



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 168 141**

⑤① Int. Cl.<sup>7</sup>: C12P 19/14

A23L 1/0528

⑫

TRADUCCION DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **97932670.9**

⑧⑥ Fecha de presentación: **25.07.1997**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 917 588**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.1999**

⑤④ Título: **Procedimiento de preparación de una composición polidispersada de sacáridos y composición polidispersada de sacáridos obtenida.**

③⑩ Prioridad: **01.08.1996 BE 9600676**

④⑤ Fecha de la publicación de la mención BOPI:  
**01.06.2002**

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de patente:  
**01.06.2002**

⑦③ Titular/es: **RAFFINERIE TIRLEMONTAISE**  
**Avenue de Tervuren 182**  
**1150 Bruxelles, BE**

⑦② Inventor/es: **De Leenheer, Leen y**  
**Booten, Karl**

⑦④ Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

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).

## DESCRIPCION

Procedimiento de preparación de una composición polidispersada de sacáridos y composición polidispersada de sacáridos obtenida.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de una composición polidispersada de sacáridos pobre en glucosa (G), fructosa (F) y sacarosa (GF), que comprende por lo menos 93,5 % en peso como materia seca (MS) de fructooligosacáridos constituidos por cadenas de unidades de fructosa de la fórmula  $F_m$  y por cadenas de unidades de fructosa con una glucosa terminal de la fórmula  $GF_n$ , estando n y m comprendidos entre 2 y 20, preferentemente entre 2 y 10, más particularmente entre 2 y 10, según el cual una materia que contiene unos fructanos es sometida a una hidrólisis parcial.

15 Dicho procedimiento se describe en la patente EP-B-0 440 074, que se refiere a un procedimiento de fabricación de un producto inuloooligosacárido pobre en glucosa, fructosa, y sacarosa. La materia que contiene fructanos es una materia vegetal que contiene inulina que es sometida, directamente después de molido y pasteurización, a un tratamiento enzimático que utiliza una endoinulinasa. Se obtiene así un caldo parcialmente hidrolizado que se filtra, y se obtiene un filtrado que contiene 12,5 % de disacáridos, de los que 66 % es sacarosa y 34 % inulobiosa. A continuación, tiene lugar un tratamiento del filtrado por una alfaglicosidasa para eliminar del mismo la sacarosa, es decir que la sacarosa es transformada en glucosa y fructosa. La glucosa y la fructosa son a continuación extraídas por separación cromatográfica.

20 Este procedimiento presenta el inconveniente de exigir dos tratamientos enzimáticos y una separación cromatográfica, lo que aumenta su coste y su complejidad.

25 Un procedimiento de este tipo se describe también en el artículo "Isolation and Identification of O- $\beta$ -D-fructofuranosil-(2 $\rightarrow$ 1)-O- $\beta$ -fructofuranosil-(2 $\rightarrow$ 1)-D-fructosa, a product of the enzymic hydrolysis of the inulin from *Cichorium intybus*" (A. De Bruyn et al., Carbohydrate Research, 235, pp. 303-308 (1992)). En el procedimiento descrito en este artículo, se utiliza como materia que contiene los fructanos, inulina extraída de raíces de *achicoria* (*Cichorium intybus*). Esta inulina es sometida a un tratamiento enzimático que utiliza una endoinulinasa. Se obtiene así un producto siruposo bruto que contiene 85 % en peso como materia seca (MS) de fructooligosacáridos. Este producto bruto es a continuación enriquecido por cromatografía produciendo una fracción enriquecida que contiene 95 % de fructooligosacáridos (principalmente unas  $GF_n$ ) y una fracción pobre que contiene 55 % de fructooligosacáridos ( $GF_n + F_m$ ).

35 Aunque este procedimiento conocido requiera sólo un tratamiento enzimático, continua siendo indispensable una separación cromatográfica. Además, la fracción que contiene 55 % de fructooligosacáridos es un subproducto que tiene poco valor desde el punto de vista comercial.

40 Otro procedimiento de producción de inuloooligosacáridos pobres en glucosa, fructosa y sacarosa se describe en la solicitud de patente japonesa JP-5-21074 (publicación JP-6-14792). Según este procedimiento, una solución acuosa de 20 % de inulina, extraída de raíces de *achicoria*, es sometida a un tratamiento enzimático utilizando una endoenzima aislada de un cultivo de *Penicillium purpurogenum* var. *Rubrisce-rotium*. Después de una hidrólisis parcial, cuyo límite de descomposición es de aproximadamente 50 %, siendo los azúcares reductores calculados como fructosa, la solución obtenida es purificada por un tratamiento con unas resinas intercambiadoras de iones y carbón activo y, a continuación, la solución es concentrada y el producto obtenido es secado. El análisis por gel cromatográfico del producto obtenido indica un contenido en:

DP1: 1,5 %; DP2: 3,3 %; DP3: 31,4 %; DP4: 26,6 %;

50 DP5: 20,4 %; DP6: 13,3 %; DP > 6 : 3,5 %

Los resultados de una hidrólisis parcial similar efectuada sobre inulina por una endoenzima obtenida de un cultivo de *Penicillium trzebinskii* indica un contenido en:

55 DP1: 1,3 %; DP2: 0,9 %; DP3: 26,5 %; DP4: 27,6 %;

DP5: 18,5 %; DP6: 14,28 %; DP > 6 : 11,0 %

60 Sin embargo, en este análisis de producto acabado por gel cromatográfico, los resultados obtenidos sólo se refieren esencialmente a la fracción de inuloooligosacáridos que tiene un DP máximo de aproximadamente 8, y que los fructooligosacáridos que tienen un DP más elevado, aunque presentes, no son cuantificables por este método.

El objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento tal como el definido anteriormente, que permita evitar los inconvenientes de los procedimientos de la técnica conocida.

