminuir la viscosidad de la suspensión de café tostado y molido en agua para realizar una pulverización o disminución de tamaño de partícula más eficaz. Después, la enzima se desactiva calentando la suspensión de café hasta 130 °C antes del proceso de pulverización. Éste último disminuye finalmente el tamaño de partícula hasta 1 a 10  $\mu\text{m}$ . No se emplea ninguna etapa de separación por membrana y la disminución de los sabores extraños tales como 5-hidroximetil furfural no se describe en ese documento.

El documento EP 0 366 837 describe un proceso para hidrolizar café tostado y molido extraído.

55 Aunque los procesos que se han mencionado anteriormente tienen ventajas, hay ciertas deficiencias: 1. Sus pretratamientos de molidos de café ineficaces, tales como molienda en seco, provocan rendimiento globales subóptimos; 2. La explosión de vapor provoca una degradación térmica adicional e innecesaria y los sabores extraños asociados; 3. No hay ninguna previsión para la separación de la enzima del producto final o su reutilización; 4. Cuando la reacción avanza, se acumulan sacáridos menores y los mismos pueden ejercer "inhibición de retroalimentación" sobre las enzimas, disminuyendo la velocidad de reacción y la conversión global.

60 Es el objeto de la presente invención proporcionar un proceso asistido por enzimas para producir café soluble que no tenga las deficiencias que se han mencionado anteriormente.

65

## Sumario de la invención

La invención se refiere a un proceso para producir un extracto de café soluble, que suministra simultáneamente un rendimiento óptimo y degradación térmica disminuida, tal como se define en la reivindicación 5 de las reivindicaciones adjuntas al presente documento.

La invención también se refiere a una composición de bebida de café tal como se define en la reivindicación 1 de las reivindicaciones adjuntas al presente documento.

## 10 Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un proceso en el que se produce un extracto de café soluble moliendo en húmedo de forma fina granos de café o café molido o molidos de café pre-extraído con manananas, o mezclas de celulasas y manananas, y en el que las enzimas se retienen en la zona de reacción, mediante el uso de un dispositivo de membrana, de tal forma que el extracto final esté esencialmente desprovisto de enzima, aceite o partículas y la o las enzimas, finalmente, se pueden re-usar. Este proceso se puede practicar en un modo discontinuo, continuo o semi-continuo y en un modo en el que la reacción enzimática y la separación por membrana son simultáneas y están acopladas o en un modo en el que la reacción y la separación no son simultáneas.

Los beneficios potenciales de este proceso enzimático son sabor mejorado debido a la evitación de sabores extraños producidos por procesos a alta temperatura, rendimientos potencialmente mayores y menores costes de funcionamiento y capital. Además, el proceso de la presente invención realiza varias mejoras en comparación con la técnica anterior: 1. Utilizando la molienda en húmedo fina de los sólidos de café y enzimas hidrolasa de alta potencia, se puede conseguir una solubilización competitiva o superior a los procesos técnicos y los procesos enzimáticos de la técnica anterior que se han descrito anteriormente. 2. La enzima se inmoviliza de forma eficaz dentro del espacio de reacción, por lo tanto, no aparece enzima en el producto y las enzimas retenidas se pueden re-usar de forma repetida y aceite y material particulado se separa del extracto de café dentro del proceso. 3. Ya que no aparece ninguna enzima en el producto se puede evitar una etapa de desactivación de enzima.

El presente proceso se puede aplicar a café tostado y molido fresco o a molidos de café tostados que se han extraído previamente con agua. Se pueden encontrar referencias a procesos de extracción prácticos en "Coffee Technology" por Sivetz, Desrosier (1979, The AVI publishing co. Inc.).

También es posible aplicar el presente proceso a molidos obtenidos por procesamiento de café soluble convencional. En el mismo se muele típicamente café tostado y se extrae (térmicamente) con agua en múltiples etapas. Se pueden encontrar métodos de referencia en "Coffee Technology" por Sivetz, Desrosier (1979, The AVI publishing co. Inc.) o en el documento EP 0 489 401. Es típica una realización de dos etapas en la técnica, donde la primera etapa comprende humectar los molidos de café, la recuperación del sabor y la extracción de los componentes fácilmente solubles (tales como cafeína, minerales, azúcares simples). La segunda etapa es típicamente una etapa de hidrólisis, en la que bio-polímeros de café grandes y componentes unidos se descomponen hasta menores solubles en agua. En la primera etapa, el café tostado se extrae típicamente con agua a o por debajo de 100 °C. Los molidos de esta extracción, denominados "molidos atmosféricos" se extraen después con agua supercalentada a temperaturas entre 140 °C y 180 °C o, como en el proceso descrito en el documento EP 0 363 529, temperaturas de agua de aproximadamente 220 °C se usan para realizar la hidrólisis de manano, uno de los bio-polímeros de café nativos. Los molidos parcialmente extraídos de la extracción supercalentada se denomina típicamente "molidos supercalentados".

Si el proceso de la presente invención se aplica a molidos parcialmente extraídos, la extracción se puede realizar añadiendo el café tostado y molido que tiene un tamaño de partícula promedio de aproximadamente 900 µm a un tanque de agitación encamisado que contiene agua, en el que la proporción de sólidos a agua es aproximadamente 1:5. La suspensión se agita, se calienta indirectamente hasta una temperatura inferior a 140 °C, preferiblemente en el intervalo de 85 °C a 90 °C y se mantiene en esta temperatura durante aproximadamente 30 minutos. Después, la suspensión se descarga desde el recipiente y los molidos y el extracto posteriores se separan usando un filtro. El extracto producido se combina con el extracto producido con el proceso de esta invención de los molidos parcialmente extraídos.

El proceso de la presente invención se puede aplicar, en general, a café tostado y molido que comprende granos tostados que se molieron hasta un tamaño de partícula promedio entre 500 y 5.000 µm, preferiblemente entre 500 y 900 µm.

Además, una etapa de proceso de pre-tratamiento de manejo de sabor se puede añadir al proceso de la presente invención para recuperar los compuestos de aroma o constituyentes aromáticos de café antes de las etapas de extracción y/o hidrólisis. Los procesos útiles incluyen, pero sin limitación, los descritos en el documento EP 0 489 401. Una realización práctica incluye humectar café tostado y molido con agua en un recipiente en una proporción de aproximadamente 1:0,5 en peso. Se aplica vacío al recipiente (por ejemplo, aproximadamente 150 mbarg) y después vapor a baja presión (aproximadamente 2,5 barg) se aplica al lecho de molidos humectados durante 4 a 8 minutos

para evaporar los compuestos de aroma del café tostado y molido. Los compuestos volátiles extraídos se condensan, por ejemplo, a aproximadamente 5 °C y se retienen para volver a añadirse a los extractos o sólidos extraídos.

- 5 El presente proceso se puede practicar en café tostado que se ha purgado por vapor a baja presión para extraer compuestos de sabor volátiles, como se ha descrito anteriormente.

10 Está dentro del alcance de esta invención aplicar el proceso a cualquier tipo de molidos de café con materia hidrolizable conocida por los especialistas en la técnica, tales como molidos de café desengrasados, molidos de café descafeinados.

15 En una etapa del presente proceso, granos de café tostados frescos o pre-tratados o los molidos extraídos de la extracción térmica atmosférica y/o supercalentada primaria se muelen en húmedo hasta un tamaño de partícula medio de 10 a 250  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 15 a 75  $\mu\text{m}$ . También puede ser conveniente moler en húmedo café en etapas, por ejemplo, pre-molienda en húmedo o seco hasta 200-500 micrómetros MPS, seguido de molienda en húmedo fina hasta el intervalo requerido de 10 a 200  $\mu\text{m}$ , pero también es aceptable la finalización de la molienda en húmedo hasta el intervalo preferido en una única etapa, como se ha descrito anteriormente. Sin tener en cuenta el número de etapas, la molienda en húmedo se ajusta para conducir a una distribución de tamaño de partícula acumulativo obtenido en el que el tamaño del 90 % de las partículas es inferior a 150  $\mu\text{m}$ , preferiblemente inferior a 20 100  $\mu\text{m}$ , más preferiblemente inferior a 50  $\mu\text{m}$ . Por tanto, de acuerdo con la invención, una distribución multi-modal se muele por etapas o de forma continua hasta la distribución de tamaño de partícula deseada.

25 Es importante señalar que la molienda en seco no produce el beneficio deseado. Sorprendentemente, es esencial para el presente proceso que el café tostado y molido se muele en húmedo. Las ventajas de la molienda en húmedo se cuantifican claramente en el Ejemplo 8.

