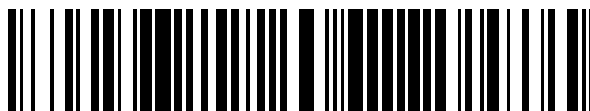


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 730 627**

51 Int. Cl.:

**A23F 5/24** (2006.01)

**A23F 5/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2014 PCT/DK2014/050212**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2016 WO16004949**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2014 E 14739663 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019 EP 3166417**

54 Título: **Producción de un producto de café instantáneo con alto rendimiento**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.11.2019**

73 Titular/es:  
**GEA PROCESS ENGINEERING A/S (100.0%)  
Gladsaxevej 305  
2860 Søborg, DK**

72 Inventor/es:  
**PEDERSEN, ANDERS HOLMEN;  
SØRENSEN, JAKOB KRYGER y  
HARALDSTED, HENRIK**

74 Agente/Representante:  
**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 730 627 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**

Producción de un producto de café instantáneo con alto rendimiento

5 Introducción

La presente invención se refiere a un proceso para la producción de un producto de café instantáneo con alto rendimiento y/o calidad. El rendimiento de sólidos totales en el producto de café instantáneo basado en la cantidad de sólidos de granos de café tostados y molidos puede ser del 65% o más.

10

Técnica anterior

Se producen aproximadamente 700.000 toneladas de café instantáneo cada año. El mayor coste de producción es el precio de los granos de café verde usados. Por tanto, existe un incentivo para reducir el consumo de granos verdes a partir del valor típico hoy en día de aproximadamente 2,4 kg de granos verdes/kg de polvo instantáneo seco.

15

Normalmente, 2,4 kg de granos verdes producen aproximadamente 1,0 kg de producto final. Las pérdidas proceden del tostado y la extracción, en los que normalmente 0,4 kg se eliminan mediante tostado y la extracción produce aproximadamente el 50% del resto. El nivel de rendimiento corresponde a la suma de los componentes solubles de manera natural normalmente de aproximadamente el 30% más aproximadamente un 20% adicional de componentes solubilizados recuperados usando técnicas avanzadas. El rendimiento del estado de la técnica encontrado en la bibliografía es del 54-60%.

20

La solubilización tradicional se hace mediante descomposición usando hidrólisis térmica, húmeda, a temperaturas elevadas. Un método avanzado para aumentar el rendimiento es aumentar la temperatura de hidrólisis húmeda hasta 180°C o más. Aunque una temperatura mayor aumentará la cantidad de productos de hidrólisis, la alta temperatura también contribuirá a la producción de aromas extraños, sustancias tóxicas y la degradación de componentes solubilizados.

25

30

Por tanto, ha habido una necesidad de llevar a cabo la solubilización mediante métodos a menor temperatura. La descomposición enzimática de los diversos carbohidratos poliméricos es una posibilidad interesante. Además, el coste de las enzimas usadas y del tratamiento térmico tiene que tenerse en cuenta en la evaluación económica global.

35

En la técnica anterior se han sugerido métodos avanzados para aumentar el rendimiento y reducir las complicaciones del proceso. Así, el documento GB 1.200.700 da a conocer el uso de goma de café soluble en agua adicional para mantener el aceite y los constituyentes aromatizantes del café. La goma de café seca soluble se mezcla preferiblemente con el café tostado antes de moler este último. Durante el mezclado y particularmente durante la molienda de la mezcla, las partículas de goma soluble seca sirven como absorbentes para el aceite y los constituyentes aromatizantes del café.

40

El documento US 8.603.562 se refiere a tensioactivos derivados del café que se proporcionan mediante reacciones de transesterificación catalizadas alcalinas de azúcares y aceite de café. Los tensioactivos derivados del café son especialmente útiles en la producción de emulsiones de aceite de café para su uso con, o su incorporación a, productos de café. Los tensioactivos derivados del café aumentan la incorporación de aceite de café a los productos de café con formación reducida de las denominadas "manchas de café". La incorporación del café al producto de café mantiene algo del aroma de café en el producto final.

45

Se han usado enzimas para aumentar la calidad o el rendimiento en varios documentos. Así, el documento US 5.714.183 da a conocer un método para hidrolizar galactomananos en un extracto de café líquido para reducir o eliminar la formación de un gel durante la congelación del extracto. El extracto de café líquido se produce hidrolizando el extracto con una beta-mananasa inmovilizada a una temperatura suficiente y durante un tiempo suficiente para eliminar galactomananos del extracto y formar un producto final que esté sustancialmente libre de beta-mananasa.

50

55

El documento US 4.983.408 da a conocer un método para producir un rendimiento mejorado de extracto de café que comprende: (1) pretratar una mezcla acuosa de posos de café con vapor en un recipiente cerrado a presión a una temperatura de más de 200°C; (2) mantener dicha temperatura y presión durante un periodo de desde aproximadamente 1-10 minutos; (3) exponer instantáneamente los contenidos de dicho recipiente a la atmósfera sin enfriamiento para llevar dichos contenidos a niveles atmosféricos; y (4) tratar la suspensión así obtenida con un elemento seleccionado del grupo que consiste en una enzima hidrolítica y una mezcla de enzimas hidrolíticas. El proceso produce subproductos de daño térmico y el rendimiento es inferior al óptimo.

60

Se han sugerido métodos basados en membrana en el documento EP1844661, que da a conocer un método para producir un extracto de café soluble, comprendiendo dicho método: (1) moler en húmedo finamente sólidos de café

65

5 tostados para formar una suspensión de café que contiene sólidos de café; (2) tratar la suspensión de café con una cantidad eficaz de una enzima en forma de una composición enzimática estabilizada a una temperatura y durante un tiempo suficiente para hidrolizar los sólidos de café para formar un material de extracto de café soluble, comprendiendo la composición enzimática estabilizada la enzima y una cantidad eficaz de un material derivado del café para estabilizar la enzima; y (3) separar el material de extracto de café soluble en un retenido y un permeado, comprendiendo el permeado el extracto de café soluble.

10 El documento EP 1.745.702 también se refiere a un método a base de membrana, en el que se produce un extracto de café moliendo en húmedo finalmente granos de café o café molido o posos de café extraídos previamente con enzimas hidrolasa, preferiblemente enzimas carbohidrasa o proteasa, por ejemplo, glucanasas y mananasas, o mezclas de las mismas, comprendiendo las mezclas preferiblemente enzimas mananasa, celulasa y proteasa, y reteniéndose las enzimas en la zona de reacción, mediante el uso de un dispositivo de membrana, de modo que el extracto terminado carece esencialmente de enzima, aceite o materiales particulados y la(s) enzima(s) puede(n) reutilizarse eventualmente. El proceso da como resultado una zona de reacción en la que solo está presente una pequeña cantidad de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF), porque el 5-HMF penetra en la membrana y por tanto no inhibe la actividad enzimática.

20 En el documento EP 1.745.702 se da a conocer que el 5-HMF puede conferir un sabor a vino o similar al heno no deseable (página 229 de Coffee Flavour Chemistry, Ivon Flament, Wiley 2002). Los presentes inventores han descubierto que el 5-HMF y otros productos de descomposición térmica también inhiben gravemente la actividad de muchas enzimas. Sin embargo, la sugerencia de usar un proceso basado en membrana aumenta la complejidad del proceso global y la inversión necesaria en el proceso. La presente invención sugiere un diseño de proceso que evite o reduzca la presencia de 5-hidroximetilfurfural (5-HMF) y otros productos de descomposición no deseados durante la acción de las enzimas hidrolizantes, mejorando de ese modo las condiciones de reacción para las enzimas.

