



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 283 529**

51 Int. Cl.:

A23L 1/00 (2006.01)

A23L 1/325 (2006.01)

A23L 1/317 (2006.01)

A23J 3/06 (2006.01)

A23L 1/03 (2006.01)

A23L 1/315 (2006.01)

A23L 1/0562 (2006.01)

A23L 1/31 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02707143 .0**

86 Fecha de presentación : **25.03.2002**

87 Número de publicación de la solicitud: **1374699**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **02.01.2004**

54 Título: **Preparaciones de enzimas para unión y procedimiento para producir alimentos unidos y moldeados.**

30 Prioridad: **30.03.2001 JP 2001-99906**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.11.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.11.2007

73 Titular/es: **Ajinomoto Co., Inc.**
15-1, Kyobashi 1-chome
Chuo-ku, Tokyo 104-8315, JP

72 Inventor/es: **Ootsuka, Tomoko;**
Ishida, Rikiya;
Kumazawa, Yoshiyuki;
Kaneko, Tomoko;
Nakagoshi, Hiroyuki y
Sakaguchi, Shoji

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 283 529 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

Preparaciones de enzimas para unión y procedimiento para producir alimentos unidos y moldeados.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una preparación de enzimas para unir materias primas alimentarias sólidas, que utiliza una transglutaminasa y un colágeno en el que el total de los restos de la hidroxiprolina y prolina en el colágeno es menor que 20% del total de los restos de aminoácidos en el colágeno, y/o un colágeno que tiene un diámetro
10 medio de partículas más pequeño que 600 μm ; a un alimento unido producido a partir de materias alimentarias sólidas mediante el uso de dicha preparación (de enzimas) para unión; y a un método para producir el mismo.

Antecedentes de la técnica

15 Un método convencional para unir materias alimentarias sólidas utilizando una enzima se ejemplifica mediante los siguientes seis métodos representativos. También se discutirán los problemas de los métodos.

(1) La solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 79956/1990 describe una técnica para producir un alimento unido mediante el único uso de una transglutaminasa. Sin embargo, puesto que no se puede obtener una resistencia de unión suficiente, se ha estudiado, y actualmente se usa, una transglutaminasa en combinación con diversos componentes.

Por ejemplo, en (2) el documento WO 95/08274 se describe un método para unir carne cruda mediante el uso concurrente de una transglutaminasa con un fosfato de metal alcalino y cloruro de sodio. Sin embargo, según este
25 método, es esencial añadir un fosfato de metal alcalino en una cantidad no mayor que 0,4% en peso, y cloruro de sodio en una gran cantidad, tan elevada como 1,5 a 4% en peso, basándose en el peso de la carne, de forma que se obtenga desventajosamente un producto que carece del gusto y sabor intrínsecos de la carne.

Además, en (3) las solicitudes de patentes japonesas abiertas al público (*Kokai*) n° 284867/1994 y n° 140594/1996 se describe un método de unión usando una combinación de una transglutaminasa con una caseína como sustrato de la transglutaminasa. Este método es aplicable a una amplia variedad de materias alimentarias, incluyendo no sólo carnes animales tales como carne de vaca, cerdo y similares, sino también pescados y mariscos tales como carne de
30 pescado, calamar y cangrejo y huevas de pescado, tales como huevas de salmón, huevas de arenque, huevas de salmón saladas, huevas de bacalao, y similares. Además, este método es capaz de unir materias alimentarias. De este modo, se proporcionan el método de unión y una preparación de enzimas para la unión, los cuales son muy versátiles y no provocan influencias en los gustos y en los sabores.

Asimismo, también están en estudio métodos de unión que usan combinaciones de una transglutaminasa y una proteína distinta de caseína.

(4) La solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 107923/1997 describe un método para producir un alimento unido, mediante el uso de una gelatina y una transglutaminasa. Sin embargo, aunque una disolución acuosa de gelatina al 5 a 15% descrita en este documento de patente puede reformar el pescado hervido en salsa de soja, huevas de pescado, o similares, no puede unir satisfactoriamente carnes de animales y de pescado, que son las metas
45 de la presente invención.

Además, en los informes realizados por Kuraishi *et al.* y Tseng T-F. *et al.*, se describe que cuando una proteína separada de haba de soja (aislado de proteína de soja), una proteína de suero de la leche, una gelatina, o similar, distinta de caseinato sódico, se usa como una proteína a usar junto con una transglutaminasa, no se puede obtener suficiente
50 resistencia de unión (J. Food. Sci., 1997, 62(3), 488-490 y Zhonghua Nongxue Huibao, 2000, 1 (1), 108-117), y por lo tanto se ha encontrado que las caseínas son un componente esencial para la unión práctica.

Sin embargo, en años recientes, debido a problemas tales como alergia alimentaria y similares, hay algunos casos en los que no se puede usar proteínas derivadas de la leche en alimentos procesados. En particular, se sabe que entre
55 las proteínas de la leche, las caseínas son sustancias que provocan la alergia alimentaria. De este modo, ha habido una gran demanda de una técnica que proporciona una elevada resistencia de unión sin el uso concurrente de caseínas.

Con tal antecedente técnico, (6) la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 070961/1998 describe un método de unión que usa una preparación de enzimas para la unión, que comprende un colágeno, no una caseína, y una transglutaminasa, como ingrediente activo. Sin embargo, cuando este colágeno se disuelve en agua caliente, muestra una mala capacidad de dispersión y una elevada viscosidad, de forma que apenas se mezcla con las materias alimentarias sólidas a las que se le añadirá. Por lo tanto, según la invención descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 070961/1998, continúa un problema en términos de capacidad de tratamiento, debido a
65 que el colágeno se debe de disolver en agua fría de una temperatura no mayor que 10°C, y la operación de unión se debe de realizar inmediatamente después de la disolución del colágeno en agua. Además, la resistencia de unión es muy mala sin el uso concurrente de una sal, y en ese caso no se puede esperar un efecto práctico.

Descripción de la invención

Con tal antecedente técnico, ha habido una demanda en la industria de alimentos procesados de una preparación de enzimas poderosa para la unión, que sea capaz de unir materias alimentarias sólidas, tales como trozos de carne o similares, suficientemente sin el uso concurrente de una caseína, y que tenga una excelente capacidad de operación, y de un método para producir un alimento unido mediante el uso de tal preparación de enzimas. Un objetivo de la presente invención consiste en satisfacer tal demanda.

Se han hecho grandes e intensos estudios para lograr el objeto anterior. Como resultado, se ha encontrado que las materias alimentarias sólidas se pueden unir fácil y firmemente mediante el uso de un colágeno específico, y se ha llevado a término la presente invención basándose en estos hallazgos.

En consecuencia, la presente invención se refiere a una preparación de enzimas para la unión de materias alimentarias sólidas, que comprende, como ingrediente activo, una transglutaminasa, y (1) un colágeno en el que el total de los restos de la hidroxiprolina y prolina (en lo sucesivo se pueden denominar colectivamente como "iminoácido") en el colágeno es menor que 20% del total de los restos de aminoácidos en el colágeno, y/o (2) un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas más pequeño que 600 μm ; a un método para producir un alimento unido a partir de materias alimentarias sólidas mediante el uso de (el ingrediente activo de) la mencionada preparación de enzimas para unión; y a un alimento unido producido a partir de materias alimentarias sólidas mediante tal método de producción.

A continuación, la presente invención se describirá con mayor detalle.