30 Para realizar la molienda en húmedo y la reacción enzimática posterior, los molidos se diluyen con agua hasta el 5 a 40 % en peso de materia seca. Se puede usar un molino de rotor/estator, por ejemplo, modelo de Ross ME-430XS-6 (Charles Ross & Sons, Hauppauge NY, EEUU) para la primera etapa de molienda, aunque también son adecuados otros molinos, por ejemplo, molinos coloidales tales como Charlotte SD-2 (Bradman-Lake, Charlotte NC, EEUU) o Dispx DRS-2000-5 (IKAUSA). En general es aceptable cualquier equipamiento capaz de moler en húmedo hasta el intervalo de tamaño de partícula requerido y esto puede incluir una combinación de dispositivos de rotor-estator, molinos de medio que contienen medio de molienda, molinos de cono u otros dispositivos de aplicación de cizalla tales como dispositivos ultrasónicos y dispositivos de cavitación. Además, para un tipo de equipamiento dado, el 35 rendimiento y el tamaño de partícula de café resultante se pueden variar modificando parámetros tales como velocidad rotacional, tasa de rendimiento de café, tamaño y conformación de medio (por ejemplo, en un micromolino) y tamaño de tamiz en un rotor/estator o dispositivo de cizalla similar.

40 El tamaño de partícula medio de los molidos se disminuye a 100 a 200  $\mu\text{m}$  en esta primera etapa de molienda en húmedo.

45 Después, la suspensión de café molida se muele en húmedo en una segunda etapa, por ejemplo, en un molino de medio horizontal que contiene bolas de zirconia de 1 a 2 mm de tamaño, por ejemplo KDL-Pilot Dynomill (Premier Mills, NY). Otros molinos adecuados son, por ejemplo, el Attomill (Peterson Machine, Ontario) o el Enco Zinger SV- 4 (Morehouse Cowles). La selección de molinos indicada en este documento no tiene por objeto limitar el alcance de la presente invención.

50 El tamaño de partícula medio de los molidos de café se disminuye adicionalmente en esta segunda etapa de molienda en húmedo hasta un tamaño en el intervalo de 10 a 150  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 15 a 75  $\mu\text{m}$ .

55 La distribución de tamaño de partícula del café molido en húmedo comprende preferiblemente aproximadamente el 90 % o el 95 % de las partículas <150  $\mu\text{m}$ , más preferiblemente <100  $\mu\text{m}$  y mucho más preferiblemente <50  $\mu\text{m}$ , de tal forma que las células de café se rompen y los rendimientos de reacción enzimática se maximizan. Esta distribución de tamaño de partícula permite una hidrólisis enzimática eficaz, sin tener en cuenta cuántas etapas de molienda en húmedo se han aplicado o el molino de molienda en húmedo específico usado. Por lo tanto, se pretende como una distribución de tamaño de partícula acumulativa, conseguida a lo largo de la duración del proceso.

60 La suspensión de café obtenida, molida hasta el intervalo de tamaño de partícula preferido, se trata después con mananastas o mezclas de celulasas y mananastas a una temperatura a la que la enzima es activa, típicamente en el intervalo de 25 °C a 90 °C, preferiblemente de 50 °C a 60 °C durante 1 a 24 horas, preferiblemente de 4 a 24 horas para permitir la reacción enzimática. Las enzimas se pueden añadir antes o durante la molienda en húmedo de los molidos para proporcionar una mezcla íntima de la suspensión de café y las enzimas y para obtener rendimientos aumentados. Por supuesto, también es posible añadir las enzimas después de la molienda en húmedo o entre dos 65 etapas de molienda en húmedo como se han descrito anteriormente.

Las enzimas que se pueden usar en el proceso de la presente invención son mananasas o combinaciones de mananasas y celulasas que pueden actuar de forma sinérgica. También se prefieren combinaciones de mananasas, celulasas y proteasas. Se prefiere adicionalmente que las enzimas estén esencialmente desprovistas de disacaridasas, es decir, manobiasas y celobiasas.

5 En un posible modo de funcionamiento discontinuo, después de la reacción enzimática esté en la finalización esencial de la reacción, la mezcla se somete a una separación general, por ejemplo, centrifugación o filtración de cinta, que retira la mayoría de los sólidos insolubles. El extracto separado, que contiene todavía partículas finas, aceite y proteína enzimática, se hace recircular a través de un dispositivo de membrana de flujo cruzado, que retira  
10 todos los insolubles y también puede retirar enzima, como se describe más adelante. La mayoría o toda la enzima permanece en el retenido de membrana y se puede reciclar a la reacción.

15 En un modo de funcionamiento preferido, el permeado de membrana semipermeable se extrae constantemente durante la reacción enzimática, es decir, una parte de la mezcla de reacción se hace circular de forma continua a través de la celda de separación por membrana semipermeable de flujo cruzado. El proceso se puede accionar en un modo semi-continuo, en el que el permeado se extrae hasta el que el volumen en el recipiente de reacción disminuye hasta el punto en el que su viscosidad o la caída de presión aumentan. En este punto, algo de retenido se purga y se suministra suspensión de café fresco y se añade algo de enzima fresca. El retenido purgado se puede desechar o se puede lavar para recuperar la enzima que después se reutiliza. La enzima en el retenido remanente  
20 (no purgado) se retiene y se reutiliza.

Alternativamente se puede añadir continuamente suspensión de alimentación fresca al tanque de alimentación junto con algo de enzima con una purga extraída de la corriente de reciclado de volumen igual.

25 En cualquier caso, el desarrollo del proceso en un modo de funcionamiento semi-continuo o continuo permite la permeación de componente solubilizados al exterior de la zona de reacción antes de que se puedan descomponer adicionalmente.

30 Como celda de separación por membrana semipermeable de flujo cruzado se usa cualquier dispositivo de membrana apropiado, tal como membranas de microfiltración o ultrafiltración, con tamaño de poro inferior a 0,8 µm. El dispositivo puede estar en la forma de fibras huecas, unidades arrolladas en espiral o cartuchos o placas planas.

35 Sorprendentemente, tales membranas de poro ancho, en presencia de sólidos de café finos, retienen la mayoría o todas las enzimas. Si se requiere la retirada absoluta de la enzima, en una realización, la microfiltración por membrana de flujo cruzado y la ultrafiltración se usan en serie, teniendo la membrana de ultrafiltración de segunda etapa un límite de peso molecular de 20.000 a 100.000, preferiblemente de 30.000 a 50.000. Por ejemplo, los cartuchos de membrana de microfiltración de fibra hueca AGT (Pall Corpo., East Hills, NY) son dispositivos de membrana útiles dentro del proceso de acuerdo con la invención.

40 Si se ha usado el proceso para tratar molidos de café tostado y molido que se ha extraído previamente con agua y/o hidrolizado térmicamente, el extracto obtenido del proceso de esta invención se puede combinar con los extractos obtenidos anteriormente.

45 En una realización preferida de la invención, los molidos se tratan posteriormente después de la primera reacción enzimática. El tratamiento posterior comprende una segunda reacción enzimática que usa galactanasa, donde se añade preferiblemente galactanasa después de que aproximadamente el 75 % del manano se haya hidrolizado y/o una hidrólisis térmica suave, usando un líquido de extracción a una temperatura entre 100 °C y 180 °C. Después de separar los molidos en una etapa de separación convencional y/o de acuerdo con la separación por membrana de la presente invención, los extractos obtenidos se pueden combinar con los demás extractos.  
50

La separación por membrana se realiza preferiblemente con al menos el 1-10 % de sólidos de café insoluble fino presentes en la alimentación a la célula de membrana.

55 En cualquier caso, los extractos obtenidos mediante el proceso de la presente invención contienen menos sacáridos de bajo peso molecular que pueden impartir dulzura y adhesividad indeseable al producto. Además, ya que las reacciones de hidrólisis tienen lugar en las condiciones de temperatura baja donde los productos de hidrólisis no se someten a reacciones químicas adicionales, tales como reacciones de caramelización o reacciones de Maillard, los extractos no contienen sabores extraños que se producen por procesos a alta temperatura, tales como, pero sin limitación, 5-HMF. Los especialistas en la técnica conocen que niveles altos de 5-HMF pueden impartir un sabor  
60 vinoso indeseable o similar a heno (página 229 de Coffee Flavour Chemistry, Ivon Flament, Wiley 2002). El contenido de 5-HMF del extracto producido de acuerdo con el proceso de la invención es preferiblemente inferior a 1.000 ppm, más preferiblemente inferior a 500 ppm, incluso más preferiblemente inferior a 250 ppm y mucho más preferiblemente inferior a 150 ppm en una base de sólidos de café soluble total. Los catadores expertos juzgan que los extractos obtenidos mediante este proceso no muestra el regusto indeseable vinoso y/o caramelizado de  
65 extractos de café instantáneo convencionales.