25 Breve descripción de la invención

30 La presente invención se refiere a un proceso para la producción de un producto de café instantáneo con alto rendimiento, que comprende las etapas de

a) extraer granos de café tostados y molidos con agua que tiene una temperatura de 80°C o menos, para producir un primer extracto y posos de café gastados, y pretratar los posos de café gastados, implicando el pretratamiento

- 35 • la adición de agua a los posos de café gastados,
- someter a explosión con vapor los posos de café gastados, realizándose la explosión con vapor en el intervalo de temperatura de 50-170°C, a una presión de 0,1 a 10 bar durante de 0,1 a 5 horas, y
- 40 • separar en un extracto intermedio y posos de café gastados pretratados,

b) añadir agua a los posos de café gastados pretratados para producir una suspensión acuosa,

45 c) hidrolizar la suspensión acuosa usando una enzima hidrolizante para producir un segundo extracto y restos gastados,

d) añadir el extracto primero y el intermedio al segundo extracto, opcionalmente tras concentración y/o secado del extracto intermedio y/o el segundo, para obtener un extracto combinado, y

50 e) secar el extracto combinado para obtener un producto de café instantáneo.

55 El proceso de extracción inicial para los granos de café tostados y molidos se realiza a una baja temperatura, es decir por debajo de 80°C. La baja temperatura da como resultado una producción reducida de 5-HMF y otros productos de descomposición y menos daño a los compuestos aromáticos. En la etapa de hidrolización posterior, las enzimas hidrolizantes no se inhiben sustancialmente por el 5-HMT y otros productos de descomposición, lo que da como resultado un mayor rendimiento del segundo extracto. Además, componentes aromáticos volátiles y componentes aromáticos descompuestos a temperaturas superiores se retienen en el primer extracto. Aunque la primera extracción puede realizarse a cualquier temperatura por debajo de 80°C siempre que el extracto sea líquido, generalmente la etapa de extracción a) se realiza a una temperatura en el intervalo de 10-80°C. Preferiblemente, la primera extracción se realiza a de 15°C a 45°C, lo más preferiblemente a temperatura ambiente, para impedir que la temperatura del agua contribuya a la producción de productos de descomposición.

65 El tiempo usado para extraer los componentes solubles en el primer proceso de extracción varía con la temperatura del agua, el tamaño de partícula molido, el gradiente de concentración y el contacto agua-partícula. Generalmente, el tiempo de extracción es mayor para agua fría que para agua caliente. En un aspecto de la invención, la etapa de extracción a) se realiza en un intervalo de tiempo de 5 min a 2 horas.

Las enzimas hidrolizantes usadas pueden descomponer uno o más de los diversos constituyentes químicos de los posos de café gastados, tales como carbohidratos, por ejemplo, celulosa, hemicelulosa, y almidón; lignina; proteínas; lípidos; ácidos nucleicos; etc. Los productos de descomposición son preferiblemente solubles en agua. Según un aspecto preferido, la enzima hidrolizante se selecciona de entre enzimas que hidrolizan carbohidratos o enzimas que hidrolizan ésteres carboxílicos o cualquier combinación de tales enzimas.

Las condiciones para la reacción de hidrólisis enzimática pueden variar dependiendo del tipo y la actividad de la enzima usada, la temperatura de los medios de reacción, el pH, etc. En una realización preferida, la etapa de hidrólisis c) se realiza en una suspensión acuosa de posos de café gastados a una temperatura en el intervalo de 40-80°C, a pH 4-7, en un intervalo de tiempo de 1-16 horas.

Para ayudar a la reacción enzimática, puede ser adecuado que esté presente un agente auxiliar durante la etapa de hidrólisis c). Los ejemplos de agentes auxiliares incluyen controladores de la acidez, tensioactivos, quelantes, cofactores, etc. En un determinado aspecto de la invención, el agente auxiliar es un tensioactivo. Un tensioactivo mejora el rendimiento significativamente, y puede incluso derivarse del café.

Un tensioactivo derivado del café puede producirse mediante medios químicos, tal como se da a conocer en el documento US 8.603.562, incorporándose el contenido técnico al presente documento como referencia. En un aspecto preferido, el tensioactivo derivado del café puede obtenerse

i. digiriendo posos de café gastados con una enzima que hidroliza carbohidratos para obtener fragmentos de carbohidratos, y

ii. añadiendo a los fragmentos de carbohidratos un aceite de café y una enzima que hidroliza ésteres carboxílicos en condiciones que permiten la transesterificación.

La enzima que hidroliza carbohidratos puede elegirse de un gran grupo de enzimas disponibles comercialmente. En una realización de la invención, la enzima que hidroliza carbohidratos se selecciona del grupo que comprende celulasa, xilanasas, hemicelulosa, o cualquier combinación de estas enzimas.

De manera similar, la enzima que hidroliza ésteres carboxílicos puede elegirse de un gran grupo de enzimas disponibles comercialmente. En una realización de la invención, la enzima que hidroliza ésteres carboxílicos se selecciona de esterasa, lipasa, o cualquier combinación de las mismas.

El aceite de café usado para la preparación del tensioactivo derivado del café puede estar presente de manera inherente en los granos de café molidos o el aceite de café puede añadirse. Si se añade, el aceite de café se deriva de extractos de granos de café verdes, de café tostado y molido o de posos de café gastados.

Aunque el tensioactivo derivado del café puede producirse por separado, también es posible en una determinada realización de la invención que el tensioactivo derivado del café se obtenga *in situ* durante la etapa de hidrolización mediante la adición de una enzima que hidroliza ésteres carboxílicos y opcionalmente un aceite de café a la suspensión acuosa. La enzima que hidroliza ésteres carboxílicos realizará una transesterificación en la que se añaden grupos lipófilos del aceite de café a componentes de carbohidratos.

Después de la primera, pero antes de la segunda extracción, los posos de café gastados se pretratan antes de la hidrólisis enzimática. El pretratamiento se realiza para hacer que sea más fácil para las enzimas acceder a su sustrato. El pretratamiento puede implicar la exposición del interior de las células vegetales y/o el desprendimiento de la lignina de la celulosa. El pretratamiento implica

- la adición de agua a los posos de café gastados,
- la explosión con vapor de los posos de café gastados, y
- separar en un extracto intermedio y posos de café gastados pretratados.

El procedimiento de explosión con vapor se controla de modo que el extracto intermedio, ya sea como tal, concentrado y/o secado, se añade al extracto combinado.

Si solo se realiza una explosión con vapor a temperatura "suave", la cantidad de aromas extraños es generalmente baja y aceptable. Por tanto, el extracto intermedio puede añadirse al extracto combinado. Las condiciones para la explosión con vapor implican que la explosión con vapor se realiza en el intervalo de temperatura de 50-170°C, a una presión de 0,1 a 10 bar durante de 0,1 a 5 horas.

Para soltar la estructura de la lignocelulosa y para romper parcialmente la estructura de la hemicelulosa puede ser ventajoso usar un determinado régimen de temperaturas para el pretratamiento. El régimen de temperaturas puede comprender en cualquier orden

- 5
- un periodo de tratamiento a baja temperatura en el intervalo de temperatura de 25 a 150°C durante de 1 min a 24 horas, y
  - un periodo de tratamiento a alta temperatura en el intervalo de temperatura de 100 a 200°C durante de 1 min a 24 horas.

