

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 441**

51 Int. Cl.:

A23L 5/10	(2006.01)
A23L 5/20	(2006.01)
A23L 7/13	(2006.01)
A23L 7/143	(2006.01)
A23L 19/18	(2006.01)
A21D 8/04	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.01.2007 PCT/IB2007/050042**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.07.2007 WO07077545**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.01.2007 E 07700549 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.06.2018 EP 1968389**

54 Título: **Métodos para reducir la asparagina en un componente de masa alimentaria**

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756509 P

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

09.10.2018

73 Titular/es:

**KELLOGG EUROPE TRADING LIMITED (100.0%)
Suite 3, One Earlsfort Centre Lower Hatch Street
Dublin 2, IE**

72 Inventor/es:

CORRIGAN, PATRICK, JOSEPH

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 685 441 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

Métodos para reducir la asparagina en un componente de masa alimentaria

5 Sector de la técnica

La presente invención se refiere a métodos para reducir la asparagina en un componente de masa alimentaria que contiene asparagina y métodos para reducir la acrilamida en productos alimentarios basados en masa.

10 Estado de la técnica

Desde el inicio de la civilización, los alimentos que contienen carbohidratos han sido la base de la dieta humana. Hoy día, los alimentos que contienen carbohidratos tales como los panes, cereales de desayuno, galletas, galletas saladas, pastas, patatas fritas, verduras ricas en almidón, tortillas de tacos, alimentos de picar se consumen popularmente. Aunque dichos alimentos han sido parte de la dieta humana durante años incontables, ha sido solo recientemente que los investigadores han descubierto que muchos de estos alimentos contienen acrilamida.

En abril de 2002, la Administración Alimentaria Nacional Sueca e investigadores de la Universidad de Estocolmo anunciaron sus hallazgos sobre que la acrilamida, un producto químico causante potencialmente de cáncer, se forma en muchos tipos de alimentos horneados. La acrilamida tiene una potencia carcinogénica en ratas que es similar a la de otros carcinógenos de los alimentos, pero para los seres humanos, la potencia relativa en los alimentos no se conoce. Solamente están disponibles datos limitados sobre la población humana respecto a la acrilamida y no proporcionan pruebas de riesgo de cáncer por la exposición ocupacional (FAO/OMS Consultation on the Health Implications of Acrylamide in Food: Summary Report; Ginebra, Suiza, 25-27 junio 2002).

Aunque es necesaria una investigación adicional para evaluar los efectos sobre la salud, si los hay, que puedan resultar del consumo humano de acrilamida a los niveles que se encuentran comúnmente en dichos alimentos, muchos consumidores manifiestan su preocupación. En consecuencia, se desean métodos para reducir el nivel de asparagina en un componente de masa alimentaria que contiene asparagina y métodos para reducir el nivel de acrilamida en productos alimentarios basados en masa. El documento WO2004026043 desvela un método para la reducción de acrilamida en productos alimentarios añadiendo a un material alimentario una enzima capaz de hidrolizar el grupo amida de la asparagina libre.

35 Objeto de la invención

La invención se define por las reivindicaciones.

Descripción de las figuras

40 La descripción detallada siguiente puede entenderse más completamente en vista de los dibujos, en los que:

La FIG. 1 expone un mecanismo de reacción propuesto por el cual se forma acrilamida a partir de asparagina y una fuente de carbonilo (tal como la glucosa). Cada uno de R_1 y R_2 puede ser H, CH_3 , CH_2OH , $CH_2(CH_2)_nCH_3$, o cualquier otro componente que produce un azúcar reductor; y n es cualquier número entero menor de 10; y

La FIG. 2 expone un mecanismo de reacción propuesto por el que la asparaginasa reacciona con la asparagina para evitar la formación de acrilamida.

50 Descripción detallada de la invención

Una divulgación detallada en Zyzak et al, Serie de solicitud de EE. UU. N.º 2004/0058046 A1 ('046) y Zyzak et al, Serie de solicitud de EE. UU. N.º 2004/0101607 A1 ('607), la asparagina, un aminoácido de origen natural que se encuentra en virtualmente todos los sistemas vivos, puede formar acrilamida cuando se calienta. Por tanto, los alimentos enriquecidos con asparagina, cuando se calientan, tienden a contener altos niveles de acrilamida; este es especialmente el caso en el que los alimentos que contiene asparagina se calientan en presencia de azúcares reductores. También se ha descubierto que la formación de acrilamida es mayor cuando los alimentos se cocinan hasta un contenido final de humedad más bajo.

Aunque sin el deseo de limitarse por teoría alguna, como se desvela en las solicitudes '046 y '607, se cree que la acrilamida se va a formar en productos alimentarios mediante el mecanismo de reacción expuesto en la FIG. 1. Esta formación de acrilamida en los alimentos calentados puede reducirse eliminando la asparagina o convirtiendo la asparagina del alimento en otra sustancia antes de calentarlos. Cuando dichos alimentos que contienen niveles reducidos de asparagina se calientan, la cantidad de acrilamida que se forma también se reduce. La reducción del nivel de acrilamida presente en el producto alimentario terminado se consigue añadiendo una enzima que hidrolice el grupo amida en la cadena lateral de la asparagina antes del calentamiento (por ejemplo, el cocinado). La adición de dicha enzima degrada la cadena lateral de la asparagina, evitando de esta manera que la asparagina forme

acrilamida. Al hacerlo, el enlace amida se hidroliza y la asparagina se convierte en ácido aspártico. Este mecanismo de reacción se expone en la FIG. 2.

