

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 946**

51 Int. Cl.:

| | |
|-------------------|-----------|
| A23B 7/155 | (2006.01) |
| A23L 5/20 | (2006.01) |
| A23L 7/143 | (2006.01) |
| A23L 7/13 | (2006.01) |
| A23L 19/12 | (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/IB2007/050043**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.07.2007 WO07077546**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.01.2007 E 07700550 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.07.2018 EP 1968390**

54 Título: **Método para la reducción de asparagina en un material alimenticio**

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756510 P

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

07.11.2018

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 2 688 946 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 la reducción de asparagina en un material alimenticio

5 Sector de la técnica

La presente invención se refiere a métodos para la reducción de asparagina en materiales alimenticios que contienen asparagina. La presente invención, también se refiere a métodos para reducir la acrilamida en productos alimenticios.

10

Estado de la técnica

Desde los albores de la civilización, los alimentos que contienen hidratos de carbono han sido un alimento básico en la dieta humana. En la actualidad, se consumen de manera habitual alimentos que contienen hidratos de carbono tales como panes, cereales del desayuno, galletas, galletas saladas, galletas con pepitas de chocolate, patatas fritas, verduras ricas en almidón cocinadas, tortillas para tacos y aperitivos. Aunque tales alimentos han sido parte de la dieta humana durante incontables años, los investigadores solo han descubierto recientemente que muchos de estos alimentos contienen acrilamida.

15

20

En abril de 2002, la Administración Nacional de Alimentos de Suecia e investigadores de la Universidad de Estocolmo anunciaron sus descubrimientos de que la acrilamida, un compuesto químico potencialmente causante de cáncer, se forma en muchos tipos de alimentos cocinados. La acrilamida tiene un potencial carcinogénico en ratas que es similar al de otros carcinógenos en los alimentos, pero para los humanos, se desconoce el potencial relativo en los alimentos. Solo se dispone de datos limitados sobre la población humana para la acrilamida y estos no proporcionan evidencia de riesgo de cáncer por exposición ocupacional. (FAO/WHO Consultation on the Health Implications of Acrylamide in Food: Summary Report; Ginebra, Suiza, 25-27 de Junio de 2002.)

25

Aunque se necesita investigación adicional para evaluar qué efectos en la salud, si lo hay, pueden ser resultado del consumo humano de acrilamida a los niveles comúnmente hallados en tales alimentos, muchos consumidores han expresado su preocupación. Por consiguiente, se desean métodos para reducir el nivel de asparagina en materiales alimenticios que contienen asparagina y métodos para reducir el nivel de acrilamida en productos alimenticios que contienen asparagina.

30

El documento WO2004026043 desvela un método para la reducción de acrilamida en productos alimenticios añadiendo a un material alimenticio una enzima capaz de hidrolizar el grupo amida de la asparagina libre.

35

Objeto de la invención

La invención se define mediante las reivindicaciones.

40

Descripción de las figuras

La siguiente descripción detallada se puede entender de forma más completa a la vista de los dibujos, en los que:

45

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

50

La FIG. 2 expone un mecanismo de reacción propuesto mediante el cual, la asparaginasa reacciona con asparagina para evitar la formación de acrilamida; y

Las FIG. 3A-D exponen varias fotomicrografías de células de patata durante diversas etapas del proceso de fabricación de copos.

55

Descripción detallada de la invención

Tal como se desvela en detalle en Zyzak et al, Solicitud de EE.UU. de N.º de serie 2004/0058046 A1 ('046) y Zyzak et al, Solicitud de EE.UU. de N.º de serie 2004/0101607 A1 ('607), la asparagina, un aminoácido de origen natural hallado prácticamente en todos los sistemas vivos, puede formar acrilamida cuando se calienta. Por lo tanto, los alimentos más ricos en asparagina, cuando se calientan, tienden a contener niveles más altos de acrilamida; este es especialmente el caso cuando se calientan alimentos que contienen asparagina en presencia de azúcares reductores. También se ha descubierto que la formación de acrilamida es mayor cuando los alimentos se cuecen hasta un contenido final de humedad más bajo.

60

65

Aunque no se pretende limitarse a la teoría, tal como se desvela en las solicitudes '046 y '607, se cree que la

acrilamida se forma en los productos alimenticios mediante el mecanismo de reacción que se expone en la FIG. 1. Esta formación de acrilamida en alimentos calentados se puede reducir retirando la asparagina o convirtiendo la asparagina en el alimento a otra sustancia antes de la cocción. Cuando se calientan tales alimentos que contienen niveles reducidos de asparagina, se reduce la cantidad de acrilamida formada. La reducción del nivel de acrilamida en un producto alimenticio acabado se puede lograr mediante la adición de una enzima que hidroliza el grupo amida en la cadena lateral de la asparagina antes del calentamiento (por ejemplo, la cocción). La adición de tal enzima degrada la cadena lateral de la asparagina, evitando así que la asparagina forme acrilamida. Al hacerlo, se hidroliza el enlace amida y la asparagina se convierte a ácido aspártico. Este mecanismo de reacción se expone en la FIG. 2.

El solicitante ha descubierto que hasta que se calienta el material alimenticio a base de tubérculos, la asparagina no puede salir de las células y la enzima no puede entrar debido a que la pared celular es generalmente gruesa y no muy permeable. Tal como se muestra en las fotomicrografías de la Figura 3, después del calentamiento, las células de patata se hinchan hasta aproximadamente 10 veces su tamaño original. Más específicamente, la Figura 3A muestra las células de un tubérculo crudo. La Figura 3B muestra esas mismas células tras la cocción y el macerado, mientras que la Figura 3C muestra las células en la masa. Por último, la Figura 3D ilustra las células en el producto de aperitivo final. El hinchamiento ilustrado en las Figuras 3B y 3C provoca que la pared celular se estire y sea mucho más permeable, permitiendo de este modo un flujo más libre de asparagina fuera de la célula hacia la enzima y viceversa. Por consiguiente, el solicitante ha descubierto que la adición de la enzima después de que se haya calentado el material alimenticio que contiene asparagina aumentará enormemente los niveles mediante los cuales se pueden reducir la asparagina y la acrilamida.

Tras el calentamiento, el material alimenticio que contiene asparagina normalmente tiene una temperatura de al menos 70 °C. Los experimentos de laboratorio indican que las enzimas se desactivan (se vuelven inactivas) con el aumento de la temperatura. Por debajo de aproximadamente 70 °C, esta desactivación es lo suficientemente lenta como para que se pueda usar de manera eficaz para hidrolizar la asparaginasa en un proceso alimenticio razonable. Sin embargo, por encima de aproximadamente 70 °C, la desactivación de la enzima aumenta rápidamente debido a la temperatura. Debido a esta desactivación, la concentración de enzima en el producto alimenticio disminuye muy rápidamente tras la adición, lo que hace que cualquier tratamiento por encima de aproximadamente 70 °C mucho menos eficaz que por debajo de aproximadamente 70 °C. El aumento de la concentración de enzima inicial añadida al alimento puede ayudar hasta cierto punto, pero esto puede convertirse rápidamente en un costo prohibitivo, y dependiendo del producto alimenticio, incluso elevadas concentraciones de la enzima añadida pueden no ser eficaces si en ese alimento se requiere un tiempo de contacto enzimático más largo. Por encima de aproximadamente 80 °C, la enzima se desactiva tan rápidamente que es ineficaz para hidrolizar asparagina en el alimento a cualquier concentración. Por lo tanto, el material alimenticio que contiene asparagina se debe enfriar hasta una temperatura de menos de 70 °C antes de que se añada la enzima para asegurar que la enzima mantiene su actividad enzimática. Se describen los métodos para reducir el nivel de asparagina en un material alimenticio que contiene asparagina. Los métodos comprenden (1) calentar un material alimenticio que contiene asparagina; (2) enfriar el material alimenticio calentado que contiene asparagina hasta una temperatura de menos de aproximadamente 70 °C; y (3) añadir una enzima reductora de asparagina al material alimenticio enfriado que contiene asparagina. Se reduce el nivel de asparagina en el material alimenticio que contiene asparagina.