10 La explosión con vapor puede realizarse por separado o puede estar integrada en el régimen de temperaturas. En un aspecto preferido de la invención, la explosión con vapor se realiza durante el periodo de tratamiento a alta temperatura.

15 Entre las etapas de explosión con vapor y de tratamiento enzimático son beneficiosos procedimientos de lavado, dado que aumentarán la eficacia de las enzimas. Tales procedimientos eliminan los inhibidores enzimáticos y potencian el proceso. El agua de lavado puede incluirse en el extracto combinado.

Tras la hidrólisis enzimática, el segundo extracto puede tratarse posteriormente o bien

- 20
- calentando hasta una temperatura por encima de 70°C en un tiempo suficiente para inactivar la enzima, normalmente 120°C durante 10-30 min, y eliminar posiblemente las enzimas coaguladas o
  - filtrando con membrana para eliminar la enzima, que opcionalmente se reutiliza en la etapa (c).

25 Los granos de café tostados y molidos usados en la etapa (a) pueden dividirse finalmente hasta un tamaño adecuado normalmente de entre 0,2-5 mm. En la etapa de hidrólisis enzimática posterior (c) los posos de café gastados pueden dividirse adicionalmente en partículas más pequeñas para facilitar el acceso para las enzimas. En un aspecto preferido, los posos de café gastados se dividen finalmente en un tamaño medio de partícula en el intervalo de 2-1000  $\mu\text{m}$ , preferiblemente hasta 30-500  $\mu\text{m}$  antes del tratamiento enzimático.

30 Antes de la etapa (a), puede eliminarse aceite de café de los granos de café mediante prensado u otros medios. La eliminación del aceite puede tener un efecto positivo sobre la hidrólisis enzimática. Este aceite de café puede usarse para varios propósitos después, por ejemplo, puede añadirse al extracto o producto final, o puede usarse para la producción de un tensioactivo derivado del café.

35 La invención proporciona un alto rendimiento mediante la producción de extractos primero, intermedio y segundo. En un aspecto preferido, el rendimiento de sólidos totales en el producto de café instantáneo, basado en la cantidad de granos de café tostados y molidos, es del 65%, del 70% o del 75% en peso o más.

40 Los extractos combinados o uno o más del extracto primero, intermedio y segundo pueden concentrarse mediante filtración con membrana antes del secado por pulverización o liofilización posterior. En un aspecto de la invención, el extracto se filtra con membrana para reciclar el permeado acuoso, que puede ser ligeramente ácido, para su reutilización en el proceso. Como el primer extracto contiene componentes aromáticos volátiles, generalmente se desea que el primer extracto se concentre de una manera que conserve el aroma, tal como concentración por congelación.

#### Descripción detallada

50 Un componente importante de la presente invención es el uso de una o más enzimas. Los tipos de enzimas que pueden emplearse incluyen, pero no se limitan a, amilasa, mananasa, hemicelulasa, glucanasa, celulasa, esterasa, proteasa, celobiasa, arabinasa, galactanasa, arabino-galactanasa, nucleasa, pectinasa, isomerasa, ligninasa, pectinasa y lipasa. Estas enzimas pueden emplearse individualmente o en combinación en dosis relativamente pequeñas del 0,01-2,0% de concentrado de enzima en relación con el constituyente de sustrato en una cantidad dada de agua.

60 Los ejemplos específicos de enzimas de hidrolizan carbohidratos incluyen  $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -galactosidasa, 6-fosfo- $\beta$ -glucosidasa, 6-fosfo- $\beta$ -galactosidasa,  $\beta$ -manosidasa,  $\beta$ -D-fucosidasa,  $\beta$ -glucuronidasa, exo- $\beta$ -glucosaminidasas, manosilglicoproteína endo- $\beta$ -manosidasa,  $\beta$ -D-glucosidasa,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidasa,  $\beta$ -D-xilopiranosidasa, N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasas,  $\beta$ -D-glucano glucosidasa,  $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa,  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -galactosidasa,  $\alpha$ -glucuronidasa, 6-fosfo- $\alpha$ -glucosidasa, 6-fosfo- $\beta$ -glucosidasa, endo-glucanasa, endo-mananasa, exo-glucanasa, exo-mananasa, 1,6-galactanasa, 1,3-mananasa, 1,4-xilanasas, endo-glicoceramidasa, xiloglucanasa, celobiohidrolasa, endo-1,4- $\beta$ -glucanasa, quitosanasa, endo-1,3-1,4- $\beta$ -glucanasa, liqueninasa, endo-1,4- $\beta$ -xilanasas, exo-oligoxilanasas, endo- $\beta$ -1,3-xilanasas, endo-glicanasas, endo- $\beta$ -1,4-xilanasas,  $\alpha$ -amilasa, transglucosidasas, oligo-1,6-glucosidasa, pululanasa, ciclomaltodextrinasa,  $\alpha$ -amilasa que forma maltotetraosa, isoamilasa, dextrano glucosidasa, trehalosa-6-