5 El solicitante ha descubierto que, aunque una enzima reductora de asparagina, por ejemplo, la asparaginasa, hidrolizará fácilmente la asparagina en un sistema líquido (por ejemplo, en una solución en un tubo de ensayo), las enzimas son mucho menos eficaces en materiales sólidos o semi-sólidos que es la forma en que está la mayoría de los alimentos. El solicitante también ha descubierto que un factor limitante para la velocidad de la reacción de hidrólisis de asparagina en alimentos sólidos o semi-sólidos es el movimiento (difusión) de las moléculas de asparagina a través del medio hacia las moléculas de asparaginasa. En los alimentos sólidos o semi-sólidos, el movimiento a través del medio puede ser muy lento, de hecho, demasiado lento para dar como resultado la reducción esperada de acrilamida basándose en los ensayos de los sistemas líquidos.

15 El solicitante ha descubierto sorprendentemente que algunas masas tienen poca agua libre (agua sin unir) y que aumentando la cantidad de agua en la masa puede permitir la reacción de las moléculas de asparaginasa con las moléculas de asparagina para actuar eficazmente. El aumento de la cantidad de agua en la masa aumenta la cantidad de agua libre en la masa, lo que también aumenta la movilidad (difusión) de las moléculas de asparaginasa y asparagina en la masa. La cantidad de agua libre (no unida) en los alimentos se mide comúnmente por un parámetro conocido como actividad de agua. La actividad de agua (a_w) es una propiedad termodinámica del material alimentario que mide la relación de agua libre en el material alimentario vs. la cantidad de agua en el material alimentario. Si la cantidad de agua libre es la misma que la cantidad total de agua en el material alimentario, la a_w es igual a 1. La actividad de agua se mide con un medidor de actividad de agua disponible en el mercado. Dichos medidores, son conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, el medidor PawKit, y se pueden adquirir en distintos proveedores tales como AquaLab® (véase, por ejemplo, www.decagon.com). Si toda el agua del material se une a otros componentes del material alimentario, la actividad de agua es muy baja. Por ejemplo, la margarina contiene aproximadamente un 20 % de agua por peso, y su a_w es alrededor de 0,9, lo que indica que una la mayoría del agua es agua libre. Por el contrario, la fruta seca puede contener un 20 % de agua, pero su a_w es alrededor de 0,6 lo que indica que una gran porción del agua es agua unida. El solicitante ha descubierto que, si la actividad de agua es menor de aproximadamente 0,85, preferentemente mayor de aproximadamente 0,90 en un medio que comprende un componente de un alimento que contiene asparagina, la eficacia de la asparaginasa será muy baja. Por el contrario, si la a_w es mayor de alrededor de 0,85, preferentemente mayor de aproximadamente 0,90, la eficacia de la asparaginasa para la hidrólisis de asparagina en ácido aspártico aumenta mucho, lo que a su vez da lugar a un nivel de acrilamida menor en el producto alimentario basado en masa.

35 La presente invención proporciona métodos para la reducción del nivel de asparagina en una masa alimenticia que contiene asparagina como se desvela en las reivindicaciones. Los métodos comprenden la provisión de una enzima reductora de asparagina en combinación con al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina en un medio que tiene una actividad de agua mayor de 0,99.

40 Como se utiliza en el presente documento, "componente de masa alimentaria que contiene asparagina" incluye, pero no se limita a, cualquier material comestible que contiene asparagina que se utiliza para la preparación de un producto alimentario basado en masa, incluyendo las mezclas de dos o más componentes de masa alimentaria que contiene asparagina. Ejemplos de componentes de masa alimentaria que contiene asparagina incluyen, pero no se limitan a, componentes de masa alimentaria basada en tubérculos, componentes de masa alimentaria basada en raíces, componentes de masa alimentaria basada en trigo, componentes de masa alimentaria basada en maíz, componentes de masa alimentaria basada en granos o combinaciones de los mismos. Un experto en la técnica apreciará las distintas formas en las que se puede proporcionar el componente de masa alimentaria que contiene asparagina, cualquiera de los cuales se puede utilizar en el presente documento. Dichas formas, incluyen, pero no se limitan a, puré, copos, gránulos, flánulos, polvo, harina o una combinación de los mismos.

50 Como se utiliza en el presente documento, "enzima reductora de asparagina" incluye cualquier enzima capaz de reducir el nivel de asparagina en un producto alimentario que contiene asparagina. En una realización, la enzima reductora de asparagina comprende una enzima capaz de hidrolizar el grupo amida de la asparagina libre para evitar la formación de acrilamida. En otra realización, la enzima comprende desamidases que tienen funcionalidad reductora de asparagina. En otra realización más, la enzima para su uso en el presente documento es la asparaginasa. Una fuente de asparaginasa es Sigma-Aldrich, n° de catálogo A2925, aunque están disponibles en el mercado otros productos de asparaginasa y adecuados para su uso en el presente documento. La asparaginasa se puede producir comercialmente mediante un procedimiento que implica microorganismos que producen asparaginasa en sus células durante el curso de su crecimiento. Los microorganismos típicos que se pueden utilizar para producir asparaginasa incluyen, pero no se limitan a, *E. coli*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*. Como se utiliza en el presente documento, las expresiones "enzima reductora de asparagina" y "enzima" incluyen una o más enzimas; por ejemplo, se engloba en el término una mezcla de dos o más enzimas.

