

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 189**

51 Int. Cl.:

A21D 8/04 (2006.01)

A23L 19/18 (2006.01)

A23L 5/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.08.2003 PCT/US2003/026884**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.04.2004 WO04026042**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.08.2003 E 03797869 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 1553845**

54 Título: **Método para reducir la formación de acrilamida en alimentos térmicamente procesados**

30 Prioridad:

19.09.2002 US 247504

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

03.05.2018

73 Titular/es:

**FRITO-LAY NORTH AMERICA, INC. (100.0%)
7701 LEGACY DRIVE
PLANO, TX 75024-4099, US**

72 Inventor/es:

**ELDER, VINCENT, ALLEN;
FULCHER, JOHN, GREGORY y
LEUNG, HENRY, KIN-HANG**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 666 189 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

Método para reducir la formación de acrilamida en alimentos térmicamente procesados

5 Antecedentes de la invención

1. Campo técnico

10 La presente invención se refiere a un método para reducir la cantidad de acrilamida en alimentos procesados térmicamente. La presente invención permite la producción de alimentos que tienen niveles significativamente reducidos de acrilamida. El método se basa en interferir con una vía de formación de acrilamida que comienza con el aminoácido asparagina.

15 2. Descripción de la técnica relacionada

La acrilamida química se ha usado durante mucho tiempo en su forma de polímero en aplicaciones industriales para el tratamiento del agua, recuperación potenciada de petróleo, fabricación de papel, floculantes, espesantes, procesamiento de mineral y tejidos de prensado permanente. En los últimos tiempos, una gran diversidad de alimentos dieron positivo para la presencia del monómero de acrilamida. La acrilamida se ha encontrado especialmente en productos alimenticios con carbohidratos que se han procesado a altas temperaturas. Ejemplos de alimentos que dieron positivo para la acrilamida incluyen el café, los cereales, las galletas, las patatas fritas envasadas, las galletas saladas, las patatas fritas, los panes y los panecillos, y las carnes fritas empanizadas. Dado que la acrilamida en los alimentos es un fenómeno recientemente descubierto, su mecanismo de formación no ha sido confirmado. Pero, dado que el monómero de acrilamida no se desea en productos alimenticios, sería útil tener un método para su reducción o eliminación significativa en alimentos térmicamente procesados.

El documento US-A-5514387 divulga la fabricación de galletas saladas en las que se hornea una masa que comprende una levadura.

30 Sumario de la invención

La presente invención proporciona un método para reducir la cantidad de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de acuerdo con la reivindicación 1. La presente invención también proporciona un uso de asparagina en un ingrediente alimentario de acuerdo con la reivindicación 13. Las características preferentes se definen en las reivindicaciones dependientes. La acrilamida se reduce eficazmente al reducir la cantidad de asparagina reactiva presente en alimentos o los ingredientes de los alimentos antes del procesamiento térmico. En una realización, la asparagina se pone en contacto con la enzima asparaginasa para convertir la asparagina en ácido aspártico y amoníaco. En otra realización, los ingredientes para uso en la fabricación del producto alimenticio procesado térmicamente se lixivian para eliminar la asparagina antes de que los ingredientes alimentarios se calienten a temperaturas por encima de aproximadamente 80 °C, los ingredientes para su uso en la fabricación del producto alimenticio se fermentan para reducir la asparagina ya que los microorganismos metabolizan la asparagina para la síntesis de proteínas y otro metabolismo microbiano.

Lo anterior, así como las características y ventajas adicionales de la invención serán evidentes en la siguiente descripción detallada escrita.

Descripción detallada de la invención

50 La formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente requiere una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno. Se hipotetiza que el carbono es proporcionado por una fuente de carbohidratos y que el nitrógeno es proporcionado por una fuente de proteína o una fuente de aminoácidos. Muchos ingredientes alimentarios procedentes de plantas tales como arroz, trigo, maíz, cebada, soja, patata y avena contienen asparagina y son principalmente carbohidratos que tienen componentes de aminoácidos menores. Típicamente, dichos ingredientes alimentarios tienen un pequeño conjunto de aminoácidos, que contiene otros aminoácidos además de la asparagina. Hay veinte aminoácidos convencionales que son los componentes básicos de las proteínas y se pueden encontrar en estos ingredientes alimentarios, que incluyen, pero sin limitación, lisina, alanina, asparagina, glutamina, arginina, histidina, glicina y ácido aspártico.