fosfato hidrolasa,  $\alpha$ -amilasa que forma maltohexaosa,  $\alpha$ -amilasa que forma maltotriosa, amilasa maltogénica, neopolulanasas, malto-oligosiltrehalosa trehalohidrolasa, dextrinasa límite,  $\alpha$ -amilasa que forma maltopentaosa, amilosucrasa, sacarosa fosforilasa, ciclomaltodextrina glucanotransferasa, 4- $\alpha$ -glucanotransferasa, isomaltulosa sintasa, trehalosa sintasa, amiloglucosidasa, glucodextranasa,  $\alpha,\alpha$ -trehalasa, endo-transglucosilasa, xiloglucosiltransferasas, queratán-sulfato endo-1,4- $\beta$ -galactosidasa, endo-1,3- $\beta$ -galactanasas, endo-1,3- $\beta$ -glucanasa, endo-1,3(4)- $\beta$ -glucanasa, exo-1,3(4)- $\beta$ -glucanasa, liquenasa,  $\beta$ -agarasa,  $\beta$ -porfiranasa,  $\kappa$ -carragenasa, 1,3- $\beta$ -D-glucano endohidrolasa, 1,3;1,4- $\beta$ -D-glucano endohidrolasa, 1,3- $\beta$ -D-glucano exohidrolasa, quitinasa, endo-p-N-acetilglucosaminidasa, exo- $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa,  $\beta$ -N-acetilgalactosaminidasa,  $\beta$ -6-SO<sub>3</sub>-N-acetilglucosaminidasa, exo-lacto-N-biosidasa, muramidasa, peptidoglicano N-acetilmuramoidhidrolasa, 1,4- $\beta$ -N-acetilmuramidasa, N-acetilmuramoidhidrolasa,  $\beta$ -1,4-N-acetilmuramidasa,  $\beta$ -1,4-N,6-O-diacetilmuramidasa, endo- $\beta$ -1,4-mananasa, exo- $\beta$ -mananasa,  $\beta$ -1,3:1,4-glucanasa,  $\beta$ -1,3-xilanasa,  $\alpha$ -galactosidasa,  $\alpha$ -N-acetilgalactosaminidasa, isomaltodextranasa, poligalacturonasa, pectinasa, rhamnoidhidrolasa, rhamnogalacturonano galacturonohidrolasa, exo- $\alpha$ -fucosidasa, glucuronoxilano xilanohidrolasa,  $\alpha$ -xilosidasa, isomaltosiltransferasa, maltasa amilasa, glucoamilasa, exo-inulinasa, levanasa,  $\beta$ -2,6-fructano 6-levanobiohidrolasa, fructano  $\beta$ -(2,1)-fructosidasa, fructano  $\beta$ -1-exohidrolasa, fructano  $\beta$ -(2,6)-fructosidasa, fructano  $\beta$ -6-exohidrolasa, sacarosa 1-fructosiltransferasa, fructano 1-fructosiltransferasa, fructano 6-fructosiltransferasa, fructano 6G-fructosiltransferasa, levano fructosiltransferasa, exo- $\beta$ -glucosaminidasa,  $\alpha$ -N-acetilgalactosaminidasa,  $\alpha$ -manosidasa II,  $\beta$ -xilosidasa,  $\alpha$ -L-iduronidasa,  $\alpha$ -L-arabinosidasa,  $\beta$ -D-fucosidasa,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidasa, endo- $\alpha$ -L-arabinanasa, exo- $\alpha$ -1,3-galactanasa,  $\beta$ -D-xilosidasa, arabinoxilano  $\alpha$ -L-arabinofuranohidrolasa, arabinoxilano arabinofuranohidrolasa-D3, exo- $\alpha$ -1,5-L-arabinanasa, endo- $\beta$ -1,4-quitosanasa, exo- $\alpha$ -1,2-manosidasa, ER- $\alpha$ -manosidasa I, arilo  $\alpha$ -D-manosidasa, dextranasa, dextrano 1,6- $\alpha$ -isomaltotriosidasa, isopolulanasas, exo- $\beta$ -agarasa,  $\beta$ -1,4-galactanasa,  $\beta$ -xilosidasa,  $\beta$ -1,3-glucanasa, exo-glucano-1,3- $\beta$ -glucosidasa, amilopolulanasas, 4- $\alpha$ -glucanotransferasa, endo-N-acetilneuraminidasa, exo- $\alpha$ -glucosidasas, manosil-oligosacárido glucosidasa, maltosa (Glc- $\alpha$ -1,4-Glc) fosforilasa, trehalosa (Glc- $\alpha$ 1, $\alpha$ 1-Glc) fosforilasa, kojibiosa (Glc- $\alpha$ -1,2-Glc) fosforilasa, trehalosa 6-fosfato (Glc- $\alpha$ 1, $\alpha$ 1-Glc6P) fosforilasa, endo-dextranasa, cicloisomaltooligosacárido glucanotransferasa,  $\alpha$ -glucuronidasa,  $\beta$ -xilosidasas, levanosucrasa,  $\beta$ -fructofuranosidasa, inulosucrasa, glucanosucrasa, dextranosucrasa, alternanosucrasa, mutanosucrasa, reuteranosucrasa, xiloglucanobiohidrolasa, oligoxiloglucano celobiohidrolasa, xiloglucano endo- $\beta$ -1,4-glucanasa, xiloglucano hidrolasa,  $\beta$ -glucuronidasa,  $\beta$ -4-O-metil-glucuronidasa, baicalina  $\beta$ -glucuronidasa, heparanasa, hialuronidasa, endo- $\beta$ -1,4-quitosanasa, i-carragenanasa,  $\beta$ -N-acetilhialuronidasa, endo- $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa,  $\beta$ -agarasa,  $\alpha$ -N-acetilglucosaminidasa, exo- $\alpha$ -manosidasa,  $\alpha$ -1,2-manosidasa,  $\alpha$ -1,3-manosidasa,  $\alpha$ -1,4-manosidasa,  $\alpha$ -1,6-manosidasa,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidasa, celobiosa (Glc-( $\beta$ 1,4-Glc) fosforilasa, celodextrina ((Glc-( $\beta$ 1,4)-n-1Glc; n  $\geq$  3) fosforilasa, N,N'-diacetilo quitobiosa (GlcNAc- $\beta$ 1,4-GlcNAc) fosforilasa, 1,2- $\alpha$ -L-fucosidasa, endo- $\beta$ -galactosidasa, endo- $\alpha$ -manosidasa, exo-glucosidasa I, exo-glucosidasa II, transglucosilasa B lítica, peptidoglicano liasa,  $\alpha$ -1,3-galactosidasa,  $\beta$ -galactósido fosforilasa,  $\beta$ -1,3-D-galactosil-D-hexososamina fosforilasa,  $\beta$ -1,4-D-galactosil-L-rhamnosa fosforilasa, galacto-N-biosa fosforilasa, lacto-N-biosa I fosforilasa, galacto-N-biosa I fosforilasa, lacto-N-biosa I fosforilasa,  $\alpha$ -glucuronidasa, (4-O-metil)- $\alpha$ -glucuronidasa, ácido  $\beta$ -glucosidasa, glucocerebrosidasa,  $\alpha$ -1,3-L-(3,6-anhidro)-galactosidasa,  $\beta$ -L-arabinobiosidasas,  $\beta$ -L-arabinofuranosidasa, endo- $\beta$ -1,4-glucanasa, metilo 6-O-( $\alpha$ -D-manopiranosil)- $\beta$ -D-manopiranosidasa, metilo  $\beta$ -L-arabinofuranosidasa, endo- $\alpha$ -N-acetilgalactosaminidasa, exo- $\alpha$ -N-acetilgalactosaminidasa, exo- $\beta$ -1,3-glucanasa, exo-1,6- glucanasa.

Los ejemplos específicos de enzimas que hidrolizan ésteres carboxílicos incluyen acetiltransferasa, aciltransferasa, glicolipasa, triacilglicerol lipasa de *Aspergillus niger*, triacilglicerol lipasa de *Candida antarctica*, triacilglicerol lipasa de levadura, triacilglicerol lipasa de *Trichoderma longibrachiatum*, esterol esterasa, acilglicerol lipasa, éster ceroso hidrolasa, y monoterpeno épsilon-lactona hidrolasa.

En algunas realizaciones de la presente invención se usa explosión con vapor para aumentar el acceso a los constituyentes vegetales para las enzimas. La explosión con vapor implica poner café molido gastado en un recipiente a presión y poner en contacto los contenidos con vapor a temperaturas elevadas y presiones mayores que las ambientales. El tratamiento con temperatura y presión va seguido de descompresión rápida hasta niveles atmosféricos. Exponiendo los contenidos del recipiente a la atmósfera de modo que la presión dentro del recipiente se libere instantáneamente sin enfriar, el material vegetal del café molido gastado "explota" debido a la mayor presión dentro del material vegetal. La explosión con vapor da como resultado la ruptura celular y el aumento del tamaño de poro, lo que aumenta el área superficial y hace que el interior de las células esté disponible para la acción enzimática.

Aunque los tamaños de partícula del café molido pueden seleccionarse dentro de grandes intervalos, generalmente se desea un tamaño de partícula pequeño para obtener una gran área superficial. Un tamaño de partícula pequeño potencia en general la eficacia enzimática. Pruebas han demostrado que tamaños de partícula cada vez más pequeños, y la micropulverización hasta menos de 100  $\mu$ m, proporcionan rendimientos cada vez mayores como pretratamiento del sustrato para la hidrólisis enzimática.