La presente invención se caracteriza porque, además de la acción enzimática de una transglutaminasa, se provoca que los colágenos específicos anteriores funcionen como el adhesivo o agente de unión para producir un alimento unido a partir de materias alimentarias sólidas.

En primer lugar, se describirá la transglutaminasa a usar según la presente invención.

Las transglutaminasas son una enzima que cataliza la reacción de transferencia de grupos acilo en los grupos γ -carboxamida de restos de glutamina presentes en una proteína o en una cadena peptídica. Cuando una transglutaminasa actúa, como un receptor de acilo, sobre los grupos ε -amino de restos de lisina en una proteína, se forman enlaces ε -(γ -Glu)-Lys en y entre las moléculas proteínicas. Además, una transglutaminasa a usar como una enzima según la presente invención puede ser de cualquier origen en tanto que tenga actividad de transglutaminasa, y se pueden usar transglutaminasas ya conocidas.

Como ejemplos de transglutaminasas, se pueden mencionar las derivadas de microorganismos, tales como las derivadas de actinomicetos (véase la patente japonesa n° 2572716), las derivadas de *Bacillus subtilis*, las derivadas de microorganismos (véase el documento WO 96/06931), las derivadas de oomicetos (véase el documento WO 96/22366 y a la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 137254/1999), y similares. Además, se pueden mencionar las derivadas del hígado de cobja (véase la patente japonesa n° 1689614), las derivadas de animales, tales como las derivadas de sangre bovina, sangre de cerdo, y similar, las derivadas de peces tales como salmón, besugo y similar (véase SEKI *et al.*, "Nihon Suisan Gakkaishi", vol. 56, 125-132 (1990)), las derivadas de una ostra (véase la patente US n° 5736356), y similares. Además, se pueden mencionar las producidas mediante recombinación genética (refiérase, por ejemplo, a la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 75876/1999)), y similares.

Se puede usar cualquiera de estas transglutaminasas, y el origen y el proceso de producción de las mismas puede no limitar particularmente su disponibilidad. Desde el punto de vista de la funcionalidad y de la fácil manipulación para uso alimentario, y también desde el punto de vista comercial de la posible producción en masa y de la disponibilidad barata, se prefiere sin embargo usar las transglutaminasas mencionadas anteriormente derivadas de microorganismos (véase la patente japonesa n° 2572716, documento WO 96/06931 y documento WO 96/22366).

La unidad de actividad de una transglutaminasa a usar según la presente invención se mide y se define según lo expuesto a continuación. Se lleva a cabo una reacción con benciloxicarbonil-L-glutaminilglicina e hidroxilamina como sustratos, y el ácido hidroxámico resultante forma un complejo de hierro en presencia de ácido trifluoroacético. A continuación, se mide la absorbancia a 525 nm, para determinar la cantidad del ácido hidroxámico resultante. La cantidad de enzima que genera 1 μmol de ácido hidroxámico en 1 minuto se define como una unidad de actividad de la transglutaminasa, a saber 1 unidad. Este método (el método de hidroxamato) se ha dado a conocer con mayor detalle (véase, por ejemplo, la patente japonesa n° 2572716 mencionada anteriormente).

Como ya se ha mencionado anteriormente, se sabe que las transglutaminasas tienen una variedad de orígenes, y, dependiendo del origen, algunas transglutaminasas pueden tener una especificidad por el sustrato de forma que su actividad no se puede definir mediante el método del hidroxamato anterior. En tal caso, la unidad se puede definir mediante un método diferente. Independientemente de qué métodos de medida de la actividad se usen para definir la actividad, cualquier cantidad que muestre sustancialmente un efecto de unión según la presente invención cae dentro del intervalo de cantidades en las que una transglutaminasa se añade según la presente invención.

A continuación se describirán los colágenos, otro ingrediente activo de la preparación de enzimas para la unión de materias alimentarias sólidas según la presente invención.

ES 2 283 529 T3

Un colágeno a usar según la presente invención es un colágeno en el que el contenido del iminoácido (hidroxiprolina y prolina) es menor que 20% de los restos de aminoácidos totales presentes en el colágeno, y/o un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas inferior a 600 μm , habiéndose extraído el colágeno de tejidos animales tales como pieles, huesos, cartílagos, escamas, vejigas para el aire, o similares, de animales o peces y mariscos.

5 Cuando se usan solos o en combinación un colágeno cuya composición de aminoácidos cae dentro del intervalo de composición de aminoácidos definido anteriormente y un colágeno cuyo diámetro medio de partículas cae dentro del intervalo de diámetro medio de partículas definido anteriormente, el efecto de unión mejora significativamente.

10 A continuación, los colágenos se describirán con más detalle.

Una de las limitaciones sobre los colágenos específicos a usar según la presente invención es el contenido del iminoácido. El contenido del iminoácido (en términos del número de los restos) en un colágeno derivado de una carne de animal es a menudo 20 a 22%. Tal colágeno se mezcla con un colágeno que tiene un menor contenido del iminoácido, para preparar colágenos que tienen contenidos diferentes del iminoácido, y la resistencia de unión se mide para cada uno de los colágenos. Como resultado, se ha encontrado un efecto sorprendente de que la resistencia de unión mejora significativamente usando un colágeno que tiene un contenido de iminoácido menor que 20%. Muchos colágenos que tienen un menor contenido del iminoácido se obtienen de peces y mariscos, y los colágenos que tienen un contenido del iminoácido menor que 20% se pueden usar como tales.

20 Por lo tanto, los colágenos que muestran una resistencia de unión según la presente invención no tienen que ser obtenidos de un solo origen. Cuando un colágeno de un origen que tiene un contenido elevado del iminoácido se mezcla con un colágeno de otro origen que tiene un bajo contenido del iminoácido, y el contenido global del iminoácido en la mezcla de colágenos resultante cae dentro del intervalo definido por la presente invención, la mezcla de colágenos puede ser un colágeno según la presente invención. Más específicamente, aún se puede obtener un efecto de unión suficiente incluso mediante el uso de una mezcla de colágenos obtenida mezclando un colágeno que tiene un contenido del iminoácido mayor que 20% con otro colágeno que tiene un contenido del iminoácido menor que 20%, en una relación tal que la mezcla resultante puede tener un contenido global del iminoácido menor que 20%. Tal mezcla de colágenos también cae dentro de la categoría de los colágenos de la presente invención. Además, aquellos obtenidos ajustando colágenos extraídos de los tejidos animales anteriores mediante un cierto tratamiento químico, enzimático o de otro tipo, de tal manera que puedan tener un contenido del iminoácido menor que 20%, también caen dentro de la categoría de los colágenos a usar según la presente invención.

35 Para obtener el colágeno anterior que tiene una composición de aminoácidos preferida, la composición de aminoácidos se mide de la siguiente manera. Por ejemplo, se puede emplear un método en el que el colágeno se hidroliza primeramente en ácido, y después se somete a cromatografía de líquidos con una columna adecuada. Además, como método para detectar un aminoácido, también se puede emplear la cromatografía de capa fina o la espectrometría de masas.