5 La presente invención se refiere en particular a un procedimiento de preparación de una composición polidispersada de sacáridos pobre en glucosa (G), fructosa (F) y sacarosa (GF) que comprende por lo menos 93,5% en peso como materia seca (MS) de fructooligosacáridos constituidos por cadenas de unidades de fructosa de la fórmula  $F_m$  y por cadenas de unidades de fructosa con una glucosa terminal de la fórmula  $GF_n$ , estando n y m comprendidos entre 2 y 20, preferentemente entre 2 y 10, más particularmente entre 2 y 9, según el cual una materia que contiene unos fructanos es sometida a una hidrólisis parcial. A este fin, según la invención, la materia que contiene unos fructanos comprende unos fructanos de grado de polimerización (DP) medio de por lo menos 7, es decir superior o igual a 7, y comprende como máximo 3,5% en peso como materia seca en total de glucosa, de fructosa y de sacarosa.

15 Debe observarse que la composición polidispersada de sacáridos obtenida por el procedimiento de preparación según la invención está esencialmente exenta de inulooligosacáridos que tienen un grado de polimerización de más de 10, preferentemente más de 9, y que, por consiguiente, su solución acuosa a una concentración de 75%, y normalmente incluso de 77%, en peso de materia seca, resulta limpia cuando tiene lugar un almacenado prolongado, incluso durante varios años, preferentemente a temperatura ambiente. Esta característica aporta al producto obtenido por el procedimiento según la invención una ventaja considerable en el plano técnico-comercial con respecto a productos obtenidos por un procedimiento conocido de la técnica.

25 En efecto, se ha encontrado que, cuando se utiliza en la hidrólisis parcial dicha materia, se obtiene directamente una composición polidispersada que comprende por lo menos 93,5% como MS de fructooligosacáridos sin necesitar una separación cromatográfica. Ventajosamente, la composición polidispersada comprende por lo menos 95% de fructooligosacáridos y dicha materia comprende unos fructanos que contienen como máximo 2% de F, G y GF en total.

30 Preferentemente, la materia que contiene fructanos comprende como máximo 1% de F, G y GF en total.

35 Por "fructano", se entiende cualquier compuesto del que uno o varios enlaces fructosil-fructosa constituyen la mayor parte de los enlaces, tal como se ha indicado en el documento "Glossary of Fructan Terms" (A. L. Waterhouse et al., Science and Technology of Fructans, pp. 1-7 (1993)), incorporado aquí como referencia.

40 Por "grado de polimerización (DP) medio", se entiende el grado de polimerización medio ( $\overline{DP}_n$ ) calculado, después de hidrólisis total, de la forma siguiente:

$$\overline{DP}_n = \frac{\% \text{ total de F}}{\% \text{ de total de G}} + 1$$

45 Se trata por tanto de una mediana de números (ver también "Production and use of inulin: Industrial reality with a promising future" (De Leenheer L., Carbohydrate as organic Raw Material Vol. III, pp. 67-92 (1996) incorporado a continuación como referencia).

50 Por "hidrólisis parcial", se entiende una hidrólisis de la materia que contiene unos fructanos a fin de obtener unos oligosacáridos cuyo DP máximo es de 20, preferentemente de 10, y más particularmente de 9, y el contenido de F + G + GF es inferior a 5%, y por tanto opuesta a una hidrólisis total que implicaría una degradación completa a monómeros.

55 Ventajosamente, en el procedimiento según la invención, los fructanos son del tipo inulina o del tipo levano; estando la inulina y el levano caracterizados por la presencia principal de enlaces fructosil-fructosa respectivamente del tipo  $\beta$ -(2→1) y del tipo  $\beta$ -(2→6) (ver también el documento citado en el párrafo anterior).

60 La inulina puede ser inulina natural o ser producida por unos microorganismos. En la inulina natural, el DP varía en general de 2 a 60, y depende del origen vegetal, de la edad de la planta, de la duración y de las condiciones de su conservación así como del procedimiento de extracción eventual. La inulina puede ser extraída de la *achicoria* (*Cichorium intybus*) de la dalia (*Dahlia variabilis*), del *topinambour* (*Helianthus tuberosus*) o del fondo de alcachofa (*Cynara scolymus*). La inulina puede también ser extraída de las plantas que han sido genéticamente manipuladas. Un procedimiento de transformación genética de

dichas plantas se describe en particular en la solicitud de patente WO94/14970. El DP de los fructanos obtenido de dichas plantas sobrepasa fácilmente de 10.000.

Una inulina natural apta para ser utilizada en el procedimiento según la invención es por ejemplo una inulina que tiene un DP medio de 27 y exenta de G, F y GF. Esta inulina es comercializada bajo el nombre SIGMA® con referencia I-2255, I-3754 y I-2880 según que la inulina sea extraída respectivamente de la *achicoria*, de la dalia o del topinambour.

Otra inulina natural apta para ser utilizada es una inulina extraída de la *achicoria* que es comercializada por ORAFTI con el nombre Raftiline® HP. Este producto tiene un DP medio de por lo menos 23 y contiene como máximo, en totalidad con respecto a los otros sacáridos, 0,5% de G, F y GF (ver también la ficha del producto fechada en 04/96 distribuida por ORAFTI). La producción de dicho producto se describe en la solicitud de patente W096/01849. Según esta solicitud, se parte de una solución de inulina extraída de la *achicoria* que tiene una temperatura de 65°C. Esta solución es puesta en un estado metastable y a continuación rápidamente enfriada. Después se añaden unos gérmenes de inulina y se obtiene un precipitado de inulina fraccionada en la solución. Este precipitado es separado de la solución, lavado y secado. La inulina fraccionada obtenida está exenta de impurezas, tiene un DP medio preferentemente comprendido entre 20 y 40, y contiene menos de 2% de F, G y GF.