El grano de café molido puede molerse en dos o más etapas mediante molienda o bien en seco o bien en húmedo. Por tanto, puede producirse una primera molienda cuando se prepara el grano de café molido usado para la producción del primer extracto. Puede realizarse una segunda molienda como molienda en húmedo de los posos de café gastados antes de la hidrólisis enzimática. La segunda molienda en húmedo puede producirse antes o después de la explosión con vapor dependiendo de las circunstancias. Se prefiere la molienda en húmedo hasta un tamaño

medio de partícula de 10 a 250 µm. La distribución de tamaño de partícula acumulativa del café molido gastado molido en húmedo comprende que aproximadamente el 90% o más de las partículas estén por debajo de 150 µm, preferiblemente por debajo de 100 µm y en algunos casos por debajo de 50 µm.

5 En general es aceptable cualquier equipo que pueda moler en húmedo hasta el intervalo de tamaño de particular requerido y este puede incluir una combinación de dispositivos de rotor-estator, molinos con medios que contienen medios de molienda, molinos cónicos u otros dispositivos de cizallamiento tales como dispositivos ultrasónicos y dispositivos de cavitación o homogeneizadores de alta presión. Además, para un tipo de equipo dado, el rendimiento y el tamaño de partícula de café resultante pueden variarse haciendo funcionar parámetros tales como la velocidad rotacional, la tasa de producción de café, el tamaño y la forma de los medios (por ejemplo, en un micromolino) y el tamaño de tamiz en un rotor/estator o dispositivo de cizallamiento similar. Un molino de rotor/estator, por ejemplo, Admix Boston Shearmill™ o Ross modelo ME-430XS-6 (Charles Ross & Sons, Hauppauge NY, EE. UU.), puede usarse para la etapa de molienda, aunque también son adecuados otros molinos, por ejemplo, molinos coloidales tales como Charlotte SD-2 (Bradman-Lake, Charlotte NC, EE. UU.) o Dispx DRS-2000-5 (IKAUSA).

10 La separación y también la extracción del extracto primero, segundo o intermedio de los componentes sólidos puede realizarse mediante cualquier dispositivo adecuado, incluyendo un separador centrífugo, filtración con membrana, filtración con correa o percolación. Un separador centrífugo preferido es una centrífuga con decantador de dos fases. Centrífugas con decantadores adecuadas pueden obtenerse de GEA Westfalia.

20 La extracción según la etapa a) puede realizarse según un determinado proceso. En este proceso, el primer extracto puede producirse proporcionando una mezcla de granos de café tostados y agua, moliendo la mezcla de granos de café tostados y agua en una cámara presurizada, y separando la mezcla molida en un extracto de café líquido y posos de café gastados.

25 La inmersión de los granos tostados en agua durante la molienda da como resultado que una cantidad sustancial de componentes aromáticos solubles en agua volátiles se disuelva en el agua y su aparición en el extracto en lugar de liberarse al aire ambiental. Además, la cámara presurizada cerrada garantiza que los componentes aromáticos solubles en agua volátiles no se escapen y que los componentes lipófilos volátiles se mantengan en el mismo compartimento sin escaparse al entorno.

30 El uso de una cámara presurizada para moler la mezcla de granos de café tostados y agua también reduce la tendencia a la espumación. Probablemente debido al gas de la liberación de CO<sub>2</sub> y el contenido en proteína en los granos, que es de aproximadamente el 10% en peso, el proceso de molienda en húmedo puede dar como resultado la acumulación de espuma durante la molienda. La formación de espuma puede dar como resultado la parada del proceso y una limpieza laboriosa posterior del equipo. Una presión superior a la ambiental impide la liberación de burbujas de CO<sub>2</sub> y por tanto reduce la formación de espuma.

40 El CO<sub>2</sub> puede almacenarse y usarse posteriormente para el control de pH del agua de extracción.

Además, la combinación de la molienda y la primera extracción en una única etapa de proceso redujo la complejidad del proceso global. Habitualmente, los granos de café tostados se muelen en un equipo y se extraen en otro. La combinación de la molienda y el proceso de extracción en una única etapa evita el transporte entre diferentes ubicaciones y la inversión de capital en instalaciones independientes. Además, el tiempo de proceso total puede acortarse cuando el mezclado de los granos de café tostados completos y el agua se realiza como un proceso en línea inmediatamente aguas arriba del proceso de molienda.

50 La infusión de café doméstica tradicional se realiza a una temperatura del agua alrededor del punto de ebullición, es decir 100°C. En instalaciones industriales, la temperatura de extracción puede ser mayor para obtener un mayor rendimiento. El uso de agua relativamente fría según la presente invención impide que los compuestos aromáticos se degraden. Muchos componentes aromáticos tienden a reaccionar con agua u otros compuestos en la mezcla acuosa. Los productos de reacción producen una experiencia sensorial de una naturaleza incierta.

55 En algunas realizaciones la extracción a baja temperatura a 80°C o menos, incluyendo opcionalmente la explosión con vapor intermedia, en sí misma da como resultado un rendimiento sorprendentemente alto de hasta el 50%. Tal método puede encontrarse uso también en la preparación de café doméstica así como en la infusión de café semiprofesional y profesional (equipos y máquinas automáticas de café). El método dará como resultado un extracto listo para beber hecho en un dispositivo que puede manejar el tamaño de partícula requerido, la presión, etc. Un dispositivo consumidor de este tipo ofrecerá al usuario un mayor rendimiento y calidad en relación con las cafeteras domésticas. Esto dará como resultado menos consumo de granos de café así como conducirá a ahorros de energía ya que la temperatura del agua es de 80°C o menos. Un beneficio derivado sería que los consumidores reducen el riesgo de quemaduras.

65 Según este aspecto de la invención se usa una temperatura menor del agua, tal como una temperatura a o por debajo de 60°C, de manera adecuada por debajo de 50°C para obtener una tendencia disminuida a la reacción de los componentes aromáticos y una presión de vapor menor de los componentes volátiles. Para evitar el

calentamiento del agua antes del mezclado, la temperatura puede ser la del agua corriente. Alternativamente, el agua se calienta ligeramente hasta alrededor de temperatura ambiente.

5 El uso de baja temperatura da como resultado una producción reducida de furfurales (de este modo también 5-HMF) y otros productos de descomposición con un sabor desagradable. Aunque la extracción se realiza preferiblemente a temperaturas por debajo de 80°C, generalmente la primera etapa de extracción se realiza a una temperatura en el intervalo de 10-80°C. Preferiblemente, la extracción se realiza a de 15°C a 45°C, lo más preferiblemente a temperatura ambiente, para impedir que la temperatura del agua contribuya a la producción de productos de descomposición.

10 La primera extracción implica generalmente que la mezcla molida se mantenga en la cámara presurizada durante de 5 min a 2 horas o más antes de la separación para obtener una extracción suficiente de componentes solubles. El tiempo específico usado para la extracción depende de varios factores, incluyendo la temperatura, el tamaño de partícula de los granos tostados, la relación de agua con respecto a grano, la tasa de flujo de agua, el gradiente de concentración, etc.

15 El mezclado de los granos tostados y el agua, y la molienda de esta mezcla puede producirse en compartimentos separados y a diferentes presiones. En un aspecto de la invención, el mezclado se realiza a presión ambiental, mientras que la molienda se realiza en un compartimento presurizado. Sin embargo, en una realización preferida el mezclado tanto de café tostado como de agua se produce en una cámara presurizada. La presión de la cámara de mezclado y la cámara de molienda puede ser diferente pero está de manera adecuada sustancialmente al mismo nivel. En un aspecto de la invención, la presión durante la etapa de molienda es de 0,5 barg o más, preferiblemente 1 barg o más.