Tal como se usa en el presente documento, "material alimenticio que contiene asparagina" se refiere a cualquier material comestible basado en tubérculos y/o basado en raíces usado en la preparación de un producto alimenticio, incluyendo mezclas de dos o más materiales alimenticios que contienen asparagina. La expresión material alimenticio que contiene asparagina incluye materiales comestibles tales como patata, trigo, maíz, centeno, productos a base de café. De hecho, la mayoría de las hortalizas contienen algo de asparagina. En una realización, el material alimenticio que contiene asparagina comprende patatas tales como, aunque sin limitación, Norchip, Norgold, Russet Burbank, Lady Rosetta, Norkotah, Sebago, Bintje, Aurora, Saturna, Kinnebec, Idaho Russet, Altura, Russet Norkotah, Atlantic, Shepody, Asterix y Mentor.

El material alimenticio que contiene asparagina, por ejemplo, patatas, puede estar pelado, pelado parcialmente o sin pelar y puede estar completo o cortado en rodajas de cualquier tamaño antes del calentamiento. En una realización, el material alimenticio que contiene asparagina se corta en rodajas que tienen un espesor de aproximadamente 0,635 cm (1/4 de pulgada) a aproximadamente 1,27 cm (1/2 de pulgada). El material alimenticio que contiene asparagina se calienta mediante exposición al vapor para expandir las células y ablandar el material alimenticio que contiene asparagina para el macerado. Tales temperaturas de cocción pueden oscilar en cualquier punto desde aproximadamente 70 °C a aproximadamente 200 °C. El material alimenticio calentado que contiene asparagina también se puede triturar para producir un puré húmedo. La trituración de las patatas cocidas se puede lograr mediante cualquier medio adecuado, tal como, pero sin limitación, aplastado en molino, macerado, rallado o una combinación de los mismos. Se describen diversos métodos para enfriar un material alimenticio calentado que contiene asparagina a una temperatura de menos de 70 °C. El material alimenticio calentado que contiene asparagina se enfría mediante un proceso continuo. Un material alimenticio calentado que contiene asparagina se puede enfriar pasando el material alimenticio calentado que contiene asparagina a través de una tubería con una camisa de refrigeración fuera de la tubería. El material alimenticio que contiene asparagina se puede enfriar de una manera muy eficaz hasta una temperatura de menos de aproximadamente 70 °C en un intercambiador de calor muy compacto si, además de la camisa de refrigeración fuera de la tubería, se insertan tubos de enfriamiento en el

interior de la tubería. Cuantos más tubos se proporcionen y más cerca se dispongan los tubos entre sí, más rápido se enfriará el material alimenticio, y más compacto puede ser el intercambiador de calor. El motivo para esto es que el número de Fourier para la transferencia de calor es inversamente proporcional al espesor del material a enfriar, al cuadrado, de manera que cuanto más pequeño sea el espesor del material a enfriar, más rápida es la transferencia de calor. La inserción de los tubos de enfriamiento en el interior del intercambiador de calor reduce de manera eficaz el espesor del material alimenticio entre las superficies de enfriamiento.

Sin embargo, llega un punto en el que se añaden tantos tubos al interior de la tubería que el caudal de material alimenticio, por ejemplo, puré de patatas, a través de la tubería se ralentiza mucho, y la presión cae a lo largo de la tubería cuando el bombeo de puré a su través para mover el material alimenticio llega a ser excesivo para una bomba convencional. Por lo tanto, un experto en la materia podrá determinar una combinación adecuada de tubos de enfriamiento y espaciado dentro de la tubería con caudal y caída de presión a lo largo de la tubería. Un tipo adecuado de intercambiador de calor con una camisa de refrigeración en el exterior y un tubo de enfriamiento en el interior que se diseña para minimizar la caída de la presión es el intercambiador de calor SMR®, fabricado por Sulzer, Inc.

En una realización, El material alimenticio calentado que contiene asparagina se enfría en un enfriador encamisado de tornillo hueco. Los ejemplos de enfriadores encamisados de tornillo hueco adecuados, incluyen, pero sin limitación, un enfriador de paletas Nara® y un enfriador Thermascrew®. Un material alimenticio calentado que contiene asparagina se puede enfriar mediante un intercambiador de calor de pared estriada. Los ejemplos de intercambiadores de calor de pared estriada adecuados incluyen, pero sin limitación, los vendidos bajo las marcas Votator®, Contherm® y Terlotherm®. En otra realización, el material alimenticio calentado que contiene asparagina se enfría en un lecho fluidizado. Este tipo de enfriador se puede configurar para operación por lotes o continua. Los ejemplos de enfriadores de lecho fluidizado adecuados, incluyen, pero sin limitación, un enfriador de lecho fluidizado Ventilex® y un enfriador de lecho fluidizado Buell MultiStage®.

Los métodos tratados en detalle anteriormente se pueden usar de manera general para el material alimenticio que contiene asparagina, que está en forma líquida o semisólida, tal como un puré. Sin embargo, el solicitante también ha desarrollado métodos para enfriar un material alimenticio calentado que contiene asparagina, que puede ser más adecuado para una forma sólida. En otra realización más, el material alimenticio calentado que contiene asparagina se coloca en un transportador mientras que sopla el aire, por debajo y/o alrededor del material alimenticio que contiene asparagina cuando se mueve a lo largo del transportador. Este método de enfriamiento ofrece las ventajas de proporcionar un enfriamiento convectivo desde el aire y un enfriamiento por evaporación desde la superficie. Dado que el enfriamiento evaporativo elimina una cantidad sustancial de energía térmica, este tipo de enfriamiento puede ser muy eficaz. Una vez más, la transferencia de calor tendrá lugar si el espesor del material a enfriar es más pequeño, por lo tanto, la longitud del transportador se puede minimizar colocando el material alimenticio que contiene asparagina en una única capa sobre el transportador.

Tales métodos pueden emplear un transportador directo, o si el espacio es limitado, un transportador de nivel múltiple en donde el material alimenticio que contiene asparagina viaja a lo largo de un nivel, después pasa a un segundo nivel, etc., en un patrón de zigzag de nivel a nivel. Un tipo eficaz de sistema de enfriamiento por transportador para enfriar un material alimenticio calentado que contiene asparagina en una mínima cantidad de espacio es un enfriador espiral vertical. En este tipo de enfriador, el transportador se mueve como las roscas de un tornillo hacia arriba (o hacia abajo) en un cilindro y se sopla aire, por debajo y/o alrededor del material alimenticio que contiene asparagina a medida que el material viaja a lo largo del transportador. Un ejemplo de un enfriador espiral vertical para su uso para la presente invención se fabrica por Spiral Systems, Inc.

Una vez que el material alimenticio calentado que contiene asparagina se ha enfriado a una temperatura de menos de 70 °C, se añade una enzima reductora de asparagina al material alimenticio enfriado que contiene asparagina.

Tal como se usa en el presente documento, la "enzima reductora de asparagina" incluye cualquier enzima capaz de reducir el nivel de asparagina en un producto alimenticio. 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 desamidasa que tienen funcionalidad reductora de asparagina. En otra realización más, la enzima para su uso en el presente documento es asparaginasa. Una fuente de asparaginasa es Sigma-Aldrich, n.º de catálogo A2925, aunque otros productos de asparaginasa están comercialmente disponibles y son adecuados para su uso en el presente documento. La asparaginasa se puede producir de manera comercial a partir de un proceso que implica microorganismos que producen asparagina en sus células durante el trascurso de su crecimiento. Los microorganismos típicos que se pueden usar para producir asparagina incluyen, pero sin limitación, E. coli., Aspergillus oryzae y Aspergillus niger. Tal como se usa en el presente documento, los términos "enzima reductora de asparagina" y "enzima" incluyen una o más enzimas; por ejemplo, los términos abarcan una mezcla de dos o más enzimas.

