



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 356 690**

51 Int. Cl.:
C08B 37/18 (2006.01)
A23L 1/00 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07724953 .0**
96 Fecha de presentación : **27.04.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2016104**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.01.2009**

54 Título: **Inulina de longitud de cadena muy larga.**

30 Prioridad: **28.04.2006 EP 06090064**
02.05.2006 US 796819 P
27.10.2006 EP 06090200
30.10.2006 US 855250 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.04.2011

73 Titular/es: **Bayer CropScience AG.**
Alfred-Nobel-Strasse 50
40789 Monheim am Rhein, DE

72 Inventor/es: **Meuser, Friedrich;**
Bauer, Ingo;
Hellwege, Elke y
Pilling, Jens

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 356 690 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

5 La invención se refiere a una inulina secada por pulverización de cadena particularmente larga y a la preparación de una inulina de cadena larga a partir de raíces de alcachofa, a su uso en productos alimenticios y preparaciones cosméticas y a productos alimenticios y preparaciones cosméticas que comprenden la inulina secada por pulverización de cadena particularmente larga.

10 La demanda de productos alimenticios que contienen poca grasa y materiales de partida más naturales ha aumentado enormemente en las últimas décadas. Ya se han propuesto muchas sustancias como sustituto para las grasas tales como productos basados en hidratos de carbono o proteína o sustitutos de grasa sintética tales como poliésteres de azúcar de ácidos grasos. Sin embargo, esto siempre tiene desventajas tales como una baja estabilidad térmica, una "sensación en la boca" insatisfactoria o un efecto no deseado en las personas o el entorno.

15 Se sabe desde hace tiempo que la inulina es adecuada para uso en productos alimenticios. La inulina tiene un bajo valor energético disponible para los seres humanos y, por tanto, el uso de la inulina como sustituto de la grasa garantiza una gran reducción en el valor calorífico del producto final. Además, la inulina se usa como aditivo prebiótico y agente de carga en productos alimenticios.

20 La inulina es un polisacárido que pertenece al grupo del fructano. Está constituida por una cadena ligada en beta-2-1 de moléculas de fructosa, y esta cadena puede tener una unidad de alfa-D-glucosa en el extremo reductor. La inulina se produce en cantidades económicamente recuperables en diversas plantas tales como, por ejemplo, raíces de endivia, alcachofa de Jerusalén y tubérculos de dalia. Las longitudes de cadena promedio de las diversas inulinas y sus propiedades fisicoquímicas se diferencian de especie de planta a especie de planta.

25 Las inulinas empleadas hasta la fecha en el sector de los productos alimenticios no son completamente satisfactorias en sus propiedades de procesamiento tales como, por ejemplo, viscosidad en forma pastosa acuosa, estabilidad térmica y estabilidad a ácido, emulsionabilidad y capacidad de unión al agua.

Además, existe la necesidad de inulinas con propiedades de fermentación mejoradas y un mayor efecto prebiótico.

30 Otro problema es que en la extracción de inulina con agua caliente del tejido de la planta, el extracto también contiene, además de la inulina bruta polimérica, monosacáridos tales como glucosa y fructosa, disacáridos tales como sacarosa y fructooligosacáridos (GP 3-10). Estos subproductos (mono y disacáridos, fructooligosacáridos (GP 3-10)) pueden interferir con el procesamiento adicional de la inulina. Por ejemplo, los mono y disacáridos no son deseados en la preparación de productos alimenticios dietéticos. El sabor dulce de los mono y disacáridos y los fructooligosacáridos (GP 3-10) interfiere con ciertas aplicaciones en el sector de los productos alimenticios. Los fructooligosacáridos (GP 3-10) pueden interferir enormemente debido a su higroscopicidad y pegajosidad con el uso de la inulina bruta en productos alimenticios tanto durante el procesamiento como durante el almacenamiento. Durante el procesamiento posterior de la inulina bruta, por ejemplo, mediante derivatización química, los mono y disacáridos y los fructooligosacáridos (GP 3-10) pueden conducir a mezclas indefinidas de productos que sólo pueden purificarse mediante costosos procedimientos o no pueden purificarse en absoluto. Además, una alta proporción de azúcares reductores tiene la desventaja de que en procedimientos térmicos en presencia de compuestos amino puede haber reacciones de pardeamiento no deseadas, la formación de sabores insípidos y la producción de acrilamida (reacción de Maillard).

35 La presente invención se basa en el objetivo de proporcionar una inulina con la que sea posible resolver los problemas definidos anteriormente.

40 La invención fue en particular para lograr propiedades de procesamiento ventajosas para aplicaciones en cosméticos y la industria de los productos alimenticios. Ejemplos de las mismas son un ventajoso comportamiento de la viscosidad, una alta estabilidad térmica y estabilidad a ácido, una buena emulsionabilidad y una alta capacidad de unión al agua.

45 Un problema tratado por la invención fue proporcionar adicionalmente una inulina que tuviera propiedades de fermentación mejoradas y efecto prebiótico mejorado para aplicaciones de productos alimenticios.

Finalmente, era deseable proporcionar una inulina que, en comparación con la inulina bruta, tuviera un menor contenido de mono y disacáridos y de fructooligosacáridos (GP 3-10).

Los anteriores problemas se resuelven mediante la provisión de las realizaciones definidas en las reivindicaciones.

50 La presente invención se refiere a una inulina que tiene un grado de polimerización promedio GP_w determinado por GPC-RI-MALLS de entre 83 y 103, preferentemente entre 84 y 100, más preferentemente entre 83 y 98, incluso más preferentemente entre 85 y 98, aún más preferentemente 85 y 95, todavía más preferentemente entre 86 y 97 y lo más preferentemente entre 86 y 94, caracterizado porque la inulina se seca por pulverización.

A este respecto y a propósito de la presente invención, el término "entre" también pretende incluir los límites numéricos respectivamente indicados.

El término "inulina" pretende significar a propósito de la presente invención un polifrufructano que está constituido por

una cadena ligada en beta-2-1 de moléculas de fructosa. Esta cadena tiene preferentemente en su extremo una unidad de alfa-D-glucosa reductora.

En relación con la presente invención, el término “grado de polimerización promedio GP_w ” (GP promedio en peso) significa el cociente entre la masa molecular promedio en peso M_w y la masa molecular del monómero M_0 . La masa molecular promedio en peso M_w resulta de

$$M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i}$$

en la que N_i es el número de moléculas con masa molecular M_i .

El “grado de polimerización promedio GP_w ” se mide a propósito de la presente invención mediante el procedimiento de “cromatografía de exclusión molecular con dispersión de la luz y detección del índice de refracción (sistema GPC-RI-MALLS)” descrito en lo sucesivo.

La inulina de la invención presenta, en comparación con las inulinas descritas en la técnica anterior, la sorprendente ventaja que puede procesarse en cremas que presentan estabilidad anormalmente alta en el tratamiento con calor o tratamiento con ácido, de manera que son más adecuadas, por ejemplo, para aplicaciones industriales particulares o aplicaciones en los cosméticos y/o las industrias de productos alimenticios. Además, las cremas que comprenden la inulina de la invención muestran una estabilidad inesperadamente alta a las fuerzas de cizallamiento. Por tanto, la inulina de la invención presenta la ventaja adicional, en comparación con la inulina convencional, que puede procesarse mejor en procedimientos industriales en los que actúan fuertes fuerzas de cizallamiento.

La inulina de la invención es adicionalmente notable por propiedades de viscosidad particularmente ventajosas y una alta resistencia del gel y una solubilidad muy baja, que es ventajosa para aplicaciones de productos alimenticios.

Además, la inulina de la invención muestra sorprendentemente buenas propiedades como sustituto de la grasa en productos alimenticios con excelentes propiedades sensoriales en la boca.

La inulina de la invención también muestra, en comparación con productos previamente empleados, una fermentación más lenta que es ventajosa en la prevención de enfermedades en el intestino grueso posterior. La fermentación más lenta va acompañada de una formación reducida de gas en el intestino, especialmente de hidrógeno.

La inulina de la invención tiene adicionalmente en comparación con los productos previamente empleados un mayor efecto prebiótico. En particular, la inulina de la invención estimula la generación de bifidobacterias de una forma ventajosa con una reducción simultánea de bacterias no deseadas y/o patogénicas. Por tanto, la inulina de la invención es adecuada para uso en productos alimenticios y/o medicamentos para la prevención y el tratamiento de disfunciones y enfermedades intestinales, especialmente en el intestino grueso posterior.

Finalmente, la inulina de la invención también confiere a diversos productos alimenticios propiedades de uso ventajosas tales como, por ejemplo, aumento de la viscosidad, emulsionabilidad, capacidad de unión al agua y formación de miga. La inulina de la invención confiere propiedades de horneado sorprendentemente mejoradas a productos de panadería y aumenta el rendimiento de la masa. La inulina de la invención es además un medio eficaz para la modificación de aromas y la estabilización de espumas.