40 Se ha usado el siguiente método a fin de medir la composición de aminoácidos. Para ser más específicos, se añadió 1 ml de ácido clorhídrico 6 N a alrededor de 3 hasta 5 mg de una muestra seca, y la mezcla resultante se desaireó y se calentó después a $110 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 20 horas, para hidrolizar completamente la muestra. Después de terminar la hidrólisis, el ácido clorhídrico se eliminó por medio de un evaporador, y el residuo se diluyó según fuese apropiado, y se analizó entonces por medio de un analizador automático de aminoácidos "Amino Acid Automatic Analyzer L-8500" (producto de Hitachi Ltd.). Como los aminoácidos, se cuantificaron el ácido aspártico, la treonina, la serina, el ácido glutámico, la prolina, la hidroxiprolina, la glicina, la alanina, la cisteína, la valina, la metionina, la isoleucina, la leucina, la tirosina, la fenilalanina, la lisina, la histidina y la arginina, y se determinó la relación del total de los restos de prolina e hidroxiprolina al total de los restos de aminoácidos. Esto es, los datos para cada aminoácido detectado en % en peso como resultado del análisis de los aminoácidos se dividió entre su peso molecular para calcular la relación molar, y, mediante el uso de la relación molar, se determinó la relación del total de los restos de prolina e hidroxiprolina al total de los restos de aminoácidos.

55 Mediante el método anterior, se midieron cinco tipos de colágenos A a E para la composición de aminoácidos (la siguiente Tabla 1), y se revelaron las relaciones entre la composición y la eficacia de la unión (véase la Fig. 1. Sobre el método de ensayo, véase el Ejemplo 1). Como resultado, se encontró que no se puede mostrar una resistencia de unión práctica cuando se usa un colágeno que tiene un contenido elevado del iminoácido.

ES 2 283 529 T3

TABLA 1

	A	B	C	D	E	
5	Hyp	9,5	9,8	9,6	5,3	5,8
	Asp	4,8	4,6	4,6	5,1	5,3
	Thr	1,7	1,8	1,8	2,4	2,4
10	Ser	3,6	3,3	3,3	6,3	5,0
	Glu	7,3	7,2	7,3	7,2	7,5
	Pro	12,2	11,9	12,6	10,4	11,1
	Gly	34,2	33,5	33,8	36,0	36,0
15	Ala	10,4	11,1	11,3	11,1	10,9
	Cys	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3
	Val	2,2	2,3	2,3	1,9	1,7
	Met	0,5	0,4	0,4	0,9	1,0
20	Ile	1,1	1,2	1,1	1,1	1,1
	Leu	2,5	2,7	2,5	2,1	1,9
	Tyr	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0
	Phe	1,4	1,5	1,6	1,5	1,4
25	Lys	2,9	2,8	2,7	2,7	2,5
	His	0,6	0,5	0,4	0,9	1,0
	Arg	4,8	5,1	4,8	5,2	5,2
	Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
30	Hyp+Pro(%)	21,7	21,7	22,2	15,7	16,9

35 Otra limitación de los colágenos específicos a usar según la presente invención se refiere a un diámetro medio de partículas. Se preparó una pluralidad de colágenos que tienen diferentes diámetros medios de partículas, y se midieron para determinar la resistencia de unión. Como resultado, se ha encontrado que se puede obtener una resistencia de unión práctica mediante el uso de un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas más pequeño que 600 μm . El diámetro medio de partículas citado aquí es un diámetro de partículas que corresponde al 50% de la curva de distribución acumulativa de un polvo, y también se denomina como diámetro de la mediana D_{med} , o un diámetro del 50% D_{50} .

45 El incremento de la resistencia de unión que resulta del uso del colágeno específico anterior se observa en cualquier método para producir un alimento unido a partir de materias alimentarias sólidas. Sin embargo, en un método para producir un alimento unido en el que se añade directamente una preparación de enzimas en polvo para la unión, que comprende una transglutaminasa y un colágeno como ingrediente activo, a materias alimentarias sólidas sin disolver antes la preparación en agua o en un material líquido, se puede obtener una resistencia de unión práctica mediante el uso de un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas más pequeño que 600 μm . El material líquido se refiere aquí a un líquido tal como agua, aceite o similar, o un material que fluye libremente, obtenido mezclando una variedad de proteínas, condimentos, especias o materias primas alimentarias de tamaños apropiados en tal líquido.

55 Mientras, cuando se usa un colágeno que tiene un diámetro grande de partículas, se forma una capa gruesa mediante una preparación de enzimas de unión, sobre las superficies a unir. Esto es indeseable desde los puntos de vista tanto del gusto como del aspecto. Sin embargo, cuando se usa un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas más pequeño que 600 μm , se puede obtener una resistencia de unión suficiente, como se describe anteriormente. Además, se hace posible formar una capa delgada, uniforme, de una preparación de enzimas de unión sobre la superficie de un objeto a unir (superficies a unir), con lo que se obtienen alimentos unidos que tienen un gusto y aspecto excelentes.

60 Los ejemplos ilustrativos de un método para preparar el colágeno que tiene el diámetro de partículas específico anterior incluyen métodos de trituración que usan una variedad de trituradores, un método en el que se disuelve de una vez un colágeno polvoriento en un disolvente, y la disolución resultante se seca entonces usando una técnica de secado tal como secado por pulverización o similar, y similares. Además, el diámetro de partículas de un polvo también se puede ajustar mediante una técnica de granulación. El método para preparar un colágeno que tiene el diámetro de partículas específico a usar en la presente invención no está limitado a los métodos anteriores, y puede ser cualquier método capaz de ajustar el diámetro de partículas de un polvo.

ES 2 283 529 T3

Se obtuvo una pluralidad de fracciones de colágeno que tienen diferentes distribuciones de tamaños de partículas triturando un colágeno por medio de una trituradora, y después tamizando el colágeno triturado. Los polvos de colágeno así preparados se analizaron para cada fracción por medio de un medidor de la distribución de tamaños de partículas, y se detectó un diámetro medio de partículas de cada fracción.

5 Se añadieron en forma polvorienta un colágeno obtenido mediante el método anterior y una transglutaminasa a trozos pequeños de carne de muslo de cerdo (300 g), y se amasó en el recipiente para carne. Después, la mezcla se relleno en un tubo de estuche con una anchura plegable de 75 mm, se dejó reposar a 5°C durante 2 horas para provocar una reacción de reticulación mediante la transglutaminasa, y después se enfrió hasta -40°C para detener la reacción. La
10 carne de cerdo unida congelada se cortó en rodajas hasta un grosor de 9 mm y una anchura de 25 mm, y se descongeló para medir la resistencia a la tracción (mostrándose los resultados en la Fig. 2). Se repitió el mismo procedimiento varias veces, siendo diferentes los diámetros medios de las partículas de colágeno. Como resultado, se observó un efecto sorprendente de que se puede obtener una mayor resistencia de unión mediante el uso de colágenos que tienen un diámetro más pequeño de partículas. Además, se observó una resistencia de unión práctica mediante el uso de un
15 colágeno que tiene un diámetro medio de partículas más pequeño que 600 μm , y se obtuvo una resistencia de unión suficientemente elevada mediante el uso de un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas más pequeño que 400 μm .

Además, los colágenos según la presente invención se obtienen generalmente purificando colágenos extraídos de
20 los tejidos de animales, peces o mariscos, y no están limitados particularmente en términos del grado de desnaturalización, tal como la descomposición o similar. Es habitual que los colágenos muestren un amplio intervalo de distribución de pesos moleculares, puesto que los colágenos se hidrolizan en diversos grados durante la etapa de extracción, y aquellos que cambiaron en las denominadas gelatinas también están incluidos en los colágenos de la presente invención.

Además, los colágenos no tienen que ser productos purificados, y es innecesario decir que pueden contener grasas, hidratos de carbono, péptidos, aminoácidos y similares, en cantidades tales que no alteren los efectos deseados de la presente invención.