65 La enzima reductora de asparagina se proporciona en combinación con al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina en un medio. Como se utiliza en el presente documento, el término "medio" se refiere a la composición en la que el componente de masa alimentaria que contiene asparagina y la enzima se combinan. El medio puede consistir en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina y la enzima, o

- puede incluir componentes adicionales, incluyendo, pero sin limitarse a, uno a más ingredientes de la masa, vehículo, agua, emulsionante, o mezcla de los mismos. Ejemplos de ingredientes de masa adicionales incluyen, pero no se limitan a, almidón, harina, agentes de fermentación, azúcares o combinaciones de los mismos. El almidón puede incluir, pero no se limita a, cualquier almidón nativo o modificado, incluyendo cualquier producto de patata
- 5 desecada, que se añaden en o detrás de la masa. Ejemplos de emulsionantes incluyen, pero no se limitan a, ésteres de ácidos grasos glicerol, lecitinas, arabinolactano, carragenano, sales de carragenano, furcelerano, sales de furcelerano, goma de xantano, citrato de estearilo monogliceridilo succistearina (succinato de estearoilo hidrógeno propilenglicol), lecitina hidroxilada, lauril sulfato sódico, monoglicéridos succinilados, mono y diglicéridos etoxilados, polisorbato, polisorbato 65, polisorbato 80, monoestearato de sorbitán, lactilato de estearoilo sódico, ésteres
- 10 lactílicos de ácidos grasos, ésteres de ácido graso lactilado de glicerol y propilenglicol, lactoésteres de ácidos grasos glicerilo, ésteres de ácidos grasos poliglicerol, alginato glicol propileno, ésteres de ácidos grasos sacarosa, sales de ácidos grasos, oligoésteres de sacarosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, almidón alimentario modificado, y glicano de levadura de panadería.
- 15 La enzima se puede proporcionar al medio de cualquier forma adecuada, y un experto en la técnica apreciará las distintas formas, cualquiera de las cuales se puede emplear en el presente documento. En una realización, la enzima se proporciona en forma de polvo. En otra realización, la enzima se proporciona en forma de solución. Un experto en la técnica también apreciará que se pueden utilizar distintos métodos para proporcionar la enzima al medio, cualquiera de las cuales se puede emplear en el presente documento. Por ejemplo, la enzima se puede
- 20 proporcionar directa o indirectamente al medio por aspersión, vertido mezclado con o sin el uso de un agitador, amasando o pulverizando o combinaciones de los mismos. Como se utiliza en el presente documento "proporcionar" la enzima al medio incluye, pero no se limita a, cualquier medio de poner juntos el componente de masa alimentaria que contiene asparagina y la enzima.
- 25 Como se ha expuesto con detalle anteriormente, la difusión de la asparagina a través del medio que comprende un componente de masa alimentaria que contiene asparagina está fuertemente en función de la cantidad de agua libre en el medio. Por lo tanto, la actividad de agua de un medio determinado dependerá no solamente de la cantidad total de agua en el medio sino también de los otros componentes alimentarios que componen el medio. En el caso de los productos alimentarios basados en masa, gran parte del producto comprende almidones, azúcares, otros
- 30 polisacáridos y fibra, los cuales se sabe bien que se unen al agua. Por lo tanto, sin el deseo de quedar ligados por teoría alguna, se cree que la actividad de agua en el medio que comprende un componente de masa alimentaria que contiene asparagina puede necesitar ajustarse para asegurar una actividad de agua de suficiente magnitud para permitir la actividad de asparaginasa eficaz.
- 35 Como se ha señalado anteriormente, un medio que comprende un componente alimentario que contiene asparagina con una actividad de agua mayor de 0,85, preferentemente mayor de aproximadamente 0,90 aumenta mucho la actividad enzimática reductora de asparagina. La actividad de agua del medio puede variarse, si fuera necesario, antes y/o cuando se proporciona la enzima al medio para asegurar que el medio tiene suficiente actividad de agua. Un experto en la técnica apreciará los distintos métodos para la variación y medición de la actividad de agua en un
- 40 componente alimentario o producto alimentario, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. La actividad de agua del medio es mayor de 0,99. En una realización adicional, la actividad de agua del medio es aproximadamente 1,00.
- 45 Para asegurar una actividad de agua de suficiente magnitud para permitir una actividad de asparaginasa eficaz, se pueden añadir ingredientes de masa adicionales al medio que comprende el componente de masa alimentaria que contiene asparagina antes, durante y/o después del tratamiento con asparaginasa. Por ejemplo, mezclando solo con agua, la enzima y los componentes de masa alimentaria que contienen asparagina durante el tratamiento con asparaginasa, la actividad de agua se puede mantener más alta que si se incluyen todos los componentes de la masa antes del tratamiento. Además, manteniendo fuera algunos ingredientes de masa que se puedan unir al agua
- 50 hasta después del tratamiento con asparaginasa, la efectividad del tratamiento con asparaginasa también aumentará.
- Un experto en la técnica apreciará que se pueden combinar distintos componentes de masa alimentaria en un medio de acuerdo con la presente invención. El medio comprende un emulsionante, agua, una enzima reductora de
- 55 asparagina y al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina. En otra realización más, el medio comprende agua, una enzima reductora de asparagina, al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina, al menos un ingrediente de masa adicional y un emulsionante. Se añade un emulsionante al medio como ayuda al procesamiento. Un experto en la técnica también apreciará que la relación de los distintos componentes de masa alimentaria en el medio puede variarse antes, durante y/o después de que la enzima se proporcione al medio dependiendo del tipo de componentes de masa alimentaria que comprende asparagina, la composición del medio, el procedimiento deseado, y el nivel deseado de acrilamida en el producto alimentario basado en masa terminado.
- 60 Como se sabe en la técnica, las enzimas se comercializan por unidades de actividad, más que por peso o volumen. Por lo tanto, la cantidad de enzima eficaz necesaria para conseguir el nivel deseado de reducción de asparagina en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina y la reducción de acrilamida en el producto alimentario
- 65