En otra realización, la inulina de la invención tiene un contenido de fructooligosacáridos (oligofructanos) que tiene un GP de 3 a 10 que es inferior al 3%, preferentemente inferior al 1,5%, particularmente preferentemente inferior al 0,7%, muy particularmente preferentemente inferior al 0,3%.

En otra realización, la inulina de la invención tiene un contenido de glucosa inferior al 2%, preferentemente inferior al 1%, particularmente preferentemente inferior al 0,5%, muy particularmente preferentemente inferior al 0,2% y lo más preferentemente inferior al 0,1%.

En otra realización, la inulina de la invención tiene un contenido de fructosa inferior al 2,5%, preferentemente inferior al 1,5%, particularmente preferentemente inferior al 1,0%, muy particularmente preferentemente inferior al 0,3% y lo más preferentemente inferior al 0,15%.

En otra realización, la inulina de la invención tiene un contenido de sacarosa inferior al 2%, preferentemente inferior al 1%, particularmente preferentemente inferior al 0,5%, muy particularmente preferentemente inferior al 0,3% y lo más preferentemente inferior al 0,1%.

En una realización de la inulina de la invención que es particularmente ventajosa para aplicaciones de productos alimenticios, el contenido de mono y disacáridos es inferior al 0,5%.

Todos los porcentajes son, a menos que se indique de otro modo, porcentajes en peso basados en el peso seco total de inulina y otras sustancias. “Otras sustancias” son todas las sustancias en la mezcla seca que son diferentes de

inulina.

El contenido de fructosa, glucosa y sacarosa se mide a propósito de la presente invención mediante el procedimiento enzimático óptico descrito más adelante (Procedimientos generales: "Determinación de azúcares").

5 En otra realización, que puede incluir las realizaciones previas, la inulina de la invención tiene una masa molecular promedio en peso M_w de entre 13.400 g/mol y 16.700 g/mol, preferentemente entre 13.600 y 16.200 g/mol, más preferentemente entre 15.000 g/mol y 15.900 g/mol, y particularmente preferentemente entre 13.900 g/mol y 15.750 g/mol y lo más preferentemente entre 13.900 g/mol y 15.250 g/mol.

10 La masa molecular promedio en peso M_w se mide a propósito de la presente invención mediante el procedimiento de "cromatografía de exclusión molecular con dispersión de la luz y detección del índice de refracción (sistema GPC-RI-MALLS)" descrito en lo sucesivo.

En otra realización, que puede incluir las realizaciones previas, la inulina de la invención tiene un grado de polimerización promedio GP_n (GPC) medido por cromatografía de exclusión molecular (GPC) de entre 66 y 89, preferentemente entre 68 y 85, particularmente preferentemente entre 70 y 85 e incluso más preferentemente entre 72 y 84.

15 El "grado de polimerización promedio GP_n " se mide a propósito de la presente invención mediante el procedimiento de "cromatografía de exclusión molecular con dispersión de la luz y detección del índice de refracción (sistema GPC-RI-MALLS)" descrito en lo sucesivo.

A propósito de la presente invención, el término "grado de polimerización promedio GP_n " (GP promedio en número) significa el cociente entre la masa molecular promedio en número M_n y la masa molecular del monómero unido M_0 (anhidrofructosa = 162 g/mol). La masa molecular promedio en número M_n resulta de

20
$$M_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i}$$

en la que N_i es el número de moléculas que tienen masa molecular M_i .

En otra realización, que puede incluir las realizaciones previas, la inulina de la invención tiene una distribución de pesos moleculares en el intervalo de 650 a 48.000, más preferentemente 970 a 40.000 g/mol, incluso más preferentemente 1.300 g/mol a 34.000 g/mol y lo más preferentemente de 4.000 g/mol a 26.800 g/mol.

25 En todavía otra realización, que puede incluir las realizaciones previas, la inulina de la invención muestra una masa total de moléculas de inulina que tienen un peso molecular de <10.000 g/mol basado en la masa total de todas las moléculas de inulina del 20-36% y una masa total de moléculas de inulina que tienen un peso molecular de > 20.000 g/mol basado en la masa total de todas las moléculas de inulina del 7-23%. Incluso es más preferido que la masa total de moléculas de inulina que tienen un peso molecular de < 10.000 g/mol basado en la masa total de todas las moléculas de inulina sea el 25-31% y la masa total de moléculas de inulina que tienen un peso molecular de > 20.000 g/mol basado en la masa total de todas las moléculas de inulina sea el 12-18%.

30

La distribución de pesos moleculares se mide a propósito de la presente invención mediante el procedimiento de "cromatografía de exclusión molecular con dispersión de la luz y detección del índice de refracción (sistema GPC-RI-MALLS)" descrito en lo sucesivo.

35 En una realización de la inulina de la invención con propiedades particularmente ventajosas, el grado de ramificación es el 0,5-2,0% en moles, más preferentemente el 0,7-2,0% en moles, incluso más preferentemente del 0,9 al 2,0% en moles y lo más preferentemente del 1,1 al 2,0% en moles. El grado de ramificación se define en este documento como el número en porcentaje de monómeros de fructosa ligados en beta-2-1 con punto de ramificación adicional en la posición 6 del monómero de fructosa (también abreviado "2-1,6-" en lo sucesivo) basado en el número total de todos los monómeros de inulina medidos en una muestra de la inulina de la invención con pesos moleculares aleatoriamente distribuidos. En su posición 6, un monómero de fructosa "2-1,6-" dentro de una cadena de polifrufructosa está ligado a otra cadena de polifrufructosa que está constituida por al menos dos monómeros de fructosa ligados en beta-2-1, o a un único monómero de fructosa. El término "punto de ramificación" designa una posición de un monómero de fructosa dentro de una cadena de polifrufructosa a la que está ligada otra cadena de polifrufructosa que está constituida por al menos dos monómeros de fructosa ligados en beta-2-1, o un único monómero de fructosa. El grado de ramificación se mide mediante el procedimiento de análisis de metilación convencional o alternativamente mediante el procedimiento de degradación reductora después de la metilación. Ambos procedimientos se describen en detalle en los ejemplos adjuntos.

40

45

Una realización de la inulina de la invención que es particularmente ventajosa en sus propiedades y que puede incluir las realizaciones previamente descritas tiene una distribución de pesos moleculares particularmente estrecha expresada por el cociente entre el grado de polimerización promedio en peso y el grado de polimerización promedio en número GP_w/GP_n . Esta cantidad también se denomina en lo sucesivo índice de polidispersidad. En una realización preferida, el cociente de GP_w/GP_n es inferior a 1,25, en una realización más preferida es inferior a 1,20, en una realización

50

incluso más preferida es inferior a 1,15 y en la realización más preferida es inferior a 1,10. Los valores de GP_w y GP_n se miden a este respecto mediante el procedimiento de "cromatografía de exclusión molecular con dispersión de la luz y detección del índice de refracción (sistema GPC-RI-MALLS)" descrito en lo sucesivo. El peso molecular de un monómero para los cálculos de conversión se fija a igual a 162 g/mol.

5 La invención se refiere además a una pasta acuosa de la inulina secada por pulverización de la invención que puede obtenerse dispersando la inulina secada por pulverización en agua, cizallando la dispersión resultante hasta que sea homogénea, almacenando el producto obtenido de esta forma a 4-15°C durante 12-24 h y, después de acondicionarlo hasta temperatura ambiente, agitándolo para dar una pasta homogénea. Una pasta preferida comprende agua y 1-40% en peso, más preferentemente 1 - 35% en peso, todavía más preferentemente 1 - 30% en peso, incluso más preferentemente 2 - 25% en peso, aún más preferentemente 2 - 20% en peso, y particularmente preferentemente 10 - 20% en peso de inulina basada en el peso total de la pasta. El término "pasta" es según la presente invención equivalente a una suspensión de inulina cristalina y/o amorfa. Por consiguiente, el término "pasta acuosa" debe entenderse como una suspensión de inulina cristalina y/o amorfa en fase acuosa. La fase acuosa se basa en agua que puede comprender opcionalmente otras sustancias disueltas o en suspensión tales como sales, otros hidratos de carbono, proteínas, aminoácidos.

15 La pasta anteriormente descrita puede usarse como componente en sistemas acuosos. Los sistemas acuosos preferidos son productos alimenticios basados en agua y cosméticos, definiéndose el término "producto alimenticio" en otra parte en la presente descripción. Ejemplos de productos alimenticios preferidos también se enumeran en otra parte en la presente descripción. En productos alimenticios y cosméticos, una pasta según la invención puede usarse como componente que confiere estructura, espesante, agente texturizante, agente potenciador de la estabilidad o agente viscosificante, pudiendo satisfacer la pasta a este respecto una o más de las funciones anteriormente mencionadas. En productos alimenticios, una pasta según la invención también puede usarse como componente de agente prebiótico y/o de fibra vegetal, pudiendo satisfacer la pasta a este respecto una o más de las funciones anteriormente mencionadas. Los productos alimenticios más preferidos en los que una pasta según la invención se usa como componente son productos lácteos tales como yogur, bebidas de yogur, nata, crema fresca, requesón, mantequilla, leche, especialmente leche desnatada, suero de leche, leche agria, kéfir, queso tal como queso crema, queso tierno, queso en lonchas, queso duro, suero, leche en polvo, bebidas basadas en leche.