Mientras, la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 describe técnicas sobre una
30 nueva materia prima gelificante, que comprende una gelatina seca separada de marisco y una transglutaminasa, y un método de producción de la misma. Esta materia prima gelificante indica que se forma rápidamente un gel con estabilidad térmica elevada combinando una transglutaminasa con una gelatina derivada de mariscos, que es fácilmente soluble en agua en un amplio intervalo de temperaturas. Sin embargo, se debe señalar que la función de unión de materias primas alimentarias sólidas proporcionada por la presente invención no se puede estimar a partir de la capacidad gelificante descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995.
35

Para ser más específicos, mientras que el fin de la preparación de enzimas de unión de la presente invención es unir
40 materias alimentarias sólidas, el fin de las materias primas gelificantes descritas en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 es producir un alimento gelificado mezclándolo con agua o con un alimento líquido. Unión según la presente invención significa un transporte a propósito de fuerza a través de la puesta en estrecho contacto en una interfaz ("Binding Handbook 3rd Edition", publicado en 1996 por Nikkan Kougyo Shinbun-Sha), esto es, un estado de unión de dos superficies entre sí mediante una fuerza o fuerzas químicas y/o físicas vía un adhesivo. Mientras, la gelificación usada en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 se refiere a la transformación de un sol en un gel ("Biochemistry Dictionary 2nd Edition", publicado en 1990 por Tokyo Dagaku
45 Dojin), y significa la solidificación de una suspensión que fluye o una disolución en un grado tal que ya no puede fluir y no colapsa por su propio peso. De este modo, la unión y la gelificación no son sinónimos entre sí, y son fenómenos completamente diferentes por definición. Por lo tanto, la preparación de enzimas para unión de la presente invención y la materia prima gelificante descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 son invenciones que tienen objetos diferentes a lograr, y son diferentes en el principio técnico fundamental.
50

Además, es obvio que no hay ninguna correlación entre las propiedades (incluyendo la resistencia en la ruptura, esfuerzo a 4 mm, y torque, descritos en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995) de los geles obtenidos haciendo reaccionar una transglutaminasa con una variedad de proteínas, y la resistencia de unión. Por ejemplo, no se observa ninguna correlación entre la dureza (resistencia a 4 mm, medida en las condiciones
55 de un émbolo mediante el analizador de texturas "Texture Analyzer" de Stable Micro Systems Co., Ltd.: cilindro de 15 mm y una velocidad de 10 mm/s) de un gel de proteína formado añadiendo una transglutaminasa, y el resultado de un ensayo de unión de cerdo (método de ensayo que se describe más tarde con detalle en el Ejemplo 1), que usa la misma proteína y una transglutaminasa. Más específicamente, los esfuerzos a 4 mm de los geles formados añadiendo 100 unidades de una transglutaminasa por 1 gramo de proteína a las disoluciones de proteínas que se sabe
60 que forman un gel rápidamente mediante una transglutaminasa, es decir, caseinato de sodio, un aislado de proteína de soja, una gelatina y una gelatina soluble en agua, fueron 65,5 g, 66,8 g, 643,9 g y 383,9 g, respectivamente. Mientras, su resistencia a la tracción, que muestra las capacidades de unión, fueron 80,0 g/cm², 25,0 g/cm², 46,6 g/cm² y 30,0 g/cm², respectivamente. Mientras que la resistencia a la tracción de al menos 80,0 g/cm² se considera una resistencia de unión práctica, las capacidades de unión de las proteínas distintas del caseinato de sodio son muy bajas. A partir
65 de estos resultados, se entiende que no hay ninguna correlación entre la dureza (resistencia a 4 mm) de un gel y la capacidad de unión (resistencia a la tracción).

De forma breve, no todas las proteínas que forman un gel duro mediante una transglutaminasa hacen posible la unión mutua de materias alimentarias sólidas. La anterior solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 describe que una gelatina seca derivada de marisco forma, con una transglutaminasa, un gel que tiene un gran torque, que es uno de los índices que reflejan la dureza de un gel. Sin embargo, como se ha descrito anteriormente, no se puede encontrar ninguna correlación entre la formación de un gel que tiene un gran torque y la unión mutua de materias alimentarias sólidas.

Además, la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 también describe que una gelatina derivada de marisco es fácilmente soluble en agua, lo que da como resultado que se forme rápidamente un gel que tiene un gran torque. Sin embargo, es también un hecho que no se observa ninguna correlación entre el hecho de que una proteína que sirve como un sustrato de reacción con una transglutaminasa sea fácilmente soluble en agua y el hecho de que sea posible la unión.

Por ejemplo, no se puede obtener una resistencia de unión práctica con un aislado de proteína de soja, incluso si el aislado de proteína de soja que es fácilmente soluble en agua se hace reaccionar con una transglutaminasa, como se puede observar a partir de los resultados anteriores. Además, las gelatinas (las denominadas gelatinas solubles en agua), que son fácilmente solubles en agua a lo largo de un amplio intervalo de temperaturas, están generalmente disponibles en el comercio. Éstas se preparan desnaturalizando o descomponiendo los colágenos. Incluso si se realiza el ensayo de unión del cerdo mediante uso de estas gelatinas solubles en agua, no se observa una unión suficiente, como se ha descrito anteriormente. Esto es, no se observa ninguna correlación entre la fácil solubilidad de una proteína en agua y la unión de materias primas alimentarias.

De este modo, nuevamente, sólo a partir del hecho de que un gel térmicamente estable se forma rápidamente combinando la gelatina descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995, que es fácilmente soluble en agua a lo largo de un amplio intervalo de temperaturas, y que deriva de marisco, con una transglutaminasa, obviamente no es fácil estimar las capacidades de unión de las materias alimentarias sólidas, y por lo tanto la presente invención tiene claramente una etapa inventiva con respecto a este punto.

Como se ha descrito anteriormente, los colágenos según la presente invención se extraen originalmente de tejidos de animales, peces y mariscos, y no están limitados a un grado particular de desnaturalización, tal como descomposición o similar. Sin embargo, se prefieren aquellos que contienen 50% o más de fracciones cuyo peso molecular no es menor que alrededor de 65.000.

Esto es debido a que el efecto de unión disminuye cuando el peso molecular es demasiado pequeño. Se supone que esto es debido a que, a medida que el peso molecular se hace más pequeño, es de esperar que disminuya la reactividad con una transglutaminasa, de forma que se supone que se reduce la afinidad del colágeno por las superficies a unir.

A este respecto, se puede usar el siguiente método como un método para medir el peso molecular de un colágeno a usar según la presente invención. Esto es, se puede usar un método para fraccionar proteínas según los pesos moleculares mediante un efecto de tamiz molecular, tal como un método de filtración en gel o un método de electroforesis en SDS-poliacrilamida. Además, se puede usar un método para medir el peso molecular de una proteína según la relación entre la carga eléctrica y la masa, tal como la espectrometría de masas. El peso molecular de una proteína fraccionada se puede estimar comparando el peso molecular con un marcador de peso molecular comercialmente disponible.

A continuación, se describirá la preparación de enzimas para unir materias alimentarias sólidas según la presente invención.

La relación mixta de una transglutaminasa y un colágeno, que son ingredientes esenciales o indispensables de la preparación de enzimas para la unión de la presente invención, no está limitada particularmente. Sin embargo, el contenido del colágeno se prefiere generalmente que sea 10 a 80 partes en peso por 100 partes en peso de la preparación de enzimas, y el contenido de la transglutaminasa es 10 a 300 unidades por 1 gramo de la preparación de enzimas.