basado en masa acabado dependerá de la actividad del producto enzimático particular que se use (por ejemplo, la capacidad particular de la enzima para degradar la asparagina). La cantidad de enzima que hay que añadir también puede depender de la cantidad de asparagina presente en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina. Un componente de masa alimentaria más alto en asparagina generalmente necesitará el aumento de niveles de enzima o un aumento del tiempo de reacción para conseguir el mismo nivel de reducción de asparagina y acrilamida. La cantidad de enzima que hay que añadir también puede depender del componente de masa alimentaria particular que se trate (por ejemplo, la composición química, la cantidad de asparagina presente, el tamaño de las partículas, la actividad de agua, densidad, viscosidad). Un experto en la técnica será capaz de determinar la cantidad de enzima eficaz necesaria basándose en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina específico, la enzima específica, la actividad específica de la enzima y el resultado deseado.

Además, el pH y temperatura son factores que afectan la actividad enzimática. En una realización, el medio se enfría hasta al menos aproximadamente 70 °C antes de añadir la enzima.

La cantidad de tiempo necesario para mantener el medio en condiciones suficientes para reducir el nivel de asparagina en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina dependerá de factores que incluyen, pero no se limitan a, la actividad de agua del medio, la temperatura del medio, el nivel de reducción deseado de acrilamida, las características del componente de masa alimentaria que contiene asparagina en particular, la enzima particular que se añade, la cantidad de mezclado o amasado del material de masa, y la cantidad de enzima añadida. Los tiempos de reacción más cortos normalmente necesitarán cantidades mayores de enzima para conseguir una reducción deseada de la acrilamida en el producto alimentario basado en masa. También, cuanto más se mantiene la enzima en el medio, mayor es el nivel de reducción de asparagina y por lo tanto mayor el nivel de reducción de acrilamida en un producto alimentario preparado a partir del componente. Además, el tiempo de mantenimiento para permitir que la enzima reaccione con la asparagina puede llevarse a cabo de cualquier manera adecuada; por ejemplo, se puede llevar a cabo simultáneamente añadiendo la enzima al medio, mezclando la enzima con los componentes de masa alimentaria o combinaciones de los mismos.

En una realización, el medio se mantiene desde aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 120 minutos en condiciones suficientes para reducir el nivel de asparagina en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina a un nivel deseado. En otra realización, el medio se mantiene durante al menos aproximadamente 10 minutos. En otra realización más, el medio se mantiene durante aproximadamente 20 minutos. En una realización adicional, el medio se mantiene durante aproximadamente 40 minutos. En otra realización más, el medio se mantiene durante aproximadamente 60 minutos. En una realización adicional, el medio se mantiene durante al menos aproximadamente 80 minutos.

El medio también se puede agitar, amasar o mezclarse de alguna manera antes, durante y/o después de que se proporcione la enzima. La cantidad de tiempo necesaria, si acaso, para la mezcla del medio también dependerá de factores que incluyen, pero no se limitan a, la reducción deseada del nivel de asparagina y/o acrilamida, el nivel de asparagina, las características del componente de masa alimentaria que contiene asparagina en particular, la enzima particular añadida y/o las características de la enzima añadida. En una realización, el medio se mezcla desde aproximadamente 30 segundos a aproximadamente 30 minutos. En otra realización, el medio se mezcla durante aproximadamente 1 minuto. En otra realización, el medio se mezcla durante aproximadamente 5 minutos. En otra realización más, el medio se mezcla durante aproximadamente 10 minutos. En una realización adicional, el medio se mezcla durante aproximadamente 20 minutos.

Después de mantener la enzima en el medio durante la cantidad de tiempo deseada, la reducción del nivel de asparagina se puede determinar midiendo la cantidad de asparagina en el componente de masa alimentaria que contiene asparagina después del tratamiento con la enzima. Un experto en la técnica apreciará los distintos métodos para la medición de la reducción del nivel de asparagina, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. La reducción del nivel de asparagina puede caracterizarse como el porcentaje de reducción basándose en una comparación del nivel de asparagina con y sin el tratamiento con la enzima reductora de asparagina. Se permite que la enzima reaccione hasta que el nivel de asparagina se reduce al menos un 95 %.

Después de reducirse la asparagina al nivel deseado, la enzima se puede opcionalmente inactivar y/o eliminar del medio. La enzima se puede desactivar por cualquier medio adecuado que inactive la enzima. Por ejemplo, la enzima se puede desactivar mediante el uso de calor, ajuste del pH, tratamiento con una proteasa, o combinaciones de los mismos. Por lo tanto, cuando se desactiva la enzima mediante el calentamiento, la etapa opcional de desactivación y la etapa de cocinado, como se expone en detalle posteriormente, se pueden llevar a cabo simultáneamente. El procesamiento de calentamiento mediante cocinado también puede desnaturalizar e inactivar la enzima de manera que la masa no se someta a una actividad enzimática continua. Además, la enzima se puede eliminar por cualquier medio adecuado incluyendo, pero sin limitarse a, extracción.