20 El mezclado de los granos de café tostados y el agua puede producirse como una etapa de proceso en línea inmediatamente antes de la molienda de la mezcla. La mezcla en línea garantiza un manejo eficaz y un tiempo de proceso corto.

25 Durante el mezclado y la etapa de molienda de la presente invención se libera CO<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub> liberado puede ventilarse fuera de la cámara de mezclado o la de molienda. Sin embargo, en un determinado aspecto se prefiere que una cantidad principal del CO<sub>2</sub> liberado de los granos de café tostados durante las etapas de proceso de mezclado y/o de molienda se mantenga junto con la mezcla de café tostado y extracto de agua. En un aspecto preferido, esencialmente toda la cantidad de CO<sub>2</sub> se mantiene en la cámara de molienda durante el proceso de molienda. Se cree que esto puede mejorar el resultado final con respecto a la recuperación de aroma además de mejorar el rendimiento.

30 Tras el procedimiento de molienda, se reduce la presión de la mezcla molida. De manera adecuada, la presión se reduce hasta presión ambiental. Mediante la reducción de la presión, pueden recogerse CO<sub>2</sub> y otros componentes volátiles o descargarse al entorno. En una determinada realización, el gas liberado mediante la reducción de la presión se hace pasar a través de una trampa de congelación para recoger los componentes volátiles. La reducción de la presión puede realizarse antes de, simultáneamente con o posteriormente a una reducción de temperatura, si es necesario. La temperatura puede, si es necesario, reducirse hasta entre 0 y 30°C antes de la etapa de separación.

35 En algunos aspectos, el primer extracto de café se usa sin modificar en procesos posteriores en forma líquida o secado. En otros aspectos, el extracto de café líquido se separa adicionalmente en un extracto de café acuoso y aceite de café.

40 El primer extracto de café puede secarse para dar un producto de café instantáneo, opcionalmente tras mezclarse con otros extractos de café. El secado puede producirse mediante secado por pulverización o liofilización convencional.

## Ejemplos

### 55 Ejemplo 1

Efecto del tensioactivo sobre la extracción

60 Se extrajeron granos de café Robusta tostados y molidos (250 g) con un tamaño medio de partícula de 400 µm en primer lugar con agua caliente (4000 ml en total) con una temperatura de 60°C durante dos ciclos hasta un rendimiento de extracción combinado del 31% (± 1%). Los posos de café drenados se molieron hasta un tamaño medio de partícula de 100 µm y se cargaron en un autoclave junto con agua (2000 ml). El autoclave se selló y se calentó hasta 130°C mientras se agitaba durante 10 minutos para esterilizar los posos. Entonces se enfrió la mezcla hasta 50°C y se añadieron 10 g de enzima celulasa GEA n.º 17 (pueden recuperarse muestras pequeñas bajo demanda) todo de una vez. Se permitió que comenzara la hidrólisis enzimática durante la noche (16 horas) a 65°C mientras se agitaba. Entonces se calentó la mezcla hasta 150°C durante 25 minutos, se enfrió hasta temperatura



ambiente y se drenaron los posos de café gastados para dar 2450 g de extracto de café con un contenido de sustancia seca del 2,94%. El rendimiento combinado de todas las extracciones suma el 57%.

5 Se extrajeron granos de café Robusta tostados y molidos (250 g) en primer lugar con agua caliente (4000 ml en total) durante dos ciclos hasta un rendimiento combinado del 31% ( $\pm 1\%$ ). Los posos de café drenados se molieron hasta un tamaño medio de partícula de 100  $\mu\text{m}$  y se cargaron en un autoclave junto con agua (2000 ml). El autoclave se selló y se calentó hasta 130°C mientras se agitaba durante 10 minutos para esterilizar los posos. Entonces se enfrió la mezcla hasta 50°C y se añadieron 10 g de enzima celulasa GEA n.º 17 junto con el  
10 tensioactivo TWEEN20 (2,0 g). Se permitió que comenzara la hidrólisis enzimática durante la noche (16 horas) a 65°C mientras se agitaba. Entonces se calentó la mezcla hasta 150°C durante 25 minutos, se enfrió hasta temperatura ambiente y se drenaron los posos de café gastados para dar 2842 g de extracto de café con un contenido de sustancia seca del 3,51%. El rendimiento combinado de todas las extracciones suma sorprendentemente el 68% considerando las temperaturas no estrictas usadas.

### 15 **Ejemplo 2**

Preparación de tensioactivos derivados del café

20 Los tensioactivos derivados del café se produjeron con enzimas lipasa que trabajan sobre el aceite de café y fragmentos solubles en agua de carbohidratos del café. El procedimiento de prueba se dividió en tres fases:

25 Fase 0: La materia prima (200 g de posos de café Robusta gastados comerciales) se disgregó en un mezclador con agua desmineralizada (500 g) durante 10 minutos y se filtró. Se midió que el tamaño de partícula de los posos lavados y disgregados era e 50-100  $\mu\text{m}$ .

Fase 1: Los posos disgregados y lavados de la fase 0 se suspendieron en agua (360 g) y se trataron con enzima celulasa GEA n.º 21 (1,0 g) a 50°C durante 14 horas. Se filtró la suspensión y se midió el contenido de fragmentos de carbohidratos en el filtrado (1,27%).

30 Fase 2: A una a mezcla de dos fases del filtrado de la fase 1 (30 g) y el aceite de café (2,0 g) obtenida de una fuente comercial se le añadió enzima lipasa (400 mg) de los tipos enumerados más adelante y se agitó la mezcla mediante agitación magnética a 50°C durante 14 horas. Se permitió que se separasen las fases lipídica y acuosa, y se retiró y se filtró la última.

35 Diferentes productos de lipasa se sometieron a prueba por separado en este procedimiento:

a) enzima lipasa GEA n.º 25

40 b) Dupont LysoMaxOil (enzima de panadería)

Cada mezcla resultada en un filtrado se usó para pruebas adicionales en la fase 3.

45 Fase 3. A cada filtrado (14 g) se le añadieron posos de café Robusta gastados (7,4 g) preparados tal como se describió en la fase 0, y una dosis baja de enzima celulasa GEA n.º 21 (25 mg) disponible comercialmente, y se agitaron las mezclas resultantes a 50°C durante 24 horas. Posteriormente, la mezcla se calentó hasta 150°C durante 25 min y se enfrió hasta temperatura ambiente para desactivar la enzima. Se recuperó un filtrado y se midió la cantidad de material soluble:

Muestra de referencia (no lipasa)	rendimiento del 9%
a) enzima lipasa GEA n.º 25	rendimiento del 17%
b) Dupont LysoMaxOil (enzima de panadería)	rendimiento del 14%

50 Los ejemplos muestran que tratar el aceite de café con enzima lipasa en presencia de fragmentos de carbohidratos del café da como resultado sustancias que tienen un efecto positivo sobre el rendimiento de material soluble en la hidrólisis por celulasa posterior de posos de café gastados.