Dicho sea de paso, en la materia bruta gelificante descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995, el contenido preferido de una transglutaminasa se define como 0,005 a 0,1%, que se define menor que el de la presente invención. De este modo, se preparó una materia bruta gelificante que tiene el contenido preferido de transglutaminasa (0,1%) definido en esa solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995, y se comprobó si se podría lograr la unión de materias alimentarias sólidas mediante el uso de la materia bruta gelificante (véase el Ejemplo 1 para el método de ensayo). Como resultado, la resistencia de unión fue, cuando se usó la materia bruta gelificante, 11 g/cm², indicando que no se observó una suficiente resistencia de unión, y la resistencia de unión se redujo adicionalmente cuando los trozos de carne unidos resultantes se calentaron. Por lo tanto, la materia bruta gelificante descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 no tiene ninguna capacidad de unión, y es diferente de la preparación de enzimas para unión de la presente invención, desde el punto de vista de las funciones.

Además, la transglutaminasa y el colágeno de la preparación de enzimas para unión de la presente invención no se tienen que mezclar en el mismo recipiente, y la preparación de la invención incluye a aquellos en la denominada forma de "kit", en la que los dos constituyentes se almacenan en un par de recipientes separados.

ES 2 283 529 T3

La preparación de enzimas para unión de la presente invención, que comprende una transglutaminasa y un colágeno como ingredientes activos, también puede contener los otros diversos componentes siguientes que se usan habitualmente en este campo. Por ejemplo, en la preparación de enzimas de la invención puede haber lactosa, sacarosa, maltitol, sorbitol, dextrina, dextrina ramificada, ciclodextrina, almidones, polisacáridos, gomas y pectinas, y similares, que se conocen como excipientes alimentarios. Además, la preparación de enzimas para unión de la presente invención también puede contener proteínas distintas de caseínas, tales como proteínas de animales extraídas de carnes de animales tales como cerdo y carne de vaca y aves de corral, y proteínas vegetales tales como proteína de haba de soja y proteína de trigo, y similares. Además, la presente preparación de enzimas también puede contener sales inorgánicas fisiológicamente aceptables, tales como bicarbonato sódico, citrato de sodio, fosfato de sodio, cloruro sódico, cloruro potásico, y similares, según se requiera. Adicionalmente, la presente preparación de enzimas también puede contener aderezos, azúcar, especias, un colorante, un desarrollador del color, ácido ascórbico, sales orgánicas tales como las sales de ácido ascórbico, un emulsionante, grasas y aceites, y similares, según se requiera.

A continuación se describirá un método para producir un alimento unido usando la preparación de enzimas para unión de la presente invención.

Para producir un alimento unido uniendo materias alimentarias sólidas, se usa la preparación de enzimas de la siguiente manera. Es decir, primero se disuelve en agua o en un material líquido una preparación de enzimas que comprende una transglutaminasa y un colágeno como los ingredientes activos, y después se añade a y se mezcla en las materias alimentarias sólidas. Como alternativa, la preparación de enzimas en polvo se puede añadir, como tal, a las materias alimentarias sólidas. Como alternativa, una preparación que comprende una transglutaminasa como el ingrediente activo, y una preparación que comprende un colágeno como el ingrediente activo, se añaden a y se mezclan en las materias brutas alimentarias como tales, o después de que se disuelvan primero para preparar una disolución de cada una de las dos, independiente o simultáneamente en la disolución o en forma de polvo. Cualquiera de estas maneras se incluye dentro del alcance del método para producir un alimento unido según la presente invención.

Cualquiera que sea el método usado, la cantidad a añadir (usada) de una transglutaminasa es 0,01 a 100 unidades, preferentemente 0,1 a 50 unidades, por 1 gramo de las materias alimentarias sólidas a unir. Mientras tanto, la cantidad a añadir (usada) de un colágeno es habitualmente 0,1 a 5 partes en peso, preferentemente 0,3 a 2 partes en peso, por 100 partes en peso de las materias alimentarias sólidas. Cuando la cantidad a añadir de un colágeno es demasiado pequeña, el efecto de unión obtenido no es diferente del efecto de unión obtenido cuando se usa solamente una transglutaminasa, mientras que, cuando la cantidad es demasiado grande, se forma una película de proteína entre las materias alimentarias, lo que es indeseable desde los puntos de vista tanto de la textura del alimento como de la resistencia de unión. Sin embargo, las cantidades anteriores a añadir de ambos ingredientes activos son simples medidas, y no están necesariamente limitadas a estas medidas, en tanto que se logren los efectos deseados de la presente invención.

Dicho sea de paso, la materia bruta gelificante descrita en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 anterior se usa disolviendo primero la materia bruta gelificante en agua o en un material líquido, para obtener una mezcla de sol, y conformando entonces el sol en un alimento gelificado mediante la acción de una transglutaminasa. Según se compara, una forma de realización del método de la invención, en la que se añade directamente una preparación de enzimas en polvo para unir de la presente invención a materias alimentarias sólidas se puede diferenciar de la invención de la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 227228/1995 por cuanto se obtiene un alimento unido evitando de forma intencionada el estado de sol. La resistencia de unión obtenida mediante tal método usando la preparación de enzimas para unión de la presente invención en forma de polvo es mayor que la resistencia de unión obtenida mediante un método que comprende las etapas de disolver la preparación de enzimas para unión en un disolvente, y añadir después la disolución a materias alimentarias sólidas. De este modo, el método que usa la preparación de enzimas en polvo es un método de producción más útil de un alimento unido.

Una mezcla de una transglutaminasa, un colágeno y materias alimentarias sólidas se mantiene a una temperatura (temperatura de reacción) en la que se muestra la acción enzimática de una transglutaminasa. La temperatura de reacción es generalmente alrededor de 3 hasta 60°C. Cuando la mezcla se mantiene a esta temperatura, la reacción de reticulación transcurre en un tiempo de alrededor de 1 minuto hasta alrededor de 48 horas. Sin embargo, la reacción de reticulación se lleva a cabo preferentemente a alrededor de 5 hasta 50°C durante alrededor de 5 minutos hasta alrededor de 24 horas. Esta reacción de reticulación provoca reticulaciones entre el colágeno y (las superficies de) las materias alimentarias sólidas, y eventualmente las materias alimentarias sólidas se unen entre sí vía el colágeno.

Finalmente se describirán las materias alimentarias sólidas a usar según la presente invención.

Las materias alimentarias sólidas se refieren como materias que no fluyen libremente, que pueden retener ciertas formas por sí mismas. Sus ejemplos incluyen no sólo las denominadas carnes, tales como carne de vaca, carne de cerdo, carne de caballo, carne de cordero, carne de cabra, carne de liebre domesticada, pollo y similares, sino también diversos tipos de carne de pescado, mariscos, crustáceos tales como gambas, cangrejos, y similares, moluscos tales como calamares, pulpos y similares, y huevas de pescado, tales como huevas de salmón, huevas de salmón saladas, y similares. Además, también se pueden usar alimentos procesados, tales como quesos, fideos, pastas de pescado al vapor, y similares. Sin embargo, las materias alimentarias sólidas no están limitadas a las enumeradas anteriormente, y se puede usar cualquier materia alimentaria sólida como las materias alimentarias sólidas a usar según la presente invención, en tanto que se logren los objetos o efectos de la presente invención.