El 5-HMF es un marcador preferido para la mejora de calidad de este proceso porque es un componente relativamente no volátil y, por lo tanto, no se pierde durante las etapas de evaporación y secado. Sin embargo, se señala la misma mejora en otros sabores extraños más volátiles generados mediante las reacciones de degradación química de los oligómeros generados por la hidrólisis durante las etapas de temperatura alta de los procesos térmicos, tales como aldehídos. Por ejemplo, el contenido total de aldehídos de los extractos de esta invención es inferior a 30 µg/g de sólidos, mientras que es típicamente superior a 1400 µg/g en extractos hidrolizados térmicamente.

Además, los extractos obtenidos están desprovistos de restos enzimáticos. Se observó sorprendentemente que las enzimas interaccionan con las partículas de café molidas en húmedo hasta tal alcance que no permean a través de las membranas -o en un alcance mucho inferior al esperado- aunque el tamaño de poro de las membranas permitiría la permeación.

Los extractos comprenden adicionalmente preferiblemente al menos aproximadamente el 15 % en base al peso total de los sólidos de café soluble de manosa total, donde el contenido de manosa libre es inferior al 50 % en peso del contenido total de manosa, preferiblemente inferior al 30 % y más preferiblemente inferior al 20 %. Finalmente, los extractos pueden contener celooligosacáridos hasta el 10 % en una base de sólidos de café solubles total (MS, materia seca).

Las ventajas de la presente invención se pueden resumir del siguiente modo.

1. Rendimiento de solubilización significativamente mayor que los procesos de la técnica anterior térmicos o enzimáticos, hasta el 65 % de solubilización de café tostado y molido en una base de granos de Arábica. El contenido de manosa total es al menos el 15 % en una base de sólidos de café soluble total.

2. "Activación" a baja temperatura de café (sin explosión de vapor u otro tratamiento a temperatura alta que cree sabores extraños). Nivel bajo de 5-HMF y carácter de sabor procesado disminuido.

3. Composición superior de materia: contenido bajo de monosacáridos.

4. Producto desprovisto de impurezas (insolubles, restos enzimáticos).

5. Reciclado sencillo de enzima posible, disminuyendo significativamente costes.

6. En una implementación semi-continua o continua, retención de enzima en zona de reacción con separación simultánea de solubles de café.

Los extractos obtenidos mediante el proceso de la presente invención se usan para preparar bebidas de café. En primer lugar, la composición de bebida de café carece de aceite y particulados insolubles significativos. Con "carente de aceite significativo" se pretende indicar un nivel de aceite de café inferior a aproximadamente el 2 % en una base en peso de sólidos de café soluble, más preferiblemente inferior aproximadamente el 1 %. Comprende un nivel disminuido de 5-HMF como se ha mencionado anteriormente y comprenden preferiblemente al menos al 15 % en peso de sólidos de café de manosa total, cuya parte principal no consiste en manosa como se ha mencionado anteriormente, sino en manooligosacáridos con un grado de polimerización que comprende entre 2 y 8. La composición de bebida de café también comprende preferiblemente celooligosacáridos.

Cuando se usan molidos atmosféricos como la alimentación para el proceso de esta invención, el extracto producido se puede combinar con el extracto obtenido durante la etapa de extracción atmosférica. Los extractos se combinan basándose en la proporción de rendimientos tostados extraídos de cada etapa. El extracto combinado después se concentra, aromatiza y seca como es convencional en la técnica.

La composición de bebida de café se puede deshidratar, tal como un café soluble o composición mixta seca, o puede ser un producto de café preparado para beber, una composición de mezcla líquida, una composición congelada o una composición de concentrado líquido. La composición de esta invención también se puede usar en aplicaciones que no son bebidas, tales como postres instantáneos o productos de confitería, etc.

Los procesos para preparar esas composiciones de café a partir de extractos de café soluble se conocen por el especialista en la técnica.

A continuación se ilustrará la invención mediante ejemplos específicos que describen realizaciones preferidas de la presente invención. No tienen por objeto limitar el alcance de la invención.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

**Etapas de Procesamiento de la Invención**

5 Se tostaron granos de café Arábica en la combinación de Colombia:Central:Brasil hasta un color de 6,5 Lange en un tostador de tambor Probat. Los granos tostados se molieron hasta un tamaño de partícula promedio de 900 micrómetros usando un molino de placa Mahlkoenig. A menos que se indique de otro modo, estos granos tostados fueron el material de partida para todos los siguientes ejemplos.

10 El café tostado y molido se añadió a un tanque de agitación encamisado (capacidad de trabajo 200 litros) que contenía agua. La proporción de sólidos a agua fue de 1:5 (20 kg de café: 100 kg de agua). La suspensión se agitó, calentó indirectamente hasta una temperatura de 85 °C a 90 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 30 minutos. Después, la suspensión se enfrió hasta 25 °C usando agua refrigerada suministrada a 10 °C a la camisa. La suspensión se descargó del recipiente y los posteriores molidos y el extracto se separaron usando una malla de filtro gruesa.

15 Usando este método, aproximadamente el 25 % en peso del grano de café se extrae como se mide por sólidos solubles.

20 Los molidos extraídos de la extracción atmosférica primaria contienen aproximadamente del 30 al 35 % de MS. Estos molidos se molieron en un proceso de dos etapas. Los molidos se diluyeron con agua hasta un objetivo de aproximadamente el 10 % de MS. La primera etapa de molienda usó el molino de rotor/estator modelo de Ross ME-430XS-6 (Charles Ross & Sons, Hauppauge NY, EEUU). El agua de dilución, 29,09 kg, se puso en un tanque de alimentación y se recirculó a través del molino a una velocidad de 11 a 19 lpm. Los molidos de café, 15,86 kg, se añadieron gradualmente al agua de recirculación usando un alimentador de tornillo durante un periodo de 5 minutos y se continuó la molienda durante aproximadamente 2 minutos después de que se hubiera añadido todo el café. El agua de refrigeración se circuló a través de la camisa del tanque de alimentación para mantener la temperatura de la suspensión por debajo de 40 °C. Esta molienda de rotor/estator disminuyó el tamaño de partícula medio (MPS) hasta 175  $\mu\text{m}$  (objetivo de 100 a 250  $\mu\text{m}$ ). La suspensión recogida total fue de 45,25 kg, ligeramente más que la alimentación debido a agua en las tuberías del equipamiento.

30 El tamaño de partícula se determina usando el siguiente método: el material de café se diluye aproximadamente 1:10 con agua MilliQ™ purificada y se agitó a 400 rpm durante al menos 15 minutos. Esta dispersión se añade después gota a gota al depósito de muestra de un analizador de tamaño de partícula por difracción de luz láser LA-900 de Horiba hasta que el oscurecimiento es inferior al 92 % de transmitancia. El tamaño de partícula se mide después de uno y tres minutos de circulación y agitación a la velocidad mínima. En este documento, la distribución de tamaño de partícula se describe por el tamaño de partícula medio (MPS) que se define como D43, la media ponderada por volumen.

40 La suspensión de café molida con Ross se suministró después a un molino de medio horizontal de segunda etapa (KDL-Pilot Dynamill (Premier Mills NY, EEUU.)) que contiene bolas de zirconia de tamaño 1 a 2 mm. La suspensión de café en el tanque de alimentación de molino se mantuvo agitada para evitar la sedimentación de los molidos y se suministró al molino a una velocidad del 10 % de volúmenes de molino totales/minuto usando una bomba peristáltica (Watson-Marlow). El molino se enfrió haciendo circular agua de refrigeración a través de la camisa para mantener la temperatura de salida inferior a 45 °C. La suspensión de café micromolida tenía un MPS de 57  $\mu\text{m}$  (intervalo objetivo de 15 a 75  $\mu\text{m}$ ).