Es evidente que en el procedimiento según la invención, se puede utilizar el precipitado lavado tal cual como materia prima.

El DP de una inulina producida por unos microorganismos puede variar hasta unos valores del orden de 60.000. Dicha inulina es, por ejemplo, sintetizada a partir de sacarosa por *Aspergillus sydowi conidia* en presencia de L-cisteína, como se describe en el artículo "Characteristics and Applications of a Polysaccharide Synthesized from Sucrose by *Aspergillus sydowi conidia*" (T. Harada et al., Food Hydrocolloids, Vol. 7. No. 1, pp. 23-28 (1993)). La obtención de una inulina "bacteriana" por una fructosil transferasa de *Streptococcus mutans* se describe en "Genetic and Antigenic Comparison of *Streptococcus mutans* Fructosyltransferase and Glucanbinding Protein" (J. Aduse-Opoku, FEMS Microbiology Letters 59, pp. 279-282 (1989)).

El levano se presenta en la naturaleza sobre todo en unas gramíneas, pero la extracción del levano de estas plantas no es explotada actualmente industrialmente. El levano se obtiene principalmente por unos microorganismos, por ejemplo a partir de sacarosa por la actividad de la enzima levansucrasa de *Bacillus subtilis* tal como se describe en "Modification of the Transfructosylation Activity of *Bacillus subtilis* levansucrase by Solvent Effect and Site-directed Mutagens" (R. Chambert et al., A. Fuchs (Ed.) Inulin and Inulin-containing crops, p. 259 (1993)). Es evidente que el levano puede ser también extraído (como se ha mencionado más arriba para la inulina) de plantas que han sido genéticamente manipuladas.

Según la invención, la materia que contiene unos fructanos es puesta en solución en agua previamente al tratamiento hidrolítico. Es deseable preparar una solución de 5 a 25% como materia seca, preferentemente de 10 a 20% como materia seca, de fructanos. Sin embargo, en presencia de fructanos que tienen un DP elevado, puede ocurrir que no se pueda incluso disolver 5% de fructanos. En todo caso, es importante vigilar que los fructanos sean completamente solubilizados.

El tratamiento hidrolítico puede consistir en un tratamiento enzimático parcial de los fructanos. Este tratamiento enzimático parcial de los fructanos es bien conocido por el experto en la materia.

En el caso en que los fructanos son la inulina, se utiliza una preparación enzimática que tiene una actividad endoinulinasa. Dichas preparaciones son conocidas y pueden ser obtenidas de cultivos de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* ó *Chrysosporium* (ver también el documento "The production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or Fructosyltransferase from *Aspergillus ficuum*" (Denpun Kagaku, Vol. 36, No. 2, pp. 103-111 (1989)), incorporado aquí como referencia.

En el caso en que los fructanos son levano, se utiliza una preparación enzimática que tiene una actividad endolevanasa, como se describe en el artículo "Metabolism in Microorganisms, Part II, Biosynthesis and Degradation of Fructans by Microbial Enzymes Other than Levansucrase" (T. Uchiyama, Science and Technology of Fructans, p. 169 (1993)).

Desde luego que las preparaciones enzimáticas sólo pueden tener una baja actividad exo, preferentemente, las mismas están esencialmente exentas de actividad exo. En general, el tratamiento enzimático tiene lugar a una temperatura de 58 a 62°C y a un pH de 5,2 a 5,6, preferentemente 5,4. La cantidad

de unidades de enzimas (método NOVO) que se adiciona varía de 0,25 a 6 por gramo de materia seca de fructanos en la solución. Preferentemente, se utilizan 0,4 a 1 unidad de enzima por gramo. La reacción enzimática requiere entonces respectivamente 50 a 2 horas y 30 a 12 horas. Cuando los fructanos tienen un DP medio elevado, por ejemplo superior a 50 como en particular unos fructanos producidos por unos microorganismos, se recomienda aumentar, preferentemente doblar, la cantidad de unidades de enzima que se utilizan y/o aumentar la duración de reacción. La reacción enzimática puede ser parada en particular hirviendo la solución hidrolizada, y/o aumentando el pH a 8-9.

Es evidente que la solución polidispersada de sacáridos que se obtiene después del tratamiento enzimático es purificada (si es necesario) por unos tratamientos conocidos. Eventualmente, se puede evaporar la solución a fin de obtener un jarabe de una cierta materia seca o se puede secar la solución, por ejemplo por un secado por atomización, a fin de obtener un polvo de la granulometría deseada.

La presente invención se refiere también a una composición polidispersada de sacáridos pobre en glucosa (G), fructosa (F), y sacarosa (GF) que comprende por lo menos 93,5 %, preferentemente 95 %, en peso como MS, de fructooligosacáridos constituidos por cadenas de unidades de fructosa y por cadenas de unidades de fructosa con una glucosa terminal, estando estas cadenas representadas respectivamente por la fórmula  $F_m$ , y la fórmula  $GF_n$ , en las cuales n y m están comprendidos entre 2 y 20.

Una composición polidispersada de sacáridos de este tipo se describe en la patente EP-B-0 440 074. En esta composición conocida, la relación entre los fructooligosacáridos no reductores ( $GF_n$ ) y los fructooligosacáridos reductores ( $F_m$ ) no está indicada. Sin embargo, del procedimiento de preparación esta composición, se puede deducir que la mayor parte de los fructooligosacáridos son unos  $GF_n$ .

Dicha composición polidispersada de sacáridos se describe también en el artículo de A. De Bruyn et al. citado más arriba. Esta composición conocida comprende principalmente unos fructooligosacáridos de la fórmula  $GF_n$ . Esta composición es comercializada por ORAFITI bajo el nombre Raftilose<sup>®</sup> L95 para la forma líquida (jarabe) y el nombre Raftilose<sup>®</sup> P95 para la forma sólida (polvo) (ver también las fichas de producto fechadas en 05/95 distribuidas por la Sociedad Raffinerie Tirlemontoise).