Además, una gelatina de pescado a usar según la presente invención tiene una característica tal que se puede obtener una elevada resistencia de unión de forma muy rápida al añadirla con una cantidad adecuada de agua. De este modo, cuando no se puede aplicar una presión elevada en el momento de la unión, desde el punto de vista de las etapas de producción o debido a la característica de las materias alimentarias sólidas por cuanto no tienen formas uniformes, son frágiles, y similares, el método de la presente invención hace posible la unión rápida por su elevada resistencia de unión sin que se aplique una presión. Como ya se ha descrito anteriormente, el método de la presente invención se puede aplicar a todas las materias alimentarias sólidas. Sin embargo, se observan efectos significativos particularmente cuando el método de la presente invención se aplica a la unión de carnes de animales o carnes de pescado. Por encima de todo, se muestran efectos más significativos cuando el método de la invención se usa para unir carnes de pescados y similares, que son materias alimentarias sólidas frágiles.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra la resistencia a la tracción de carnes unidas obtenidas usando diversos tipos de gelatinas.

A: una gelatina de origen de cerdo "Gelatin AP-100" (nombre comercial), de Nitta Gelatin Co., Japón.

B: una gelatina de origen de cerdo "Gelatin AE" (nombre comercial), de Nitta Gelatin Co., Japón.

C: una gelatina de origen de cerdo "Gelatin R" (nombre comercial), de Nitta Gelatin Co., Japón.

D: una gelatina de origen de pescado "Norland HMW Fish Gelatin" (nombre comercial), de Norland Products Inc.

E: una gelatina procedente de piel de salmón (producto de ensayo).

La Fig. 2 muestra la resistencia a la tracción de carnes unidas obtenidas usando colágenos que tienen diferentes tamaños de partículas.

La Fig. 3 muestra la resistencia a la tracción de carnes unidas obtenidas usando diversas proteínas (Ejemplo 1).

1. "Norland HMW Fish Gelatin" + transglutaminasa

2. "SCANPRO T-95" + transglutaminasa

3. Caseinato de sodio + transglutaminasa

4. "Norland HMW Fish Gelatin" sola.

La Fig. 4 muestra la resistencia a la tracción de carnes unidas obtenidas usando diversos tipos de preparaciones de enzimas en estados en forma de pasta obtenidos disolviendo preparaciones de enzimas en agua.

La Fig. 5 muestra la resistencia a la tracción de carnes unidas obtenidas usando las preparaciones de enzimas en polvo como tales, es decir, en formas de polvo (Ejemplo 5).

Mejor modo para llevar a cabo la invención

La presente invención se describirá a continuación con mayor detalle con referencia a los Ejemplos. Sin embargo, el alcance técnico de la presente invención no se debe limitar a los mismos.

Ejemplo 1

Producción de carne unida con transglutaminasa y colágeno

Como la transglutaminasa, se usó una transglutaminasa comercialmente disponible "ACTIVA TG" (producto de AJINOMOTO CO., INC., actividad específica: 1.000 unidades/g), originada de un *Streptoverticillium* (*Streptoverticillium mobaraense* F013819). Por otro lado, como el colágeno, se usó "Norland HMW Fish Gelatin" (nombre comercial), que fue una gelatina de pescado fabricada por Norland Products Inc. en los Estados Unidos de América. Como resultado del análisis de composición de aminoácidos descrito anteriormente, esa "Norland HMW Fish Gelatin" tuvo un contenido de iminoácido de 15,7%.

Se disolvieron 1,8 g del colágeno en 10 ml de agua a alrededor de 20°C. A la disolución resultante se añadieron entonces 300 g de trozos pequeños (en cubos de alrededor de 2 cm) de pierna de cerdo, y la mezcla se mezcló bien de forma que se permitió que la disolución se extendiese completamente sobre las superficies de los trozos de carne. A eso se añadió después una disolución obtenida disolviendo 180 unidades de la transglutaminasa en una pequeña cantidad

ES 2 283 529 T3

de agua (2 ml), y el colágeno (disolución), y los trozos de carne y la transglutaminasa (disolución) se mezclaron bien de forma que formaron una mezcla uniforme (0,6 unidades de la transglutaminasa y 0,006 g del colágeno por 1 gramo de carne).

5 Después, la mezcla resultante se rellenó en un tubo de estuche con una anchura plegable de 75 mm, y se dejó reposar a 5°C durante 2 horas, con lo que se permitió que transcurriese la acción enzimática de la transglutaminasa. Después de dejarla reposar, la mezcla se puso en un congelador a -40°C, para mantenerla congelada hasta su evaluación. Como
10 controles, se prepararon otros tres tipos de carne de cerdo unida, repitiendo los procedimientos anteriores excepto que se usó un colágeno “SCANPRO T-95” (nombre comercial), fabricado por Protein Foods A/S Co., Ltd., descrito en la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 070961/1998, en lugar del colágeno, y excepto que se usó
15 caseinato de sodio en lugar del colágeno, o de que se usó solamente el colágeno sin añadir nada de transglutaminasa (la siguiente Tabla 2). En el caso de “SCANPRO T-95”, la cantidad de agua en la que se había de disolver el colágeno fue 12,6 ml, para facilitar la dispersión (7 partes en peso de agua por 1 parte en peso del colágeno), según la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 070961/1998 previamente citada, y se preparó de la misma manera una
carne de cerdo unida. Como resultado del análisis de composición de aminoácidos descrito anteriormente, “SCANPRO T-95” tuvo un contenido del iminoácido de 20,5%.

TABLA 2

20	1.	“Norland HMW Fish Gelatin” + transglutaminasa
	2.	“SCANPRO T-95” + transglutaminasa
	3.	Caseinato de sodio + transglutaminasa
25	4.	“Norland HMV1/Fish Gelatin” sola

La barra de carne de cerdo unida congelada se cortó en rebanadas hasta un grosor de 9 mm y una anchura de
25 mm. Después de que las rebanadas se descongelasen, se midieron sus resistencias a la tracción. Además, ambas
30 superficies de las rebanadas se asaron en una plancha caliente para realizar el ensayo sensorial.

Los resultados se mostrarán en la Fig. 3. Como se entiende de la Fig. 3, la resistencia a la tracción de la carne de
cerdo unida fue, cuando se usó el colágeno “Norland HMW Fish Gelatin” que tiene un contenido del iminoácido de
15,7%, 110 g/cm², indicando una unión suficientemente práctica y fuerte. Aunque se obtuvo una adhesión práctica de
35 80 g/cm² en la unión con el caseinato de sodio como ya se conocía convencionalmente, se obtuvo una mayor resistencia de unión cuando se usó el colágeno. Por el contrario, en la unión con “SCANPRO T-95” y la transglutaminasa, y en la unión con el colágeno solo, no se observó una unión práctica entre los trozos de la carne. Según la solicitud de patente japonesa abierta al público (*Kokai*) n° 070961/1998 mencionada anteriormente, puesto que “SCANPRO T-95” muestra una capacidad de dispersión mediante el uso de agua fría, se puede afirmar que no se muestran propiedades adhesivas cuando se usa agua a 20°C como en los procedimientos anteriores de la presente invención, y por lo tanto
40 que el control de la temperatura del agua hace complicadas las operaciones. Mientras, cuando se usa el colágeno, es posible la unión, y se puede obtener una elevada resistencia de unión, sin ninguna necesidad particular de controlar la temperatura del agua, en tanto que se use agua a la temperatura normal (15 a 25°C).

45 Además, cuando se asó, el alimento unido de la presente invención no se separó de las materias alimentarias sólidas (trozos de carne) en las interfaces unidas, dio una textura natural y dio un buen gusto y sabor a carne fresca.

