

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 401**

51 Int. Cl.:

**A23L 7/20** (2006.01)

**A21D 2/38** (2006.01)

**A23L 5/42** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.10.2014 PCT/NL2014/050688**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2015 WO15050454**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2014 E 14790763 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019 EP 3060071**

54 Título: **Métodos para preparación de alimento oscuro, producto que se puede obtener mediante este, y uso de este en pan**

30 Prioridad:

**04.10.2013 NL 2011557**

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

**04.11.2019**

73 Titular/es:

**BORGESIOUS HOLDING B.V. (100.0%)  
Electronicaweg 7  
9503 GA Stadskanaal, NL**

72 Inventor/es:

**VAN DER MEULEN, JAN FOPPE**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 729 401 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 preparación de alimento oscuro, producto que se puede obtener mediante este, y uso de este en pan

5 La invención se refiere al campo de la tecnología alimentaria. Entre otras cosas, se refiere a métodos para preparar alimentos oscuros y uso de estos para preparar artículos alimenticios de color oscuro, en especial, productos panificados tal como pan integral con beneficios saludables mejorados.

10 El término "pan integral" se toma normalmente para hacer referencia a pan que se constituye de granos de trigo integral. En otras palabras, en el proceso de constitución de pan integral, el salvado y germen de la harina de trigo no se retiran y se dejan intactos. El resultado consiste en el pan que retiene todos sus nutrientes esenciales, junto con fibra saludable. Sin embargo, en muchos casos, el pan se constituye para parecer marrón mediante el agregado de alimentos de coloración oscura, pero en esencia, no se constituye a partir de trigo integral y no contiene todos los nutrientes.

15 Agentes de coloración oscura conocidos incluyen colores caramelo (E150), cacao, café, y agentes de coloración que derivan a partir de malta tostada. Agentes de coloración que derivan a partir de malta tostada tienen una capacidad de coloración fuerte, pueden prepararse de manera relativamente sencilla y no requieren ningún aditivo adicional.

20 Por ejemplo, el documento EP0372243 divulga un extracto malteado que se mezcla con malta conminuta o extracto de esta y se calienta a una temperatura de 90 a 120 °C hasta que la mezcla toma una coloración oscura potente. El documento EP 0458023 enseña la preparación de un colorante alimenticio oscuro basado en malta comenzando a partir de una mezcla de malta activa, agua y malta verde o brotes de malta verde. La mezcla se somete a períodos de calentamiento consecutivos de duración variable pero aumentando la temperatura. El tratamiento final consiste de 16 horas a de 112 °C a 117 °C dando como resultado un extracto de malta de color oscuro. 120 °C.

25 De este modo, los alimentos derivados de malta se preparan a temperatura relativamente alta (>100 °C). Este tratamiento de calor origina producción de subproductos no convenientes, en particular, acrilamida. La acrilamida (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NO o prop-2-enamida) puede ocurrir en alimentos ricos en almidón que se cocinan a altas temperaturas incluyendo café, patatas crujientes, patatas fritas, pan y panes crujientes. Se forma mediante la reacción del aminoácido asparagina y azúcares reductores, ocurriendo ambos de manera natural en cereales. La reacción que ocurre conduce a la producción de acrilamida, junto con compuestos de formación de color (oscurecimiento) y de producción de sabor, y se conoce como reacción de Maillard.

30 En el año 2010, un comité conjunto de expertos de la Food and Agriculture Organization y World Health Organization determinaron que existía evidencia en cuanto a que la acrilamida podía originar cáncer en animales de laboratorio. A pesar de que no existe evidencia directa de que la acrilamida origina cáncer en humanos, FSANZ y reguladores de alimentos reconocen que la exposición debería minimizarse.

35 La European Food Safety Authority (EFSA) señala a los productos basados en cereales y patatas fritas como las fuentes principales de acrilamida – no debido a que los niveles de acrilamida sean particularmente altos en estos productos sino que tiene que ver con el alto consumo de pan.

40 De este modo, existe una clara necesidad de alimentos de coloración oscura alternativos. Los presentes inventores se dirigen a proporcionar un alimento basado en malta mejorado que tiene niveles reducidos de ingredientes tóxicos, en particular, acrilamida, sin comprometer su fuerte potencia de coloración. Un objetivo adicional consistió en proporcionar un producto de pan integral que tiene un contenido de acrilamida por debajo de 30 µg/kg. Un objetivo adicional más consistió en proporcionar un pan integral que se encuentra libre de enzimas agregadas, en particular, libre de asparaginasa y/u otras enzimas de hidrólisis para panificación, que deben encontrarse listo como ingrediente bajo el número E adecuado.

45 Se observó de manera sorpresiva que estos objetivos podían cumplirse al someter una mezcla de partida que comprende malta activa, agua y granos a al menos 3 ciclos de protocolo de calentamiento definido en el que la temperatura se aumenta a solamente 90 °C, y en el que la malta fresca activa se agrega entre cada ciclo. A pesar del régimen de temperatura relativamente bajo, este proceso rinde un alimento muy oscuro mientras que la producción de subproductos (térmicos) no convenientes se minimiza.