Después de reducirse el nivel de asparagina a un nivel deseado, el medio que comprende los componentes de masa alimentaria también se puede secar. En una realización, el medio se seca hasta un nivel de humedad de aproximadamente un 50 %. En otra realización, el medio se seca hasta un nivel de humedad de aproximadamente un 40 %. En una realización adicional, el medio se seca hasta un nivel de humedad de aproximadamente un 30 %.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión “producto alimentario basado en masa” incluye, pero no se limita a, alimentos basados en masa listos para su consumo y alimentos basados en masa para utilizarse como ingredientes para preparar otros alimentos. Los productos alimentarios basados en masa incluyen, pero no se limitan a, aperitivos de patata, patatas fritas, productos basados en trigo, tales como pan, galletas saladas, galletas y pastas, productos basados en centeno tales como pan, galletas saladas y panecillos tostados, productos basados en maíz tales como tortillas, nachos, aperitivos basados en maíz extruidos y pan de maíz, cereales para el desayuno derivados de trigo, maíz, centeno, arroz o combinaciones de los mismos, barras de aperitivo derivadas de trigo, maíz, centeno, arroz o combinaciones de los mismos, bases de pizza y pastas tostadas.

La etapa de reducción del nivel de asparagina en un componente de masa alimentaria que contiene asparagina se expone con detalle anteriormente y se puede emplear cualquiera de dichos métodos en el presente documento. Después de reducirse el nivel de asparagina al nivel deseado, el componente de masa alimentaria se puede secar, si se desea reducir el nivel de humedad de la masa. La masa se puede secar antes, durante y/o después de la adición de otros componentes de la masa alimentaria. Un experto en la técnica apreciará los distintos métodos para el secado de la masa, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. Los métodos de secado incluyen, pero no se limitan a, horneado, fritura, extrusionado, secado en un horno de vacío o secado en tambor, inflado o horneado en microondas. Los métodos de secado pueden incluir los que reducen la cantidad total de aplicación térmica. Por ejemplo, se prefiere el secado por congelación, secado en tambor, secador de resonancia o de flujo de pulsos cuando se producen copos, o una combinación de los mismos; y el secado en elevador de aire, secado en lecho fluidificado, o una combinación de los mismos cuando se producen gránulos.

Después del secado opcional, se da forma al componente de masa alimentaria en un producto alimentario basado en masa. Un experto en la técnica apreciará los distintos métodos para dar forma a un componente de masa alimentaria en un producto alimentario basado en masa, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. El cocinado se puede llevar a cabo por cualquier método adecuado, por ejemplo, por fritura, horneado o una combinación de fritura y horneado. Además, las etapas de dar forma y cocinado se pueden llevar a cabo simultáneamente tal como con los productos de aperitivo extrusionados.

Dependiendo de los distintos factores expuestos anteriormente, el producto alimentario basado en masa final preparado, de acuerdo con la presente invención, puede tener una reducción del nivel de acrilamida de al menos aproximadamente un 10 % hasta al menos aproximadamente un 90 %, en comparación con los productos alimentarios basados en masa preparados que no incluyen un componente de masa alimentaria que tenga un tratamiento con enzima reductora de asparagina, sino más bien incluye un componente de masa alimentaria que contiene asparagina. Un experto en la técnica apreciará los distintos métodos para medir el nivel de acrilamida en un producto alimentario, cualquier de los cuales se pueden emplear en el presente documento. En una realización, el nivel de acrilamida está reducido al menos aproximadamente un 30 %. En otra realización más, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente un 50 %. En una realización adicional, el nivel de acrilamida se reduce al menos aproximadamente un 70 %. En otra realización adicional más, el nivel de acrilamida se reduce al menos aproximadamente un 90 %. En otra realización más, el nivel de acrilamida se reduce al menos aproximadamente un 95 %. En una realización adicional más, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente un 99 %. El nivel de acrilamida también se puede medir en partes por 100.000 millones (ppb). El nivel de acrilamida se reduce a menos de 100 ppb. En otra realización el nivel de acrilamida se reduce a menos de 50 ppb.

También se describen los productos alimentarios basados en masa con niveles de acrilamida reducidos. La cantidad final de acrilamida en el producto alimentario asado en masa puede variar dependiendo de distintos factores expuestos anteriormente. El producto alimentario basado en masa tiene menos de 100 ppb. En una realización adicional, el producto alimentario basado en masa tiene menos de aproximadamente 50 ppb. En una realización adicional más, el producto alimentario tiene menos de aproximadamente 10 ppb.

Los métodos de la presente invención se pueden aplicar en la producción de cualquier producto alimentario basado en masa, incluyendo, pero sin limitarse a alimentos que contienen carbohidratos. Por ejemplo, los métodos se pueden utilizar para reducir el nivel de acrilamida que se encuentra en aperitivos de patata, patatas fritas, productos basados en trigo, tales como pan, galletas saladas, galletas y pastas, productos basados en centeno tales como pan, galletas saladas y panecillos tostados, productos basados en maíz tales como tortillas, nachos, aperitivos basados en maíz extruidos y pan de maíz, cereales para el desayuno derivados de trigo, maíz, centeno, arroz o combinaciones de los mismos, barras de aperitivo derivadas de trigo, maíz, centeno, arroz o combinaciones de los mismos, bases de pizza y pastas tostadas.

La presente invención se puede practicar por cualquier medio adecuado. Por ejemplo, los métodos del presente documento pueden practicarse en modo discontinuo, semi-continuo o continuo.

Métodos analíticos

Los parámetros utilizados para caracterizar los elementos de la presente invención se cuantifican por métodos analíticos particulares. Estos métodos se describen en detalle de la siguiente manera.