Tal como se usa en el presente documento, "añadir" la enzima al material alimenticio que contiene asparagina incluye, pero sin limitación, cualquier medio para juntar al material alimenticio que contiene asparagina y a la enzima. La enzima reductora de asparagina se puede añadir al material alimenticio enfriado que contiene asparagina en

cualquier forma adecuada. Un experto en la materia apreciará las diversas formas adecuadas para la enzima, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. En una realización, la enzima se añade en la forma de un polvo. En otra realización, la enzima se añade en la forma de una solución. Un experto en la materia también apreciará que se pueden usar diversos métodos para añadir la enzima al material alimenticio enfriado que contiene asparagina, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. Por ejemplo, la enzima se puede añadir directamente o indirectamente mediante espolvoreado, vertido, mezclado con o sin el uso de un agitador, amasado, pulverizado o combinaciones de los mismos. En una realización, la enzima reductora de asparagina se añade usando un mezclador en línea, un mezclador de cinta un mezclador de doble tornillo o cualquier combinación de éstos. Los ejemplos de mezcladores en línea incluyen, pero sin limitación, los vendidos bajo las marcas Sulzer®, Komax® y Jongia®. En otra realización, la enzima reductora de asparagina se añade usando un mezclador de cinta. Los ejemplos de mezcladores de cinta adecuados incluyen, pero sin limitación, los vendidos bajo las marcas Ross® y Hayes & Stolz®. En otra realización, la enzima reductora de asparagina se añade usando un mezclador de tornillo. El mezclador de tornillo puede tener un tornillo o preferentemente múltiples tornillos. Los ejemplos de mezcladores de tornillo adecuados incluyen, pero sin limitación, los vendidos bajo las marcas Prater-Sterling® y Readco®.

En una realización, el solicitante ha descubierto que la difusión de asparagina a través de una matriz es una función fuerte de la cantidad de agua libre (agua no unida) en el material alimenticio. La cantidad de agua libre (agua no unida) en alimentos se mide comúnmente mediante un parámetro conocido como actividad del agua. La actividad del agua (a_w) es una propiedad termodinámica del material alimenticio que mide la proporción de agua libre en el material alimenticio frente a la cantidad total de agua en el material alimenticio. El solicitante ha descubierto que si la actividad del agua es menos de aproximadamente 0,85 en un material alimenticio, la eficacia de la enzima reductora de asparagina será muy baja. Por el contrario, si la a_w es mayor de aproximadamente 0,85, la eficacia de la enzima reductora de asparagina en la hidrólisis de asparagina a ácido aspártico aumenta enormemente, lo que a su vez lleva a un menor nivel de acrilamida en el producto alimenticio calentado hecho a partir del material alimenticio tratado.

Un experto en la materia apreciará adicionalmente que la enzima reductora de asparagina se pueda añadir al material alimenticio que contiene asparagina en cualquier momento después de que el material alimenticio alcance una temperatura de menos de 70 °C. La enzima reductora de asparagina se añade al material alimenticio que contiene asparagina en el enfriador. En otra realización más, se añade una enzima reductora de asparagina al material alimenticio que contiene asparagina mientras está en un transportador del enfriamiento.

Las enzimas se comercializan por unidades de actividad, en lugar de por peso o volumen. Por lo tanto, la cantidad eficaz de enzima requerida para lograr el nivel deseado de reducción de asparagina en el material alimenticio que contiene asparagina y la reducción de acrilamida en el producto alimenticio acabado que contiene asparagina dependerá de la actividad del producto enzimático particular usado (por ejemplo, la capacidad de la enzima particular para degradar asparagina). La cantidad de enzima a añadir también puede depender de la cantidad de asparagina presente en el material alimenticio que contiene asparagina; un material alimenticio con más asparagina generalmente requerirá mayores niveles de enzima o mayor tiempo de reacción para lograr el mismo nivel de reducción de asparagina y de acrilamida. La cantidad de enzima a añadir también puede depender del material alimenticio tratado particular que contiene asparagina (por ejemplo, de la composición química, de la cantidad de asparagina presente, del tamaño de partícula, de la actividad del agua, de la densidad, de la viscosidad). Un experto en la materia será capaz de determinar la cantidad eficaz de enzima requerida basándose en el material alimenticio específico que contiene asparagina, en la enzima específica, en la actividad específica de la enzima y en el resultado deseado.

El material alimenticio que contiene asparagina se mezcla antes, durante y después de que se proporciona la enzima. La cantidad de tiempo requerido, si lo hay, para agitar el material alimenticio que contiene asparagina también dependerá de los factores que incluyen, pero sin limitación, el nivel deseado de reducción de asparagina y/o de acrilamida, el nivel de asparagina en el material alimenticio, la enzima particular añadida y/o las características de la enzima añadida. Para un sistema continuo, esto se puede hacer de forma adecuada con un mezclador estático en línea, o la adición al enfriador después del punto en el que la temperatura del producto alimenticio ha caído por debajo de 70 °C, dado que el sistema de enfriamiento normalmente incluirá algún método de agitación del producto alimenticio. En el caso de, por ejemplo, gránulos de patata, que se mezclan normalmente en un punto en el proceso en un mezclador de amasado, la enzima se puede añadir a los gránulos después del punto en el mezclador en el que la temperatura de los gránulos cae por debajo de 70 °C. Para los gránulos de patata, la enzima también se puede añadir a las rodajas o al producto de puré enfriado tal como se menciona anteriormente, bien en combinación con o como alternativa a la adición al mezclador de amasado. En una realización, el material alimenticio que contiene asparagina se mezcla desde aproximadamente 10 segundos hasta aproximadamente 30 minutos. En otra realización, el material alimenticio que contiene asparagina se mezcla durante aproximadamente 1 minuto. En otra realización, el medio se mezcla durante aproximadamente 5 minutos. En otra realización más, el material alimenticio que contiene asparagina se mezcla durante aproximadamente 10 minutos. En una realización adicional, el material alimenticio que contiene asparagina se mezcla durante aproximadamente 20 minutos.

También se puede usar un enfriador de lecho fluidizado para enfriar el producto en modo contínuo dado que los

ES 2 688 946 T3

enfriadores de lecho fluidizado implican un mezclado enérgico de los materiales fluidizados dentro. Para una operación continua, se puede añadir la enzima al enfriador en un punto en el que la temperatura del producto ha caído por debajo de aproximadamente 70 °C.

- 5 La cantidad de tiempo requerido para mantener el material alimenticio que contiene asparagina con la enzima reductora de asparagina en condiciones suficientes como para reducir el nivel de asparagina en el material alimenticio dependerá de los factores que incluyen, pero sin limitación, la actividad del agua y la temperatura del material alimenticio que contiene asparagina, el nivel deseado de reducción de acrilamida, la enzima particular añadida y la cantidad de la enzima añadida. Los tiempos de reacción más cortos típicamente requerirán mayores
- 10 cantidades de enzima para lograr una reducción deseada en acrilamida en el producto alimenticio que contiene asparagina, tal como patatas fritas hechas con copos de patata en donde el puré de patatas usado para hacer los copos se ha tratado con asparaginasa, tal como se muestra en la Tabla 1. También, tal como se muestra en la Tabla 1, cuanto más se deja que reaccione la enzima, mayor es el nivel de reducción de asparagina y, por lo tanto, mayor es el nivel de reducción de acrilamida en un producto alimenticio de material alimenticio. Además, el tiempo de
- 15 retención se puede efectuar de cualquier manera adecuada; por ejemplo, se puede llevar a cabo de manera simultánea con la adición de la enzima al material alimenticio que contiene asparagina, el mezclado de la enzima con el material alimenticio que contiene asparagina o combinaciones de los mismos.