La inulina de la invención muestra una estabilidad a ácido sorprendentemente alta. En particular, una pasta acuosa de la inulina de la invención muestra una alta estabilidad a ácido. La estabilidad al cizallamiento de una pasta acuosa de inulina de la invención es asimismo excepcional en comparación con productos comercialmente disponibles.

30 La inulina de la invención se diferencia de otras inulinas comercialmente disponibles por una resistencia del gel sorprendentemente alta. Las resistencias del gel de 4-100 N, más ventajosamente 10-100 N, incluso más ventajosamente 20-100 N y lo más ventajosamente 40-100 N, se logran a una concentración del 1 - 35% (peso/peso), más preferentemente del 1 - 30% (peso/peso), todavía más preferentemente del 2 - 25% (peso/peso), aún más preferentemente del 2 - 20% (peso/peso), lo más preferentemente aproximadamente del 20% (peso/peso) de la inulina de la invención en agua cuando la inulina se disuelve a 90°C y luego se almacena a temperatura ambiente (23°C) durante un periodo de 24 h. Las altas resistencias del gel como se indica previamente pueden obtenerse particularmente bien con inulinas de la invención que se secan por pulverización y luego se emplean para la formación del gel. Los geles obtenidos de esta forma muestran preferentemente un carácter particulado (geles de partículas). El procedimiento de medición para determinar la resistencia del gel se describe en detalle en la sección de ejemplos (formación de estructura por inulinas después de calentarse en agua).

La presente invención se refiere en otro aspecto a un procedimiento para obtener inulina que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS que comprende

- a) triturar raíces de alcachofa en forma de astillas fibrosas,
- 45 b) obtener un extracto tratando las raíces trituradas en forma de astillas fibrosas con agua a una temperatura de 60 - 95°C durante 30 min a 4 horas y separar el extracto de las astillas usadas,
- c) extraer los constituyentes colorantes del extracto obtenido,
- d) precipitar la inulina del extracto,
- e) reprecipitar la inulina al menos una vez,
- f) disolver y filtrar la inulina obtenida en la etapa e),
- 50 g) precipitar y separar la inulina obtenida en la etapa f) de la disolución filtrada,
- h) secar la inulina obtenida en la etapa g).

El procedimiento es particularmente adecuado para obtener las inulinas previamente descritas de la invención, pero no se limita a éste.

Se usan raíces de alcachofa como material de partida, pero el procedimiento no se limita a una variedad particular.

La trituración va ventajosamente precedida de la eliminación de cualquier contaminante adherente de las raíces, por ejemplo, mediante lavado vigoroso con agua con un limpiador a alta presión. Es ventajosamente posible lavar las raíces en el estado ultracongelado con el fin de minimizar la pérdida de masa de material de raíz.

5 Si fuera necesario, las raíces se trituran inicialmente de forma bruta, por ejemplo, mediante troceado. Se prefieren cortadoras para la trituración adicional. El producto obtenido es material de raíz triturado en forma de astillas fibrosas.

10 En la realización más ventajosa del procedimiento se usan raíces de alcachofa con las siguientes características: raíces maduras con respecto a la formación de masa seca e inulina. El grado de madurez puede establecerse a partir de la relación del contenido de inulina con respecto al contenido de materia seca y la relación del contenido de fructosa con respecto al contenido de inulina. El contenido de inulina está preferentemente en el intervalo del 30 - 70% en peso, más preferentemente del 40 - 65% en peso, todavía más preferentemente del 50 - 60% en peso, basado en el peso total de materia seca de raíces, y la relación de fructosa/inulina está preferentemente en el intervalo del 3 - 24% en peso, más preferentemente del 3 - 12% en peso, lo más preferentemente inferior al 6% en peso. El contenido de materia seca de las raíces de alcachofa limpiadas es preferentemente el 20 - 50% en peso, más preferentemente el 30 - 40% en peso, más preferentemente el 30 - 35% en peso basado en el peso total de raíces limpiadas.

15 En el caso de que las raíces de alcachofa deban almacenarse antes de usarlas en el procedimiento de la presente invención, las raíces deberán conservarse con el fin de prevenir la contaminación microbiana, podredumbre o disminución del peso molecular de inulina debido a degradación enzimática. Los procedimientos preferidos para la conservación de las raíces son congelación o secado con aire caliente de las raíces trituradas para el almacenamiento.

20 Después de la trituración, el material de raíz triturado en forma de astillas fibrosas se extrae con agua a una temperatura de 60°C a 95°C, lo más preferentemente 80-95°C durante 30 minutos a 4 horas. La extracción tiene lugar preferentemente en el intervalo de pH neutro a ligeramente alcalino. Una temperatura de al menos 60°C a pH 7-9 es ventajosa debido a que en este caso se suprime la hidrólisis enzimática y ácida. La concentración de material de raíz triturado en el agua es preferentemente el 10-40% en peso, más preferentemente el 20-30% en peso, medido como peso fresco de raíces basado en el peso total de la mezcla de extracción.

25 Preferentemente se establece una relación entre la materia seca del material cortado usado y el agua como medio de extracción que conduce a un contenido de materia seca en el extracto del 8 - 12% en peso y a un contenido de inulina superior al 6% en peso, preferentemente el 6 - 8% en peso basado en el peso del extracto. Una elección correspondientemente adecuada de condiciones de extracción tales como la relación del agua con respecto al peso de raíces puede conducir a una transferencia del 80 - 90% en peso de la inulina presente en las raíces al extracto. Las condiciones anteriormente mencionadas son adecuadas para lograr una cristalización favorable y un alto rendimiento de la inulina del extracto basándose en la observación que la inulina de alto peso molecular cristaliza en el extracto incluso a una concentración de tan sólo el 5% en peso basado en el peso del extracto.

30 No hay restricción especial al equipo de extracción y pueden aplicarse técnicas de extracción convencionales para el material vegetal. Lo más preferido según la invención para la extracción es que tenga lugar en un extractor calentado por camisa con agitador. En otra realización altamente preferida se usa una cuba de Lauter calefactable como extractor agitado. Por tanto, la extracción de la inulina de las raíces se combina con la separación del extracto de las astillas usadas por filtración, como se describe más adelante. El tiempo de extracción después del equilibrio de la mezcla de raíces/agua es 30 min - 4 horas, preferentemente 1 - 2 horas. Después de este tiempo, el extracto se separa de las astillas usadas, por ejemplo, separando mediante bombeo o separando escurriendo o filtración.

40 Después de la separación del extracto de las astillas usadas, si procede, los materiales fibrosos y los fragmentos de plantas pueden quedar como materiales suspendidos en el extracto. Si están presentes, estos materiales suspendidos se eliminan asimismo del extracto. Por tanto, en esta variante del procedimiento, la etapa b) del procedimiento va seguida antes de la etapa c) por una etapa en la que los materiales suspendidos que principalmente están constituidos por fibras se eliminan del extracto. La cantidad aceptable de materiales suspendidos y si va a tener lugar o no la eliminación será decidido por el experto en cada caso. La eliminación de los materiales suspendidos puede tener lugar por técnicas de separación convencionales como centrifugación o filtración. Ha demostrado ser particularmente adecuado un separador de deslizado. También puede usarse una criba o filtro con finura apropiada.

45 En una realización altamente preferida, el material suspendido puede separarse por filtración usando las astillas usadas como material de filtro. En esta realización, las astillas usadas se precipitan en el fondo del recipiente de extracción equipado con un tamiz en el fondo, como una cuba de Lauter. El tamiz es preferentemente un tamiz de ranuras. Las astillas usadas precipitadas se usan como lecho de filtración a través de las cuales fluye el extracto. Usando esta técnica es posible una eliminación casi cuantitativa del material suspendido sin usar otras etapas de filtración antes de refinar o abrillantar adicionalmente el extracto o cristalizar la inulina.

50 Los extractos están coloreados debido a su contenido de constituyentes colorantes y materia coloreada coloidalmente suspendida. Los constituyentes colorantes están constituidos, entre otros, por taninos y flavanoides y normalmente confieren un color amarillo o amarillo pardo y/o marrón oscuro al extracto. Las inulinas que pueden obtenerse directamente a partir de tales extractos no satisfacen los requisitos deseados en lo referente al color neutro. Por tanto, es necesario eliminar los constituyentes colorantes del extracto en la etapa c) del procedimiento. La etapa de procedimiento c)

de la invención para eliminar los constituyentes colorantes de los extractos vegetales también se denomina generalmente en lo sucesivo decoloración, clarificación o “abrillantamiento” de extractos vegetales. Estos términos son equivalentes en el contexto de la presente invención.