### 55 **Ejemplo 3**

El siguiente ejemplo muestra cómo puede obtenerse un rendimiento de extracción relativamente alto a temperatura relativamente baja

60 Se molieron granos de café tostados (400 g, TS 95,05%, 380 g de peso seco) en un molino de café disponible comercialmente hasta un tamaño medio de partícula de 400  $\mu\text{m}$ . Los granos tostados y molidos se transfirieron entonces a un recipiente junto con 1000 ml de agua (25°C). La suspensión se mezcló meticulosamente y, tras dos

min, se transfirió la suspensión a una columna de extracción, equipada con un filtro de 300 µm en un extremo. Se extrajeron los sólidos solubles de los granos bombeando agua (25°C) a través de la columna, hasta que el valor Brix del efluente fue de 0,5. El volumen recogido fue de 2777 ml y la cantidad de sólidos disueltos fue del 3,56%, lo que corresponde a un rendimiento de 98,86 g o del 26%.

5 Los posos de café se retiraron entonces de la columna y se transfirieron junto con agua (2000 ml) a un recipiente que podía sostener una alta presión y alta temperatura. La válvula de la base del recipiente se equipó con tubos de metal conectados a un ciclón de modo que la alta presión dentro del recipiente pudiera liberarse al ciclón. Se selló el  
10 recipiente y se elevó la temperatura hasta 140°C mientras se agitaba la suspensión. Tras 60 min a 140°C, se abrió la válvula de la base para permitir que la suspensión escapase al ciclón. La caída de presión repentina provoca la explosión con vapor que rompe las células en los posos de café y parece mejorar el rendimiento.

15 Los posos de café se extrajeron entonces con agua (65°C) hasta que el valor Brix del efluente fue de 0,1. El volumen recogido de extracto en esta etapa fue de 5283 ml y la cantidad de sólidos disueltos fue del 1,33%, lo que corresponde a 70,3 g. El rendimiento de extracción total de las dos etapas de extracción combinadas es de 169 g o del 44%.

20 Los posos de café se lavaron adicionalmente con agua (65°C) hasta que el valor Brix del agua de lavado fue de 0. Esta agua de lavado prácticamente no contiene ningún rendimiento y por tanto se desechó. Los posos de café se dividieron finamente en una máquina mezcladora de calidad para cocina hasta un tamaño medio de partícula de 50 µm y se transfirieron junto con 2000 ml de agua a un recipiente calentado. Se añadió una mezcla de enzimas todo de una vez: enzima hidrolizante GEA n.º 42 (4,00 g). La suspensión se mantuvo entonces a 50°C mientras se agitaba durante 18 horas y entonces se centrifugó.

25 Lo anterior suma un total de tres extractos con los rendimientos descritos en la tabla a continuación.

N.º de extracto	Peso del extracto	TS% en el extracto	Sólidos extraídos	Rendimiento acumulado (gramos)	% de rendimiento acumulado
Extracto 1	2777 g	3,56	98,9 g	98,9 g	26%
Extracto 2	5283 g	1,33	70,3 g	169 g	45%
Extracto 3	3971 g	2,04	77,2 g <sup>1)</sup>	246 g	65%

1) Obsérvese que los 4,0 g de enzima añadida se han restado de los sólidos extraídos.

El rendimiento total del 65% es sorprendentemente alto considerando las bajas temperaturas usadas.

### 30 Ejemplo 4

Se molió en un molino un lote de 250 g de granos de café Robusta tostados con un contenido en sólidos de 240 g (96%) hasta un tamaño medio de partícula de 400 µm y se agitó en 750 g de agua desionizada a temperatura ambiental durante 60 min.

35 Se filtró la mezcla a través de un embudo Büchner y se lavó la torta de filtración con 500 g de agua desionizada. Tras la evaporación de los filtrados combinados, el contenido de sólidos totales era de aproximadamente 48 g, lo que corresponde al 20% del lote inicial.

40 La torta de filtración lavada se suspendió en 1000 g de agua desionizada y se transfirió a una cámara a presión. Con agitación mecánica interna, la mezcla se calentó hasta 140°C durante 90 min y se sometió a explosión con vapor en un ciclón.

45 Se filtró la mezcla a través de un embudo Büchner y se lavó la torta de filtración con 1000 g de agua desionizada. Tras la evaporación de los filtrados combinados, el contenido de sólidos totales fue de aproximadamente 48 g, lo que corresponde a otro 20% del lote inicial – dando como resultado un rendimiento acumulado del 40%.

50 El 60% residual en la torta de filtración se transfirió a un vaso de precipitados y se añadió agua desionizada hasta un volumen total de 1400 ml. Esta mezcla se homogeneizó en un mezclador de alto cizallamiento Turrax T 18 durante 60 min hasta un tamaño medio de partícula por debajo de 100 µm y un contenido en sólidos secos del 16%.

Se sometió una muestra de 50 g de esta mezcla (8 g de sólidos totales) a tratamiento enzimático. Basándose en los sólidos secos en esta muestra, se usó una dosificación total del 1,9% de enzima hidrolizante GEA n.º 42 (pueden recuperarse muestras pequeñas bajo demanda) en las tres etapas.

55

**Etapa 1:**

5 La muestra se agitó con 45 g de agua desionizada durante 1 min y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min. Se recuperó el sobrenadante y se repitió el procedimiento para eliminar más sustancias solubles y partículas finas. Los sobrenadantes combinados se evaporaron para dar 688 mg de sólidos secos (el 8,5% de la muestra de 50 g).

10 La muestra lavada se suspensión en 50 g de agua desionizada, y a esta mezcla se le añadió una carga del 0,42% de enzima hidrolizante GEA n.º 42 (32 mg). La mezcla se selló y se agitó a 50°C durante 12 horas y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min.

15 Se retiró el sobrenadante y se agitó el residuo con 40 g de agua desionizada durante 1 min y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min. Se repitió el lavado con unos 40 g adicionales de agua desionizada para eliminar más sustancias solubilizadas y partículas finas formadas por las enzimas. Los sobrenadantes combinados se evaporaron para dar 1,84 g de sólidos (el 23% de los sólidos en la muestra de 50 g).

**Etapa 2:**

20 Se suspendió el residuo de la etapa 1 en 50 g de agua desionizada, y a esta mezcla se le añadió una carga del 0,58% de enzima hidrolizante GEA n.º 42 (46 mg). La mezcla se selló y se agitó a 50°C durante 12 horas y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min.

25 Se retiró al sobrenadante y se agitó el residuo con 40 g de agua desionizada durante 1 min y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min. Se repitió el lavado con unos 40 g adicionales de agua desionizada para eliminar más sustancias solubilizadas y partículas finas formadas por las enzimas. Los sobrenadantes combinados se evaporaron para dar 1,44 g de sólidos (el 18% de los sólidos en la muestra de 50 g).

**Etapa 3:**

30 Se suspendió el residuo de la etapa 2 en 50 g de agua desionizada, y a esta mezcla se le añadió una carga del 0,90% de enzima hidrolizante GEA n.º 42 (72 mg). La mezcla se selló y se agitó a 50°C durante 12 horas y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min.

35 Se retiró al sobrenadante y se agitó el residuo con 40 g de agua desionizada durante 1 minuto y se centrifugó a 4500 rpm durante 4 min. Se repitió el lavado con unos 40 g adicionales de agua desionizada para eliminar más sustancias solubilizadas y partículas finas formadas por las enzimas. Los sobrenadantes combinados se evaporaron para dar 1,44 g de sólidos (el 18% de los sólidos en la muestra de 50 g).

40 El rendimiento combinado de la muestra de 50 g fue del 67,5% a lo largo de tres etapas, lo que corresponde al 40,5% de los granos de café tostados iniciales y lo que proporciona un rendimiento total de sorprendentemente el 80,5%.