- 20 En una realización, la enzima y el material alimenticio se mantienen desde aproximadamente 5 minutos hasta aproximadamente 120 minutos en condiciones suficientes como para reducir el nivel de asparagina en el material alimenticio que contiene asparagina a un nivel deseado. En otra realización, se mantienen durante al menos aproximadamente 10 minutos. En otra realización más, se mantienen durante aproximadamente 40 minutos. En una realización adicional, se mantienen desde aproximadamente 60 minutos. En otra realización más, se mantienen durante aproximadamente 80 minutos. En una realización adicional, se mantienen desde aproximadamente 100
- 25 minutos.

| Valores de acrilamida para diversas combinaciones de dosis enzimática y tiempo de retención | | | | | | | | | |
|---|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Valores de acrilamida en ug/kg | Tiempo de retención (minutos) | | | | | | | | |
| | 5 min | 10 min | 15 min | 20 min | 25 min | 30 min | 30 min | 40 min | 45 min |
| Dosis enzimática (Unidades/kg de PS) | 5 min | 10 min | 15 min | 20 min | 25 min | 30 min | 30 min | 40 min | 45 min |
| 100 | 1449 | 1333 | 1217 | 1101 | 985 | 869 | 753 | 637 | 521 |
| 200 | 1416 | 1300 | 1184 | 1068 | 952 | 836 | 720 | 604 | 488 |
| 300 | 1384 | 1268 | 1152 | 1036 | 920 | 804 | 688 | 572 | 456 |
| 400 | 1351 | 1235 | 1119 | 1003 | 887 | 771 | 655 | 539 | 423 |
| 500 | 1318 | 1202 | 1086 | 970 | 854 | 738 | 622 | 506 | 390 |
| 600 | 1285 | 1169 | 1053 | 937 | 821 | 705 | 589 | 473 | 357 |
| 700 | 1252 | 1136 | 1020 | 904 | 788 | 672 | 556 | 440 | 324 |
| 800 | 1220 | 1104 | 988 | 872 | 756 | 640 | 524 | 408 | 292 |
| 900 | 1187 | 1071 | 955 | 839 | 723 | 607 | 491 | 375 | 259 |
| 1000 | 1154 | 1038 | 922 | 806 | 690 | 574 | 458 | 342 | 226 |
| 1100 | 1121 | 1005 | 889 | 773 | 657 | 541 | 425 | 309 | 193 |
| 1200 | 1088 | 972 | 856 | 740 | 624 | 508 | 392 | 276 | 160 |
| 1300 | 1055 | 939 | 823 | 707 | 591 | 475 | 359 | 243 | 127 |
| 1400 | 1023 | 907 | 791 | 675 | 559 | 443 | 327 | 211 | 95 |
| 1500 | 990 | 874 | 758 | 642 | 526 | 410 | 294 | 178 | 62 |
| 1600 | 957 | 841 | 725 | 609 | 493 | 377 | 261 | 145 | 29 |
| 1700 | 924 | 808 | 692 | 576 | 460 | 344 | 228 | 112 | 0 |
| 1800 | 891 | 775 | 659 | 543 | 427 | 311 | 195 | 79 | 0 |
| 1900 | 858 | 742 | 626 | 510 | 394 | 278 | 162 | 46 | 0 |
| 2000 | 826 | 710 | 594 | 478 | 362 | 246 | 130 | 14 | 0 |
| 2100 | 793 | 677 | 561 | 445 | 329 | 213 | 97 | 0 | 0 |
| 2200 | 760 | 644 | 528 | 412 | 296 | 180 | 64 | 0 | 0 |
| 2300 | 727 | 611 | 495 | 379 | 263 | 147 | 31 | 0 | 0 |
| 2400 | 694 | 578 | 462 | 346 | 230 | 114 | 0 | 0 | 0 |
| 2500 | 662 | 546 | 430 | 314 | 198 | 82 | 0 | 0 | 0 |
| 2600 | 629 | 513 | 397 | 281 | 165 | 49 | 0 | 0 | 0 |
| 2700 | 596 | 480 | 364 | 248 | 132 | 16 | 0 | 0 | 0 |
| 2800 | 563 | 447 | 331 | 215 | 99 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2900 | 530 | 414 | 298 | 182 | 66 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3000 | 497 | 381 | 265 | 149 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3100 | 465 | 349 | 233 | 117 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3200 | 432 | 316 | 200 | 84 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3300 | 399 | 283 | 167 | 51 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3400 | 366 | 250 | 134 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3500 | 333 | 217 | 101 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3600 | 301 | 185 | 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3700 | 268 | 152 | 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3800 | 235 | 119 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3900 | 202 | 86 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4000 | 169 | 53 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4100 | 136 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4200 | 104 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| Valores de acrilamida para diversas combinaciones de dosis enzimática y tiempo de retención | | | | | | | | | |
|---|-------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Valores de acrilamida en ug/kg | | | | | | | | | |
| | Tiempo de retención (minutos) | | | | | | | | |
| 4300 | 71 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4400 | 38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabla 1. Dosis frente a tiempo de retención para patatas fritas hechas con copos de patata que se han tratado con asparaginasa

5 El nivel de reducción de asparagina se puede determinar midiendo la cantidad de asparagina en el material alimenticio tratado. Un experto en la materia apreciará los diversos métodos para medir el nivel de reducción de asparagina, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. El nivel de reducción de asparagina se puede caracterizar como el porcentaje de reducción basado en una comparación del nivel de asparagina con y sin un tratamiento de enzima reductora de asparagina. En una realización, el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 30 %. En otra realización más, el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 50%. En una realización adicional, el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 70%. En otra realización adicional más, se deja que la enzima reaccione hasta que el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 80 %. En otra realización adicional más, se deja que la enzima reaccione hasta que el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 90%. En otra realización adicional más, se deja que la enzima reaccione hasta que el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 95%. En otra realización más, el nivel de asparagina se reduce en al menos aproximadamente el 99%.

20 Después de que el nivel de asparagina se ha reducido al nivel deseado en el material alimenticio tratado, la enzima opcionalmente se puede inactivar y/o retirar del medio. La enzima se puede desactivar mediante cualquiera de los medios adecuados que inactiva la enzima. Por ejemplo, la enzima se puede desactivar mediante el uso de calor, el ajuste de pH, el tratamiento con una proteasa, o combinaciones de los mismos. Por lo tanto, desactivando la enzima a través de calor, la etapa opcional de desactivación y la etapa de cocción, tal como se analiza a continuación en detalle, se pueden llevar a cabo de manera simultánea. El procesamiento de calor mediante cocción también puede desnaturalizar e inactivar la enzima de manera que el alimento no se somete a actividad enzimática continua. Adicionalmente, la enzima se puede retirar mediante cualquiera de los medios adecuados incluyendo, pero sin limitación, la extracción. Las solicitudes '046 y '607 de Zyzak et al tratan en detalle los diferentes métodos para inactivar de manera opcional y/o retirar la enzima del material alimenticio que contiene asparagina, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento.

30 La presente invención se dirige a métodos para reducir el nivel de acrilamida en un producto alimenticio, tal como se desvela en las reivindicaciones. Los métodos comprenden (1) reducir el nivel de asparagina en un material alimenticio enfriado que contiene asparagina y (2) producir un producto alimenticio a partir del material alimenticio tratado.

35 Tal como se usa en el presente documento, "producto alimenticio" incluye, pero sin limitación, alimentos listos para el consumo y alimentos para su uso como ingredientes para preparar otros alimentos. Tales productos incluyen, pero sin limitación, patatas trituradas, hamburguesa de patata, tortitas de patata y aperitivos de patata tales como patatas fritas, patatas fritas extrudidas u otras formas extrudidas hechas a partir de puré de patatas, palos de patata y patatas fritas de aperitivo, productos a base de trigo tales como pan, galletas saladas, galletas y galletas con pepitas de chocolate; productos a base de arroz tales como panes, galletas saladas y pan crujiente, productos a base de maíz tales como tortillas, nachos, aperitivos extrudidos a base de maíz y panes de maíz, cafés y cualquier producto vegetal en donde se desee reducir el nivel de asparagina en el alimento. Además, el producto alimenticio puede ser de cualquier forma adecuada, incluyendo, pero sin limitación, puré, copos, gránulos, escamas, polvos o combinaciones de los mismos.