Estas composiciones conocidas son sobre todo utilizadas en la industria alimenticia. Por ejemplo, como ingrediente alimenticio, se combinan de manera fácil con otros ingredientes de productos alimenticios sin perturbar en general las propiedades organolépticas y visuales de dichos productos. En efecto, estas composiciones son a menudo utilizadas en combinación con unos polialcoholes (siendo unos sucedáneos del azúcar), a fin de mejorar algunas propiedades de estos polialcoholes, en particular la coloración de los productos alimenticios que se someten a cocción. Sin embargo, estas composiciones conocidas presentan el inconveniente de que en ciertas utilizaciones, tales como la pastelería, no mejoran suficientemente la coloración.

Además, la preparación de estas composiciones conocidas es compleja y costosa.

El objetivo de la presente invención es proporcionar también una nueva composición polidispersada de sacáridos tal como la definida anteriormente, que evite los inconvenientes de las composiciones conocidas, y que presente en unos productos alimenticios unas propiedades organolépticas y visuales comparables o mejoradas con respecto a las composiciones conocidas.

A este fin, los fructooligosacáridos comprenden más de 43 % en peso de fructooligosacáridos de fórmula  $F_m$ .

Ventajosamente, los fructooligosacáridos comprenden más de 45 %, preferentemente más de 50 %, en peso de fructooligosacáridos de fórmula  $F_m$ .

Preferentemente, la composición según la invención comprende menos de 5 %, más bien menos de 4 %, en peso como MS total de fructosa, de glucosa y de sacarosa.

Ventajosamente, la composición de la invención comprende como máximo 1 % en peso como MS de sacarosa. Dicha composición conviene aún mejor para unos diabéticos.

Además, la composición según la invención comprende, preferentemente, unos fructooligosacáridos constituidos por cadenas de unidades de fructosa y por cadenas de unidades de fructosa con una glucosa terminal, estando estas cadenas representadas respectivamente por la fórmula  $F_m$  y la fórmula  $GF_n$ , en las cuales n y m están comprendidos entre 2 y 10, más particularmente entre 2 y 9.

Además, la composición polidispersada de sacáridos según la invención está esencialmente exenta de inulooligosacáridos que tienen un grado de polimerización de más de 10, preferentemente más de 9, y, por consiguiente, su solución acuosa tiene una concentración de 75 %, y normalmente incluso de 77 %, en peso de materia seca, permanece limpida cuando tiene lugar un almacenado prolongado, incluso durante 5 varios años, incluso a temperatura ambiente.

Los enlaces entre las unidades de fructosa pueden ser del tipo  $\beta$ -(2→1) o del tipo  $\beta$ -(2→6).

10 Ventajosamente, la composición según la invención se obtiene por el procedimiento según la invención definido anteriormente.

Las composiciones según la invención son particularmente adecuadas para ser utilizadas en la alimentación humana o animal como agentes de masa, edulcorantes, alimentos débilmente calóricos o levemente 15 cariógenos, productos bifidógenos o que mejoran la flora intestinal, productos con efecto de fibras alimenticias, agentes que disminuyen el porcentaje de colesterol, o también para mejorar la tolerancia de los productos alimenticios.

Las composiciones según la invención son también particularmente adecuadas para ser utilizadas en 20 productos farmacéuticos y/o cosméticos.

Por consiguiente, la presente invención se refiere también a una composición farmacéutica y/o cosmética que comprende la composición polidispersada de sacáridos según la invención.

25 Los ejemplos siguientes ilustran de manera no limitativa el objeto de la presente invención.

#### Ejemplo 1

30 La materia prima que contiene fructanos es inulina extraída de la *achicoria* que tiene un DP medio de 27 y exenta de F, G y GF. Se trata de una inulina comercializada bajo el nombre SIGMA®. De esta inulina, se prepara una solución de 10 % MS, se adapta el pH de la solución hasta un valor de 8 y se calienta durante 15 minutos a 90°C a fin de obtener una solución clara. Se enfría la solución clara hasta 65°C antes de tamponarla hasta un pH de 5,4.

35 A continuación, se adicionan 0,6 unidades de la enzima A. Ficum endoinulinasa (NOVO) por gramo de MS de inulina durante un tratamiento de 24 horas manteniendo la temperatura a 60°C. La hidrólisis enzimática es parada llevando a ebullición la solución hidrolizada después de haber llevado el pH a 8. La solución polidispersada de sacáridos así obtenida es a continuación decolorada y desalada según los procedimientos conocidos por el experto en la materia. El solvente de la solución polidispersada es a 40 continuación evaporado para obtener un jarabe con 75 % de MS fácilmente almacenable.

Se ha determinado la relación entre los diferentes sacáridos en la solución obtenida por GS (Gas Chromatography) (tabla 1).

45 Esta relación es determinada para una composición según los procedimientos del estado de la técnica descritos más arriba y utilizados para caracterizar los productos Raftilose® L95 comercializados por ORAFTI.