Los métodos para medir la acrilamida (AA) en los productos alimentarios y la determinación de asparagina y ácido aspártico en productos alimentarios y bebidas se resumen en detalle en Zyzak et al, Solicitud de Patente de EE. UU. N° 2004/0058046 A1.

5 Ejemplos

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención, pero no significa que sean limitantes de la misma.

Los Ejemplos 1 a 4 se llevaron a cabo como un conjunto de experimentos.

10

Ejemplo 1 (ejemplo comparativo) Materiales

Copos de patata, agua, otros ingredientes secos, y emulsionante.

15 Utensilios

Freidora con aceite, guantes desechables, báscula, vaso de precipitados de 400 ml, vaso de precipitados de 150 ml, espátula pequeña, procesador de alimentos Cuisinart little Pro-Plus™, platos desechables, papel de aluminio, rodillos para laminar, tabla de cortar, troquel de Doval, molde de freidora y servilletas de papel.

20

Procedimiento

1. Llenar la freidora con aceite entre las marcas de min y máx., si no se hizo ya. Preparar 3 platos desechables con servilletas de papel encima.
- 25 2. Encender la freidora y fijar el dial en 190,5 °C (375 °F).
3. Poner un matraz de 400 ml en la báscula y tarar.
4. Pesar los materiales secos (+0,02 g) en el matraz de 400 ml.
5. Añadir los materiales secos al procesador de alimentos. Tapar y mezclar durante 30 segundos.
- 30 6. Poner el matraz de 150 ml en la báscula y tarar.
7. Añadir aproximadamente 44 g de agua y emulsionante.
8. Poner el matraz con el agua y el emulsionante en el horno microondas y calentar durante aproximadamente 20 a 30 segundos.
9. Con los ingredientes secos aún en el procesador encender el cronómetro y el procesador de alimentos simultáneamente.
- 35 10. Añadir el agua caliente y el emulsionante en el recipiente del procesador de alimentos a través del canal.
11. Continuar la mezcla durante 1 minuto, entonces parar.
12. Quitar la tapa del procesador de alimentos, y volcar la masa blanda en un plato desechable. Retirar la cuchilla de la masa y dejarla a un lado. Cubrir la masa con una hoja de aluminio, y llevarla a los rodillos para laminar.
- 40 13. Volcar la masa blanda entre los dos rodillos y pasar la masa entre los rodillos para formar una lámina.
14. Doblar la lámina, colocarla en un plato desechable, cubrirla con una hoja y llevarla a la tabla de cortar.
15. Cortar aproximadamente 20 dovalos de la lámina con el troquel de doval sobre la tabla de cortar. Colocar 2 en una bolsa de plástico pequeña. (se deberían freír 16 dovalos para el análisis de la muestra, por lo tanto, hay dos adicionales para el caso de error).
- 45 16. Cubrir los dovalos restantes con la hoja y ponerlos en la freidora. Asegurarse de ponerse los guantes en este momento.
17. Levantar la tapa del molde de la freidora y colocar un doval en el centro. Poner el cronómetro en 12 segundos.
- 50 18. Simultáneamente, iniciar el cronómetro y bajar el molde con el doval al fondo de la freidora. Cuando el cronómetro pita, levantar inmediatamente el molde del aceite. Dar la vuelta al molde sobre la freidora para drenar el exceso de aceite, y entonces colocarlo en un plato desechable con servilletas de papel.
19. Levantar la parte superior del molde, coger una pequeña espátula de metal, y sacar la patata frita. Colocar a un lado en un plato desechable diferente con servilletas de papel.
20. Repetir este procedimiento para hacer al menos 16 patatas fritas.
- 55 21. Colocar las patatas fritas en una bolsa de plástico. Poner una etiqueta en la bolsa con el número de muestra.
22. Analizar las patatas fritas respecto al nivel de acrilamida.

La actividad de agua de la masa antes de la fritura era aproximadamente de 0,95. El nivel de acrilamida en las patatas fritas se determinó que era de 1688 µg/kg.

60

Ejemplo 2 (ejemplo comparativo)

1. Pesar los ingredientes en seco en un matraz de 400 l. Añadir los ingredientes secos en el procesador de alimentos y mezclar durante aproximadamente 30 segundos. Pesar aproximadamente 20 g de agua en un matraz de 100 ml junto con emulsionante. Poner el matraz con agua y emulsionante en el horno microondas y calentar durante aproximadamente 10 segundos.
- 65

2. Con los ingredientes secos aún en el procesador encender simultáneamente el cronómetro y el procesador de alimentos.

5 3. Añadir el agua caliente y el emulsionante al recipiente del procesador de alimentos a través del canal. Continuar mezclando durante 30 segundos y entonces parar.

10 4. Pesar aproximadamente 24 g de agua en un matraz de 100 ml junto con aproximadamente 136 unidades de asparagina derivada de *Aspergillus oryzae*. Añadir esto a la masa en el procesador de alimentos y mezclar durante aproximadamente 30 segundos. La cantidad total de agua añadida a la masa en el ejemplo 1 era aproximadamente 44 g. La cantidad total de agua añadida a la masa en este ejemplo es aproximadamente 44 g, la misma que en el ejemplo 1.

15 5. Dejar en reposo la masa durante aproximadamente 20 minutos para permitir que la enzima actúe sobre la masa.

6. Quitar la tapa del procesador de alimentos, y volcar la masa blanda en un plato desechable. Quitar la cuchilla de la masa y dejarla a un lado. Cubrir la masa con papel de aluminio, y llevarla a los rodillos de laminar.