45 La suspensión micromolida, 12,27 kg, se puso en un recipiente de sujeción de acero inoxidable cerrado encamisado de fondo cónico con agitación de superficie raspada. El material se calentó hasta 55 °C y se añadieron enzimas, una combinación de  $\beta$ -mananasa y celulasas ( $\beta$ -glucanasas), de hecho, Mannaway 25 L al 0,0275 %, una beta-mananasa bacteriana de componente único (Novozymes, Franklinton, NC, EEUU) y RS-103 al 0,0275 %, una preparación fúngica (*Trichoderma reesei*) multicomponente que contiene actividades tanto beta-mananasa como beta-glucanasa (logen, Ottawa, Canadá) basándose en una suspensión de café del 10 % de MS. La suspensión se mantuvo con agitación suave a 55 °C durante 16 h para permitir la reacción enzimática. Se tomaron varias muestras durante el desarrollo de la reacción. Al final de este periodo, la mezcla se calentó hasta 90 °C y después se enfrió inmediatamente hasta 35 °C. Se recuperó un neto de 10,59 kg de suspensión reaccionada del tanque. Esta suspensión contenía el 9 % de sólidos secos totales y el 4,81 % de sólidos disueltos, medidos estos últimos filtrando una alícuota de suspensión a través de un filtro de jeringa GMF de 0,7  $\mu\text{m}$ . Los sólidos en la suspensión y el filtrado se midieron con un analizador de microondas CEM, ajuste de potencia al 100 %. Esto representa un rendimiento tostado extraído incremental del 38 %.

60 La mezcla se centrifugó en un modo discontinuo usando una centrifuga Beckman JE con la suspensión en recipientes de 11 y se centrifugó durante 10 minutos a 2.000 rpm. La centrifugación retira la mayoría de los sólidos insolubles, dando una torta o sedimento que comprende aproximadamente el 32 % de la masa de suspensión inicial y un sobrenadante que comprende el 68 %. Un total de 10.453,1 g de suspensión se centrifugaron, proporcionando 7.064,3 g de sobrenadante primario, conteniendo este último el 5,9 % de sólidos totales (MS) y el 4,81 % de sólidos disueltos (como se mide en filtrado de membrana de 0,7  $\mu\text{m}$ ). El sedimento se volvió a reducir a pulpa en un volumen de agua igual al sobrenadante retirado y recentrifugado, dando sobrenadante de lavado. El último contenía

el 2,27 % de sólidos totales y el 2,01 % de sólidos disueltos. Los sobrenadantes primario y de lavado se combinaron.

Los sobrenadantes de centrifuga contienen partículas insolubles finas de material fibroso y aceite que no se retiran por la centrifugación, además de proteína enzimática residual. El sobrenadante combinado, 13.926,5 g, se aclaró usando una unidad de microfiltración de fibra hueca AGT, 2,600 cm<sup>2</sup> de área superficial total de tamaño de poro nominal 0,6 µm. El material de alimentación se recirculó desde un tanque de alimentación a través del cartucho de membrana usando una bomba Waukesha 15 PD a una velocidad inicial de 5,86 kg/min y el permeado aclarado se extrajo a una velocidad controlada de aproximadamente 100 cc/min. La alimentación se circuló hasta agotamiento esencial, es decir, hasta el punto en el que permaneció material insuficiente en la bomba. El permeado de microfiltración era claro, transparente y libre de aceite y material particulado visible.

Una muestra de permeado se ensayó para actividad mananasa residual usando un ensayo viscométrico. Una alícuota de 25 µl de permeado se mezcló en 30 ml de solución de goma de algarrobbilla al 1 % y la viscosidad se controló a 21 °C usando un viscosímetro Brookfield RVT, huso 6, 20 rpm. La viscosidad no mostró ningún cambio (aproximadamente 2.650 PI) durante más de 1 hora, indicando que no había actividad enzimática. Por el contrario, una alícuota de mezcla de reacción mostró una rápida disminución en la viscosidad con una pendiente de 0,055 PI/min. Una muestra de permeado se ensayó para actividad celulasa residual del mismo modo, usando una solución de carboximetilcelulosa al 2 % (calidad 7 MF, Hercules, Wilmington, DE, EEUU). Así mismo tampoco se encontró ninguna actividad.

Una alícuota de permeado de membrana se secó por congelación y se analizó tanto para carbohidratos libres como totales.

Para el análisis de carbohidratos totales, la muestra se hidroliza usando ácido trifluoroacético y después se realiza la detección usando un detector amperométrico de pulsos Dionex ED40.

Para análisis de carbohidrato libre, se añaden un patrón interno de 2-desoxi-D-glucosa y agua a la muestra y se analizan usando un detector amperométrico de pulsos Dionex ED40.

El extracto atmosférico y el extracto producido por el proceso de esta invención se recombinaron. Esta muestra también se midió para carbohidratos libres y totales usando los métodos que se han descrito anteriormente.

Las muestras se analizaron para 5-HMF como una medida de la degradación térmica. El analito se extrae y disuelve usando un baño de agua ultrasónico a 30 °C y después de la purificación parcial en fase sólida, el contenido de 5-HMF se analiza usando HPLC. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

La diferencia entre manosa total y manosa libre representa el contenido de manooligosacáridos. Los análisis adicionales realizados usando una técnica de electroforesis capilar después de la derivatización de los oligómeros de manano con ANDS (ácido 7-amino-naftaleno-1,3-disulfónico (sal monopotásica)) y cianoborohidrato sódico indica que el grado de polimerización está entre 2 y 8.

Así mismo, la diferencia entre glucosa total y libre representa el contenido de celooligosacáridos.

	5-HMF (PP <sup>m</sup> )	Glucosa Libre g/100 g	Mañosa Libre g/100 g	Contenido Total de Glucosa (g/100 g)	Contenido Total de Mañosa (g/100 g)
Extracto producido de acuerdo con la invención	62	2,9	3,4	10,1	42,7
Producto recombinado	62	1,7	2,0	6,4	30,3

La anterior tabla muestra que esencialmente no hay generación significativa de 5-HMF durante el proceso de esta invención.

El nivel de aldehído total se midió en los extractos del proceso de esta invención y se comparó con los extractos producidos usando hidrólisis térmica. Para medir el contenido de aldehídos, el extracto se transfiere a un vial, se diluye con agua desionizada y se calienta, midiéndose el espacio de cabeza usando cromatografía de gases. Los resultados se expresan en una base de sólidos de café soluble total. Los datos, mostrados en la siguiente tabla, muestran claramente que se generan menos aldehídos como resultado del proceso de esta invención.

	Nivel de Aldehidos Total (µg/g)
Extracto producido por hidrólisis térmica	1555
Extracto producido por el proceso de esta invención	25

**Ejemplo 2**

**Reacción enzimática y separación por membrana simultáneas**

5 La separación micromolida del Ejemplo 1, 7,18 kg, se puso en un recipiente encamisado de acero inoxidable de fondo redondo con agitación de superficie raspada. Con agitación suave, la mezcla se calentó hasta 55 °C y se añadieron enzimas idénticas a las del Ejemplo 1, el 0,055 % de cada una. La mezcla se mantuvo con agitación durante 1 hora, después se recirculó a través de un cartucho de microfiltración, Sepro (Oceanside, CA) PVD MF B-2514-46F, tamaño de poro nominal medio 0,7 µm, usando una bomba Waukesha (SPX, Delavan, WI) 30 PD a una  
10 velocidad de aproximadamente 5,4 kg/minuto. A los 73 min después de la adición de enzima, la válvula de permeado sobre el cartucho de membrana se abrió y se ajustó el flujo de permeado hasta aproximadamente 20 ml/min. Cuando continuó la recogida de permeado, la mezcla del tanque se agitó y se mantuvo a 55 °C. La recogida de permeado continuó durante 75 minutos, tiempo durante el cual se recogió un total de 1.361,1 g de permeado, que contenía el 3,32 % de sólidos disueltos.

15 Una muestra de permeado se analizó para actividad celulasa y mananasa residual usando el método de análisis que se ha descrito en el Ejemplo 1. Se observó que el permeado no tenía actividad celulasa. Esto es sorprendente ya que se ha descrito que las enzimas celulasa de *Trichoderma reesei*, el organismo que produce enzimas RS103, están en el intervalo de peso molecular de 44-48.000 (J. Biotechnol. V57, 191 (1997)) que debe pasar de forma sencilla a través de la membrana de microfiltración. El permeado tenía actividad mananasa de aproximadamente el 39 % de la mezcla de reacción no filtrada: pendiente (0,021 PI/min frente a 0,054). Es sorprendente que la enzima se retira (rechaza) por membranas con un tamaño de poro nominal considerablemente mayor que el peso molecular de la enzima. Se supone que esta retirada se permite por la unión de las enzimas a partículas de café insolubles y/o formación de agregados por las enzimas.