50 La etapa de reducir el nivel de asparagina en un material alimenticio que contiene asparagina se trata en detalle anteriormente y cualquiera de tales métodos se puede emplear en el presente documento. Después de que el nivel de asparagina se ha reducido al nivel deseado en el material alimenticio tratado, se produce el producto alimenticio.

55 Un experto en la materia apreciará los diversos componentes adicionales, que se pueden añadir al material alimenticio tratado antes, durante y/o después del tratamiento con la enzima, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. Un experto en la materia también apreciará los diversos métodos para producir un producto alimenticio a partir de un material alimenticio tratado, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento. El material alimenticio tratado se puede calentar de la manera habitual conocida en la materia, tal como mediante horneado, fritura, extrusión, secado (por ejemplo, mediante horno de vacío o secador de tambor), inflado o pasado por el microondas para formar el producto alimenticio que contiene asparagina. La cocción se puede realizar mediante cualquier método adecuado, por ejemplo mediante fritura, horneado o una combinación de fritura u horneado. Adicionalmente, las etapas de formación y de cocción se pueden llevar a cabo de manera

simultánea, tal como con productos de aperitivo extrudidos.

En una realización, el material alimenticio tratado, un puré, se seca para formar productos de patata deshidratados. Estos productos de patata deshidratados pueden estar en cualquier forma, tal como, pero sin limitación, copos, escamas, gránulos, aglomerados, láminas, piezas, porciones, harina o partículas. En una realización, el puré de patata húmedo se puede usar para producir productos de patata frita extrudidos tales como los descritos en la Patente de Estados Unidos N.º 3.085.020, presentado el 9 de abril de 1963 por Backinger et al. Se puede emplear cualquier procedimiento adecuado, tal como los conocidos en la materia, para producir tales productos de patata deshidratados a partir de un puré, y se puede usar cualquier equipo adecuado. Las solicitudes '046 y '670 de Zyzak et al desvelan en detalle diversos procesos para preparar tales productos de patata deshidratados.

Estos productos de patata deshidratados, que se han laminado y secado, se pueden procesar adicionalmente rompiéndolos en secciones más pequeñas. Estas secciones más pequeñas pueden ser de cualquier tamaño deseado. Cualquier método de rotura de la lámina que minimice el daño del almidón y de las células de patata, tal como fractura, molienda, rotura, cortado o pulverización, se puede usar. Por ejemplo, la lámina se puede triturar con un Urschel Comitrol™ fabricado por Urschel Laboratories, Inc. de Valparaiso, Ind., para romper la lámina. Como alternativa, la lámina de los copos se puede dejar intacta.

Estos productos de patata deshidratados también se pueden usar en la producción de aperitivos inventados, tales como patatas fritas inventadas. Los ejemplos de tales patatas fritas inventadas incluyen las descritas en la Patente de Estados Unidos N.º 3.998.975, presentada el 21 de diciembre de 1976 por Liepa, la patente de Estados Unidos N.º 5.464.642 presentada el 7 de noviembre de 1995 por Villagran et al., la patente de Estados Unidos N.º 5.464.643 presentada el 7 de noviembre de 1995 por Lodge, y el documento WO 96/01572 publicado el 25 de enero de 1996 por Dawes et al.

Los productos de patata deshidratados también se pueden rehidratar y usarlos para producir productos alimenticios que contienen asparagina tales como puré de patatas, hamburguesa de patata, tortitas de patata y otros aperitivos de patata tales como patatas fritas extrudidas y palos de patata. Por ejemplo, los productos de patata deshidratados se pueden usar para producir productos de patata frita extrudidos tales como los descritos en las Patentes de Estados Unidos N.º 3.085.020, presentada el 9 de abril de 1963 por Backinger et al., y la patente de Estados Unidos N.º 3.987.210, presentada el 18 de octubre de 1976 por Cremer. Los productos de patata deshidratados también se pueden usar en panes, jugos de carne, salsas, potitos o cualquier otro producto alimenticio a base de material alimenticio que contenga asparagina.

La cantidad final de acrilamida en el producto alimenticio puede variar en función de los diversos factores expuestos anteriormente. En una realización, el nivel de acrilamida en el producto alimenticio se reduce en al menos aproximadamente el 10 %. En otra realización, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente el 30 %. En otra realización más, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente el 50 %. En una realización adicional, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente el 70 %. En otra realización adicional más, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente el 90 %. En otra realización adicional más, el nivel de acrilamida se reduce en al menos el 95 %. En otra realización adicional más, el nivel de acrilamida se reduce en al menos aproximadamente el 99 %.

La cantidad final de acrilamida en el producto alimenticio también se puede medir en partes por mil millones. En una realización, el nivel de acrilamida se reduce a menos aproximadamente 100 ppm. En otra realización, el nivel de acrilamida se reduce a menos de 50 ppm. Un experto en la materia apreciará los diversos métodos para medir la reducción en la cantidad o la cantidad de acrilamida en un producto alimenticio, cualquiera de los cuales se puede emplear en el presente documento.

Métodos analíticos

Los métodos para medir la acrilamida (AA) en productos alimenticios y la determinación de asparagina y ácido aspártico en productos alimenticios se resumen en detalle en Zyzak et al, Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 2004/0058046A.

Ejemplos (no de acuerdo con la invención)

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención pero no pretenden ser limitantes de la misma.

Ejemplo 1

Equipo

Balanza Mettler AT250, calentador de bloque Lab-Line Multi-Blok®, bloque calefactor, 12 ml, 20 mm de diámetro, frascos de cristal de 47 mm de alto con tapas de plástico a presión, espátulas pequeñas, cronómetros de cuenta hacia delante y hacia atrás Cole-Parmer®, horno microondas Panasonic® NN-S563BF, maquina cortadora de carne

Chef's Choice modelo 630, olla al vapor asparagus, molino de aplastado de patata, mezclador manual Faberware®, termómetro de termopar Pyromation® Dual J-T-E-K con termopares de precisión de alambre fino Omega® SC-TT-K-36-36 y homogeneizador de células IKA Ultra Turrac® T18 Basic

5 Procedimiento

1. Hacer puré de patatas

- 10 i. Cortar tres patatas Russet Burbank medianas en rodajas de 0,635 cm (¼ de pulgada) usando una máquina de cortar carne (para garantizar un grosor uniforme de todas las rodajas).
- ii. Cocer al vapor las rodajas durante 20 minutos en una olla de vapor.
- iii. Aplastar con molino las rodajas de patata cocida y después mezclar con un mezclador manual durante 1 minuto.
- 15 iv. Poner 4 gramos de puré en cada frasco y tapar cada frasco de forma segura.

2. Añadir asparaginasa diluida al medio del puré

- 20 i. Colocar los frascos de puré de patatas en un calentador de bloque y dejarlos reposar hasta que la temperatura central de cada frasco se haya equilibrado a la temperatura de reacción deseada (por ejemplo, 60 °C). La temperatura se mide insertando un microtermopar a través de la tapa sellada hacia abajo, en el centro del puré.
- 25 ii. Preparar una solución de asparaginasa y agua añadiendo 14 microlitros de solución de asparagina de *A. oryzae* (6800 unidades por mililitro de solución) y 5 gramos de agua destilada en un vaso de precipitados de 20 ml.
- 30 iii. Poner 0,5 ml de solución de asparaginasa en agua preparada en la etapa anterior en un frasco que contiene puré de patatas, y mezclar la solución en puré durante 30 segundos usando una espátula pequeña. Al final del mezclado, tapar el frasco, colocarlo de nuevo en el calentador de bloque, e iniciar el cronómetro. Se necesitará un cronómetro por separado para cada uno de los frascos.
- 35 iv. Dejar que repose el puré durante la cantidad de tiempo pautado (por ejemplo, 2 minutos).
- v. Calentar la muestra de puré (en el frasco) en el horno microondas durante 8 segundos para calentarla hasta justo por debajo del punto de ebullición del agua. Esto desactivará la enzima.
- vi. Colocar el frasco en un congelador (-20 °C) hasta que esté listo para analizar su contenido en asparagina.