60 Por "procesado térmicamente" se entiende alimentos o ingredientes de alimentos en los que los componentes del alimento, tales como una mezcla de ingredientes alimentarios, se calientan a temperaturas de al menos 80 °C. Preferentemente, el procesamiento térmico del alimento o ingredientes alimentarios tiene lugar a temperaturas entre aproximadamente 100 °C y 205 °C. El ingrediente alimentario puede procesarse por separado a temperatura elevada antes de la formación del producto alimenticio final. Un ejemplo de ingrediente alimentario procesado térmicamente son los copos de patata, que se forma a partir de patatas crudas en un proceso que expone a la patata a temperaturas de hasta 200 °C. Ejemplos de otros ingredientes alimentarios procesados térmicamente incluyen avena procesada, arroz parcialmente hervido y seco, productos de soya cocidos, masa de maíz, granos de café

tostados y granos de cacao tostados. Como alternativa, los ingredientes alimentarios crudos se pueden usar en la preparación del producto alimenticio final en el que la producción del producto alimenticio final incluye una etapa de calentamiento térmico. Un ejemplo de procesamiento de materia prima en el que el producto alimenticio final resulta de una etapa de calentamiento térmico es la fabricación de patatas fritas envasadas a partir de rodajas de patata
 5 crudas mediante la etapa de freír a una temperatura de entre aproximadamente 100 °C a aproximadamente 205 °C o la producción de papas fritas a temperaturas similares.

De acuerdo con la presente invención, sin embargo, se ha encontrado que se produce una formación significativa de acrilamida cuando el aminoácido asparagina se calienta en presencia de un azúcar simple. Calentar otros
 10 aminoácidos como la lisina y la alanina en presencia de un azúcar simple como la glucosa no conduce a la formación de acrilamida. Pero, sorprendentemente, la presencia de asparagina con otro aminoácido, tal como la lisina, en presencia de un azúcar simple no causa un aumento en la formación de acrilamida que es mucho mayor que cuando la asparagina es el único aminoácido presente.

Una vez establecida la formación rápida de acrilamida cuando la asparagina se calienta en presencia de un azúcar simple, se puede lograr una reducción de la acrilamida en los alimentos procesados térmicamente mediante la inactivación de la asparagina. Por "inactivar" se entiende eliminar asparagina del alimento o hacer que la asparagina
 15 no sea reactiva a lo largo de la vía de formación de acrilamida mediante la conversión o unión a otro producto químico que interfiera con la formación de acrilamida a partir de asparagina.

Uno de estos métodos para inactivar es poner en contacto la asparagina con la enzima asparaginasa. Esta enzima descompone la asparagina en ácido aspártico y amoníaco. La asparagina también puede inactivarse como el precursor de la acrilamida en un alimento procesado térmicamente por lixiviación. La solubilidad de la asparagina en una solución acuosa se facilitará cuando el pH de la solución se mantenga ligeramente ácido o ligeramente básico,
 20 preferentemente entre un pH de 5 y 9. La asparagina se puede inactivar adicionalmente como el precursor de la acrilamida en un alimento procesado térmicamente por fermentación. La asparagina también se puede incorporar a las proteínas para inactivar la asparagina como un precursor de la acrilamida. La asparagina puede inactivarse adicionalmente como el precursor de la acrilamida mediante la adición de un catión divalente tal como calcio en forma de lactato de calcio, citrato de calcio o malato de calcio. La asparagina también puede inactivarse como el
 25 precursor de la acrilamida al aumentar la cantidad de azúcar reductor en los alimentos mediante la adición de glucosa, fructosa o ramnosa.

Otras técnicas serán evidentes para los expertos en la técnica para efectuar la inactivación de asparagina de una manera que interfiera con la formación de acrilamida. Con niveles más bajos de asparagina en el ingrediente
 35 alimentario o en el producto alimenticio antes del procesamiento térmico, el nivel de acrilamida en el alimento procesado final se reducirá drásticamente.