50

55

60

# ES 2 168 141 T3

TABLA 1

	La composición de la invención obtenida por el procedimiento de la invención	La composición del estado de la técnica Raftilose® L95
Polisacárido	% carbohidrato como MS	% carbohidrato como MS
Fructosa	1,5	0,55
Glucosa	0,1	0,04
DFA*	0,5	0,12
Sacarosa	0	3,52
F <sub>2</sub>	1,58	0,41
GF <sub>2</sub>	0,18	4,61
F <sub>3</sub>	32	6,51
GF <sub>3</sub>	3,16	15,18
F <sub>4</sub>	31,11	13,42
GF <sub>4</sub>	5,98	21,14
F <sub>5</sub>	10,90	8,15
GF <sub>5</sub>	4,57	16,81
F <sub>6</sub>	6,50	8,56
GF <sub>6</sub>	1,50	2,31
F <sub>7</sub>	0,7	0,72
GF <sub>7</sub>	0,18	0,36
F <sub>8</sub>	0	0,21
GF <sub>8</sub>	0	0,33
F <sub>9</sub>	0	0
DP > 10		0,17
Total	100	100

## ES 2 168 141 T3

(\*: DFA = difructosa anhídrido)

### Ejemplo 2

5 La materia prima es inulina comercializada por ORAFITI bajo el nombre Raftiline<sup>®</sup> HP. Esta inulina contiene más de 99,5% como MS de inulina de un DP medio de por lo menos 23. Se prepara una solución de 15% MS. Se adapta el pH de la solución hasta un valor de 8,5 y se calienta durante 20 minutos a 90°C a fin de obtener una solución clara. Las otras etapas de este procedimiento son las descritas en el ejemplo 1.

10 De manera similar al ejemplo 1, se determina la distribución de los principales sacáridos del producto obtenido comparada con un producto obtenido según el estado de la técnica, el Raftilose<sup>®</sup> L95 comercializado por Raffinerie Tirlemontoise (tabla 2).

TABLA 2

15

	La composición del estado de la técnica Raftilose <sup>®</sup> L95	La composición de la invención obtenida por el procedimiento de la invención
	% carbohidrato como MS	% carbohidrato como MS
20		
25	Fructosa	0,5
	Sacarosa	3,6
30	Glucosa	0,1
	F <sub>3</sub>	6,4
35	F <sub>m</sub>	35
	GF <sub>n</sub>	60,8
40	FOS	95,8
	F <sub>m</sub> (% p.r. FOS)	37
45	GF <sub>n</sub> (% p.r. FOS)	63
		2,5
		0,3
		0,1
		31,7
		78,2
		19
		97,2
		81
		19

50 Se ha determinado también el equivalente dextrosa, la viscosidad y la higroscopicidad para la composición de la invención y la composición del estado de la técnica. El equivalente dextrosa es respectivamente de aproximadamente 10 y aproximadamente 24. La viscosidad ha sido determinada para una solución respectivamente de 77 y 50% MS a una temperatura respectiva de 10 y 20°C (tabla 3).

55

60



# ES 2 168 141 T3

TABLA 3

Concentración grados BRIX	Temperatura °C	La composición de la invención obtenida por el procedimiento de la invención	La composición del estado de la técnica Raftilose® L95
		Viscosidad mPas	Viscosidad mPas
77	20	10000	16000
77	10	24700	57000
50	20	23,5	29
50	10	32	45

A fin de comparar la retención de agua de la composición según la invención con la de la composición según el estado de la técnica, se han determinado las modificaciones de peso en función del porcentaje de humedad relativa a temperatura ambiente. Los resultados se dan en la tabla 4.

TABLA 4

Humedad relativa	La composición del estado de la técnica Raftilose® L95	La composición de la invención obtenida por el procedimiento de la invención
°C	Diferencia de peso %	Diferencia de peso %
23	- 4,2	- 3,4
44	- 2,0	- 0,2
66	+ 4,7	+ 6,0
80	+ 15,7	+ 8,2

La composición según la invención está caracterizada por una modificación de peso más importante, y es por tanto más higroscópica que la composición según el estado de la técnica. Esto puede ser una ventaja en ciertas aplicaciones, en particular en la preparación de los bizcochos.

Estos dos ejemplos demuestran que el procedimiento según la invención es menos complejo que los procedimientos según el estado de la técnica. Además el procedimiento según la invención es menos costoso, así como la composición según la invención.

Destaca de las tablas 1 y 2, que la relación  $F_m/GF_n$  de la composición según la invención es diferente de la composición según el estado de la técnica y que la composición según la invención puede ser recomendada a los diabéticos. Las tablas 3 y 4 demuestran que la composición según la invención puede ser también recomendada para ciertas aplicaciones.

### Ejemplo 3

La materia prima es inulina obtenida por la acción de una fructosiltransferasa de *Streptococcus mutans*, que contiene más de 99,5 % como MS de inulina de un DP medio de aproximadamente 25.000. Se

## ES 2 168 141 T3

prepara una solución de 10 % MS. Se adapta el pH de la solución hasta un valor de 8 y se calienta durante 20 minutos a 90°C a fin de obtener una solución clara. Se enfría la solución clara hasta 65°C antes de tamponarla hasta un pH de 5,4.

5 A continuación, se añaden 12 unidades de endoinulasa necesaria por gramo de MS de inulina, la cual actúa durante 2 horas manteniendo la temperatura a 60°C. La hidrólisis enzimática es parada hirviendo la solución hidrolizada después de haber aumentado el pH a 8,5 - 9. La solución polidispersada de sacáridos así obtenida es a continuación decolorada y desalada de la manera habitual.

10 Se ha determinado la relación entre los diferentes sacáridos en la solución obtenida por HPLC (High Pressure Liquid Chromatographie) (tabla 5).

TABLA 5

	La composición de la invención obtenida por el procedimiento de la invención
	% carbohidrato como MS
15	
20	
	Fructosa 3,55
25	Glucosa 0,11
	Sacarosa 0,11
30	Otros DP = 2 4
	F <sub>3</sub> 30,85
35	DP = 3 23,6
	DP = 4 11,67
40	DP = 5 26,11
	Total 100

### 45 Ejemplo 4

Este ejemplo se refiere a la utilización de la composición polidispersada de sacáridos (CPS) según la invención comparada con la de los productos según el estado de la técnica en unas aplicaciones diversas. Se compara el aspecto, la estructura, la coloración, la textura, la sensación en boca y el sabor de las composiciones alimenticias obtenidas. Cada aplicación es presentada según el esquema siguiente:

1. Ingredientes y proporciones
- 55 2. Receta: método de preparación
3. Resultados (comparación de las tres preparaciones)

60

## ES 2 168 141 T3

Columna 1: la referencia, es decir la aplicación preparada sin la adición de una composición polidispersada de sacáridos.