20 7. Volcar la masa blanda entre los dos rodillos y pasar la masa entre los rodillos para formar una lámina.

8. Doblar la lámina, colocarla en un plato desechable, cubrir con una hoja y llevarla a la tabla de cortar.

25 9. Cortar aproximadamente 20 dovalos de la lámina con el troquel de doval sobre la tabla de cortar. Colocar 2 en una bolsa de plástico pequeña. (se deberían freír 16 dovalos para el análisis de la muestra, por lo tanto, hay dos adicionales para el caso de errores).

10. Cubrir los dovalos restantes con la hoja y ponerlos en la freidora. Asegurarse de ponerse los guantes en este momento.

30 11. Levantar la tapa del molde de la freidora y colocar un doval en el centro. Poner el cronómetro en 12 segundos.

35 12. Simultáneamente, iniciar el cronómetro y bajar el molde con el doval al fondo de la freidora. Cuando el cronómetro pita, levantar inmediatamente el molde del aceite. Dar la vuelta al molde sobre la freidora para drenar el exceso de aceite, y entonces colocarlo en un plato desechable con servilletas de papel.

13. Levantar la parte superior del molde, coger una pequeña espátula de metal, y sacar la patata frita. Colocar a un lado en un plato desechable diferente con servilletas de papel.

40 14. Repetir este procedimiento para hacer al menos 16 patatas fritas.

15. Colocar las patatas fritas en una bolsa de plástico. Poner una etiqueta en la bolsa con el número de muestra.

45 16. Analizar las patatas fritas respecto al nivel de acrilamida.

La actividad de agua de la masa antes de la fritura era aproximadamente de 0,95. Se determinó que el nivel de acrilamida en las patatas fritas era de 831 µg/kg.

50 Ejemplo 3 (ejemplo comparativo)

55 El procedimiento del Ejemplo 2 se repite excepto de que se mezclan aproximadamente 39 g de agua con la enzima en la etapa 5. La cantidad total de agua añadida a la masa al final de la etapa 5 es aproximadamente de 59 g. Después de la mezcla en el procesador de alimentos, se pesa la masa y el procesador de alimentos y se registra el peso. Se deja en reposo la masa aproximadamente 20 minutos para dejar que la enzima actúe sobre la masa, y entonces se pesa de nuevo. Se quita la tapa del procesador de alimentos, y se coloca el procesador de alimentos con la masa en un horno a 50 °C y se seca la masa hasta que el peso caiga a 15 gramos. Se agita cada 5 minutos. La masa ahora tendrá el mismo nivel de humedad que la masa de los Ejemplos 1A y 1B. La masa se vuelca entonces en un plato desechable, se lamina, se corta en dovalos, se fríe, y se analiza como en los Ejemplos 1 y 2.

60 La actividad de agua en la masa antes de la fritura era aproximadamente de 0,99.

Ejemplo 4

65 El procedimiento del Ejemplo 3 se repite excepto de que se mezclan aproximadamente 54 g de agua con la enzima en la etapa 5. La cantidad total de agua añadida a la masa al final de la etapa 5 es de aproximadamente 74 g. Todas las otras etapas son las mismas que en el Ejemplo 2.

La actividad de agua en la masa antes de la fritura era aproximadamente de 1,00. Se determinó que el nivel de acrilamida en estas patatas fritas era de aproximadamente 60 µg/kg.

Los ejemplos 5 y 6 se llevaron a cabo como un conjunto de experimentos. Los copos de patata se hacen con puré de patata. El puré de patata tiene aproximadamente un 80 % de agua, y la actividad del puré de patata es de aproximadamente 1,00. Este ejemplo demostrará que añadiendo asparaginasa al puré de patata de alta actividad de agua durante el procedimiento de producción de copos de patata es eficaz para reducir el nivel de acrilamida en las patatas fritas producidas a partir de estos copos.

Ejemplo 5

- 10 1. Ajustar una temperatura constante del baño de 60 °C.
2. Pelar 3 patatas Russet Burbank medianas, y cortar en láminas de 0,63 cm con un cortador de carne.
- 15 3. Cocer al vapor las láminas de patata en una olla a vapor aproximadamente 20 minutos.
4. Pasar por el pasapurés las patatas al vapor en un recipiente de mezcla. Medir la temperatura y asegurarse de que la temperatura es de aproximadamente 60 °C.
- 20 5. Mezclar en aproximadamente 10 g de agua aproximadamente 368 g del puré de patata durante un minuto.
6. Cubrir el recipiente, colocarlo en el baño de temperatura constante (60 °C) durante aproximadamente 15 minutos, y entonces medir y registrar la temperatura.
- 25 7. Volver a pasar el puré por el pasapurés en una lámina de galletas y secar inmediatamente en un horno de pizza hasta que la humedad del producto se reduce hasta aproximadamente el 7 %.
8. Moler el producto seco en un mezclador y tamizar en una malla de 30.
- 30 9. Utilizar estos copos de patata y repetir el procedimiento del Ejemplo 1A para hacer patatas fritas.

Se determinó que el nivel de acrilamida en estas patatas fritas era de aproximadamente 1453 µg/kg.