3. Métodos analíticos

- 40 i. Preparar la muestra de puré añadiendo ácido, homogeneizando y calentando la muestra de acuerdo con el método analítico de asparagina descrito anteriormente. Durante la preparación de la muestra, las células de patata se destruyen para liberar asparagina y ácido aspártico.
- 45 ii. Preparar 4 soluciones estándar conocidas de asparagina/ácido aspártico y añadir el estándar interno a todas las muestras.
- iii. Diluir las muestras y marcar la asparagina y el ácido aspártico con un marcador de fluorescencia.
- 50 iv. Cargar las muestras y los patrones en la cromatografía líquida (LC).
- v. Con los 4 estándares conocidos, crear una curva de calibración.
- 55 vi. Usar la pendiente y la intersección de los estándares conocidos para estandarizar los datos no tratados de las muestras.

Experimento 1A

El procedimiento anterior se lleva a cabo, enfriando el puré de patatas hasta 40 C. Los datos de la concentración de asparagina frente al tiempo se muestran a continuación.

| Tiempo tras la adición de solución de asparaginasa al puré de patatas (minutos) | Concentración de asparaginasa (microgramos por kg de puré de patatas) |
|---|---|
| 0 | 279,67 |
| 2 | 180,14 |
| 4 | 129,96 |

| Tiempo tras la adición de solución de asparaginasa al puré de patatas (minutos) | Concentración de asparaginasa (microgramos por kg de puré de patatas) |
|---|---|
| 6 | 126,32 |
| 8 | 106,24 |
| 10 | 85,41 |

La concentración de asparagina se ha reducido en aproximadamente el 70 %.

Experimento 1B

- 5 El procedimiento anterior se lleva a cabo, enfriando el puré de patatas hasta 50 °C. Los datos de la concentración de asparagina frente al tiempo se muestran a continuación.

| Tiempo tras la adición de solución de asparaginasa al puré de patatas (minutos) | Concentración de asparaginasa (microgramos por kg de puré de patatas) |
|---|---|
| 0 | 422,98 |
| 2 | 198,77 |
| 4 | 174,85 |
| 6 | 136,93 |
| 10 | 134,2 |

- 10 La concentración de asparagina se ha reducido en aproximadamente el 70 %.

Experimento 1C

- 15 El procedimiento anterior se lleva a cabo, enfriando el puré de patatas hasta 60 °C. Los datos de la concentración de asparagina frente al tiempo se muestran a continuación.

| Tiempo tras la adición de solución de asparaginasa al puré de patatas (minutos) | Concentración de asparaginasa (microgramos por kg de puré de patatas) |
|---|---|
| 0 | 322,28 |
| 2 | 258,48 |
| 4 | 170,81 |
| 6 | 166,93 |
| 10 | 166,4 |

La concentración de asparagina se ha reducido en aproximadamente el 45%.

20 **Ejemplo 2**

Este ejemplo muestra que una reducción de aproximadamente el 65 % de la asparagina en el puré de patatas puede llevar a niveles sustancialmente menores de acrilamida en el producto cocinado acabado.

25 Hacer copos de patatas

1. Establecer un baño a temperatura constante de 60 °C.
- 30 2. Pelar 3 patatas Russet Burbank medianas y cortarlas en rodajas de 0,635 cm (1/4 de pulgada) usando una máquina de cortar carne.
3. Cocer al vapor las rodajas de patata en una olla al vapor aproximadamente 20 minutos.
- 35 4. Aplastar con molino las patatas cocidas al vapor en un bol de mezclado. Medir la temperatura y asegurarse de que la temperatura es de aproximadamente 60 °C.
5. Mezclar aproximadamente 10 g de agua en aproximadamente 368 g de puré de patatas durante un minuto
- 40 6. Mezclar aproximadamente 10 g de agua más aproximadamente 15 microlitros de solución de asparagina de *A. oryzae* (6800 unidades por mililitro de solución) por 368 g de puré de patatas durante un minuto usando el mezclador manual. Medir y registrar la temperatura.

ES 2 688 946 T3

7. Cubrir el bol, colocarlo en el baño a temperatura constante (60 °C) durante aproximadamente 15 minutos, después, medir y registrar la temperatura.

5 8. Volver a aplastar con molino el puré sobre una bandeja de horneado y secar inmediatamente en un horno de pizza hasta que la humedad del producto se reduzca a aproximadamente el 7 %

9. Moler el producto seco en una licuadora y tamizar a 30 mesh.

10 El procedimiento anterior se repite, excepto en que no se añade asparaginasa al puré de patatas. En este punto hay dos conjuntos de copos listos para transformarlos en patatas fritas de aperitivo, uno con tratamiento de asparaginasa y otro sin tratamiento de asparaginasa. Se mide el nivel de asparagina en cada conjunto de copos de patata.

Hacer patatas fritas de aperitivo a partir de los copos de patata

15 Materiales

Copos de patata, agua, otros ingredientes de secado y emulsionante

20 Aparato

Freidora con aceite, Guantes desechables, báscula, vaso de precipitados de 400 ml, vaso de precipitados de 150 ml, espátula pequeña, procesador de alimentos, platos desechables, papel de aluminio, rollos de prensado, tabla de cortar, molde de corte de doval, molde de freidora y papel absorbente.

25 Procedimiento

1. Rellenar la freidora con aceite entre las marcas del mínimo y del máximo, si no se ha hecho ya. Colocar 3 platos desechables con papel absorbente sobre ellas.

30 2. Pulsar el interruptor de encendido y establecer el dial a 182 °C (360 °F).

3. Poner el vaso de precipitados de 400 ml sobre la báscula y tararlo.

35 4. Pesar los materiales secos (+ 0,02 g) en el vaso de precipitados de 400 ml.

5. Añadir los materiales secos al procesador de alimentos. Cubrirlo y mezclar durante 30 segundos.

6. Poner el vaso de precipitados de 150 ml sobre la báscula y tararlo.

40 7. Añadir agua y emulsionante.

8. Poner el vaso de precipitados con agua y emulsionante en el horno microondas y calentar durante 32 segundos.

45 9. Con los ingredientes secos aún en el procesador, activar de manera simultánea el cronómetro y el procesador de alimentos.

10. Añadir el agua caliente y el emulsionante al procesador de alimentos a través del conducto.

50 11. Continuar a mezclar 1:00 minuto, después parar.

12. Quitar la tapa superior del procesador de alimentos, y verter la masa desmenuzable en un plato desechable. Sacar la cuchilla de la masa y conservar. Cubrir la masa con papel de aluminio, y llevarla a los rollos de prensado.

55 13. Verter la masa desmenuzable entre los dos rollos y hacer pasar la masa a través de los rollos para formar una lámina.

60 14. Plegar la lámina, colocarla sobre un plato desechable, cubrir con papel de aluminio y llevarla a la tabla de cortar.

15. Cortar 20 dovals de la lámina con el cortador doval sobre la tabla de cortar. Colocar 2 en una bolsa hermética pequeña. (se necesitan freír 16 dovals, por lo que hay 2 extra para errores).

65 16. Cubrir los dovals restantes con papel de aluminio y llevarlos a la freidora. Asegurarse de tener los guantes puestos en este momento.

17. Levantar la parte superior del molde de la freidora y colocar un doval en el centro. Configurar el cronómetro para 12 segundos.

18. De manera simultánea iniciar el cronómetro, y bajar el molde con el doval a la parte inferior de la freidora. Cuando pite el cronómetro, sacar inmediatamente el molde del aceite. Girar el molde hacia los lados sobre la freidora para escurrir el exceso de aceite, después, colocarlo sobre un plato desechable con papel absorbente.