25

**Ejemplo 3**

**Reacción solamente con mananasa**

30 Se realizó un proceso como en el Ejemplo 1 siendo la única excepción que la única enzima añadida fue la β-mananasa, Mannaway, a una tasa del 0,0275 %. El proceso de reacción fue igual que en el Ejemplo 1. La suspensión final después de 16 horas de reacción, calentamiento y enfriamiento como en el Ejemplo 1, contenía el 9,53 % de sólidos totales y el 4,49 % de sólidos disueltos. Esto representa el 44,6 % de solubilización calculada de los sólidos totales en la suspensión de café y rendimiento tostado extraído incremental del 33,5 %.

35

**Ejemplo 4**

**Retirada de Enzima Mediante Ultra-filtración**

40 El permeado de microfiltración del anterior Ejemplo 2, que contenía actividad mananasa residual parcial, se refiltró a través de membranas de microfiltración y ultrafiltración de diversos límites de peso molecular (MWCO) y materiales para determinar los requerimientos para la retirada completa de actividad mananasa. Los resultados se resumen a continuación en la siguiente tabla:

Material	MWCO <sup>(1)</sup> de Filtración	PI/min de Mananasa
Mezcla de reacción	Ninguna	0,054
Permeado de MF	Ninguna	0,021
Permeado de MF	30.000	0
Permeado de MF	100.000	0,0051
Mezcla de reacción	100.000	0,0038

<sup>(1)</sup> MWCO = límite de peso molecular (nominal) de membrana Membrana de ultrafiltración de 30.000 MWCO disminuyó la actividad mananasa en el permeado a cero. Una membrana de 100.000 MWCO retiró parte de la actividad mananasa y fue ligeramente más eficaz para la retirada de enzima de la mezcla de reacción, en la que estaban presentes sólidos de café del permeado de MF.

45

**Ejemplo 5**

**a) Efecto de Retención de Membrana de Enzima de Sólidos de Café**

50 Se diluyó enzima RS-103 (logen, Ottawa, CA) 1:100 en el siguiente medio:

- (1) Agua desionizada
- (2) Suspensión micromolida de molidos extraídos atmosféricamente, 8,365 % de ST (sólidos totales), MPS 65 micrómetros.

(3) Suspensión de Yuban® consumi6 molidos extraídos atmosféricamente (fermentador Bunn-2000), molidos de forma grosera (aproximadamente 850 micrómetros).

5 Las tres muestras anteriores se filtraron por membrana justo antes de la preparaci6n usando filtros de centrifuga "Nanosep" de Pall, MWCO (C) de 100.000 y MWCO (R) de 30.000. Las muestras se centrifugaron hasta que esencialmente todo el líquido había permeado por la membrana. El filtro permea de la membrana C donde se analiz6 todo para actividad enzimática usando ensayos viscométricos como se ha descrito en el Ejemplo 1.

10 **Actividad celulasa**

10 Como se resume en la siguiente tabla, la filtraci6n a trav6s de una membrana de 100.000 MWCO sin sólidos de café (1C) presentes dio cierta reducci6n en la actividad celulasa mientras que la filtraci6n en presencia de sólidos de café micromolidos (2C) disminuy6 la actividad celulasa aproximadamente 2/3. Los sólidos de café (3C) fueron relativamente ineficaces para disminuir la actividad enzimática. La filtraci6n de la muestra (1) a trav6s de la membrana de 30.000 MWCO (1R) retir6 toda la actividad celulasa.

	Pendiente PI/min
Sin filtrar	-0,03476
1C (sin café)	-0,025
2C (micromolido)	-0,0117
3C (general)	-0,0288
1R(UF)	0

15 **Actividad Mananasa**

20 Como se resume en la siguiente tabla, los sólidos de café micromolidos (2C) también mejoraron la retirada de actividad mananasa por la membrana de 100.000 MWCO.

	Pendiente PI/min
Sin filtrar	-0,550
1C (sin café)	-0,573
2C (micromolido)	-0,347
3C (general)	-0,611
1R (UF)	-0,0035

25 **Ejemplo 6**

25 ***a) Adici6n de Enzimas Proteasa a Molidos de Café Extraídos Parcialmente Micromolidos***

A partes de suspensi6n micromolidada de molidos atmosféricos, similar al Ejemplo 1, se a±adieron las siguientes combinaciones de enzimas:

- 30 A) Ninguna  
 B) Idéntica al Ej. 1  
 C) Idéntica al Ej. 1 más Proteasa Ácida II al 0,0275 % (Amano)

35 Matracas que contenían estas mezclas se agitaron a 100 RPM y a 55 °C durante 16 horas, después se procesaron de un modo idéntico al Ejemplo 1. Los rendimientos de solubilizaci6n fueron:

- 40 A) 20,2 %  
 B) 44,0 %  
 C) 48,5 %

La adici6n de proteasa proporciona un rendimiento incremental superior a las enzimas carbohidrasa.

45 **Ejemplo 7**

**Uso de Soluciones Madre de Alimentaci6n Diferentes Para Etapa de Hidrólisis Asistida por Enzima**

**a) Café Tostado y Molido (R&G) Fresco No Tratado**

50 El material de partida para este ensayo era una combinaci6n de granos de Arábica tostados (Colombia/Central/Brasil). El café se molió en seco hasta aproximadamente 500 micrómetros de MPS, después se diluy6 con agua hasta aproximadamente el 10 % de ST y se micromoli6 en húmedo usando un molino pilot KDL que contenía perlas de zirconia de 1 mm. La suspensi6n de café se suministr6 al molino a una velocidad de 0,044 volúmenes de

molino/minuto usando una bomba peristáltica.

Se dispensaron alícuotas de la suspensión micromolida a matraces y se añadieron enzimas. Las enzimas usadas eran de tipo y concentración idénticos que al Ejemplo 1. Los matraces se agitaron a 55 °C y 100 rpm durante 16 horas, se calentaron hasta 95 °C, se enfriaron inmediatamente hasta 20 °C y se procesaron de un modo idéntico que el Ejemplo 1, con la excepción de que para la microfiltración se usó una membrana de Sepro PVDF-MF (aproximadamente 0,5 micrómetros de MWCO) en un dispositivo de flujo cruzado de placa plana RO-Ultratech (Fallbrook, CA).

**b) Café Tostado & Molido Sometido a Vapor**

El material de partida para este ensayo era una combinación de grano de Arábica (Colombia/Central/Brasil). Los granos completos se molieron hasta un tamaño de partícula promedio de 500 micrómetros usando un molino de rodillos MPE4555. Después, los molidos se pre-humectaron con agua (aproximadamente el 40 % en peso de los granos) y después se sometieron a vapor con vapor a baja presión (1-2 barg) durante 8-10 minutos para evaporar compuestos de sabor volátiles del café tostado y molido. Esta corriente volátil se condensa y habitualmente se vuelve a añadir al extracto final antes del secado. Después de este proceso de vapor, los sólidos se molieron en húmedo en 2 etapas de forma idéntica al Ejemplo 1, con la excepción de que la velocidad de alimentación a la segunda etapa fue 0,024 volúmenes de molino/minuto.

Alícuotas de las suspensiones Ross y micromolidas se dispensaron en matraces. Se usaron enzimas y condiciones de procesamiento idénticos al Ejemplo 7a.

**c) Molidos Extraídos Atmosféricamente**

El material de partida para este ensayo eran molidos idénticos al Ejemplo 1. Los molidos se molieron en húmedo en 2 etapas como en el Ejemplo 1, con la excepción de que la primera etapa fue en un molino Dispax equipado con tamices fino/superfino/superfino (IKA, EEUU). Los molidos molidos con Dispax tenían un MPS de 224 micrómetros, mientras que los molidos micromolidos tenían un MPS de 57,7 micrómetros.

**Datos de desarrollo temporal para hidrólisis de Manano**

Para el experimento descrito más adelante, el material de partida fueron molidos extraídos atmosféricamente que se molieron en húmedo en 2 etapas como se ha descrito en el anterior Ejemplo 7c.

Se dispensaron cuatro alícuotas de las suspensiones micromolidas en matraces y se añadió una mezcla de enzimas de tipo y composición idénticos al Ejemplo 1 a la suspensión micromolida. Los matraces se agitaron a 55 °C y 100 rpm durante 4, 8, 12 y 16 horas. Al final del tiempo de reacción especificado, los matraces se procesaron como se ha descrito previamente.

La siguiente tabla muestra el porcentaje de Manano total hidrolizado\*\* a diversos intervalos temporales.

Tiempo (horas)	% de Manano total hidrolizado*
4	65,20
8	78,51
12	82,43
16	84,65

\* el valor de % se basa en el manano en el producto final en comparación con manano en el material de partida;  
 \*\* muestras analizadas usando un método de carbohidrato total, donde la muestra se hidroliza usando ácido y después se realiza detección usando un detector amperométrico de pulsos Dionex ED40.