Columna 2: la aplicación preparada con la adición de una composición polidispersada de sacáridos según el estado de la técnica (composición comercializada bajo el nombre Raftilose<sup>®</sup> L95)

Columna 3: la aplicación preparada con la adición de una composición polidispersada de sacáridos según la presente invención (composición descrita en el ejemplo 2)

4. Conclusiones de la comparación. Si no se hace mención particular, los otros criterios dan resultados idénticos.

### Aplicación 1

*Leche chocolateada*

#### 1. Ingredientes

##### *Preparación de 300 g de cada leche chocolateada*

Leche chocolateada	1		2		3	
	%	g	%	g	%	g
Azúcar	5,3	15,9	-	-	-	-
Cacao en polvo (De Zaan: D-11-A)	1,5	4,5	1,5	4,5	1,5	4,5
Carragenanos granulacta SGI-1 <sup>®</sup>	0,02	0,06	0,02	0,06	0,02	0,06
Aspartamo	-	-	0,02	0,06	0,02	0,06
CPS	-	-	7	20,51	7	21,1
Leche semidescremada	92,4	277,2	90,7	272,5	90,7	272
Total	100	300	100	300	100	300

#### 2. Método

- mezclar los productos secos y dispersarlos en la leche

- batir durante 30 segundos

- calentar 10 segundos a 75°C

- enfriar hasta temperatura del frigorífico

## 3. Resultados

Leche chocolateada	1	2	3
Sabor	bastante azucarado chocolateado	bastante azucarado chocolateado	bastante azucarado chocolateado
Sensación en boca	Menos untuoso	más untuoso	untuoso
Untuosidad	+	+++	++

## 4. Conclusiones

No se constata diferencia de sabor entre las tres preparaciones. La composición polidispersada de sacáridos tiene un efecto positivo sobre la untuosidad de la leche chocolateada (más untuosa que la referencia). La leche chocolateada preparada con la composición polidispersada de sacáridos según el estado de la técnica es más untuosa que la preparada para la composición polidispersada según la invención.

## Aplicación 2

25 *Pudding a la vainilla*

## 1. Ingredientes

*Preparación de 500 g de cada pudding*

Pudding vainilla	1		2		3	
	%	g	%	g	%	g
Polvo de leche descremada	10,1	50,5	10,1	50,5	10,1	50,5
Azúcar	10	50	-	-	-	-
Almidón de maíz (SP 6304 <sup>®</sup> - Cerestar)	1	5	1	5	1	5
Estabilizante (Aubygel MR50 <sup>®</sup> - Sanofi)	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5
$\beta$ -caroteno	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05

## ES 2 168 141 T3

(continuación)

5	Pudding vainilla	1		2		3	
		%	g	%	g	%	g
10	Aspartamo	-	-	0,03	0,15	0,03	0,15
	Aroma de vainilla	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,5
15	CPS	-	-	13,3	64,9	13,3	64,9
	Leche entera	75,4	377	75,4	377	75,4	377
20	Leche descremada	3,3	16,5	-	-	-	-
	Total	100	500	100	500	100	500

### 2. Método

- 25
- mezclar los productos secos salvo el aspartamo
  - mezclar (batir) los líquidos en la leche
- 30
- mezclar los productos secos y los líquidos y batir durante 30 segundos
  - calentar durante 30 minutos a 95°C
  - añadir el aspartamo y mezclar bien
- 35
- verter en diferentes botes pequeños
  - enfriar, poner la tapa y conservar a temperatura del frigorífico

### 40 3. Resultados

	Pudding vainilla	1	2	3
45	Textura (medición de dureza en g)	plano, bastante líquido (8)	más firme (11,5)	firme (9,5)
	Sabor	más azucarado	menos azucarado	menos azucarado
50	Sensación en boca	menos untuoso	untuoso	más untuoso
55	Untuosidad	+	++	+++

### 4. Conclusiones

60 Los puddings realizados con la composición polidispersada de sacáridos tienen una mejor estructura que la referencia. Son más firmes, más sólidos. El pudding realizado según el estado de la técnica es más firme que el que contiene el producto de la invención.

## ES 2 168 141 T3

Los tres puddings son todos muy cremosos, pero se observa una diferencia entre ellos: los que contienen una composición polidispersada de fructanos son más cremosos que la referencia, el pudding que contiene el producto de la invención es más cremoso que el realizado con una composición polidispersada según el estado de la técnica.

5 La diferencia desde el punto de vista de la sensación en boca es sin embargo muy pequeña entre las dos últimas preparaciones.

### Aplicación 3

#### 10 *Crema batida de chocolate*

#### 1. Ingredientes

##### Preparación de 500 g de cada mousse

15

20

25

30

35

40

45

50

Crema batida de chocolate	1		2		3	
	%	g	%	g	%	g
Polvo de leche descremada	7	35	7	35	7	35
Azúcar	17,5	87,5	-	-	-	-
Cacao en polvo (De Zaan: D-11-A)	4	20	4	20	4	20
Filgel (Quest 9323®)	2,1	10,5	2,1	10,5	2,1	10,5
Gelatina (Sanofi 80 Bls®)	0,5	2,5	0,5	2,5	0,5	2,5
Aspartamo	-	-	0,05	0,25	0,05	0,25
Crema (35 % M.G.)	6,3	31,5	6,3	31,5	6,3	31,5
CPS	-	-	23,3	113,7	23,3	117,1
Leche descremada	62,6	313	56,8	286,7	56,8	283,4
Total	100	500	100	500	100	500