50 De acuerdo con esto, la invención proporciona un método para preparar un alimento oscuro, que comprende:

60 - proporcionar una mezcla de partida que comprende malta activa, agua y granos o una fracción de molienda de estos

- someter la mezcla de partida a al menos 3 ciclos de calentamiento, comprendiendo cada ciclo de calentamiento las etapas de

65 a) calentamiento a una temperatura de alrededor de 60 °C durante al menos 16 horas, continuando con

b) calentamiento a una temperatura de alrededor de 70 °C durante al menos 16 horas, continuando con

c) calentamiento a una temperatura de alrededor de 80 °C durante al menos 16 horas, continuando con

d) calentamiento a una temperatura de alrededor de 90 °C durante al menos 16 horas, continuando con

e) refrigeración a una temperatura por debajo de alrededor de 10 °C y mantener dicha temperatura durante al menos 10 horas

- en el que se agrega malta activa adicional a la mezcla entre cada ciclo de calentamiento.

Mediante el calentamiento de la mezcla de partida que comprende agua, granos y malta activa se activan dos tipos de enzimas. La malta activa comprende  $\alpha$ -amilasa que corta al azar las moléculas de almidón largas en los granos para aumentar el nivel de azúcares reductores. La  $\beta$ -amilasa que se presenta de manera natural en los granos es una exoenzima y actúa en los extremos de reducción del almidón digerido para producir maltosa. La maltosa contribuye a la formación de un color marrón mediante la reacción de Maillard, que se denomina también como oscurecimiento no enzimático. Entre los diversos productos de reacción se encuentran productos de pigmentación marrón insolubles, "melanoidinas" que tienen estructuras, pesos moleculares y contenido de nitrógeno variables.

De este modo, el protocolo de calentamiento por etapas en un método de la invención asegura que el almidón presente en los granos se convierta de manera adecuada en azúcares reductores, lo que facilita la reacción de oscurecimiento, mientras que la temperatura se mantiene moderada para evitar la formación de subproductos no convenientes, en particular, acrilamida. El calentamiento hasta 90 °C y refrigeración por debajo de 10 °C, por ejemplo, alrededor de 5 °C, son importantes para asegurar que la suspensión de alimentos oscuros, que se obtienen pueda almacenarse y conservarse hasta uso posterior.

La duración exacta de cada etapa de calentamiento y/o refrigeración pueden ajustarse fácilmente para encajar en un proceso viable desde el punto de vista económico. Por ejemplo, una o más etapas de las etapas a) a e) pueden llevarse a cabo durante hasta 48 horas, preferiblemente, hasta 30 horas. Mientras que se obtuvieron resultados satisfactorios cuando se repitió el protocolo de calentamiento tres veces, se obtuvo un alimento de color inclusive más oscuro en el que el método comprende 4 ciclos de calentamiento. Cinco o más ciclos no demostraron agregar la intensidad de coloración.

La refrigeración a una temperatura por debajo de alrededor de 10 °C puede llevarse a cabo de diversas maneras. En una realización, la mezcla calentada se enfría rápidamente, por ejemplo, dentro de algunas horas, por debajo de 10 °C. En otra realización, esta incluye una etapa de refrigeración a una temperatura intermedia, por ejemplo, en el rango de 50-70 °C durante un período de tiempo de varias horas, continuando con una segunda etapa de refrigeración por debajo de alrededor de 5 °C. Se obtuvieron buenos resultados con un primer período de refrigeración a alrededor de 60 °C durante 24 horas, y un período de refrigeración posterior a alrededor de 5 °C durante 24 horas.

Un método de la invención usa como material de partida una mezcla de agua, granos y malta activa. Según se usa en la presente, el término "malta activa" se refiere a cualquier composición de malta o extracto de malta que comprende alfa-amilasa. Por ejemplo, comprende malta diastática, malta tratada con amilasa, o una mezcla de estas. Puede obtenerse malta activa a partir de diversos granos. La cebada es el grano más comúnmente malteado, en parte debido a su alto poder diastático o contenido enzimático, aunque se usan también trigo, centeno, avenas y arroz. Preferiblemente, una mezcla de partida para uso en la presente invención comprende malta activa derivada a partir de cebada malteada.

Puede obtenerse buenos resultados cuando la mezcla de partida comprende malta activa en una cantidad del 1,8-2,2% en peso sobre la base del peso total de los granos. Cantidades por debajo del 1,8% pueden usarse en combinación con tiempos de incubación prolongados, por ejemplo, al menos, 20 horas, por una o más etapas. Las cantidades por encima del 2,2% no demostraron aumentar el oscurecimiento.