19. Levantar la parte superior del molde, coger una espátula de metal pequeña, y sacar la patata frita. Poner a un lado en un plato desechable por separado con toallas de papel.

20. Repetir este procedimiento para hacer al menos 16 patatas fritas.

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

22. Analizar el nivel de acrilamida en las patatas fritas.

Correlación de la reducción de asparagina con la reducción de acrilamida en patatas fritas acabadas

| | ppm de asparagina en los copos de patata | % de reducción de asparagina en copos | ppmm de acrilamida en patatas fritas acabadas | % de reducción de acrilamida en patatas fritas acabadas | % de humedad de patatas fritas acabadas |
|--|--|---------------------------------------|---|---|---|
| Control | 22008,85 | 0 | 5867 | 0 | 1,68 |
| 2850 U de asparaginasa por kg de sólidos de patata | 7570,82 | 65,6 % | 246 | 95,8 % | 1,67 |

20 Sin limitarse a la teoría, se hipotetiza que cuando se hidroliza la asparagina, forma ácido aspártico, que es otro aminoácido que puede participar (y lo hará) en las reacciones de Maillard con cualquier azúcar reductor disponible. Este ácido aspártico se convierte en un fuerte competidor para consumir el azúcar reductor en la masa de patata durante la fritura. Dado que la proporción de ácido aspártico frente a asparagina en el puré va desde aproximadamente 1:10 antes de la reacción hasta aproximadamente 2:1 al final de la reacción, es muy probable que el azúcar reductor disponible reaccione con el ácido aspártico en la reacción y después con asparagina.

Ejemplo 3

Se coloca una unidad de intercambio de calor SMR (de *steam methane reforming*, reformado de metano con vapor) de 10,1 cm (4 pulgadas) de diámetro y 60,96 cm (2 pies) de longitud en una sección de una tubería de compensación entre un triturador de patatas y un secador de tambor para enfriar un puré de patatas. El puré de patatas se hace mezclando 95 °C de agua con copos de patata (20 kg de copos por 80 kg de agua). La temperatura de entrada del producto inicial a la unidad SMR fue de aproximadamente 93 °C. En un método, el caudal de puré de patatas comenzó a aproximadamente 17 kg/min y después disminuyó de forma lineal a 8 kg/min después de 15 minutos. En otro método, el caudal de puré de patatas comienza a aproximadamente 5 kg/min y después disminuye de forma lineal a 8 kg/min tras 15 minutos. El intercambiador de calor SMR disminuye la temperatura del puré a al menos aproximadamente 70 °C. Después se mezcla asparaginasa en el puré en la tubería de compensación después de que se enfríe el puré a 70 °C. Después, el puré viaja a lo largo de la tubería de compensación hasta el secador para producir un material alimenticio tratado con un nivel reducido de asparagina.

Ejemplo 4

Las rodajas de patata emergen de una olla a aproximadamente 95 °C a una tasa de flujo de aproximadamente 7000 kg/h. Las rodajas son (en promedio) de 0,7 cm de espesor y 5 cm de diámetro. Las rodajas se vierten desde la olla a una cinta transportadora de un enfriador por evaporación en espiral con chorro de aire sobre el transportador. Inmediatamente después del enfriamiento, se trituran las rodajas, para que se suavicen las inhomogeneidades en las temperaturas de la rodaja bien dentro de la rodaja o entre las rodajas. Al final del transportador, las rodajas se vierten en una caja de alimentación para la trituradora. Se pulveriza una solución de asparaginasa en la caja de alimentación. La trituradora tritura las patatas y las mezcla con la asparaginasa. El puré después viaja a lo largo de la tubería de compensación hacia el secador para producir un material alimenticio tratado con un nivel reducido de asparagina.

Ejemplo 5

Las rodajas de patata emergen de una olla a aproximadamente 99 °C a una tasa de flujo de aproximadamente 1000 kg/h. Las rodajas son (en promedio) de 0,7 cm de espesor y 5 cm de diámetro. Las rodajas se pasan a través de un molino de aplastado para hacer un puré grueso, después el puré se introduce en una tolva que alimenta a una

ES 2 688 946 T3

bomba de cavidad progresiva Netzsch®. La bomba Netzsch® bombea el puré en la entrada inferior de un intercambiador de calor de pared estriada modelo T2 de Terlotherm®. El puré sale de la parte superior del intercambiador de calor de la pared estriada a aproximadamente 60 °C. El puré enfriado después entra en un mezclador estático Jongia® en donde se mezcla con aproximadamente 42 kg/h de una solución de asparaginasa. El puré tratado con enzimas después entra en un tramo de tubería de acero inoxidable que viaja hacia el distribuidor de un secador de tambor. La longitud y el diámetro de la tubería son de tal forma que al puré le lleve aproximadamente 15 minutos viajar desde la salida del mezclador estático al distribuidor del secador de tambor. El secador de tambor seca el puré en una lámina de aproximadamente el 8 % de humedad. La lámina se despega del tambor, se fragmenta y se envía a una trituradora para la reducción del tamaño de partícula. Los copos de patata de este proceso se demandan para hacer patatas fritas fabricadas. También se hacen patatas fritas a partir de copos de patata hechos mediante el mismo proceso salvo que no se añade asparaginasa. Los resultados se muestran en la Tabla 2 a continuación.

| Muestra | Unidades de asparaginasa | Acrilamida en patatas fritas acabadas (ppmm) |
|---|---------------------------------|---|
| Patatas fritas hechas con copos mediante el proceso enzimático, pero sin enzima, muestra 5A | 0 | 1020 |
| Patatas fritas hechas con copos, mediante el proceso enzimático, pero sin enzima, muestra 5B | 0 | 1060 |
| Patatas fritas hechas con copos, mediante el proceso enzimático, 2500 Unidades de asparaginasa por kg de sólidos de patata, muestra 5C | 2500 | 289 |
| Patatas fritas hechas con copos, mediante el proceso enzimático, 2500 2500 Unidades de asparaginasa por kg de sólidos de patata, muestra 5D | 2500 | 115 |
| Patatas fritas hechas con copos, mediante el proceso enzimático, 2500 2500 Unidades de asparaginasa por kg de sólidos de patata, muestra 5E | 2500 | 177 |
| Patatas fritas hechas con copos, mediante el proceso enzimático, 2000 2500 Unidades de asparaginasa por kg de sólidos de patata, muestra 5F | 2000 | 238 |

REIVINDICACIONES

1. Un método para reducir el nivel de acrilamida en un producto alimenticio a base de material alimenticio que contiene asparagina, en donde dicho material alimenticio comprende material alimenticio a base de tubérculo, material alimenticio a base de raíz o combinaciones de los mismos, que comprende:
- 5
- (1) cocinar un material alimenticio que contiene asparagina mediante exposición al vapor;
- (2) enfriar el material alimenticio cocinado que contiene asparagina hasta una temperatura de menos de 70 °C, en donde el material alimenticio que contiene asparagina se enfría mediante un proceso continuo, en donde el proceso de enfriamiento continuo comprende enfriar el material alimenticio que contiene asparagina mediante un enfriador encamisado de tornillo hueco o un sistema de enfriamiento continuo que comprende: (1) colocar el material alimenticio que contiene asparagina sobre un transportador, y (2) soplar aire sobre el material alimenticio que contiene asparagina a medida que se mueve a lo largo del transportador,
- 10
- o en donde el material alimenticio que contiene asparagina se enfría mediante un proceso continuo, en donde el proceso de enfriamiento continuo comprende enfriar el material alimenticio que contiene asparagina mediante un enfriador de lecho fluidizado o en un intercambiador de calor de pared estriada;
- 15
- (3) añadir una enzima reductora de asparagina al material alimenticio enfriado que contiene asparagina después de que el material alimenticio enfriado alcance una temperatura de menos de 70 °C, en donde se reduce el nivel de asparagina en el material alimenticio que contiene asparagina; y
- 20
- (4) producir un producto alimenticio del material alimenticio tratado en el que el material alimenticio que contiene asparagina se mezcla antes, durante y después de que se añada la enzima reductora de asparagina al material alimenticio enfriado que contiene asparagina, y en donde se añade la enzima reductora de asparagina al material alimenticio que contiene asparagina en el enfriador.
- 25
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en donde el material alimenticio que contiene asparagina comprende material alimenticio a base de tubérculo.
3. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la enzima reductora de asparagina y el alimento enfriado que contiene asparagina se mantienen de 5 a 120 minutos.
- 30
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el nivel de asparagina se reduce en al menos el 80 %.
- 35
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el nivel de acrilamida se reduce a menos de 100 ppm.
- 40
6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el nivel de acrilamida se reduce a menos de 50 ppm.