5 El abrillantamiento puede tener lugar según la invención añadiendo cal y posterior carbonatación (adición de CO₂). El procedimiento de adición de cal se conoce de la técnica anterior y se usa, por ejemplo, en la obtención de sacarosa a partir de remolacha azucarera. En un procedimiento de abrillantamiento alternativo, los constituyentes interferentes se eliminan usando un intercambiador iónico.

En una realización particularmente ventajosa del procedimiento, los constituyentes colorantes se eliminan en la etapa c)

- 10 i) mezclando iones magnesio (Mg²⁺) con el extracto vegetal,
 ii) mezclando al menos un componente alcalino con el extracto vegetal,
 iii) formando un precipitado, y
 iv) eliminando el precipitado que se ha formado del extracto vegetal.

Las etapas i) - iv) en esta variante particularmente preferida son subetapas de la etapa de procedimiento c).

15 Esta variante de procedimiento hace sorprendentemente posible una decoloración más eficaz del extracto en comparación con el procedimiento de abrillantamiento con cal. Además, los auxiliares empleados, sales de magnesio y álcalis, son de bajo coste. Por tanto, el procedimiento es menos costoso que el uso de un intercambiador iónico. El gasto en aparato y tiempo para llevar a cabo esta etapa de procedimiento también es particularmente bajo. Finalmente, este tipo de abrillantamiento también elimina simultáneamente materiales que producen turbidez del extracto.

20 Los iones magnesio (Mg²⁺) se mezclan según la invención con el extracto vegetal acuoso. En una variante de la etapa i) es posible añadir una disolución acuosa de una sal de magnesio al extracto vegetal. En otra variante más preferida, una sal de magnesio se añade directamente en forma sólida al extracto vegetal y se disuelve en él.

25 Si se añade una sal de magnesio es preferentemente una sal que, debido a su alto producto de solubilidad, es muy fácilmente soluble en agua. Las sales de magnesio particularmente adecuadas se seleccionan de cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, nitrato de magnesio, sales de magnesio de ácidos grasos inferiores tales como acetato y propionato de magnesio, y mezclas de los mismos.

Un componente alcalino en ii) significa según la invención un componente que comprende iones hidróxido (OH⁻) o forma iones hidróxido en el extracto después de combinarse con el extracto vegetal. El componente alcalino puede ser líquido, sólido o gaseoso. Preferentemente se emplea un componente alcalino líquido.

30 Con la adición de iones magnesio y un componente alcalino como se describe en las etapas i) y ii) del procedimiento se forma un precipitado mediante una reacción de precipitación. En principio, las etapas i) y ii) pueden llevarse a cabo simultáneamente en el contexto del presente procedimiento, especialmente si se usa una disolución de iones magnesio en la etapa i) y se usa un líquido alcalino en la etapa ii). Sin embargo, se prefiere llevar a cabo primero la etapa de procedimiento i) y luego la etapa ii).

35 Es ventajoso para la etapa de procedimiento c) que tanto los iones magnesio como el componente alcalino se distribuyan tan homogéneamente como sea posible en el extracto de manera que la reacción de precipitación en el extracto también sea homogénea y tan cuantitativa como sea posible. Por tanto, como componente alcalino se prefiere emplear líquidos alcalinos acuosos tales como, por ejemplo, disoluciones alcalinas o suspensiones alcalinas que pueden mezclarse rápida y homogéneamente en el extracto vegetal. Una disolución o suspensión alcalina comprende según la invención iones hidróxido (OH⁻) o los forma después de combinarse con el extracto vegetal.

40 En una variante de procedimiento muy preferida, una sal de magnesio se disuelve homogéneamente primero en el extracto en la etapa i). Posteriormente, en la etapa ii) se añade una disolución o suspensión alcalina acuosa.

45 En una realización, el componente alcalino es una disolución o suspensión acuosa de un hidróxido de metal alcalino o metal alcalinotérreo. El hidróxido se selecciona preferentemente de los hidróxidos de los metales alcalinos y metales alcalinotérreos tales como hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio e hidróxido de bario.

50 En una variante muy particularmente preferida, el componente alcalino es una suspensión de hidróxido de calcio. La ventaja de usar hidróxido de calcio es que en la etapa iii) se obtiene una cantidad particularmente pequeña de centrifugado. Además, la precipitación simultánea de hidróxido de magnesio y sulfato de calcio logra una mayor tasa de sedimentación y una mayor compresibilidad del precipitado. El precipitado tiene una consistencia gelatinosa particularmente pequeña. Por tanto, la unión de inulina al precipitado sigue siendo particularmente baja en esta variante de procedimiento.

Otro componente alcalino que puede usarse es amoniaco, preferentemente en disolución acuosa. En principio no

se excluye usar amoniaco gaseoso, pero es menos preferido que el uso de una disolución acuosa.

En otra realización, el componente alcalino es una disolución o suspensión acuosa de una base orgánica tal como etilendiamina y trietanolamina.

5 También pueden usarse sales de ácidos orgánicos débiles tales como acetatos de metal alcalino y metal alcalinotérreo, especialmente acetato de sodio, acetato de potasio, acetato de calcio y acetato de magnesio.

10 Como precipitado se forma hidróxido de magnesio. Los constituyentes colorantes del extracto acuoso quedan según la invención en el precipitado y, por tanto, se separan de la fase líquida. Se obtiene un extracto sustancialmente decolorado. Las cantidades de iones Mg^{2+} y componente alcalino empleadas, y, por tanto, la cantidad de precipitado formado determinan, entre otras cosas, cómo de cuantitativa es la decoloración. La optimización de las cantidades de los reactivos está dentro de la competencia de un experto. En el caso del sulfato de magnesio, la concentración preferible está en el intervalo del 0,5 - 3% en peso, más preferentemente del 0,5 - 2% en peso del extracto acuoso.

15 En la variante preferida de la etapa c) como se ha descrito anteriormente, la relación molar de iones hidróxido con respecto a iones magnesio $OH:Mg^{2+}$ es preferentemente de 2,2:1 a 1,8:1. Lo más preferido para la relación es que sea exactamente estequiométrica, es decir, $OH:Mg^{2+} = 2:1$. Por tanto, la cantidad de componente alcalino va a elegirse de manera que la cantidad apropiada de iones hidróxido esté presente para los iones magnesio.

20 La disolución de la sal de magnesio y la mezcla del componente alcalino en las etapas de procedimiento i) y ii) tiene lugar preferentemente con agitación con el fin de lograr la disolución y homogenización tan rápidamente como sea posible y, por tanto, una reacción rápida. Sin embargo, no hay otras restricciones particulares a la técnica de mezclado. Por tanto, el procedimiento también puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante otras técnicas de mezclado familiares para el experto.

25 Para acelerar el procedimiento, la etapa i) se lleva a cabo preferentemente a una temperatura de 60 - 80°C. El tiempo de reacción después de la adición del componente alcalino es generalmente de aproximadamente 1 a 15 min, en promedio aproximadamente 10 min.

30 La etapa de eliminación iv) tiene lugar preferentemente mediante sedimentación o filtración. La sedimentación puede hacerse más rápida mediante una centrifuga, preferentemente una centrifuga de discos, en particular una centrifuga de deslodado. Sin embargo, también pueden usarse otras técnicas de separación familiares para el experto. Ésta también puede llevarse a cabo en combinación con otro, por ejemplo, deslodado centrífugo del extracto abrillantado con posterior filtración del extracto deslodado, por ejemplo, con un filtro de placas.

35 Si se requiere, la etapa c) completa del procedimiento de la invención también puede llevarse a cabo más una vez. Si se usa la variante preferida previamente descrita de la etapa c) con las subetapas i) - iv), también es posible que las subetapas i) - iv) individuales se lleven a cabo más una vez.

40 Después de la etapa c), la inulina se precipita del extracto en la etapa d). La precipitación puede efectuarse, por ejemplo, añadiendo alcoholes tales como etanol, metanol o isopropanol. En este caso, dependiendo de la cantidad de alcohol añadida o de la polaridad ajustada de la fase líquida, inicialmente precipitan las fracciones de inulina de alto peso molecular, de manera que mediante la cantidad de alcohol añadida es posible influir cómo de cuantitativamente precipita la inulina presente en el extracto y qué fracciones de peso molecular se obtienen predominantemente. Además del alcohol también es posible emplear otros líquidos orgánicos no polares que son miscibles con agua.

45 Para este fin, en una realización particularmente ventajosa de esta etapa de procedimiento, para limitar el uso de alcohol, especialmente etanol e isopropanol, el extracto preparado se concentra inicialmente, preferentemente a de un cuarto a un quinto de su volumen inicial. La concentración puede tener lugar mediante evaporación o filtración en membrana y una combinación de ambos procedimientos. En este caso debe tenerse cuidado para que el concentrado se mantenga caliente durante la concentración, preferentemente a 60 - 95°C, con el fin de evitar la precipitación de la inulina. Una ventaja de la filtración en membrana es el agotamiento asociado a la misma de sustancias de bajo peso molecular que acompañan a la inulina. La posterior precipitación de la inulina del concentrado puede controlarse mediante la elección de concentración creciente de alcohol de manera que la inulina se fraccione según intervalos de tamaño molecular que se caracterizan, por ejemplo, por el grado de polimerización promedio en peso (GPw). Dependiendo de la elección de las condiciones de precipitación, el resultado es fracciones que tienen el GPw según la invención. Dependiendo de la pureza deseada.