Un método de la invención se caracteriza además porque la malta activa adicional se agrega entre cada ciclo de calentamiento. En una realización, la malta activa adicional se agrega en una cantidad del 90-150% de la cantidad agregada que se usa en el ciclo de calentamiento anterior. Más específicamente, se descubrió que se obtuvieron muy buenos resultados cuando una cantidad de malta activa en incremento de manera gradual se agregó en cada etapa. En una realización preferida, la malta activa adicional se agrega en una cantidad del 110-150% de la cantidad agregada que se usa en el ciclo de calentamiento anterior.

Normalmente, una mezcla de partida comprende agua en una cantidad de 2-3 litros por kg de peso de granos. La mezcla puede contener, además, ingredientes basados en cereales. En una realización preferida, la mezcla de partida comprende una fracción de molienda de un grano. El término "fracción de molienda", en el contexto de la presente invención, se refiere a todas o parte de las fracciones que resultan a partir de reducción mecánica del tamaño de grano, a través de, como ejemplos pero sin limitación, corte, amasado, trituración, fractura o molienda, con o sin fraccionamiento, a través de, como ejemplos pero sin limitación, tamizado, selección, separación, soplado, aspiración,

- 5 separación centrífuga, separación por aire, separación electrostática, o separación por campo eléctrico. Fracciones de molienda de ejemplo incluyen salvado y harina de endospermo. El uso de una fracción de molienda en la preparación de un alimento de coloración de la invención contribuye a una distribución más homogénea del color oscuro en el producto alimenticio final. Por ejemplo, partículas en el rango de alrededor de 200-300, como 250  $\mu\text{m}$ , resultan particularmente adecuadas para preparar un alimento oscuro para uso en la fabricación de un pan integral que se colorea de manera homogénea.
- 10 El término "salvado" en el contexto de la presente invención, se refiere a una fracción de molienda a partir de un grano que se enriquece en alguno o todos de los tejidos que se seleccionan a partir de aleurona, pericarpio, sépalos, pétalos y revestimiento de la semilla, según se comparan con el grano intacto correspondiente. El salvado que se usa en esta invención puede además extrudirse o granularse, continuando con molienda u otra forma de homogeneización física. El término "harina de endospermo" se refiere en el contexto de la presente invención a un polvo que se obtiene mediante molienda de grano de cereal después del retiro de parte o la totalidad de las fracciones de salvado y germen
- 15 y contiene en mayor parte, de este modo, la fracción de endospermo del grano. La harina de endospermo tiene normalmente un contenido de mineral (contenido de ceniza) de entre el 0,3% y el 1,4% (p/p en DM), según se determina al pesar la masa de ceniza que permanece después de que una muestra se incinera en un horno a temperaturas normalmente entre 55 °C y 90 °C.
- 20 En una realización específica, el salvado (trigo) se tritura finamente en partículas de menos de alrededor de 2  $\mu\text{m}$ , después de lo cual se somete a un procedimiento de separación por aire para obtener una fracción pesada que se enriquece con almidón. Esta fracción, también denominada como "harina de salvado (trigo) enriquecida con almidón" se usa de manera ventajosa en una mezcla de partida de la presente invención. Por ejemplo, la "harina de salvado de trigo enriquecida con almidón" se combina con salvado de trigo, preferiblemente salvado que se tritura finamente a
- 25 partículas de menos de alrededor de 2  $\mu\text{m}$ .
- La adición de trigo triturado, trigo quebrado, salvado de trigo o cualquier fracción o combinación de estos demostró tener efectos ventajosos en cuanto a la consistencia del alimento de coloración final. En una realización preferida, una mezcla de trigo triturado y salvado de trigo se usa, por ejemplo, en una proporción de 2:1 a 1:2 (p/p) para preparar un
- 30 alimento de color oscuro.
- La invención proporciona además un alimento oscuro que se puede obtener mediante un método de acuerdo con la invención. Tal alimento se caracteriza entre otros debido a un contenido de acrilamida muy bajo que se combina con un color marrón oscuro y/o un contenido de fibra dietética alto, preferiblemente de al menos el 20%. En una realización, el contenido de acrilamida resulta menor que 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (materia seca). La fibra dietética total varía normalmente entre el 25 y 40%, como alrededor del 30-35%. La fibra dietética soluble varía normalmente entre el 3 y 10%, como alrededor del 4-7%. La fibra dietética insoluble varía normalmente entre el 20 y 40%, como alrededor del 25-35%. Estos porcentajes se refieren a p/p en DM.
- 35 Una realización adicional se refiere al uso de un alimento oscuro de acuerdo con la invención como un aditivo de coloración en un producto alimenticio, preferiblemente un producto alimenticio panificado, como un pan integral. Se proporciona además un producto alimenticio que comprende un alimento de color oscuro de la invención y métodos para producirlo.
- 40 Los documentos WO2006/128843 y DE 10 2005 025193 se refieren además a la reducción de niveles de acrilamida en alimentos de color. El documento WO2006/128843 usó asparaginasa y una enzima de hidrólisis adicional para reducir enzimáticamente la formación de acrilamida. El documento DE 10 2005 025193 enseña el uso de la eritrolosa de azúcar natural para la fabricación de un alimento, que se somete a oscurecimiento cuando se calienta, y en el que la eritrolosa contribuye al oscurecimiento. Los documentos WO2006/128843 y DE 10 2005 025193 no se refieren a, por lo tanto, colorantes de alimentos basados en malta. Además, cuando se usan en pan, los colorantes de
- 45 WO2006/128843 y DE 10 2005 025193 contribuyen solamente al oscurecimiento de la corteza de pan. En contraste, un alimento oscuro de la presente invención proporciona un color oscuro en todo el pan, a saber, no solo en la corteza sino que también en el interior.
- 50 Los colorantes de alimentos basados en malta como tales se conocen en la técnica. Véanse por ejemplo, EP 0458023 EP 0372243 o GB 408467. Sin embargo, estos se preparan mediante un proceso diferente, que incluye mayores temperaturas, tiempos de reacción, ciclos de reacción e ingredientes de reacción diferentes, conduciendo, de este modo, de manera inherente a productos diferentes desde el punto de vista técnico.
- 55 En particular, la invención proporciona un método para realizar un producto de pan, que comprende la mezcla de un alimento oscuro de acuerdo con la invención con levadura, harina, preferiblemente harina integral, agua y, de manera opcional, otros ingredientes de panificación para formar una masa y procesamiento adicional de la masa para obtener un producto de pan de color marrón prepanificado o panificado. El término "harina" se refiere en el contexto de la presente invención a un producto de tipo polvo en seco que se produce por molienda de granos de cereales o
- 60 fracciones de granos. El término "harina integral", en el contexto de la presente invención se refiere a un polvo que se obtiene mediante molienda de grano de cereal con o sin retiro de los sépalos y pétalos, con o sin retiro de parte de la capa de pericarpio externa, y con o sin retiro del germen. La palabra "integral" se refiere al hecho de que todo el grano
- 65