#### 2. Método

55

- mezclar los productos secos salvo el aspartamo y mezclar (batir) los líquidos

- mezclar los productos secos y los líquidos, batir durante 30 segundos y calentar durante 30 segundos a 90°C

60

- añadir el aspartamo y batir durante 30 segundos

- enfriar y colocar una noche en el frigorífico

## ES 2 168 141 T3

- batir 15 minutos con la ayuda de un batidor Hobart con “latigo”

### 3. Resultados

5	Crema batida de chocolate	1	2	3
10	Peso antes	93,5	89	89
15	Peso después	44	35,5	37
20	Overrun	113	150	140
25	Textura	más bien líquido	bastante firme	bastante firme
30	Aspecto	bastante oscuro	claro	claro
	Sabor	azucarado	azucarado, ligeramente amargo	azucarado, ligeramente amargo
	Sensación en boca	viscoso, pesado	muy untuoso	muy untuoso

### 4. Conclusiones

La crema batida de chocolate de referencia presenta una estructura muy viscosa, pero las cremas batidas realizadas con la composición polidispersada de sacáridos no presentan ninguna diferencia entre ellas, ya sea en lo que concierne a la sensación en boca, el sabor, la estructura o el aspecto.

Aplicación 4

*Bio-yogurt*

#### 1. Ingredientes

*Preparación de 500 g de cada bio-yogurt*

Bio-yogurt	1		2		3	
	%	g	%	g	%	g
Leche entera	94	470	90,5	452,9	90,5	452,4
Leche descremada	1	5	1	5	1	5
CPS	-	-	3,5	17,1	3,5	17,6
Fermento láctico	5	25	5	25	5	25
Total	100	500	100	500	100	500

## ES 2 168 141 T3

### 2. Método

- Añadir la leche entera en polvo y la composición polidispersada a la leche y batir durante 30 segundos
- 5 - Calentar durante 8 minutos a 95°C
- Añadir el fermento y mezclar bien
- Poner en botes e incubar a 40°C hasta pH 4,8
- 10 - Enfriar rápidamente y colocar en cámara fría (24 horas)

### 3. Resultados

15 Los yogurts han sido degustados después de 24 horas y 48 horas. En los dos casos, los resultados son idénticos.

20

Bio-yogurt	1	2	3
Estructura	± líquido	+ firme	+ firme
25 Textura	+ acuoso	+ untuoso	+ untuoso
Sabor	el mismo para todos		

### 30 4. Conclusiones

Los yogurts realizados con la composición polidispersada de sacáridos son mejores que la referencia, más firmes y mas untuosos. No se notan diferencias entre los yogurts realizados con las dos composiciones polidispersadas de fructanos.

35

Aplicación 5

*Sorbete de fresa*

### 40 1. Ingredientes

*Preparación de 1000 g de cada sorbete*

45

Sorbete de fresa	1	2	3
Fresas	485	485	485
Azúcar	200	-	-
50 CPS	-	265	265
Estabilizador (Grindsted-Fructodan SL64® )	5	5	5
Aspartamo	-	0,8	0,8
60 Agua	310	245	245
Total (g)	1000	1000	1000

60



## ES 2 168 141 T3

### 2. Método

- Descongelar y aplastar (batir) las fresas, añadir los otros ingredientes (salvo el aspartamo) y batir durante 20 minutos
- 5 - Calentar durante 30 segundos a 90°C, añadir el aspartamo (hacia 65-70°C) y enfriar a 4°C
- dejar reposar una noche a 4°C
- 10 - pasar con el Carpigiani (aireación, congelación), acondicionar en pequeños botes y poner en el congelador durante como mínimo 48 horas

### 3. Resultados

15	Sorbete de fresas: overrum	1	2	3
20	Peso anterior	32	33	32,5
	Peso posterior	20	20	19
25	Overrum	61	67	71
	Estructura y sabor	el mismo para todos		
30	Sensación en boca	+ acuoso	untuoso	untuoso
	Untuosidad	+	++	++

### 35 4. Conclusiones

Los sorbetes que contienen la composición polidispersada de sacáridos son más untuosos que la referencia.

40 Los sorbetes realizados con las dos composiciones polidispersadas de fructanos dan resultados comparables entre sí.

Aplicación 6

45 *Bizcocho*

### 1. Ingredientes

50	Bizcocho	1 %	2 %	3 %
	Harina	23,73	23,73	23,73
55	Huevos	24	24	24
	Mantequilla	20	20	20
60	CPS	+ 0	16	16

# ES 2 168 141 T3

(continuación)

Bizcocho	1 %	2 %	3 %
Lactitol	24	12	12
Acesulfam K	0,05	0,05	0,05
Levadura química V90 <sup>®</sup>	0,2	0,2	0,2
Levadura química BPyro <sup>®</sup>	0,02	0,02	0,02
Agua Total	8 100	4 100	4 100

## 2. Método

- Dejar reblandecer la mantequilla y añadir los otros ingredientes

- Mezclar los productos con la ayuda de un utensilio de cocina durante 3 minutos

- Transvasar el conjunto a un molde y poner en el horno a 200°C

## 3. Resultados

Los tres bizcochos han cocido juntos durante 43 minutos. Los bizcochos que contienen la composición polidispersada de sacáridos son mejores que la referencia: tienen un color marrón. Por el contrario, el bizcocho referencia tiene un color amarillo pálido.

Hay una diferencia de color entre los dos bizcochos que contienen CPS. El bizcocho preparado con la CPS según la invención tiene un color más marrón comparado con el del bizcocho preparado con la CPS según el estado de la técnica. Los colores marrones son mucho más deseados en este tipo de productos.