50 Es más preferido obtener inulina enfriando el extracto que mediante precipitación alcohólica. Las condiciones preferidas son tales que el extracto se enfríe hasta una temperatura de 2 - 10°C, más preferentemente 2 - 8°C, y se mantenga a esa temperatura durante un periodo de 6 a 140 h, preferentemente 6 a 48 h, mientras que la inulina precipita. La tasa de enfriamiento y la temperatura, y la duración del enfriamiento, influyen en la precipitación de la inulina del extracto y el ancho de la distribución de pesos moleculares y, por tanto, al mismo tiempo en la cantidad. La elección de un periodo más largo y una menor temperatura produce la precipitación de inulinas de peso molecular más bajo y una distribución de pesos moleculares más ancha y, por tanto, un menor peso molecular promedio de la fracción precipitada. La inulina precipitada se separa de la fase líquida por técnicas de separación convencionales tales como, por ejemplo, centrifugación, decantación, filtración.

55 En una realización preferida, la inulina se cristaliza por primera vez después de la etapa de extracción b) y antes de

la etapa c) del procedimiento anteriormente descrito. Tal cristalización se hace preferentemente como se ha descrito previamente. La cristalización antes de la etapa c) conduce a un aumento en el rendimiento de la inulina de alto peso molecular en comparación con el abrillantamiento directo del extracto, y economiza el uso de los agentes de abrillantamiento, es decir, el compuesto de magnesio y el componente alcalino. Es ventajoso abrillantar el extracto después de la primera cristalización de la inulina ya que en este caso sólo tienen que eliminarse los constituyentes colorantes unidos a los cristales de inulina, que conduce a una cantidad similarmente más pequeña de inulina unida al lodo de abrillantamiento.

Una primera precipitación y eliminación de la inulina precipitada puede ir seguida de un renovado enfriamiento del extracto o la adición de alcohol con el fin de obtener cualquier fracción de inulina que todavía esté disuelta. La decisión sobre la repetición se hace en cada caso según cómo de cuantitativa vaya a obtenerse la inulina de las plantas y qué distribución de pesos moleculares se desea en el producto final.

La concentración de inulina en el extracto depende sustancialmente del contenido de inulina de las raíces y la concentración de las raíces trituradas en el extracto y es otro variable que tiene un efecto sobre la precipitación de la inulina enfriando el extracto. Por tanto, puede utilizarse la dependencia de la precipitación en la concentración con el fin de concentrar la fase líquida después de la primera precipitación, por ejemplo, mediante evaporación, con el fin de también precipitar las fracciones de bajo peso molecular si esto se desea.

En la última etapa de procedimiento e), la inulina precipitada se reprecipita. "Reprecipitación" significa en el contexto de la presente invención que la inulina sólida resultante de la etapa de procedimiento previa se redissuelve y luego se precipita y/o se cristaliza de nuevo en la disolución. Por tanto, la etapa de procedimiento e) también puede expresarse: la inulina se disuelve y se precipita y/o se cristaliza de nuevo, haciéndose esta etapa al menos una vez. La cristalización se diferencia de la precipitación en que se obtienen estructuras predominantemente cristalinas.

La inulina se disuelve preferentemente bajo la influencia de calor y preferentemente en agua. Es particularmente adecuado agua con una temperatura de 70 - 100°C, en particular 90 -100°C.

La precipitación en la etapa e) puede tener lugar por precipitación alcohólica como se describe previamente. Sin embargo, la inulina se obtiene preferentemente enfriando la disolución hasta 2 - 10°C, más preferentemente 2 - 8°C durante un periodo de 6 a 140 h, preferentemente 12 - 48 h.

La precipitación de la inulina disuelta en la etapa e) puede repetirse con el fin de obtener la inulina que todavía queda en la fase líquida. La decisión sobre la repetición se hace en cada caso según cómo de cuantitativa vaya a obtenerse la inulina de las plantas y qué distribución de pesos moleculares se desea en el producto final. La fase líquida puede concentrarse con el fin de simplificar la precipitación.

Después de la reprecipitación, el sólido de inulina resultante se separa de la fase líquida por técnicas de separación convencionales tales como, por ejemplo, centrifugación, decantación, filtración.

Con el fin de influir en la distribución de masas moleculares y la pureza del producto de inulina resultante, la etapa de procedimiento e) puede llevarse a cabo más una vez. Se ha revelado que los promedios del peso molecular y los promedios del grado de polimerización están desplazados hacia mayores valores en la repetición de la etapa de reprecipitación e). Por tanto, es posible ajustar diversos promedios del peso molecular/grado de polimerización de la inulina de la invención dentro del intervalo reivindicado.

Si todavía están presentes impurezas de partículas finas, es ventajoso insertar una o más etapas de filtración en el procedimiento. Cualquier impureza de partículas finas presente se elimina en la filtración. La finura del filtro se elige por el experto dependiendo del tamaño de partícula de la impureza.

La(s) etapa(s) de filtración puede(n) insertarse en cualquier lugar en el procedimiento después de obtener el extracto. Es ventajosa, por ejemplo, una etapa de filtración directamente después de obtener el extracto en la etapa b). La etapa de filtración debe diferenciarse de la eliminación de materiales suspendidos como se describe previamente porque las partículas eliminadas por la filtración son más finas que los materiales suspendidos, que están principalmente constituidos por fibras. En otra realización preferida, la etapa de filtración se lleva a cabo antes de la etapa d).

En la etapa f) del procedimiento, una etapa de filtración se combina con una reprecipitación como se describe para la etapa de procedimiento c). Esto implica que la inulina se disuelve como se describe previamente para la etapa e), y que la disolución se filtra luego. Después de la filtración, la inulina se precipita o se cristaliza en la disolución filtrada en la etapa g). La inulina sólida resultante después de la precipitación o cristalización puede separarse de la fase líquida por técnicas de separación convencionales tales como, por ejemplo, centrifugación, decantación y filtración.

En algunos casos, la inulina resultante puede decolorarse por sustancias que no pueden eliminarse por filtración. En tales casos se prefiere eliminar las impurezas colorantes mediante un tratamiento con carbono activo. En una realización, el carbón vegetal activo se suspende en agua y se añade a una disolución de inulina a una temperatura superior a 80°C, preferentemente superior a 90°C. En el caso de un 20% en peso de disolución de inulina, la cantidad de carbono activo está preferentemente en un intervalo del 1 - 10% en peso, preferentemente 2 - 6% en peso, más preferentemente 2 - 3% en peso, basándose en el peso de la disolución de inulina. Después de la adsorción de las impurezas colorantes, el carbono activo se elimina por centrifugación y/o filtración. La suspensión de carbono activo puede preclarificarse por separación

5 centrífuga del lodo de carbono activo y luego clarificarse por filtración de dos etapas, por ejemplo, con una combinación de un filtro previamente recubierto con tierra de infusorios y un filtro de hoja. Es importante que durante la separación del carbón vegetal activo de la disolución de inulina la temperatura se mantenga superior a 80°C, preferentemente superior a 90°C, con el fin de mantener la inulina en disolución. Después de eliminar el carbón vegetal activo, la inulina puede precipitarse o cristalizarse y separarse de la fase líquida como se ha descrito anteriormente.

Después de la separación de la fase líquida, el producto final puede lavarse de nuevo con agua o una mezcla de agua/alcohol. Se prefiere lavar con agua fría a una temperatura de 2 - 10°C. Para este fin, el precipitado de inulina se suspende en agua y entonces la inulina sedimenta de nuevo.

10 La inulina resultante se seca en otra última etapa de procedimiento. El secado puede tener lugar por liofilización, secado por pulverización o secado en tambor.

15 En una realización preferida del procedimiento de la invención, la inulina está en forma secada por pulverización. Los parámetros de secado por pulverización adecuados se describen en los ejemplos adjuntos. Es evidente que en el caso de un procedimiento de secado por pulverización una inulina precipitada o cristalizada debe ponerse de nuevo en suspensión (en agua por debajo de aproximadamente 80°C) o en disolución (en agua por debajo de aproximadamente 80°C).

Es posible que mediante la adición de inulinas secadas por pulverización de la invención a productos alimenticios preparados líquidos la viscosidad aumente particularmente eficazmente. Con la adición de cantidades iguales de inulina de la invención se logra un mayor aumento en la viscosidad con una inulina secada por pulverización en comparación con una inulina secada de otra forma (por ejemplo, liofilización).

20 En aún otra realización preferida del procedimiento de la invención, la inulina está en forma granulada por pulverización. La inulina granulada por pulverización se obtiene por procedimientos conocidos, por ejemplo, introduciendo un material previamente secado por pulverización como semilla de granulación y secando por pulverización la inulina adicional. Una inulina con un tamaño de partícula de, por ejemplo, 10 - 100 µm puede servir de carga inicial. Condiciones de granulación por pulverización adecuadas son, por ejemplo, una composición de alimentación de 70% de agua y 30% de inulina y una temperatura de alimentación de 90°C.