Ejemplo 6

- 35 El procedimiento del Ejemplo 5 se repitió excepto de que se añadieron 20 microlitros de una solución de asparagina de *A. oryzae* (6800 unidades por mililitro de solución) para 368 g de puré de patata al agua de la etapa 5. La actividad de agua del puré de patata era aproximadamente de 1,00.
- 40 Se determinó que el nivel de acrilamida en estas patatas fritas era de 64 µg/kg.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la producción de un producto alimentario basado en masa con un nivel de acrilamida reducido hasta menos de 100 ppb, que comprende
- 5
- (1) proporcionar una enzima reductora de asparagina en combinación con al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina en un medio, en el que el medio comprende un emulsionante, agua, la enzima y el al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina, ajustando la actividad de agua del medio de manera que la actividad de agua sea mayor de 0,99, y permitiendo que la enzima reaccione hasta que el nivel de asparagina se reduzca al menos un 95 %;
- 10
- (2) calentar el componente de masa alimentaria; y
- (3) dar forma al componente de masa alimentaria en un producto alimentario basado en masa.
2. El método de la reivindicación 1, en el que la enzima reductora de asparagina es la asparaginasa.
- 15
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que el medio comprende agua, la enzima, el al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina, y al menos un ingrediente de masa adicional.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el medio se mezcla antes, durante y/o después de añadir la enzima reductora de asparagina.
- 20
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que al menos un componente de masa alimentaria que contiene asparagina comprende un componente de masa alimentaria basado en un tubérculo, un componente de masa alimentaria basado en una raíz, o una combinación de los mismos.
- 25
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el nivel de humedad del medio es mayor del 50 %.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende adicionalmente el secado del medio hasta que el nivel de humedad del medio sea de un 30 % a un 50 %, en el que la etapa de secado se lleva a cabo después de que la asparagina se haya reducido hasta el nivel deseado.
- 30

Fig. 1

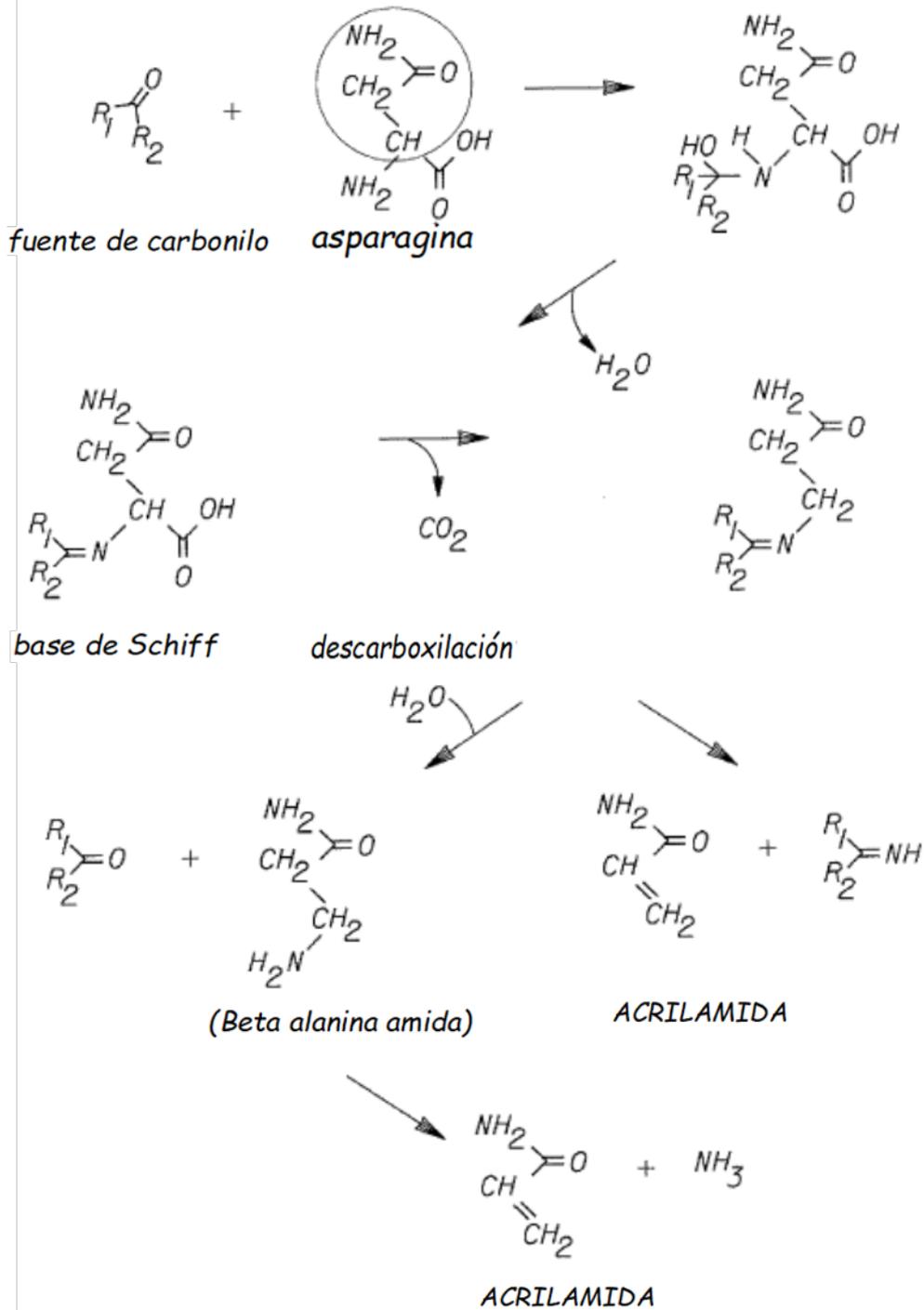


Fig. 2