Incluso a las 4 horas se ha hidrolizado una proporción considerable del manano.

**d) Molidos Supercalentados**

El material de partida para este ensayo fueron molidos supercalentados que permanecen después de la extracción con agua supercalentada (aproximadamente 180 °C, "molidos supercalentados").

Los molidos supercalentados se diluyeron con agua hasta aproximadamente el 10 % de ST y se molieron en húmedo en dos etapas como se ha descrito previamente en el Ejemplo 7c. El efluente del molino Dispax tenía un MPS de 73,5 micrómetros y 27,9 micrómetros del micromolino.

Las alícuotas de la suspensión micromolida y una de las suspensiones Dispax se dispensaron en matraces y se añadieron enzimas, del mismo tipo y niveles que en el Ejemplo 7a. Los matraces se agitaron a 55 °C y 100 rpm

durante 16 h, se calentaron hasta 95 °C, se enfriaron inmediatamente hasta 20 °C, después se procesaron como en el Ejemplo 7a. Las combinaciones de enzimas mananasa más celulasa ensayadas produjeron un 14,7 % de solubilización incremental (basándose en la masa de molidos supercalentados de partida) para la suspensión micromolida y el 13,6 % para la suspensión Dispax. El uso de mananasa sola (0,55 %) dio un 4,1 % de solubilización en molidos micromolidos mientras que un control micromolido sin enzima dio el 2,8 %.

### Resultados

Las siguientes tablas muestran los rendimientos conseguidos por las diferentes soluciones madre de alimentación a diversos tamaños de partícula medio.

#### Uso de un complejo de enzima que contiene una mezcla 50:50 de enzima con actividad β-Mananasa y enzima con actividad β-Mananasa más celulasa, idéntico al Ejemplo 1

Ejemplo	Solución Madre de Alimentación	% de Rendimiento
7a	Tostado & Molido No Tratado	60,5
7b	Tostado & Molido Sometido a Vapor	59,2
7c	Molidos extraídos Atmosféricamente	62,5
7d	Molidos Supercalentados	55

#### Uso de una enzima solamente con actividad β-Mananasa, idéntica al Ejemplo 3

Ejemplo	Solución Madre de Alimentación	% de Rendimiento <sup>(1)</sup>
7c	Molidos extraídos Atmosféricamente	59,5
7d	Molidos Supercalentados	50,1

<sup>(1)</sup> % de Rendimiento definido como el porcentaje de material soluble extraído de los granos de café tostados

La siguiente tabla muestra el manano disponible para hidrólisis y la cantidad de manano hidrolizado cuando se usan diferentes materiales de alimentación de partida.

Material de alimentación de partida para hidrólisis asistida por enzima	Arabinogalactano en material de alimentación (g)	Manano disponible para hidrólisis (g)	Manano hidrolizado (g)	Manano remanente (g)
Tostado & Molido	9,1	20,5	17,2	3,3
Tostado y Molido Sometido a Vapor	9,1	20,5	16,7	3,8
Molidos Atmosféricos	6,8	19,8	16,4	3,4
Molidos Supercalentados	0,4	7	0	7

Como se puede observar a partir de la anterior tabla, la extracción de Manano es menos eficaz cuando los molidos agotados en cuanto a arabinogalactano se usan como un material de alimentación para el proceso de hidrólisis asistido por enzima.

### Acción Sinérgica de Enzimas

Quando se usan mezclas de enzimas que comprenden celulasas y mananasas para tratar café tostado molido en húmedo, el efecto de la mezcla sobre el rendimiento de solubilización es aditivo, es decir, el rendimiento incremental obtenido tratando con celulasa más mananasa se puede representar completamente por el aumento de concentración de celooligómero del extracto; no hay cambio significativo en concentración de manooligómero. Esto se esperaría en base a las enseñanzas de la técnica anterior. Sin embargo, se ha observado que combinaciones preferidas de celulasas más mananasas dan una disminución sinérgica de forma aparente en el volumen físico del residuo insoluble obtenido después de la separación del extracto, por ejemplo, por un proceso de separación de volumen, tal como centrifugación, como se muestra en la siguiente tabla. Por ejemplo, la adición de las mezclas de enzima que se denominan más adelante en este documento FM y FC al BM aumenta el rendimiento de solubilización solamente en el 13,8 % pero el volumen del residuo disminuye el 32 %. Un volumen físico menor del residuo facilitaría la separación y recuperación del extracto.

Mezcla de Enzima	% de Volumen de Residuo	Rendimiento de Solubilización Relativa
Control (ninguno)	65	1
BM	53	1,59
FM + FC	40	1,27
FC	57	1
BM + FM + FC	37	1,81

Mezcla de Enzima	% de Volumen de Residuo	Rendimiento de Solubilización Relativa
FM = componente mananasa de RS-103; BM= Mannaway 25 L; FC = componente celulasa de RS-103; Enzimas todas al 0,0275 % en mezcla de molidos atmosféricos micromolidos, 55 °C, reacciones de 16 h; Volumen de residuo es % de volumen inicial después de centrifugación como se ha descrito previamente.		

**Ejemplo 8**

**8a. Molidos Atmosféricos - Comparación de Molienda en Húmedo frente a en Seco**

5 En el Ejemplo 1 se mostró que cuando los molidos atmosféricos se molieron en húmedo hasta el tamaño de partícula preferido de 15-75 micrómetros y se incubaron con agitación durante 16 h con la combinación de enzimas preferida, el 0,0275 % de cada uno de Mannway más RS-103, se puede conseguir hasta el 51,1 % de solubilización.

- 10 i. Una muestra de los molidos atmosféricos no tratados del Ejemplo 1 se liofilizó y el material molido en seco usando un granulador ultrafino MPE 660 se molió en seco hasta un tamaño de partícula medio (MPS) de 70 micrómetros. Este material se suspendió en agua hasta el 10 % de sólidos totales.
- ii. Los mismos molidos atmosféricos húmedos se molieron en húmedo en Dispax, con sólidos totales de aproximadamente el 10 %, como se describe en el Ejemplo 7c.
- 15 iii. Los molidos molidos en Dispax de ii. se micromolieron como se ha descrito previamente en el Ejemplo 7c a una velocidad de alimentación de 0,11 volúmenes de molino/minuto y un paso único a través del molino.
- iv. Los molidos molidos en Dispax de ii. se micromolieron como se ha descrito previamente en el Ejemplo 7c a una velocidad de alimentación de 0,11 volúmenes de molino/minuto pero se reciclaron a través del molino durante 40 min.

20 A todos de los aproximadamente 10 % de suspensiones de sólidos totales se añadieron enzimas idénticas al Ejemplo 1 y las mezclas se mantuvieron a 55 °C durante 16 h, después se procesaron como en el Ejemplo 1.

25 Como se muestra en la siguiente tabla, la molienda en húmedo era bastante más eficaz que la molienda en seco para permitir la solubilización enzimática de molidos atmosféricos y cuando el MPS molido en húmedo alcanzó el intervalo preferido, el porcentaje de solubilización aumentó. La molienda en seco de molidos atmosféricos, incluso hasta el tamaño de partícula preferido, no fue eficaz para permitir la solubilización enzimática.

Caso	Molino	Enzima	Agitación <sup>(a)</sup>	MPS micrómetros	% de Solubilización
i	Seco	0	+	70	12
i	Seco	+	+	70	15,4
ii	Dispax	0		224	17,1
ii	Dispax	+		224	31,2
iii	1 Pase en Micromolino	0	-	104,4	18,05
iii	1 Pase en Micromolino	+	-	104,4	40,02
iv	Reciclado en Micromolino	0	-	65,5	17,9
iv	Reciclado en Micromolino	+	-	65,5	46,0

(a) Agitador Orbital, 100 RPM

30 **8b. Café Tostado - Comparación de Molienda en Húmedo frente a en Seco**

El material de partida para esta comparación son granos de café Arábica.

35 Para el ejemplo de molienda en seco, el café se molió en seco usando un granulador ultrafino MPE 669. El café molido se mezcló después con agua para conseguir una suspensión al 10 % y se dejó impregnar durante 1 hora antes de realizar la hidrólisis enzimática.

40 Para el ejemplo de molienda en húmedo, el café se molió en seco hasta un tamaño de partícula medio (MPS) de aproximadamente 500  $\mu\text{m}$  y después se diluyó con agua hasta aproximadamente el 10 % de sólidos totales (ST) y se micromolió en húmedo usando un molino Pilot KDL que contenía perlas de zirconia de 1 mm. La suspensión de café se suministró al molino a una velocidad de 0,044 volúmenes de molino/minuto usando una bomba peristáltica.