25 La inulina secada por pulverización de la invención tiene muy particularmente preferentemente un diámetro de partícula promedio de 50-350 µm, más preferentemente 80-300 µm, incluso más preferentemente 100-250 µm y lo más preferentemente 100-200 µm determinado por análisis de tamiz. Por tanto, una inulina tal es otro aspecto de la presente invención.

30 Es posible ajustar el diámetro de partícula promedio preferido de una inulina secada por medio de fraccionamiento en tamiz en el supuesto caso de que, después de secar, todavía esté fuera del intervalo preferido. La selección del tamaño de tamiz adecuado se encuentra dentro de la competencia del experto medio.

35 Las partículas de inulina de la invención tienen preferentemente una fracción cristalina inferior al 45%, más preferentemente inferior al 40%, incluso más preferentemente inferior al 35%. En otra realización preferida, inferior al 20%, incluso más preferentemente inferior al 10%. En la realización más preferida, el grado de cristalinidad es inferior al 1%. Los grados de cristalinidad establecidos se determinan mediante el procedimiento de Ruland-Vonk (W. Ruland, Acta Cryst., 14, 1180 (1961); C.G. Vonk, J. Appl. Cryst. 6, 148 (1973)). El procedimiento para determinar el grado de cristalinidad se describe en detalle en los ejemplos adjuntos. Un bajo grado de cristalinidad confiere mejores propiedades de disolución a la inulina, que es ventajoso en ciertas aplicaciones de productos alimenticios.

40 En aún otro aspecto, la invención también se refiere a composiciones que comprenden la inulina secada por pulverización previamente descrita de la invención y uno o más componentes comestibles o farmacéuticamente aceptables. Composiciones típicas incluyen productos alimenticios para seres humanos y animales, bebidas, productos alimenticios funcionales, medicamentos y composiciones farmacéuticas (incluyendo composiciones profilácticas y composiciones terapéuticas), y productos intermedios de las mismas.

45 Un producto alimenticio funcional significa en el contexto de la presente invención un producto alimenticio que, además de nutrientes tradicionales, comprende un componente que puede tener un efecto promotor de la salud (definición del Institute of Medicine of the National Academy of Sciences, EE.UU., 1994).

50 Dichos componentes comestibles o farmacéuticamente aceptables se seleccionan preferentemente del grupo que está constituido por azúcares (por ejemplo, glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa, galactosa, maltosa, isomaltosa, povidextrona), polioles (por ejemplo, sorbitol, lactitol, maltitol, isomalta, manitol, xilitol), maltodextrinas, edulcorantes, jarabes de glucosa hidrogenada, adiciones a alimentos humanos y animales, productos intermedios para alimentos humanos y animales, productos alimenticios humanos y animales, líquidos comestibles, bebidas, fuentes biodisponibles de minerales, vehículos farmacéuticamente aceptables, sustancias farmacéuticamente y terapéuticamente activas, composiciones farmacéuticas y medicamentos.

55 Una composición particularmente preferida de la presente invención incluye la inulina secada por pulverización de la invención en presencia de una fuente biodisponible comestible o farmacéuticamente aceptable de minerales,

especialmente una fuente de calcio y/o magnesio y/o hierro tal como, por ejemplo, productos lácteos y sales y complejos de calcio, magnesio y hierro.

Como se ha explicado anteriormente, el objetivo de la presente invención era proporcionar una inulina con propiedades particularmente ventajosas para uso en productos alimenticios, siendo los términos producto de alimento y productos alimenticios equivalentes según la invención. Por tanto, en otro aspecto, la presente invención también se refiere a productos alimenticios y suplementos dietéticos que comprenden la inulina secada por pulverización previamente descrita. Los términos productos alimenticios incluyen según la presente invención tanto productos alimenticios para seres humanos como productos alimenticios animales o pienso para animales. Los suplementos dietéticos incluyen suplementos dietéticos para seres humanos y para animales.

Un producto alimenticio particularmente preferido se selecciona de productos lácteos, yogures, helados, helado blando basado en leche, decoraciones basadas en leche, pudines, batidos, natillas de huevo, queso, barritas nutritivas, barritas energéticas, barritas para el desayuno, productos de confitería, productos de panadería, galletas saladas, galletillas, galletas, copos de cereales, productos de aperitivo, té helado, helado blando hecho de zumo de frutas, bebidas dietéticas, bebidas preparadas, bebidas deportivas, bebidas energizantes, mezclas de bebidas en polvo para suplementación dietética, alimentos infantiles y para bebés, zumo de naranja complementado con calcio, pan, cruasanes, cereales para el desayuno, fideos, productos para untar, galletas y chocolates sin azúcar, chicles de calcio, productos cárnicos, mayonesa, aliños para ensaladas, mantequilla de cacahuete, comidas ultracongeladas, salsas, sopas y comidas listas para servir. El producto alimenticio que comprende la inulina de la invención es lo más preferentemente un producto lácteo, especialmente un yogur. La inulina de la invención muestra un efecto particularmente bueno sobre la estabilidad, la textura, el cuerpo y la sensación en la boca de productos lácteos, especialmente yogur, siendo posibilidades yogur agitado o fermentado en cuba o bebidas de yogur.

Otros productos lácteos útiles según la presente invención son nata, crema fresca, requesón, mantequilla, leche, especialmente leche desnatada, suero de leche, leche agria, kéfir, queso tal como queso crema, quesos tiernos, queso en lonchas, queso duro, suero, leche en polvo, bebidas basadas en leche.

Un nivel preferido de inulina en productos alimenticios, especialmente en lácteos, particularmente en yogur, es el 0,2 - 5% en peso, preferentemente el 0,5 - 4,5% en peso de inulina seca basado en el peso total de todos los componentes del producto alimenticio, lácteo o yogur.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a preparaciones cosméticas que comprenden la inulina secada por pulverización previamente descrita. Las preparaciones cosméticas toman particularmente preferentemente la forma de cremas, en particular cremas para la piel y la cara.

En otro aspecto, la presente invención también se refiere al uso de la inulina secada por pulverización previamente descrita como aditivo en productos alimenticios, productos alimenticios funcionales y preparaciones cosméticas. El uso también se refiere en particular a todos los productos alimenticios específicos y preparaciones cosméticas como se han mencionado anteriormente.

En aún otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de la inulina secada por pulverización de la invención para la preparación de una composición farmacéutica o de un medicamento.

La inulina secada por pulverización de la invención puede usarse ventajosamente en productos alimenticios, productos alimenticios funcionales, composiciones farmacéuticas o medicamentos que sirven para modificar o regular la composición de la flora bacteriana en el intestino grueso, especialmente en la región distal del intestino grueso de seres humanos, mamíferos y otros vertebrados.

Asimismo, es posible usar la inulina secada por pulverización de la invención en productos alimenticios, productos alimenticios funcionales, composiciones farmacéuticas o en medicamentos que sirven para modificar o regular el patrón de fermentación de la inulina en el intestino grueso, especialmente en la región distal del intestino grueso de seres humanos, mamíferos y otros vertebrados.

Otro uso preferido de la inulina secada por pulverización de la invención es el uso como fibra vegetal en productos alimenticios en los que el término "producto alimenticio" engloba al menos todos los productos alimenticios anteriormente mencionados, especialmente todos los productos lácteos anteriormente mencionados. Es ventajoso que las propiedades sensoriales, especialmente la sensación en la boca, sean excelentes en comparación con las inulinas convencionales. Por tanto, la inulina de la presente invención también puede usarse como potenciador de las propiedades sensoriales, especialmente como un potenciador de la sensación en la boca, en productos alimenticios.

Otro uso de la inulina secada por pulverización de la invención es el uso como agente texturizante, agente potenciador de la estabilidad, agente viscosificante, especialmente en productos alimenticios y cosméticos. El término "producto alimenticio" engloba al menos todos los productos alimenticios anteriormente mencionados, especialmente todos los productos lácteos anteriormente mencionados.

Finalmente, la inulina secada por pulverización de la invención puede usarse en productos alimenticios, productos alimenticios funcionales, composiciones farmacéuticas o en medicamentos que tienen los siguientes efectos ventajosos:

5 efectos de la fibra, regulación de la función intestinal, efecto prebiótico y/o bifidogenicidad, aumento de la absorción de minerales, por ejemplo, de calcio, magnesio y hierro, aumento de la densidad mineral ósea, aumento del contenido de mineral óseo, aumento de la máxima masa ósea, mejora de la estructura ósea, reducción de la pérdida de densidad mineral ósea, reducción de la pérdida de estructura ósea, regulación del metabolismo de los lípidos, estimulación del sistema inmunitario, prevención del cáncer y reducción del riesgo de cáncer, prevención de cáncer del intestino grueso y reducción del riesgo de cáncer del intestino grueso y prevención de cáncer de mama.