## Aplicación 7

*Galleta (Sablé)*

### 1. Ingredientes

Galleta (Sablé)	1 %	2 %	3 %
Harina	45,35	45,35	45,35
Huevos	7,6	7,6	7,6
Mantequilla	24,2	24,2	24,2
CPS	0	10,1	10,1

## ES 2 168 141 T3

(continuación)

	Galleta (Sablé)	1 %	2 %	3 %
5	Lactitol	15	7,5	7,5
10	Azúcar avainillado	0,8	0,8	0,8
	Acesulfam K	0,05	0,05	0,05
15	Levadura	0,6	0,6	0,6
	Sal	0,3	0,3	0,3
20	Agua	6,1	3,5	3,5
	Total	100	100	100

### 2. Método

25

- Dejar reblandecer la mantequilla y añadir los ingredientes

- Mezclar con la ayuda de un utensilio de cocina para la homogeneización y transvasar a unos moldes

30 - Cocer en el horno a 178°C

### 3. Resultados

35 Las tres galletas (sablé) han sido cocidas juntas durante 14 minutos. La galleta preparada sin la composición polidispersada de sacáridos tiene un color muy pálido. Las otras dos galletas están agradablemente coloreadas, la galleta que contiene la CPS según el estado de la técnica tiene un efecto menos pronunciado.

40

45

50

55

60

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de una composición polidispersada de sacáridos en el cual un material que contiene unos fructanos con un grado de polimerización medio igual o superior a 7 y que contiene como máximo 3,5 % en peso como materia seca en total de glucosa, de fructosa y sacarosa y que está completamente solubilizado en agua, es sometido a una hidrólisis parcial con una enzima que tiene actividad endo y estando esencialmente desprovista de actividad exo, que conduce directamente, sin necesitar una separación cromatográfica, a una composición polidispersa de sacáridos que comprende por lo menos 93,5 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos constituidos por cadenas de unidades de fructosa de fórmula  $F_m$  y de cadenas de unidades de fructosa con una glucosa terminal de fórmula  $GF_n$ , estando n y m comprendidos entre 2 y 10, comprendiendo más de 43 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos de fórmula  $F_m$  y comprendiendo un contenido de glucosa, fructosa y sacarosa en total inferior al 5 % en peso como materia seca, y cuya solución acuosa que a una concentración de 75 % en peso en materia seca permanece límpida cuando tiene lugar el almacenado a temperatura ambiente.
2. Procedimiento de preparación según la reivindicación 1, **caracterizado** porque los fructooligosacáridos obtenidos corresponden a la fórmula  $F_m$  ó  $GF_m$ , en la cual n y m están comprendidos entre 2 y 9.
3. Procedimiento de preparación según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque la composición polidispersada de sacáridos obtenida permanece límpida en solución acuosa a una concentración de 77 % en peso de materia seca, a temperatura ambiente.
4. Procedimiento de preparación según cualquiera de la reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la composición polidispersada de sacáridos comprende por lo menos 95 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos que comprenden más del 45 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos de fórmula  $F_m$ , y porque dicho material contiene como máximo 2 % en peso como materia seca en total de glucosa, fructosa y sacarosa.
5. Procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque los fructanos son del tipo inulina y porque la hidrólisis parcial se obtiene con la ayuda de una preparación enzimática que tiene una actividad endoinulasa, esencialmente exenta de actividad exo.
6. Procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque los fructanos son del tipo levano y porque la hidrólisis parcial se obtiene con la ayuda de una preparación enzimática que tiene una actividad endolevanasa, esencialmente exenta de actividad exo.
7. Procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la hidrólisis se efectúa en solución acuosa a una temperatura de 58 a 62°C, a un pH de 5,2 a 5,6 y con la ayuda de una preparación de enzima que contiene de 0,25 a 12, preferentemente de 0,25 a 6, unidades de enzimas (método NOVO) por gramo de materia seca de fructanos.
8. Procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, según la cual la composición dispersada de sacáridos obtenida después de la hidrólisis parcial es a continuación decolorada y desalada.
9. Composición polidispersada de sacáridos que comprende por lo menos 93,5 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos constituidos por cadenas de unidades de fructosa de fórmula  $F_m$  y cadenas de unidades de fructosa con una glucosa terminal de fórmula  $GF_n$ , estando n y m comprendidos en tres 2 y 10 y un contenido de glucosa, fructosa y sacarosa en total inferior a 5 % en peso como materia seca, comprendiendo los fructo-oligosacáridos más de 43 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos de fórmula  $F_m$ , y la solución acuosa de dicha composición polidispersada de sacáridos a una concentración de 75 % en peso como materia seca permanece límpida cuando tiene lugar el almacenaje a temperatura ambiente.
10. Composición polidispersada de sacáridos según la reivindicación 9, **caracterizada** porque los fructooligosacáridos corresponden a la fórmula  $F_m$  ó  $GF_n$ , en la cual n y m están comprendidos entre 2 y 9.
11. Composición polidispersada de sacáridos según la reivindicación 9 o 10, **caracterizada** porque los fructooligosacáridos comprenden más de 45 % en peso como materia seca de fructooligosacáridos de fórmula  $F_m$ .

## ES 2 168 141 T3

12. Composición polidispersada de sacáridos según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, **caracterizada** porque comprende como máximo 1% en peso como materia seca de sacarosa.

13. Composición polidispersada de sacáridos según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, **caracterizada** porque permanece límpida en solución acuosa a una concentración de 77% en peso como materia seca, a temperatura ambiente.

14. Producto que comprende una composición polidispersada de sacáridos según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, **caracterizado** porque el producto se elige entre el grupo constituido por los productos de alimentación humana o animal, los productos alimenticios funcionales, los productos farmacéuticos o los productos cosméticos.

15

20

25

30

35

40

45

50

---

**NOTA INFORMATIVA:** Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

55

60

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

---