(salvado, germen, y endospermo) se usa y nada se pierde en el proceso de realización de la harina. Esto resulta en contraste con respecto a harinas blancas, refinadas que contienen solo el endospermo. Debido a que la harina integral contiene los restos de todo el grano, tiene una apariencia pardusca, texturizada. La harina integral tiene normalmente un contenido mineral (contenido de ceniza) mayor que el 1,4% (p/p en DM), según se determina mediante el peso de la masa de ceniza que permanece después de que una muestra se incinera en un horno. La masa puede comprender una fuente de fibras dietéticas adicionales. Además, se puede agregar gluten para proporcionar estabilidad. En una realización preferida, el gluten se presenta en una cantidad de alrededor del 10-20% en peso. Por ejemplo, alrededor de 12 gramos de gluten se agregan por kg de los otros componentes secos de la mezcla de partida.

Aditivos adicionales, preferiblemente a partir de una fuente natural, pueden agregarse para mejorar una o más propiedades de un pan. Por ejemplo, uno o más de aceite(s) vegetal puede contribuir a la estructura y blandura. Ejemplos de estos son aceite de soja, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de maíz, aceite de coco, aceite de cacahuete y aceite de palma. En una realización, es un aceite vegetal no hidrogenado, que se selecciona preferiblemente a partir del grupo que consiste de aceite de canola, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de linaza, aceite de palma, aceite de semilla de palma, aceite de maní, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja, y aceite de girasol. El aceite de coco se prefiere particularmente.

Los edulcorantes pueden agregarse para mejorar el sabor y oscurecimiento de la corteza. Edulcorantes preferidos incluyen azúcares sin refinar, por ejemplo, aquellos comprendidos en miel natural, jarabe de agave, o jarabe de arroz integral.

Como se apreciará por una persona experta en la técnica, la presente invención permite la fabricación de un producto de pan usando esencialmente solo ingredientes de origen natural. No requiere la adición de emulsionantes, enzimas exógenas de grado alimenticio y similares. De hecho, un pan de la invención puede prepararse a partir de una mezcla simple de harina, agua, levadura de panadería y sal, sin el uso de aditivos que pueden enumerarse como "Número E".

Se proporciona además un producto de pan que puede obtenerse mediante un método de acuerdo con la invención. En una realización preferida, el producto de pan es un pan de trigo integral, a saber, un tipo de pan que se realiza usando harina que se muele en parte o por completo a partir de granos de trigo integral o casi integral. Sinónimos o casi sinónimos para el pan de trigo integral en cualquier parte del mundo (tal como, por ejemplo, en UK) son pan de grano integral o pan de harina integral. Un pan de trigo integral puede recubrirse con granos de trigo enteros o granos fracturados, aunque esto resulta principalmente decorativo en comparación del valor nutricional de un pan de buena calidad en sí mismo. La composición exacta de pan de trigo integral varía de país en país e incluso dentro de un país. En algunos casos, el pan se realiza con harina integral que contiene la totalidad de las partes de componente del grano en las mismas proporciones como ocurren en la naturaleza, mientras que, en otros casos, el pan puede incluir solo cantidades representativas de salvado y germen de trigo.