La invención se explica a continuación por medio de los ejemplos que no pretenden restringir el concepto inventivo general.

Ejemplos

10 **Procedimientos generales**

1. Determinación de fructano

1.1 Determinación de fructano mediante hidrólisis con exoinulinasa

15 Las disoluciones de inulina que van a medirse se preparan pesando 50,0 +/- 5,0 mg de inulina con exactitud en un matraz graduado de 1 ml. Se añaden 700 µl de H₂O dd para disolverla. Entonces, la muestra se agita con el fin de desprender el material de muestra tan bien como sea posible de la base del recipiente, y luego se coloca en un baño de agua casi hirviendo (~99°C) durante 8 minutos. Durante la incubación, el matraz graduado se agita cada 30 segundos. Después de la incubación, la muestra se deja enfriar hasta temperatura ambiente y luego se enrasa hasta la marca de 1 ml con H₂O dd. La disolución de muestra tiene una concentración de inulina de 5,0 +/- 0,5%.

20 Para la determinación de azúcares antes de la digestión, 200 µl se sacan y se congelan a -20°C. Antes de la medición de azúcares, esta muestra se descongela a temperatura ambiente, se mezcla, se disuelve mediante agitación a 1400 rpm en un bloque térmico a 95°C durante 5 minutos y se centrifuga a 4000 rpm durante 2 minutos. Para la hidrólisis, 50 µl de la disolución de inulina de aproximadamente el 5% de concentración se ponen en la mezcla de digestión que consiste en 50 µl de citrato de Na 1 M a pH 4,6, 25 µl de exoinulinasa (Megazyme International Ireland Ltd, Wicklow, Irlanda, artículo nº E-EXO1, 2,5 U/µl) y 375 µl de H₂O dd. La digestión se mezcla y se centrifuga a 4000 rpm durante 1 minuto. Entonces, la digestión se incuba en un bloque térmico a 40°C durante 4 h. Todas las muestras digeridas se congelan a -20°C. Antes de la medición de azúcares, estas muestras se descongelan a temperatura ambiente, se mezclan y se centrifugan a 4000 rpm durante 2 minutos. Para la medición de fructosa se prepara una dilución 1:10 añadiendo 10 µl de digestión a 90 µl de H₂O dd.

30 Para determinar la fructosa y la glucosa liberadas en la digestión se lleva a cabo una medición fotométrica de glucosa y fructosa en todas las muestras como se describe en "Determinación de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa)". Además de la glucosa y la fructosa, en la muestra también se determina sacarosa antes de la digestión.

35 La disolución de inulina al 5% de concentración sin diluir se usa para la medición de azúcares antes de la digestión. Se añaden 10 µl de esta disolución a 200 µl de tampón de medición. Para la medición de glucosa en las muestras digeridas, 10 µl de las muestras sin diluir se añaden a 200 µl de tampón de medición. Para la medición de fructosa en las muestras digeridas, 10 µl de muestras diluidas 1:10 se añaden a 200 µl de tampón de medición.

40 El cálculo se basa, como en la determinación de azúcares, en un coeficiente de extinción molar de 6,23 l*mmol⁻¹*cm⁻¹ para la conversión de NADP a NADPH. La concentración de glucosa y fructosa presente antes de la digestión se resta de las concentraciones de glucosa y fructosa en las muestras digeridas. Asimismo, se resta la glucosa y la fructosa que habrían sido liberadas de la sacarosa hidrolizada presente en la muestra antes de la digestión.

Entonces se obtienen las concentraciones de fructosa y glucosa formadas durante la digestión de inulina. El contenido de fructano se obtiene mediante la suma de los contenidos de glucosa y de fructosa y con inclusión del factor 162/180 para la conversión de las hexosas libres medidas en las hexosas unidas en el fructano.

2. Determinación de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa)

45 Los contenidos de glucosa, fructosa y sacarosa se determinaron por fotometría en un ensayo enzimático mediante la conversión de NADP⁺ (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) en NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido reducida). El carácter aromático del anillo de nicotinamida se pierde en la reducción y, por tanto, cambia el espectro de absorción. Este cambio en el espectro de absorción puede detectarse por fotometría.

50 La glucosa y la fructosa se convierten por medio de la enzima hexocinasa y adenosina trifosfato (ATP) en glucosa-6-fosfato y fructosa-6-fosfato. Entonces, la glucosa-6-fosfato se oxida por la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en 6-fosfogluconato. La NADP⁺ se reduce a NADPH en esta reacción, y la cantidad de NADPH formada se mide por fotometría. La relación de NADPH formada con respecto a la glucosa presente en el extracto es 1:1, de manera que el contenido de glucosa puede calcularse a partir del contenido de NADPH usando el coeficiente de extinción molar de NADPH (6,23 l mmol⁻¹ cm⁻¹) según la ley de Lambert-Beer.

Después de completarse la oxidación de la glucosa-6-fosfato, la fructosa-6-fosfato que se produce asimismo en la

disolución se convierte por la enzima fosfoglucoisomerasa en glucosa-6-fosfato, que a su vez se oxida a 6-fosfogluconato. La relación de la cantidad de fructosa y de NADPH formada también es 1:1. El contenido de fructosa se calcula a partir de la cantidad de NADPH formada como se describe para la glucosa.

5 Posteriormente, la sacarosa presente en el extracto se escinde por la enzima sucrasa (de Megazyme) en glucosa y fructosa. Entonces, las moléculas de glucosa y fructosa liberadas son convertidas por las enzimas anteriormente mencionadas en la reacción dependiente de NADP⁺ en 6-fosfogluconato. Dos moléculas de NADPH se forman en la conversión de una molécula de sacarosa en 6-fosfogluconato. La cantidad de NADPH formada se mide asimismo por fotometría, y el contenido de sacarosa se calcula a partir de éste usando el coeficiente de extinción molar de NADPH.

10 Se usa una disolución de inulina al 5% de concentración como se describe en "Determinación de fructano mediante hidrólisis con exoinulinasa" para la medición de azúcares. 10 µl de esta disolución se añaden a 200 µl de tampón de medición. La medición tiene lugar como determinación por duplicado en placas de microtitulación usando los fotómetros SPECTRAMax (Molecular Devices). Todas las disoluciones de enzimas usadas se prepararon en tampón de medición que consiste en imidazol-HCl 50 mM a pH 6,9, MgCl₂ 2,5 mM, ATP 1 mM y NADP 0,4 mM. La conversión de NADP en NADPH se sigue a una longitud de onda de 340 nm.

15 La determinación de glucosa tiene lugar añadiendo 2 µl de una mezcla de hexocinasa (de levadura, 0,3 U/µl) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (de levadura, 0,14 U/µl). Después de completarse la conversión de la glucosa se añaden 2 µl de fosfoglucoisomerasa (de levadura, 0,14 U/µl) para determinar fructosa. Si la fructosa se convierte completamente se añaden 2 µl de sucrasa (de Megazyme, 0,2 U/µl) para escindir la sacarosa presente. El cálculo de glucosa, fructosa y sacarosa tiene lugar como se describe.

20 3. Análisis de la distribución de pesos moleculares

3.1 Cromatografía de exclusión molecular con dispersión de la luz y detección del índice de refracción (sistema GPC-RI-MALLS)

25 Las inulinas/fructanos se disuelven en agua extrapura en una concentración del 1% (peso/volumen). Se pesan entre 5 y 10 mg en recipientes Eppendorf de 2 ml. Las disoluciones se calientan a 95°C en un agitador térmico (Eppendorf) a 300 rpm durante 10 minutos. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente se preparan disoluciones al 0,5% (peso/volumen) mediante dilución 1:2 con agua extrapura. La filtración tiene lugar a través de filtros de centrifuga de 0,22 µm (Spin-x, Costar) a 4000 rpm durante 2 minutos. Los polímeros se analizan usando un sistema Dionex (Dionex Corporation, Sunnyvale, EE.UU.) que consiste en los siguientes componentes: bomba P680 HPLC, inyector automático AS50, compartimento de columna termostatzada TCC-100. Para la detección se usa un detector de dispersión de la luz DAWN-EOS (Wyatt Technology, Santa Barbara, EE.UU.) con $\lambda_0 = 690$ nm y 15 detectores en el intervalo de ángulos de 25,9 a 163,3° y célula de flujo K5 acoplada a un detector Shodex RI-101 RI (Shodex Denko K.K., Kanagawa, Japón) para la detección. Los polímeros se fraccionan en una precolumna y tres columnas (Suprema 30, Suprema Lux 1000, Suprema 30000) (SUPREMA-Gel, PSS Polymer Standards Service GmbH, Mainz, Alemania). Se inyectan 90 µl de disolución. El fraccionamiento tiene lugar a una temperatura de 30°C y una velocidad de flujo de 0,8 ml/minuto con NaNO₃ 0,05 M como eluyente. Se usa el programa Astra V 5.1.8.0 (de Wyatt Technology, Santa Barbara, EE.UU.) para analizar la distribución de pesos moleculares de las muestras.