Varias realizaciones de la invención se ilustran en los ejemplos expuestos a continuación:

40 **Ejemplo 1:**

Este ejemplo demuestra que la acrilamida no se forma en presencia de un azúcar simple y del aminoácido lisina. Se combinaron aproximadamente 0,2 gramos de glucosa con aproximadamente 0,1 gramos del hidrato de aminoácido L-lisina y 0,2 ml de agua en un vial de espacio de cabeza de 20 ml. El vial se cubrió con papel de aluminio y se calentó en un horno de cromatografía de gases con el siguiente perfil de temperatura: ajuste de temperatura inicial de 40 °C; la temperatura se aumentó luego 20 °C por minuto a 200 °C; hubo una retención de dos minutos a 200 °C; después de lo cual el vial se dejó enfriar a 40 °C. Después de calentar, la mezcla se secó y se volvió negra. La mezcla de reacción se extrajo con cien mililitros de agua y la acrilamida en el agua se midió mediante GC-MS. Cuando la glucosa se calentó con hidrato de L-lisina, no se detectó acrilamida (límite de detección inferior a 50 partes por billón). Si la reacción de Maillard era la fuente de acrilamida, entonces la mezcla de reacción de lisina debería haber contenido acrilamida porque la mezcla de reacción estaba dorada extensamente.

55 **Ejemplo 2:**

Este ejemplo demuestra que la acrilamida no se forma en presencia de un azúcar simple y del aminoácido alanina. Se repitió el método del Ejemplo 1, excepto que el aminoácido usado fue L-alanina. De nuevo, la acrilamida no se pudo medir por encima del límite de detección de 50 partes por billón.

60 **Ejemplo 3:**

Este ejemplo demuestra la formación de acrilamida en presencia de un azúcar simple y asparagina. Se repitió de nuevo el ejemplo 1, excepto que el aminoácido era monohidrato de L-asparagina. Cuando la mezcla de reacción se extrajo con agua y la acrilamida se midió por GC-MS, la mezcla de reacción se midió para tener 55.106 partes por billón de acrilamida. Sobre la base de la carga inicial de 0,1 gramos de asparagina, esto representa
 65 aproximadamente un rendimiento del 9 % de acrilamida.

Ejemplo 4:

Este ejemplo demuestra la formación de acrilamida en presencia de un azúcar simple, asparagina y un segundo aminoácido. Se repitió el Ejemplo 1, excepto que las partes iguales de hidrato de L-lisina y monohidrato de L-asparagina estaban presentes cada una presentes en una cantidad de 0,1 gramos. La mezcla de reacción se analizó en busca de acrilamida y se encontró acrilamida a un nivel de 214.842 partes por billón. Sobre la base de la carga inicial de asparagina y lisina, esto representa aproximadamente un rendimiento del 37 % de acrilamida.

Ejemplo 5:

La reducción de la formación de acrilamida cuando se calienta asparagina y glucosa en presencia de la enzima asparaginasa se demuestra en este ejemplo. La enzima asparaginasa se disolvió en tampón de ácido tris-hidrocloruro 0,05 M a pH 8,6 para formar una solución de asparaginasa activa. También se preparó una solución de asparaginasa de control calentando una porción de la solución de asparaginasa activa a 100 °C durante 20 minutos para desactivar la enzima. En el control, se combinaron 0,2 gramos de glucosa, 0,1 gramos de asparagina y 20 mils de la solución de asparaginasa calentada en un vial de espacio de cabeza de 20 ml. En el experimento de la enzima activa, se combinaron 0,2 gramos de glucosa, 0,1 gramos de asparagina y 20 mils de solución de asparaginasa activa en un vial de espacio de cabeza de 20 ml. La cantidad de enzima en el vial fue de 250 unidades de enzima. El control y las mezclas de enzimas activas se procesaron juntas por duplicado. Los viales se mantuvieron a 37 °C durante 2 horas, luego se colocaron en un horno a 80 °C durante 40 horas para evaporar hasta la sequedad. Después del calentamiento, se añadieron 0,2 ml de agua a cada vial. Los viales se calentaron en un horno de cromatografía de gases con el siguiente perfil de temperatura: proceder desde una temperatura inicial de 40 °C; calentar 20 °C por minuto a 200 °C; y mantener a 200 °C durante 2 minutos antes de enfriar a 40 °C. Las mezclas de reacción se extrajeron luego con 50 ml de agua y la acrilamida en el agua se midió por GC-MS. Los valores medidos se muestran en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1
Formación de acrilamida en presencia de material de prueba de asparaginasa y glucosa