45 Alternativamente, el café de 500 micrómetros se molió en Dispax como en el Ejemplo 7c, añadiendo el café al 10 % de ST al líquido circulante y muestreando la suspensión molida inmediatamente después de que se añadieran los sólidos (“un paso”) y después de 5 minutos de reciclado a través del molino.

Se dispensaron alícuotas de las suspensiones molidas en seco y húmedo en matraces y se añadieron enzimas. Las enzimas usadas fueron idénticas en tipo y concentración que en Ejemplo 1. Los matraces se agitaron a 55 °C y 100 rpm durante 16 h y después se procesaron como se ha descrito previamente.

La solubilización en una base R&G original se muestra como % de Rendimiento en la siguiente tabla. Este rendimiento se define como el porcentaje de material soluble extraído de los granos de café tostados.

Tipo de Molino	Molino	Modo	MPS micrómetros	Enzima <sup>&lt;1)</sup>	% de Rendimiento de Solub.
1 a. Seco	Dyno	-	77	0	30,1
1b. Seco	Dyno	-	77	+	35,9
2a. Húmedo	KDL	1 pase	32	0	32,1
2b. Húmedo	KDL	1 pase	32	+	57,4
3a. Húmedo	KDL	2 pases	77	0	31,7
3b. Húmedo	KDL	2 pases	77	+	60,5
4a. Húmedo	Dispax	1 pase	229	0	26,5
4b. Húmedo	Dispax			+	34,3
5a. Húmedo	Dispax	Reciclado de 5 min.	133	0	27,6
5b. Húmedo	Dispax	Reciclado de 5 min.	133	+	42,0

(1) Donde í+), tipo de enzima y concentración idénticos al Ejemplo 1.

- 5 La solubilización enzimática del café molido en húmedo es significativamente mayor que la conseguida por molienda en seco.

### **8c. Molienda en Húmedo en Presencia de Enzimas**

- 10 Una suspensión de molidos de café atmosféricos se molió en húmedo en 2 etapas como en el Ejemplo 7c, con las siguientes excepciones:

- i. La suspensión se recicló a través del micromolino pilot-KDL de segunda etapa (efluente de molino volvió al recipiente de alimentación) durante 30 min, a una velocidad de 0,14 volúmenes de molino/minuto.  
 15 Las alícuotas de la suspensión molida se dispensaron en matraces y se añadieron enzimas idénticas al Ejemplo 1 a los matraces. Los matraces se agitaron a 100 RPM durante 16 h, después se procesaron de forma idéntica al Ejemplo 1.  
 ii. Se añadieron enzimas de forma idéntica al Ejemplo 1 antes de la micromolienda de segunda etapa, después, la suspensión se recicló a través del molino pilot-KDL durante 30 minutos a 0,14 volúmenes de molino/minuto, manteniendo la temperatura a 45 °C suministrando agua de refrigeración a la camisa del molino. La suspensión molida se dispuso después a matraces que se agitaron a 100 rpm durante 16 h, después se procesaron como en el Ejemplo 1.  
 20

- 25 El rendimiento de solubilización, basado en sólidos de suspensión totales, fue del 45,8 % para (i) y del 49,8 % para (ii). Un control sin enzima de (i) se solubilizó al 20,4 %. La adición de las enzimas antes de la molienda proporcionó un rendimiento incremental, probablemente mejorando el contacto entre las enzimas y el café.

### **Ejemplo 9 (Comparativo)**

- 30 **Reducción Práctica del documento SU1597151 - Un Método para Preparar Extracto de Café (Moscow Technology Institute for Food Industry)**

- 35 El material de partida para esta comparación fue una combinación de granos Robusta molidos hasta un tamaño de partícula promedio de 500 µm. Aproximadamente 100 g de café molido se mezclaron con agua en una proporción de 1:20, se calentó hasta 90 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 5 minutos. Los molidos y el extracto se separaron por filtración a través de papel de filtro Whatman #1.

- 40 Los molidos de esta primera etapa se someten a una segunda extracción usando un complejo enzimático para asistir a la hidrólisis. El complejo enzimático era una mezcla 50:50 de pectinasa y β-glucanasa. Se añadió agua a los molidos a una proporción de 20:1 y complejo enzimático a un nivel del 1 % por 100 g de materia seca (MS). Esta suspensión resultante se mantuvo a 50 °C durante 60 minutos con agitación continua. El extracto y los molidos se separaron por filtración por un papel de filtro Whatman #1.

- 45 La siguiente etapa del proceso usa los extractos producidos a partir de las anteriores dos extracciones como el medio de extracción en vez de agua para realizar la extracción de café tostado y molido fresco. De nuevo, la proporción de extracto a molidos de café es 1:20. Las condiciones de extracción son como para el anterior ejemplo (calentado hasta 90 °C y mantenido a esta temperatura durante 5 minutos). El anterior procedimiento se realizó usando un tamaño de molienda de aproximadamente 500 µm. Después de la etapa de extracción, los molidos y los extractos se separaron por filtración a través de papel de filtro Whatman #1.  
 50

Los rendimientos conseguidos por este proceso se muestran en la siguiente tabla:

	<b>Pectinasa y <math>\beta</math>-glucanasa al 1,0 %</b>
Rendimiento de la 1 <sup>a</sup> & 2 <sup>a</sup> extracción	28,8
Rendimiento de la extracción que usa los 1° y 2° extractos	31

Los anteriores experimentos también se repitieron usando una combinación de granos de Arábica. Los rendimientos conseguidos en estos experimentos se muestran en la siguiente tabla. El rendimiento conseguido es considerablemente inferior al conseguido mediante el proceso de esta invención.

	<b>Pectinasa y <math>\beta</math>-glucanasa al 1,0 %</b>
Rendimiento de la 1 <sup>a</sup> & 2 <sup>a</sup> extracción	23,9
Rendimiento de la extracción que usa los 1° y 2° extractos	25,4

### **Ejemplo 10 (Comparativo)**

#### **10 Reducción Práctica de la Patente de Estados Unidos N° 4.983.408 - Método para Producir Extractos de Café (Colton; Ralph L)**

Se tostaron y extrajeron granos de café Arábica como se ha descrito en el Ejemplo 1. Los molidos extraídos de la extracción atmosférica contienen aproximadamente el 30-35 % de Materia Seca (MS). Los molidos extraídos parcialmente se transfirieron a un recipiente a presión en el que se sometieron a inyección directa de vapor a 24 bar durante un periodo de 2 minutos.

Una muestra de 50 g de los molidos primarios sometidos a vapor se diluyó 1:2 con 100 g de agua desionizada y se trató con el 0,029 % de una enzima con actividad Mananasa y el 0,029 % de enzima con actividad combinada Celulasa/Mananasa. Una muestra por duplicado para el tratamiento con vapor se marcó como control y se trató con agua desionizada al 0,058 %. Las muestras se mezclaron y se mantuvieron de forma estática a 55 °C durante 20 horas. Después, las muestras se calentaron a 95 °C para desactivar las enzimas, se enfriaron hasta temperatura ambiente y se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos. Se recogió el sobrenadante y una parte se pasó a través de filtros de jeringa de 0,45 micrómetros y 0,80 micrómetros (Supor).

El rendimiento de extracción de la etapa de hidrólisis enzimática se calculó basándose en la concentración de sólidos de los filtrados de 0,45 micrómetros de la cantidad de sólidos en los molidos sometidos a vapor. Los rendimientos de la etapa de hidrólisis se añadieron después a los rendimientos de extracción indicados de extracción con vapor y atmosférica y se describieron como los rendimientos totales para este proceso en la siguiente tabla.

Un segundo ejemplo (10b) se redujo a la práctica por lo que café tostado y molido de mezcla Arábica (Colombia/Central/Brasil) se mezcló con agua en la proporción de 1:2 (agua a café) y después se sometió a vapor a 25 barg durante 4 minutos. Los molidos sometidos a vapor se hicieron reaccionar después con RS103 a 45 °C durante 3 horas. El rendimiento resultante y el nivel de 5-HMF se incluyen en la siguiente tabla.