Ejemplo 2

50 Preparación de preparaciones de enzimas para unión

Se prepararon siete (7) tipos de la preparación de enzimas de la invención para unión, y que se van a usar en los siguientes Ejemplos 3 y 4, mezclando los ingredientes en las relaciones mostradas en la siguiente Tabla 3. Debe
55 anotarse que, la transglutaminasa usada fue la misma que en el Ejemplo 1.

60

65

ES 2 283 529 T3

TABLA 3

5	Receta	Cantidades mezcladas	Contenido del iminoácido
	a) "Norland HMW Fish Gelatin"	60 unidades	15,7 %
	Lactosa	40 g	
10	Transglutaminasa	6.000 unidades	
	b) Colágeno procedente de piel de salmón (producto de ensayo)	60 g	16,9 %
	Lactosa	40 g	
15	Transglutaminasa	6.000 unidades	
	c) "Gelatin AP100"	60g	21,7%
	Lactosa	40 g	
	Transglutaminasa	6.000 unidades	
20	d) "Gelatina AP100"	30g	18,7%
	"Norland HMW Fish Gelatin"	30 g	
	Lactosa	40 g	
	Transglutaminasa	6.000 unidades	
25	e) "SCANPRO T-95"	60 g	20,5%
	Lactosa	40 g	
	Transglutaminasa	6.000 unidades	
	f) Caseinato de sodio	60 g	-
30	Lactosa	40 g	
	Transglutaminasa	6.000 unidades	
	g) "Norland HMW Fish Gelatin"	60 g	15,7%
35	Lactosa	40 g	

Ejemplo 3

40 *Producción de carne unida usando la preparación de enzimas para unión (parte 1)*

Se tomó una porción de 3 gramos de cada uno de los 5 tipos de preparaciones de enzimas para unión, (a), (d), (e), (f) y (g), preparados en el Ejemplo 2, y se añadió agua (20°C) a cada una de las porciones en una cantidad de cuatro veces el peso de cada porción, para dispersar cada porción en ella, con lo que se prepararon 5 tipos de masa parecida a una pasta. Mediante el uso de estas pastas como aglutinantes, se prepararon carnes unidas.

Es decir, cada una de estas pastas se añadió a 300 g de trozos pequeños (en cubos de alrededor de 2 cm) de pierna de cerdo, y la mezcla se mezcló bien de forma que se dejó que la pasta se extendiese completamente sobre las superficies de los trozos de carne. Después, cada mezcla resultante se rellenó en un tubo de estuche con una anchura plegable de 75 mm, y se dejó reposar a 5°C durante 2 horas, con lo que se dejó que transcurriese la reacción de reticulación mediante la transglutaminasa. Después de dejar reposar durante 2 horas, las mezclas se pusieron en un congelador a -40°C, para mantenerlas congeladas hasta la evaluación.

Después de almacenarlas en estado congelado durante un día, cada una de las barras de cerdo unidas se cortó en rebanadas hasta un grosor de 9 mm y una anchura de 25 mm. Después de que las rebanadas se descongelaron, se midió su resistencia a la tracción en estado bruto. Adicionalmente, se pasaron ambas superficies de las rebanadas en una plancha caliente, seguido de la realización del ensayo sensorial.

Los resultados se mostrarán en la Fig. 4. Como se puede observar a partir de la Fig. 4, para las preparaciones de enzimas para unión (a) y (b) que comprenden un colágeno que tiene un contenido del iminoácido menor que 20% y una transglutaminasa como ingredientes activos, se observaron fuerzas elevadas de unión de un valor tan elevado como 123 g/cm² y tan elevado como 114 g/cm², respectivamente. Además, aunque se observó una resistencia de unión práctica de 84 g/cm² para la preparación (f) que usa caseinato de sodio y una transglutaminasa, la resistencia de unión no fue tan elevada como la observada cuando se usó colágeno según la presente invención. Mientras, para la preparación (e) que usa un colágeno que tiene un contenido del iminoácido mayor que 20% y una transglutaminasa, y para la preparación (g) que usa un colágeno que tiene un contenido del iminoácido menor que 20% y que no contiene transglutaminasa, no se obtuvo ninguna resistencia de unión práctica.

ES 2 283 529 T3

Además, cuando se asó, la carne de cerdo unida obtenida usando la preparación de enzimas para unión de la presente invención no se separó en pequeños trozos unidos de carne de cerdo en sus interfaces unidas, dio una textura natural, y dio un gusto y un sabor buenos a carne fresca.

5 Ejemplo 4

Producción de carne unida usando la preparación de enzimas para unión (parte 2)

10 Cada uno de los siete tipos de preparaciones de enzima para unión (a) a (g), preparados en el Ejemplo 2, se aplicó uniformemente sobre una superficie de trozos pequeños de pierna de res cortada en un tamaño de alrededor de 2 cm con forma de cubo. Después, se pusieron en contacto dos trozos pequeños de carne entre sí en las superficies en las que se aplicó la misma preparación de enzimas, se introdujeron en una bolsa de polietileno, y después se pusieron en contacto entre sí mediante presión con un sellador de vacío. Después de que se sellaron herméticamente a vacío, los trozos pequeños de carne se dejaron reposar a 5°C durante 2 horas, con lo que se permitió que transcurriese la reacción de reticulación mediante la transglutaminasa, seguido de la medición de su resistencia a la tracción.

20 Los resultados se mostrarán en la Fig. 5. Como se puede entender a partir de la Fig. 5, cuando se usó un colágeno (gelatina) que tiene un contenido del iminoácido menor que 20% como la proteína (los casos de las preparaciones (a), (b) y (d)), se observó una mayor resistencia de unión que la observada cuando se usó caseinato de sodio (el caso de la preparación (f)). Particularmente, cuando se usaron las preparaciones (a) y (d), sorprendentemente se observó una elevada resistencia de unión. Mientras, cuando se usó un colágeno que tiene un contenido del iminoácido mayor que 20% (los casos de las preparaciones (c) y (e)), y cuando se usó la preparación que usa un colágeno que tiene un contenido del iminoácido menor que 20% y que no contiene transglutaminasa (el caso de la preparación (g)), no se obtuvo una resistencia de unión práctica.

25 **Aplicabilidad industrial**

Mientras que un método convencional para unir materias alimentarias sólidas usando una transglutaminasa y un colágeno requiere la dispersión del colágeno en agua fría y operaciones rápidas, la presente invención ha hecho posible 30 unir materias alimentarias sólidas mediante un método simple que no requiere el control de la temperatura del agua. Además, la resistencia de unión lograda de ese modo no sólo es significativamente mayor que la resistencia de unión obtenida cuando se usa un colágeno convencional, sino también es igual o mayor que la resistencia de unión obtenida cuando se usa una caseína que se ha conocido hasta ahora como aglutinante, y el alimento unido obtenido tiene un buen gusto y sabor. Mediante el uso de la presente invención, se pueden proporcionar alimentos unidos producidos a 35 partir de materias alimentarias sólidas mediante un método simple a los consumidores, los cuales no tienen que tomar caseínas debido a alergia a la leche o similar.

40

45

50

55

60

65

ES 2 283 529 T3

REIVINDICACIONES

5 1. Preparación de enzimas para unir materias alimentarias sólidas que comprende, como ingrediente activo, una transglutaminasa, y un colágeno en el que el total de los restos de la hidroxiprolina y prolina en el colágeno es menor que 20% del total de los restos de aminoácidos en el colágeno, y/o un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas inferior a 600 μm .

10 2. Preparación de enzimas para unir materias alimentarias sólidas según la reivindicación 1, en la que dicha transglutaminasa está contenida en una cantidad de 10 a 300 unidades por gramo de la preparación de enzimas.