Material de ensayo	Acrilamida (ppb)	Porcentaje de reducción
Control 1	334.810	----
Control 2	324.688	----
Asparaginasa activa 1	66	99,9
Asparaginasa activa 2	273	99,9

Como se puede observar, el tratamiento del sistema con una enzima que descompone la asparagina en ácido aspártico y amoníaco reduce la formación de acrilamida en más del 99,9 %. Este experimento establece que la reducción de la concentración de asparagina, o la naturaleza reactiva de la asparagina, reducirá la formación de acrilamida.

Además de inactivar la asparagina, los ingredientes alimentarios procedentes de plantas también pueden provenir de plantas que son criadas y seleccionadas por tener niveles de asparagina que son más bajos que los de otras plantas similares. Una reducción en la cantidad de asparagina en el ingrediente alimentario procedente de la planta se reflejará en la cantidad de acrilamida que se forma en las mismas condiciones de tratamiento térmico.

Aunque la invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencia a una realización, los expertos en la técnica entenderán que pueden realizarse otros diversos enfoques para la inactivación de la asparagina sin apartarse del espíritu y del alcance de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la reducción de acrilamida en alimentos procesados térmicamente que comprende las etapas de:
- 5 (a) proporcionar un ingrediente alimentario que contenga asparagina;
(b) inactivar la asparagina en el ingrediente alimentario que contiene asparagina poniendo en contacto el
ingrediente alimentario que contiene asparagina con asparaginasa;
(c) usar dicho ingrediente alimentario como un componente en una mezcla de alimentos; y
10 (d) calentar dicha mezcla de alimentos para formar un alimento procesado térmicamente.
2. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
donde el ingrediente alimentario comprende principalmente un carbohidrato.
3. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
15 donde el ingrediente alimentario se selecciona de entre el grupo que comprende arroz, trigo, maíz, cebada, soja,
patata y avena.
4. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
donde el ingrediente alimentario comprende patata.
- 20 5. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
donde el ingrediente alimentario que contiene asparagina comprende además al menos otro aminoácido.
6. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 5,
25 donde el al menos otro aminoácido es lisina.
7. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
donde la etapa de inactivación (b) comprende poner en contacto el ingrediente alimentario que contiene asparagina
con la asparaginasa en presencia de un azúcar simple.
- 30 8. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 7,
donde el azúcar simple comprende glucosa.
9. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
35 donde la etapa de inactivación (b) usa una solución de asparaginasa.
10. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
donde la mezcla de alimentos se calienta en la etapa (d) a una temperatura de al menos 80 °C.
- 40 11. El método para reducir la formación de acrilamida en alimentos procesados térmicamente de la reivindicación 1,
donde el procesamiento térmico de la mezcla de alimentos de la etapa (d) tiene lugar a temperaturas de entre 100
°C y 205 °C.
12. El método de la reivindicación 1, donde dicho alimento procesado térmicamente comprende patatas fritas
45 envasadas.
13. Un uso de asparaginasa en un ingrediente alimentario que contiene asparagina para inactivar la asparagina y
reducir la posterior formación de acrilamida en un alimento procesado térmicamente producido al calentar una mezcla
de alimentos que incluye dicho ingrediente alimentario.
- 50 14. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, donde la asparaginasa se usa como una solución de asparaginasa.
15. El uso de acuerdo con la reivindicación 13 o la reivindicación 14, donde dicho ingrediente alimentario comprende
patata.
- 55 16. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, donde dicho alimento procesado térmicamente comprende patatas
fritas envasadas.