	<b>Rendimiento Extraído (%)</b>	<b>Mañosa Total (9/100 g)</b>	<b>5-HMF (PPm)</b>
Ejemplo 10a: Explosión sometida a vapor de molidos extraídos atmosféricamente (con enzima)	53	17	2556
Ejemplo 10a: Explosión sometida a vapor de molidos extraídos atmosféricamente (sin enzima)	47,6	14,5	1937
Ejemplo 10b: Explosión sometida a vapor de tostado y molido fresco (con enzima)	46	16,5	6773
Ejemplo 10b: Explosión sometida a vapor de tostado y molido fresco (sin enzima)	46	15,2	6725

### **Ejemplo 11**

#### **Evaluación sensorial de los productos base de esta invención**

El objetivo de este ejemplo es comparar sensorialmente la calidad de los extractos obtenidos por el proceso de esta invención con la calidad de los extractos obtenidos por hidrólisis térmica.

Se realizó una extracción atmosférica como se ha descrito en el Ejemplo 1, usando la misma combinación de café tostado y molido Arábica. Durante esta etapa, aproximadamente el 25 % en peso del grano de café se extrajo como se mide por sólidos solubles. Los molidos resultantes de esta extracción se trataron después con enzimas como se ha descrito en el Ejemplo 1. Aproximadamente el 38 % en peso del grano de café se extrae como se mide por sólidos solubles. Para producir un producto final, el extracto de ambas etapas se combinó en una proporción en peso de 1:1,5 basándose en sólidos solubles (extracto de extracción atmosférica: extracto de tratamiento enzimático).

El contenido de sólidos solubles del extracto combinado se midió en el 5 % y después se concentró hasta el 30 % de sólidos solubles usando un evaporador rotatorio Heidolph, esta operación se realizó al vacío. Después, el extracto concentrado se secó por congelación dando como resultado un producto con un contenido de humedad final del 1,3 %.

- 5 El extracto de una extracción por etapas y proceso de hidrólisis térmica de la misma combinación de café Arábica se concentró y secó usando el mismo equipamiento y condiciones como se ha descrito en el anterior párrafo. El contenido de humedad final de este producto fue del 1,7 %.
- 10 Los productos secos se reconstituyeron con agua a 75 °C para dar una infusión con una concentración del 1,5 % de sólidos solubles. Los catadores de café expertos evaluaron los productos reconstituidos y encontraron que el producto de esta invención es más limpio, menos vinoso y con menos sabores extraños procesados que el producto preparado usando el proceso de hidrólisis térmica convencional.

**REIVINDICACIONES**

1. Composición de bebida de café desprovista de contenidos significativos de aceite y particulados insolubles, que comprende,  
5
- (a) al menos el 15 % en base al peso total de sólidos de café soluble de manosa total, donde el contenido de manosa libre es inferior al 50 % en peso del contenido de manosa total y
  - (b) menos de 250 ppm en una base de sólidos de café soluble total de 5-hidroximetil furfural (5-HMF)
- 10 en donde la composición es un café soluble.
2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el contenido de manosa libre es inferior al 30 %, preferiblemente inferior al 20 % del peso de manosa total.
- 15 3. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que también comprende celooligosacáridos hasta un contenido del 10 % en una base de sólidos de café soluble total.
4. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, estando esencialmente desprovista de enzima.  
20
5. Proceso para producir un extracto de café soluble, que comprende las etapas:
- (i) combinar café tostado y molido con agua,
  - (ii) añadir mananasa o mezclas de celulasas y mananasa,
  - (iii) moler en húmedo hasta un tamaño de partícula medio de 10 a 250  $\mu\text{m}$ ,
  - (iv) tratar la mezcla de reacción exponiendo la misma a una temperatura en la que la enzima es activa y
  - (v) hacer circular la mezcla de reacción a través de un dispositivo de separación por membrana semipermeable de flujo cruzado donde el extracto de café soluble se obtiene como permeado y en el que el tamaño de poro de membrana es inferior a 0,8  $\mu\text{m}$ .
- 25
- 30 6. Proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que las etapas (ii) y (iii) se pueden realizar en cualquier orden, preferiblemente la etapa (ii) se realiza antes de la etapa (iii).
- 35 7. Proceso de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en el que la distribución de tamaño de partícula acumulativo del café tostado y molido en húmedo comprende aproximadamente el 90 % de las partículas por debajo de 150  $\mu\text{m}$ , preferiblemente por debajo de 100  $\mu\text{m}$  y mucho más preferiblemente por debajo de 50  $\mu\text{m}$ .
- 40 8. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que una distribución multimodal se muele por etapas o de forma continua hasta la distribución de tamaño de partícula deseada.
9. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que el café tostado y molido comprende granos tostados que se molieron hasta un tamaño de partícula promedio entre 500 y 5.000  $\mu\text{m}$ .
- 45 10. Proceso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el café molido se pre-trata para recuperar compuestos de aroma que se retienen para volver a añadirse a extractos obtenidos o sólidos extraídos.
11. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que el café tostado y molido se ha extraído previamente con agua y/o hidrolizado térmicamente.
- 50 12. Proceso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el extracto de café soluble obtenido por los molidos consumidos en la etapa (v) se combina con el extracto de café soluble que se ha obtenido en el proceso de extracción del café tostado y molido fresco.
- 55 13. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 11 o 12, en el que el proceso de extracción se realiza a una temperatura inferior a 140 °C, preferiblemente entre 85 °C y 90 °C.
14. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, en el que el extracto de café soluble obtenido se procesa para preparar café soluble o café líquido.
- 60 15. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 14, en el que la molienda en húmedo se realiza en dos etapas, conduciendo la primera etapa a un tamaño de partícula medio de 100 a 200  $\mu\text{m}$  y conduciendo la segunda etapa a un tamaño de partícula medio de 10 a 150  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 15 a 75  $\mu\text{m}$ .
- 65 16. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 15, en el que se usa una combinación de al menos una mananasa, al menos una celulasa y al menos una enzima proteasa.

17. Proceso de acuerdo con la reivindicación 16, en el que dichas combinaciones de enzimas actúan de forma sinérgica para disminuir el volumen físico de residuo insoluble remanente después de la separación del extracto.
- 5 18. Proceso de acuerdo con la reivindicación 16, en el que dichas enzimas están esencialmente desprovistas de disacaridasas.
19. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 18, en el que el proceso se acciona en un modo discontinuo.
- 10 20. Proceso de acuerdo con la reivindicación 19, en el que la mezcla de reacción se separa en un extracto líquido sustancialmente reducido en cuanto a material insoluble y una corriente de material insoluble después de la finalización esencial de la reacción enzimática y antes de la etapa de separación por membrana.
- 15 21. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 18, en el que el proceso se acciona en un modo semicontinuo, en el que el permeado se extrae hasta que el volumen de la mezcla disminuye hasta el punto que su viscosidad o la caída de presión aumentan, punto en el que se purga algo de retenido y se suministra suspensión de café fresco y se añade algo de enzima fresca.
- 20 22. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 18, en el que el proceso se acciona continuamente añadiendo continuamente suspensión de alimentación fresca y enzima y extrayendo continuamente una purga de retenido de volumen igual de la corriente de reciclado.
- 25 23. Proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 22, en el que dicha separación se realiza estando presente al menos el 1-10 % de sólidos de café finos en la alimentación al dispositivo de membrana.
- 30 24. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 23, en el que la celda de separación por membrana semipermeable de flujo cruzado comprende membranas de microfiltración o ultrafiltración de límite de peso molecular de 20.000 a 100.000, preferiblemente de 30.000 a 50.000.
- 35 25. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 24, en el que la celda de separación por membrana semipermeable de flujo cruzado comprende una unidad de filtración por fibra hueca o una unidad arrollada en espiral o una unidad de placa plana.
- 40 26. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 25, en el que la separación por membrana tiene lugar en dos etapas, en el que el permeado de la celda de separación por microfiltración por membrana semipermeable de flujo cruzado se procesa adicionalmente en una celda de ultrafiltración de flujo cruzado de segunda etapa de límite de peso molecular de 20.000 a 100.000, preferiblemente de 30.000 a 50.000.
- 45 27. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 26, en el que los molidos después de la reacción enzimática se tratan posteriormente por una segunda reacción enzimática usando galactanasa y/o una etapa de hidrólisis térmica a una temperatura entre 100 °C y 180 °C.
- 50 28. Proceso de acuerdo con la reivindicación 27, en el que se añade galactanasa después de que aproximadamente el 75 % del manano se haya hidrolizado.
29. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 26 o 27, en el que los molidos se separan en una etapa de separación convencional y/o en una etapa de separación por membrana.
30. Proceso de acuerdo con la reivindicación 29, en el que el extracto obtenido se combina con otros extractos obtenidos en los procesos de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 29.
31. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 30 en el que el extracto de café producido contiene menos de 1.000 ppm de 5-HMF.