Fig. 1

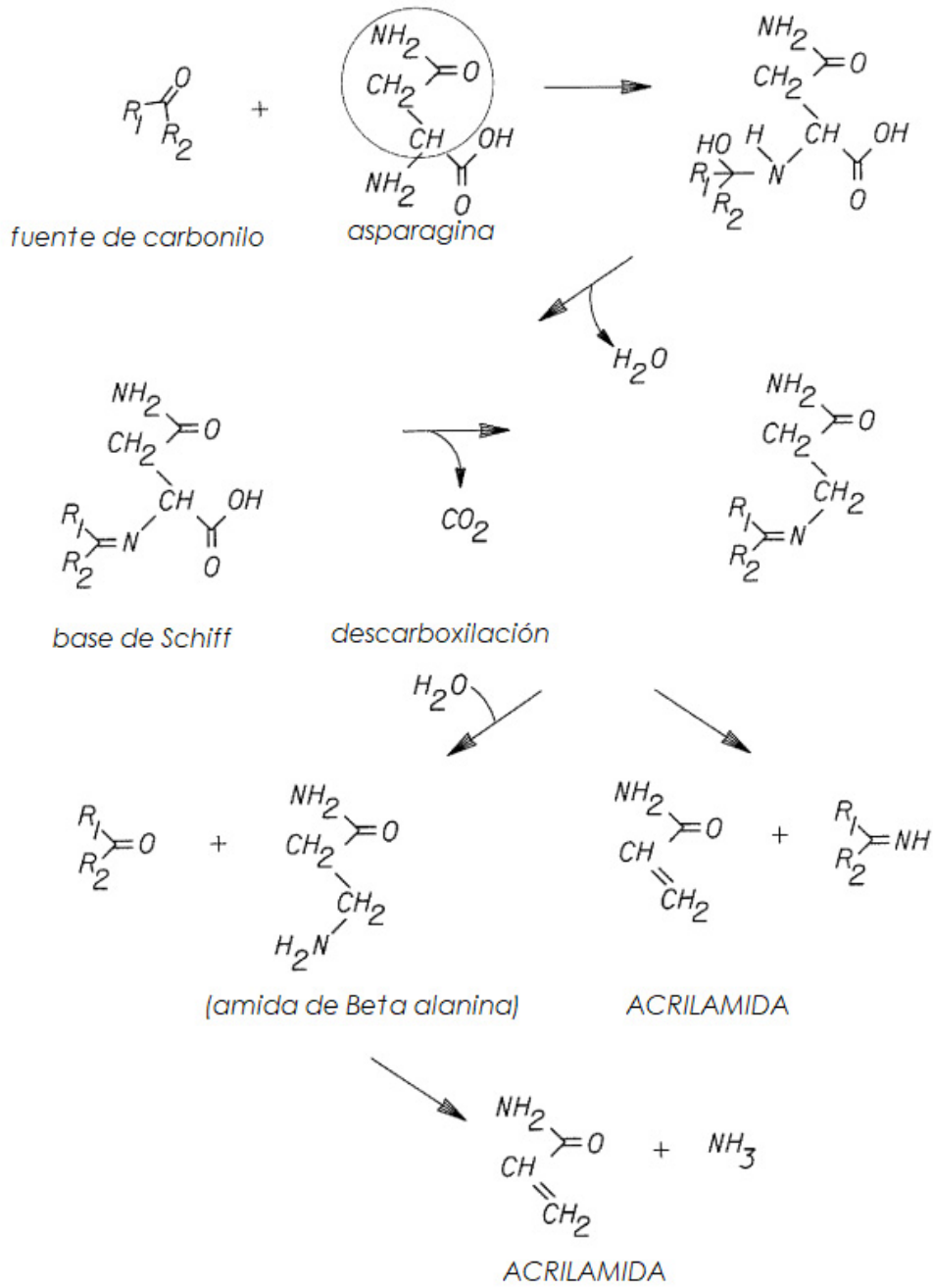
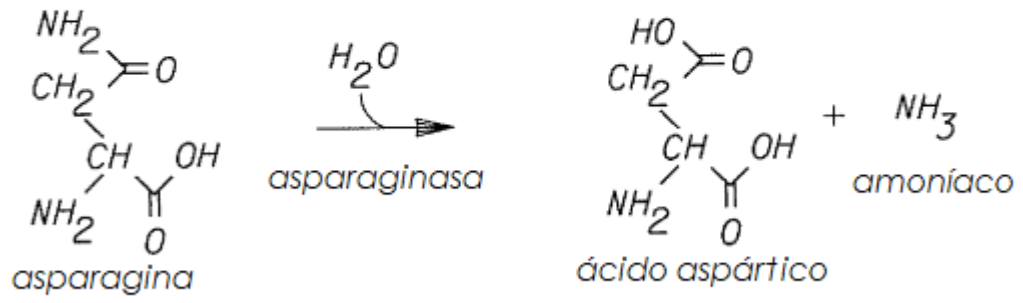


Fig. 2



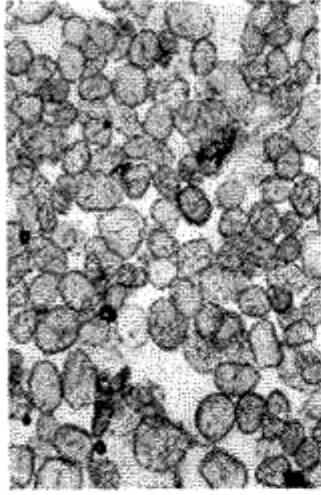


Fig. 3C

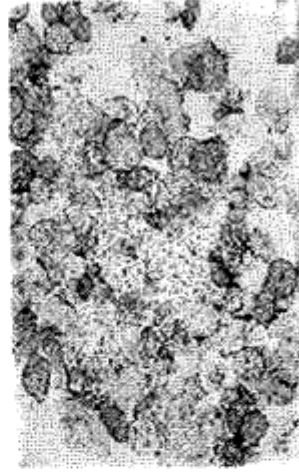


Fig. 3D

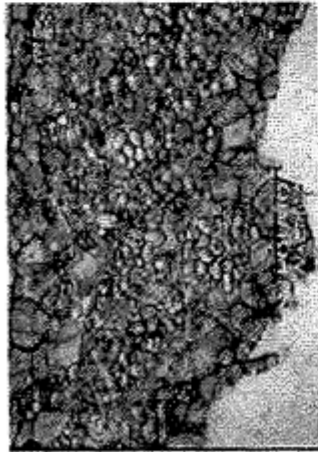


Fig. 3A

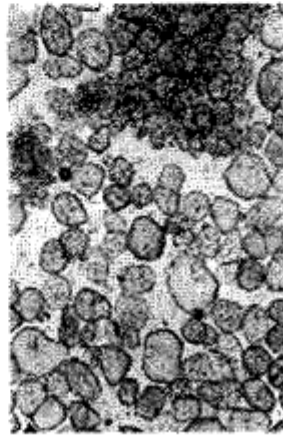


Fig. 3B