Un pan de la invención se caracteriza entre otros por un contenido de acrilamida muy bajo. Tiene normalmente un contenido de poliacrilamida de menos de 30 µg/kg, y se caracteriza por un color marrón oscuro atractivo.

De manera importante, un pan de la invención no se produce mediante la reducción enzimática de la formación de acrilamida, por ejemplo, al usar asparaginasa según se divulga en WO2006/128843. Por lo tanto, un pan de acuerdo con la invención se encuentra esencialmente libre de asparaginasa y/u otras enzimas de hidrólisis para panificación tales como aquellas que se conocen en la técnica como Bakezyme HSP6000, Bakezyme A10000, Bakezyme GOX 10,000, Bakezyme MA 10,000, Bakezyme BXP501, Bakezyme W, Bakezyme XE, Pectinex y Lipopan F. En una realización, un pan de la invención se encuentra esencialmente libre de amilasa, xilanasas y lipasa. En un aspecto específico, un pan contiene menos de 50 ppm de asparaginasa (*A. niger*), y/o menos de 50 ppm de otra enzima de hidrólisis.

Un pan que se proporciona en la presente no contiene cantidades significativas de eritrosa ni productos de una reacción inducida por calor de esta lo que contribuye al oscurecimiento, según se describe en DE 10 2005 025193. Preferiblemente, contiene menos de alrededor del 0,1%, más preferiblemente, menos de alrededor del 0,01% en peso de eritrosa sobre la base del peso total del pan. El contenido de eritrosa puede determinarse mediante HPLC, por ejemplo, según se enseña por Vasic-Racki et al. (2003) Bioprocess Biosyst. Eng. 25, 285-290.

El color, a saber, el grado de oscurecimiento, de un pan puede definirse de acuerdo con la escala CIELAB mediante la medición de una muestra que se obtiene a partir del pan. Por ejemplo, el pan tiene un valor CIELAB L\* por debajo de 40, preferiblemente, por debajo de 35, más preferiblemente, por debajo de 30, que se combinan con un valor CIELAB a\* en el rango de alrededor de 7,5-9,0, preferiblemente, 8,0-9,0 y/o un valor CIELAB b\* de al menos 14, preferiblemente, al menos 15, más preferiblemente, al menos 16. Normalmente, el valor b\* de un pan que se proporciona en la presente se encuentra en el rango de 15-20.

Un producto de pan de la invención se caracteriza además por un contenido alto de fibra dietética. La fibra dietética total varía normalmente entre el 6 y 12%, como alrededor del 7-11%. La fibra dietética soluble varía normalmente entre el 4 y 9%, como alrededor del 5-7,5%. La fibra dietética insoluble varía normalmente entre el 1 y 3%, como alrededor

del 1,2-2,8%. Estos porcentajes se refieren a p/p sobre la base de DM. En un aspecto, la invención proporciona un producto de pan que tiene una o más de las siguientes características:

- 5 (i) un grado de oscurecimiento que se define mediante un valor CIELAB L\* por debajo de 40, preferiblemente, por debajo de 35, más preferiblemente, por debajo de 30, que se combina con un valor CIELAB a\* en el rango de alrededor de 7,5-9,0, preferiblemente, 8,0-9,0 y/o un valor CIELAB b\* de al menos 14, preferiblemente, al menos 15, más preferiblemente, al menos 16;
- 10 (ii) un contenido de acrilamida de menos de 30 µg/kg;
- 15 (iii) un contenido de fibra dietética total de al menos el 6%, preferiblemente, del 7-12%, un contenido de fibra dietética soluble entre el 4 y 9% y/o un contenido de fibra dietética insoluble entre el 1 y 3% (p/p de materia seca), en el que el producto de pan comprende preferiblemente menos del 0,01% de eritrosa sobre la base del peso total del pan y que comprende menos de 50 ppm de asparaginasa y/o menos de 50 ppm de otras enzimas de hidrólisis para panificación.

Por ejemplo, el producto de pan tiene (i) un grado de oscurecimiento que se define mediante un valor CIELAB L\* por debajo de 35, que se combina con un valor CIELAB a\* en el rango de alrededor de 7,5-9,0, y un valor CIELAB b\* de al menos 15; (ii) un contenido de acrilamida de menos de 30 µg/kg; (iii) un contenido de fibra dietética total entre el 7-11%, un contenido de fibra dietética soluble entre el 4 y 9% y un contenido de fibra dietética insoluble entre el 1 y 3% (p/p de materia seca).