**Ejemplo 5:**

45 Se extrajo un lote de 250 granos de café Robusta tostados y molidos, se sometió a explosión con vapor y se preparó para el tratamiento enzimático según el procedimiento descrito en el ejemplo 4, proporcionando fragmentos soluble en un rendimiento total del 46,5%.

50 Del material insoluble restante, 20,12 g (2,37 g de peso seco) se transfirieron a una célula de filtración con membrana de 50 ml Millipore Amicon equipada con una membrana de ultrafiltración de 10 kDa Alfa Laval UFX 10 pHt. La célula se cargó adicionalmente con una mezcla de enzima hidrolizante GEA n.º 42 (17 mg) y disolución tampón de citrato de sodio (pH 4,50, 25 mM, 45 g). Se conectó un tanque de alimentación que contiene disolución tampón de citrato de sodio en exceso (pH 4,50, 25 mM) a la célula de filtración. La mezcla en la célula se agitó y se calentó hasta 50°C, y se aplicó una presión de 1 barg al tanque de alimentación, forzando a la disolución tampón a fluir de manera continua desde el tanque de alimentación hasta la célula y pasar por la membrana con fragmentos solubles formados por las enzimas. A lo largo de un periodo de 12 horas, se recogió un total de 855 g de permeado como una disolución transparente, de la que 63 g se transfirieron a una segunda célula de filtración con membrana Millipore Amicon equipada con una membrana de nanofiltración de 300 kDa DOW FILMTEC NF-270. Se agitó la disolución y se aplicó una presión de 4 barg, forzando a que el citrato de sodio disuelto pasase por la membrana per

60 reteniendo los fragmentos solubles formados por las enzimas.

Los sólidos solubilizados totales obtenidos del retenido y lavando los posos de café residuales fueron 1,2 g - 50,5% del material transferido a la célula.

65 Esto corresponde a un rendimiento total del 73,5% basado en los sólidos secos en el café tostado y molido y además reduce la dosificación de enzima del 1,9% al 0,5% en comparación con el ejemplo 4. Este rendimiento fue bastante sorprendente considerando la dosificación de enzima muy pequeña usada.

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un proceso para la producción de un producto de café instantáneo con alto rendimiento, que comprende las etapas de
- 5 a) extraer granos de café tostados y molidos con agua que tiene una temperatura de 80°C o menos, para producir un primer extracto y posos de café gastados, y pretratar los posos de café gastados, implicando el pretratamiento implica
- 10 • la adición de agua a los posos de café gastados,
- someter a explosión con vapor los posos de café gastados, realizándose la explosión con vapor en el intervalo de temperatura de 50-170°C, a una presión de 0,1 a 10 bar durante de 0,1 a 5 horas, y
- 15 • separar en un extracto intermedio y posos de café gastados pretratados,
- b) añadir agua a los posos de café gastados pretratados para producir una suspensión acuosa,
- c) hidrolizar la suspensión acuosa usando una enzima hidrolizante para producir un segundo extracto y restos gastados,
- 20 d) añadir el extracto primero y el intermedio al segundo extracto, opcionalmente tras concentración y/o secado del extracto intermedio y/o el segundo, para obtener un extracto combinado, y
- 25 e) secar el extracto combinado para obtener un producto de café instantáneo.
- 2.- El proceso según la reivindicación 1, en el que la etapa de extracción a) se realiza a una temperatura en el intervalo de 10-80°C.
- 30 3.- El proceso según la reivindicación 1, en el que la etapa de extracción a) se realiza en un intervalo de tiempo de 5 min a 2 horas.
- 4.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la enzima hidrolizante se selecciona de entre enzimas de hidrolizan carbohidratos o enzimas que hidrolizan ésteres carboxílicos o cualquier combinación de tales enzimas.
- 35 5.- El proceso según la reivindicación 4, en el que la etapa de hidrólisis c) se realiza en una suspensión acuosa de posos de café gastados a una temperatura en el intervalo de 40-80°C, a pH 4-7, y/o en un intervalo de tiempo de 1-16 horas.
- 40 6.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que está presente un agente auxiliar durante la etapa de hidrólisis c).
- 45 7.- El proceso según la reivindicación 6, en el que el agente auxiliar es un tensioactivo derivado del café.
- 8.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el agente derivado del café es un tensioactivo que puede obtenerse
- 50 i. digiriendo posos de café gastados con una enzima que hidroliza carbohidratos para obtener fragmentos de carbohidratos, y
- ii. añadiendo a los fragmentos de carbohidratos un aceite de café y una enzima que hidroliza ésteres carboxílicos en condiciones que permiten la transesterificación.
- 55 9.-El proceso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la enzima que hidroliza carbohidratos se selecciona del grupo que comprende celulasa, xilanasa, hemicelulosa, o cualquier combinación de estas enzimas.
- 10.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la enzima que hidroliza ésteres carboxílicos se selecciona de esterasa, lipasa, o cualquier combinación de las mismas.
- 60 11.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que el aceite de café se deriva de extractos de granos de café verdes, de café tostado y molido, o de posos de café gastados.
- 65 12.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el tensioactivo derivado del café se obtiene *in situ* durante la etapa de hidrolización mediante la adición de una enzima que hidroliza ésteres carboxílicos y opcionalmente un aceite de café a la suspensión acuosa.

- 13.- El proceso según la reivindicación 1, en el que el extracto intermedio, ya sea como tal, concentrado y/o secado, se añade al extracto combinado.
- 5 14.- El proceso según la reivindicación 1 o 13, en el que el pretratamiento comprende un régimen de temperaturas que comprende en cualquier orden
- 10     • un periodo de tratamiento a baja temperatura en el intervalo de temperatura de 25 a 150°C durante de 1 min a 24 horas, y
- un periodo de tratamiento a alta temperatura en el intervalo de temperatura de 100 a 200°C durante de 1 min a 24 horas.
- 15 15.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que los posos de café gastados pretratados se someten a una etapa de proceso de lavado antes de la hidrólisis enzimática.
- 16.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que, tras la hidrólisis, el segundo extracto se trata posteriormente o bien
- 20     • calentando hasta una temperatura por encima de 70°C en un tiempo suficiente para inactivar la enzima, normalmente 120°C durante 10-30 min, o bien
- filtrando con membrana para eliminar la enzima, que opcionalmente se reutiliza en la etapa (c).
- 25 17.- El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que los posos de café gastados se dividen finalmente en un tamaño medio de partícula en el intervalo de 2-1000 µm, preferiblemente hasta 30-500 µm antes del tratamiento enzimático.
- 30 18.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que el rendimiento de sólidos totales en el producto de café instantáneo, basado en la cantidad de granos de café tostados y molidos, es del 65% en peso o más.
- 35 19.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que el rendimiento de sólidos totales en el producto de café instantáneo, basado en la cantidad de granos de café tostados y molidos, es del 70% en peso o más.
- 40 20.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que el rendimiento de sólidos totales en el producto de café instantáneo, basado en la cantidad de granos de café tostados y molidos, es del 75% en peso o más.
- 45 21.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en el que el extracto se filtra con membrana para reciclar el permeado acuoso para su reutilización en el proceso.
- 22.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, en el que el primer extracto se concentra de una manera que conserve el aroma, tal como concentración por congelación.
- 23.- El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en el que los granos de café antes de la etapa de extracción a) se dividen en un tamaño medio de partícula en el intervalo de 0,2-5 mm, preferiblemente por debajo de 0,5 mm.