15 3. Método para producir un alimento unido a partir de materias alimentarias sólidas, que comprende usar, como aglutinante, una transglutaminasa, y un colágeno en el que el total de los restos de la hidroxiprolina y prolina en el colágeno es menor que el 20% del total de los restos de aminoácidos en el colágeno, y/o un colágeno que tiene un diámetro medio de partículas inferior a 600 μm .

20 4. Método para producir un alimento unido a partir de materias alimentarias sólidas, que comprende hacer que una preparación de enzimas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 actúe sobre dichas materias alimentarias sólidas, en el que dicha preparación de enzimas se añade directamente, sin disolverla en agua o en un material líquido, a dichas materias alimentarias sólidas.

25 5. Alimento unido que se ha producido a partir de materias alimentarias sólidas mediante el método descrito en la reivindicación 5 ó 6.

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

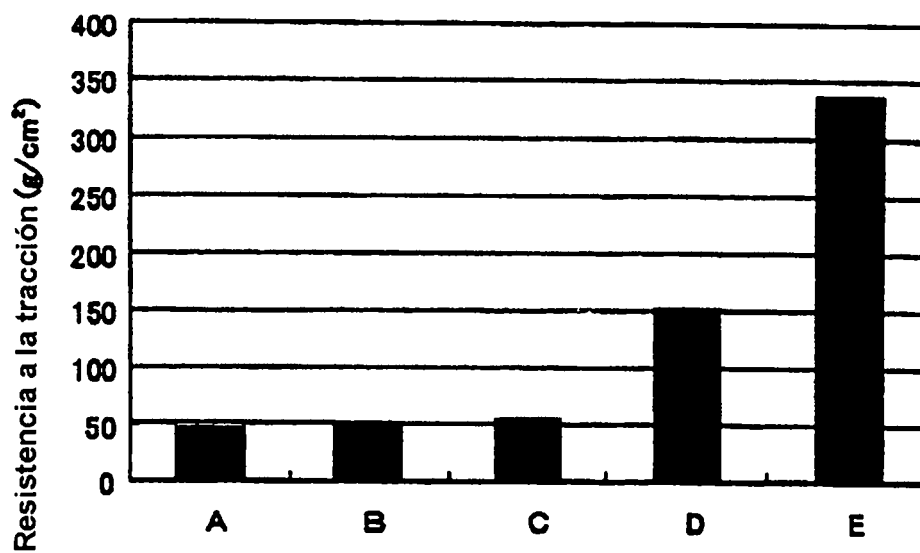


Fig. 2

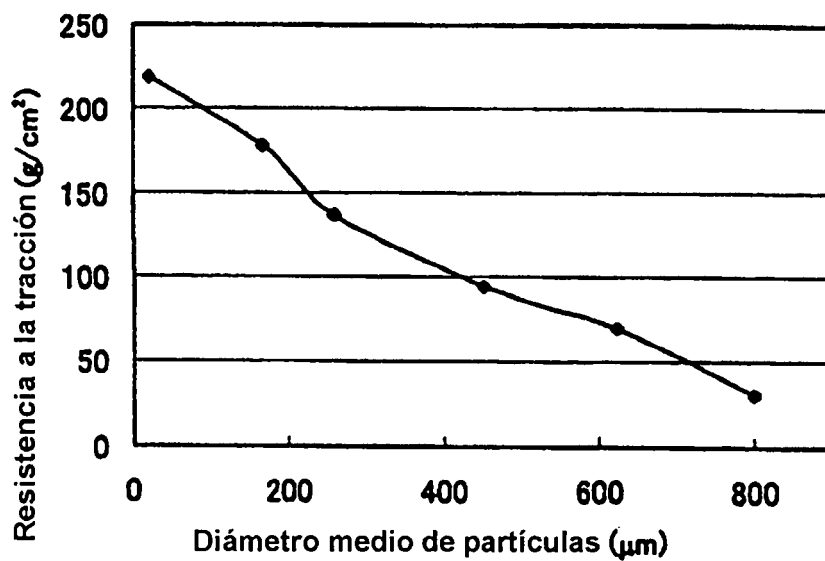


Fig. 3

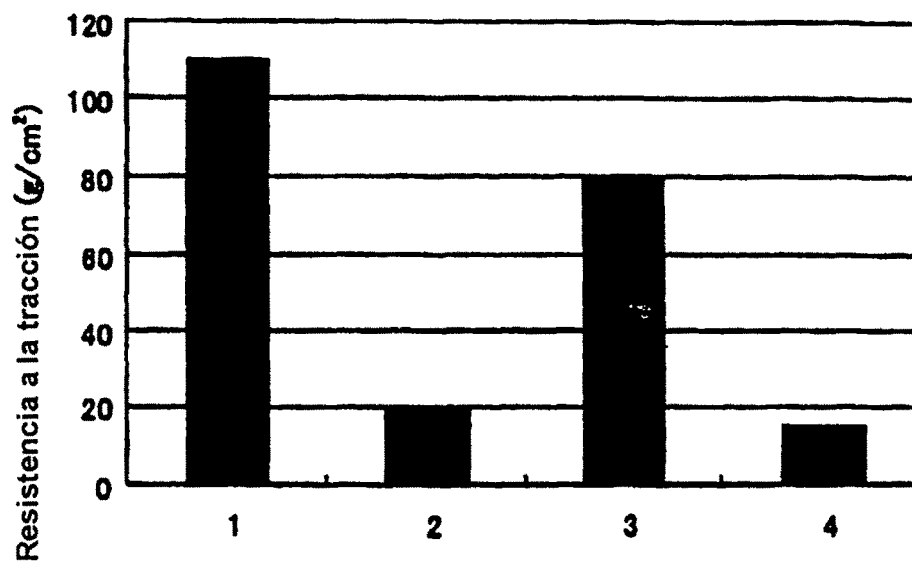


Fig. 4

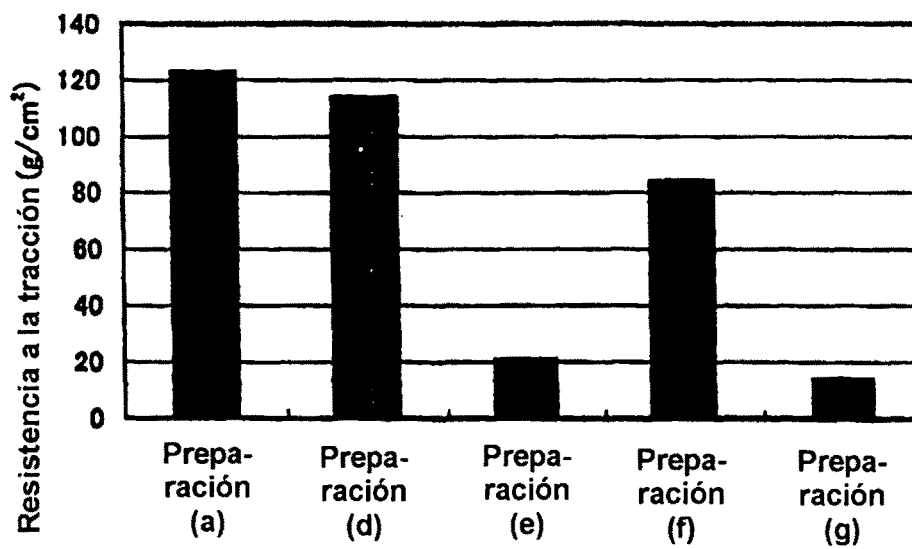


Fig. 5