Sección experimental

25 Ejemplo 1: Preparación de alimentos oscuros de ejemplo

Una mezcla de 30 kilogramos de fibras de trigo, 100 kilogramos de agua (20 °C) y 1500 gramos de malta activa que comprende alfa-amilasa se calentaron a una temperatura de 60 °C para iniciar un primer ciclo de calentamiento. Cada ciclo de calentamiento consiste de 24 horas de incubación a 60 °C, continuando con una incubación de 24 horas a 70 °C, continuando con una incubación de 24 horas a 80 °C, continuando con una incubación de 24 horas a 90 °C, continuando con refrigeración de la mezcla de reacción resultante a alrededor de 5 °C y permitiendo que la mezcla repose durante 24 horas. Antes de iniciar un segundo ciclo de calentamiento, se agregaron 1500 gramos de malta fresca activa. Este proceso se repitió cuatro veces para dar como resultado un alimento de color oscuro, denominado también en la presente como "color de malta de trigo".

35 El análisis del color de malta de trigo que se preparó de este modo reveló que contenía acrilamida no detectable (<30 µg/kg). El contenido de fibra dietética resultó como sigue a continuación:

|                                      | color de malta de trigo 28,5% ds | color de malta de trigo |
|--------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Fibra dietética soluble (AOAC) [S]   | 1,3%                             | 4,56%                   |
| Fibra dietética insoluble (AOAC) [S] | 8,0%                             | 28,0%                   |
| Fibra dietética total (AOAC) [S]     | 9,3%                             | 32,63%                  |
| Acrilamida [S]                       | No detectable                    |                         |
| (Q - DAkS D-PL-14602-01-00)          |                                  |                         |
| [S] = Subcontratada                  |                                  |                         |

40 Un segundo alimento oscuro de ejemplo se preparó de acuerdo con el protocolo de calentamiento anterior usando como mezcla de partida una combinación de los siguientes ingredientes:

25 kg de harina comercial Zeemeeuw (Meneba, Rotterdam, Los Países Bajos), que constituye una fracción enriquecida con almidón de harina de trigo integral que se obtiene mediante separación por aire, que tiene un contenido de proteína de alrededor del 8,5% en peso.

20 kg de salvado de trigo (Micro wheat bran) finamente triturada (<2µm)

120 litros de agua,

50 1500 gramos de malta diastática (Ireks).

Después del último ciclo de calentamiento, la mezcla se enfrió a 60 °C durante un período de tiempo de 24 horas, continuando con refrigeración a 5 °C durante un período de tiempo de 24 horas.

5

Ejemplo 2: Uso de un alimento oscuro en la preparación de pan integral

Este Ejemplo describe la preparación de pan integral de coloración oscura usando ya sea el primer color de malta de trigo que se preparó en el Ejemplo 1 (números de panes 1, 3, 5 y 7) o el agente de coloración derivado de malta convencional que se preparó mediante calentamiento de malta por encima de 100 °C. Cantidades diferentes de color de malta de trigo se usaron, en un rango de 400 a 2800 gramos por 3000 gramos de harina de trigo integral. El pan#0 de control de referencia no contenía agente de color.

10

15

Tabla 1: Ingredientes de las masas para preparar los diferentes panes integrales. Los asteriscos indican los panes de acuerdo con la invención.

| Pan | Harina (gr) | Alimento integral | Agua (gr) | Sal (gr) | Mejorador de pan <sup>1</sup> | Gluten | Color de malta de trigo <sup>2</sup> | s.t.m.gr. <sup>3</sup> | Levadura (gr) |
|-----|-------------|-------------------|-----------|----------|-------------------------------|--------|--------------------------------------|------------------------|---------------|
| 0   |             | 3000              | 1700      | 45       | 90                            | 0      | 0                                    | 0                      | 60            |
| 1*  |             | 3000              | 1500      | 45       | 90                            | 35     | 400                                  | 0                      | 70            |
| 2   | 3000        |                   | 1700      | 45       |                               | 45     | 0                                    | 200                    | 60            |
| 3*  |             | 3000              | 1200      | 45       | 90                            | 120    | 1000                                 | 0                      | 80            |
| 4   | 3000        |                   | 1700      | 45       |                               | 20     | 0                                    | 400                    | 60            |
| 5*  |             | 3000              | 1000      | 45       | 90                            | 180    | 2000                                 | 0                      | 100           |
| 6   | 3000        |                   | 1700      | 45       |                               | 20     | 0                                    | 600                    | 60            |
| 7*  |             | 3000              | 900       | 45       | 90                            | 250    | 2800                                 | 0                      | 120           |

<sup>1</sup> Mejorador de pan para pan de trigo integral que se obtiene de Sonneveld Group BV, Papendrecht, Los Países Bajos. Contiene grasa vegetal, dextrosa, gluten de trigo, emulsionantes, enzimas de grado alimenticio y ácido ascórbico.

<sup>2</sup> Color de malta de trigo (alimento oscuro de la invención) que se prepara de acuerdo con el Ejemplo 1.

<sup>3</sup> Mejorador de pan para pan integral oscuro que se comercializa con el nombre "Stevig donker meergranen" que se obtiene de Puratos, Groot Bijgaarden, Bélgica. Contiene malta, semillas de girasol, gluten de trigo, lupino, harina, linaza, mijo, salvado, maíz, grañones, dextrosa, semilla de sésamo, emulsionantes y ácido ascórbico.

20

Las masas se prepararon mediante mezcla de ingredientes y amasado de la mezcla resultante (velocidad baja de 4 minutos; velocidad alta de 5 minutos). La masa se pesó en porciones de 900 gramos. La temperatura de la masa fue de 27 °C. Un primer período de elevación de 45 minutos continuó con un segundo período de elevación de 70 minutos a 31 °C y una humedad relativa del 85%. La masa elevada se horneó en un horno a 230 °C durante 35 min.

Ejemplo 3: Caracterización de pan integral

25

Los panes que se prepararon en el Ejemplo 2 se caracterizaron con respecto al contenido de acrilamida, el contenido de fibra dietética y el color.

30

35

- El contenido de acrilamida se analizó usando espectrometría de masas en tándem de acuerdo con Hoenicke et al. (Anal. Chim. Acta 520 (2004) 207-215).
- La fibra dietética (total, soluble, insoluble) se determinó mediante un método enzimático-gravimétrico, regulador de MES-TRIS, de acuerdo con los Métodos Oficiales de la AOAC establecidos 991.43 (AOAC Official Methods of Analysis (1995), Cereal Foods, Chapter 32, pp. 7-9).
- El color se determinó cuantitativamente usando la escala CIELAB. CIE L\* a\* b\* (CIELAB) constituye el espacio de color más completo que se especifica por la International Commission on Illumination. Describe todos los colores visibles al ojo humano y se creó para servir como un modelo independiente de dispositivo para usarse como una

referencia. Las tres coordenadas de CIELAB representan la luminosidad del color ( $L^* = 0$  rinde negro y  $L^* = 100$  indica blanco difuso), su posición entre rojo/magenta y verde ( $a^*$ , valores negativos indican verde mientras que valores positivos indican magenta) y su posición entre amarillo y azul ( $b^*$ , valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo).

El pan se cortó en mitades con un cuchillo dentado y el ensayo se llevó a cabo con una muestra a partir de la parte interna (dentro del pan). Las condiciones para el equipo Minolta fueron: ILLUMINANT D65 OBSERVER 10°.

Tabla 2: Propiedades de los panes integrales que se producen usando diferentes agentes de color

| Pan # | Acrilamida (µg/kg) | Fibra dietética soluble (%) | Fibra dietética insoluble (%) | Fibra dietética total (%) | Valor L* de CIELAB | Valor a* de CIELAB | Valor b* de CIELAB |
|-------|--------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 0     | ND <sup>1</sup>    | 4,8                         | 1,1                           | 5,9                       | 46,01              | 8,45               | 21,38              |
| 1     | ND <sup>1</sup>    | 4,9                         | 1,1                           | 6,0                       | 47,03              | 7,99               | 19,99              |
| 2     | 34                 | 5,3                         | 1,4                           | 6,6                       | 32,00              | 7,89               | 15,60              |
| 3     | ND <sup>1</sup>    | 6,2                         | 1,2                           | 7,4                       | 36,64              | 8,68               | 18,87              |
| 4     | 39                 | 5,2                         | 1,2                           | 6,4                       | 28,70              | 7,45               | 12,84              |
| 5     | ND <sup>1</sup>    | 6,8                         | 1,6                           | 8,4                       | 29,05              | 8,81               | 17,69              |
| 6     | 49                 | 5,0                         | 1,2                           | 6,2                       | 21,72              | 6,38               | 11,00              |
| 7     | ND <sup>1</sup>    | 7,3                         | 2,6                           | 9,9                       | 26,06              | 8,68               | 16,39              |

<sup>1</sup> No detectable; por debajo del límite de detección de 30 µg/kg

Los resultados que se resumen en la tabla 2 conducen a las siguientes conclusiones:

- 1) La oscuridad de un pan que se produce con un color de malta de trigo alcanza un nivel que resulta comparable con respecto a un pan integral convencional. De manera interesante, el valor  $b^*$  significativamente mayor del pan#6 en comparación con el pan#7 muestra que el pan#6 de la invención tiene un color marrón más intenso que el pan#7, que tuvo una apariencia más grisácea.
  - 2) Un pan que se produce usando un color de malta de trigo de la invención contiene acrilamida no detectable. En contraste, el contenido de acrilamida de un pan convencional que comprende un agente de coloración de pan conocido aumenta con dosis / oscurecimiento en aumento del pan a un valor cercano de 50 µg/kg.
  - 3) El contenido de fibra dietética total de un pan que se produce con un color de malta de trigo aumenta hasta el 9,9%.
- En conjunto, un alimento oscuro de la invención permite que la producción de un pan integral tenga una apariencia marrón oscura atractiva mientras que evita un aumento de acrilamida dañina. Además, pueden obtenerse altos niveles de fibras dietéticas beneficiosas. Un producto de pan de la invención tiene, por lo tanto, beneficios saludables mejorados en comparación con los panes (de trigo integral) que se conocen actualmente.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un método para preparar alimento oscuro que comprende:
- proporcionar una mezcla de partida que comprende malta activa, agua y granos o una fracción de molienda de estos;
  - someter la mezcla de partida a al menos 3 ciclos de calentamiento, comprendiendo cada ciclo de calentamiento las etapas de
- 10 a) calentar a una temperatura de alrededor de 60 °C durante al menos 16 horas, continuando con
- b) calentar a una temperatura de alrededor de 70 °C durante al menos 16 horas, continuando con
- 15 c) calentar a una temperatura de alrededor de 80 °C durante al menos 16 horas, continuando con
- d) calentar a una temperatura de alrededor de 90 °C durante al menos 16 horas, continuando con
- 20 e) enfriar a una temperatura por debajo de 10 °C y mantener dicha temperatura durante al menos 10 horas; y
- en el que se agrega malta activa adicional a la mezcla entre cada ciclo de calentamiento.
2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que una o más de las etapas a) a e) se llevan a cabo durante hasta 48 horas, preferiblemente, hasta 30 horas.
- 25 3. Método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que se realizan 4 ciclos de calentamiento.
4. Método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la malta activa comprende malta diastática o malta que se trata con amilasa.
- 30 5. Método de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la malta activa deriva de cebada malteada.
6. Método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la mezcla de partida comprende malta activa en una cantidad del 1,8-2,2% en peso sobre la base del peso total de los granos o fracción de molienda de estos.
- 35 7. Método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la malta activa adicional se agrega en una cantidad del 100-150% de la cantidad agregada que se usa en el ciclo de calentamiento anterior.
- 40 8. Método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la mezcla de partida comprende agua en una cantidad de 2-3 litros por kg de peso de granos.
9. Método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la mezcla de partida comprende trigo, trigo triturado, trigo quebrado, salvado de trigo o cualquier combinación de estos.
- 45 10. Alimento oscuro que se puede obtener mediante un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 50 11. Uso de un alimento oscuro de acuerdo con la reivindicación 10 como un aditivo de coloración en un producto alimenticio, preferiblemente un producto alimenticio panificado, más preferiblemente, un pan.
12. Un método para realizar un producto de pan, que comprende la mezcla de un alimento oscuro de acuerdo con la reivindicación 10 con levadura, harina, agua y, de manera opcional, otros ingredientes de panificación para formar una masa y procesamiento adicional de la masa para obtener un producto de pan de color marrón prepanificado o panificado.
- 55 13. Método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la masa comprende además gluten.
14. Método de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en el que el procesamiento de la masa comprende que se permita que la masa eleve dos veces, y el horneado de la masa elevada a una temperatura de 220-240 °C.
- 60 15. Un producto de pan que se puede obtener mediante un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-14.
- 65 16. Un producto de pan de acuerdo con la reivindicación 15, que tiene las siguientes características:

## ES 2 729 401 T3

5 (i) un grado de oscurecimiento que se define mediante un valor CIELAB L\* por debajo de 40, preferiblemente, por debajo de 35, más preferiblemente, por debajo de 30, que se combina con un valor CIELAB a\* en el rango de 7,5-9,0, preferiblemente, 8,0-9,0 y/o un valor CIELAB b\* de al menos 14, preferiblemente, al menos 15, más preferiblemente, al menos 16;

(ii) un contenido de acrilamida de menos de 30 µg/kg;

10 (iii) un contenido de fibra dietética total de al menos el 6%, preferiblemente, 7-12%, un contenido de fibra dietética soluble entre el 4 y 9% y/o un contenido de fibra dietética insoluble entre el 1 y 3% (p/p de materia seca);

(iv) comprendiendo menos del 0,01% en peso de eritrosa sobre la base del peso total del pan; y

15 (v) comprendiendo menos de 50 ppm de asparaginasa y/o menos de 50 ppm de otras enzimas de hidrólisis para panificación.

17. Producto de pan de acuerdo con la reivindicación 16, que tiene

20 (i) un grado de oscurecimiento que se define mediante un valor CIELAB L\* por debajo de 35, que se combina con un valor CIELAB a\* en el rango de 7,5-9,0, y un valor CIELAB b\* de al menos 15;

(ii) un contenido de fibra dietética total entre el 7-11%, un contenido de fibra dietética soluble entre el 4 y 9% y un contenido de fibra dietética insoluble entre el 1 y 3% (p/p de materia seca).