3.2 Cromatografía de exclusión molecular con detección del índice de refracción (sistema GPC-RI)

40 Las inulinas se disuelven en el eluyente (DMSO + NaNO₃ 90 mM) en una concentración del 1% (peso/volumen) agitando cuidadosamente en un agitador térmico a 95°C durante 10 minutos. Después de un breve enfriamiento, la disolución de inulina se diluye al 0,1% con eluyente (100 µl de disolución de inulina + 900 µl de eluyente) y se coloca inmediatamente en el inyector automático a 60°C. Los polímeros se analizan usando el siguiente aparato: bomba Dionex P580, inyector automático Dionex AS50, horno de columna Dionex modelo 585 (Dionex GmbH, Idstein, Alemania), detector Shodex RI-71 (Shodex/Shoko Co. LTD, Tokio, Japón). Los sistemas están controlados por el software Chromeleon (Dionex GmbH, Idstein, Alemania). Los polímeros se fraccionan en una precolumna PSS GRAM, 10 µ, y las columnas de separación PSS GRAM 3000, 10 µ y PSS GRAM 100, 10 µ (PSS Polymer Standards Service GmbH, Mainz, Alemania). Se inyectan 50 µl de la disolución de inulina al 0,1% para el análisis. El fraccionamiento tiene lugar en el horno de columna a una temperatura de 60°C y con una velocidad de flujo de 0,7 ml/minuto con el eluyente DMSO + NaNO₃ 90 mM. Para determinar las masas moleculares, el sistema se calibra con los siguientes patrones de dextrano (nº de producto 31430, Fluka Riedel-de Haën, Seelze, Alemania): dextrano T1 (Mw 1270), T5 (Mw 5220), T12 (Mw 11 600), T25 Mw 23 800), T50 (Mw 48 600), T80 (Mw 80 900), T150 (Mw 147 600), T270 (Mw 273 000), T410 (Mw 409 800) T670 (667 800). Se usa el programa PSS WinGPC compact V.6.20 (PSS, Mainz, Alemania) para analizar la distribución de pesos moleculares de las muestras.

4. Determinación del contenido de agua

55 El contenido de agua se determina usando un valorador de Karl-Fischer AQUA 40.00 (de Analytik Jena AG). Como anolito se usa Hydranal-Coulomat AG (Riedel-de Haën, artículo nº 34.836). La sustancia de referencia usada es tartrato de sodio dibásico dihidratado (Riedel-de Haën, artículo nº 32.323) con un contenido de humedad del 15,61-15,71%. Se pesan 10-20 mg de muestra en botellas de muestra de 5 ml (N20-5DIN, Macherey-Nagel, artículo nº 702 04.36), las botellas se cierran con tapas plegables (N20 TS/oA, Macherey-Nagel, artículo nº 702 815), y el contenido de agua de la muestra se determina usando el valorador de Karl-Fischer.

5. Determinación del grado de ramificación

5 Las inulinas se permetilan inicialmente y la completitud de la metilación se comprueba por espectroscopía ATR-IR (véase más adelante para el aparato y las condiciones). Entonces, las muestras se descompusieron mediante hidrólisis ácida (análisis de metilación convencional) o alternativamente mediante degradación reductora en sus bloques estructurales monoméricos, y la composición molar relativa se determinó por cromatografía de gases (véase más adelante para el aparato y las condiciones) y cromatografía de gases-espectroscopía de masas (GC-EM, véase más adelante para el aparato y las condiciones) de los acetatos de alditol y acetatos de anhidroalditol parcialmente metilados.

ATR-IR

Aparato: Bruker Tensor 27

Técnica: Diamond ATR

GC:

Aparato: Carlo Erba HRGC 5160 Mega Series

Columna: Chrompack CPSil8CB (25 m) con espacio de retención (1,5 m)

DI: 0,25 mm FD: 0,25 µm

Gas portador: He (80 kPa)

Detector: FID

Inyector: en la columna

Integrador: Merck Hitachi D-2500 Chromato-Integrador

Programa de temperatura: 60°C (1 min isoterma), 10°C/min a 170°C, 3°C/min a 230°C, 20°C/min a 290°C (20 min isoterma)

GC-EM

GC: Aparato: Agilent 6890 GC

Columna: HP-5, 30 m

Gas portador: He

Inyector: Split 5:1

Programa de temperatura: 60°C (1 min isoterma), 10°C/min a 170°C, 3°C/min a 230°C, 20°C/min a 290°C (20 min isoterma)

EM: Aparato: espectrómetro de campo de sector de doble enfoque JEOL GCmate II

Modo: EI, 70 eV

Evaluación: AMDIS32, Wsearch32

5.1 Permetilación

10 (Según Ciucanu y Kerek / Ciucanu, I. & Kerek, F. (1984) A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates. Carbohydr. Res. 131, 209-217.)

15 Se disuelven aproximadamente 50 mg de muestra en 2,5 ml de dimetilsulfóxido. Luego se añaden 3 eq/OH de hidróxido de sodio finamente molido y 3 eq/OH de yoduro de metilo y se agitan a temperatura ambiente durante 24 horas. Entonces, la mitad de la cantidad de cada uno de los reactivos se añade de nuevo una vez. Las muestras se dializan posteriormente contra agua destilada durante cuatro días (Dialysemembran Spectra/Por MWCO 3500, Spectrum Laboratories, Rancho Dominguez, CA, EE.UU.) y se liofilizan. La completitud de la metilación se comprueba por espectroscopía ATR-IR. La vibración de tensión de OH en el intervalo 3300 - 3400 cm⁻¹ debería haber desaparecido si hay permetilación.

5.2 Análisis de metilación convencional

Hidrólisis

5 Se mezclan aproximadamente 2 mg de inulina permetilada en un vial V de 1 ml con 0,9 ml de ácido trifluoroacético 0,5 M y se hidrolizan mediante agitación a 90°C durante una hora. Después de que la disolución se haya enfriado, se evapora a sequedad en una corriente de nitrógeno. Los residuos de ácido trifluoroacético se eliminan por codestilación con tolueno.

Reducción

10 La muestra hidrolizada se mezcla con 500 µl de una disolución de NaBD₄ 0,5 M en NH₃ 2 M y se calienta a 60°C durante una hora. Después de enfriarse, el borohidruro de sodio en exceso se descompone añadiendo unas cuantas gotas de ácido acético glacial. El borato resultante se elimina por codestilación con ácido acético metanólico al 15% de concentración.

Acetilación

15 Los alcoholes de azúcar parcialmente metilados resultantes de la reducción se mezclan con 200 µl de anhídrido acético y 50 µl de piridina y se acetilan a 90°C durante 2 horas. La disolución se enfría y luego se añade disolución saturada de bicarbonato sódico hasta que no se observa más formación de gas. Entonces se extrae cuatro veces con 15 ml de diclorometano cada vez. Las fases orgánicas combinadas se lavan dos veces con 15 ml de disolución saturada de NaHCO₃ cada vez, una vez con 20 ml de HCl 0,1 M frío y una vez con 25 ml de agua destilada. Entonces, la disolución se seca sobre cloruro de calcio y se concentra a vacío, y se recoge en diclorometano para la medición de GC.

5.3 Degradación reductora

20 Se disuelve aproximadamente 1 mg de la muestra permetilada en 500 µl de diclorometano en un vial de vidrio de tapa roscada, se mezcla con 6 eq/glucósido unido a trietilsilano y 4 eq de TMS-triflato y se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la adición de 20 µl de anhídrido acético, la agitación continúa a temperatura ambiente durante 2 horas. Entonces, la reacción se detiene añadiendo disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y la agitación continúa durante 1 hora. El tratamiento final tiene lugar por extracción con diclorometano y posterior lavado de las fases orgánicas combinadas con disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y agua destilada. La disolución se seca finalmente sobre cloruro de calcio, se concentra en una corriente de nitrógeno y se recoge en diclorometano para la medición de GC.

25

5.4 Análisis cualitativo y cuantitativo

30 Los productos de degradación se analizaron cuantitativamente por cromatografía de gases con inyección en la columna y detector de ionización de llama (FID). Las áreas pico se corrigieron según su respuesta de carbono eficaz. Los picos se asignaron basándose en su espectro de masas (GC-EM) y los tiempos de retención de muestras de comparación conocidas.

6. Calorimetría diferencial de barrido de inulina

35 Se prepararon 40 ml de una disolución de inulina al 15% de concentración (peso/volumen) en tubos de polipropileno graduados de 50 ml (30,0 x 115 mm, de Greiner, número de pedido 227261). Esto se hizo añadiendo el polvo respectivo a agua destilada doble y agitando. Posteriormente, todas las suspensiones preparadas se colocan en un baño de agua (95°C) y se disuelven agitando varias veces. Después de 20 minutos se establece visualmente que todas las suspensiones se han disuelto completamente. Entonces, las disoluciones preparadas se dividen en partes iguales para dos tubos de polipropileno graduados de 50 ml (30,0 x 115 mm, de Greiner, número de pedido 227261) y se ultracongelan inmediatamente en nitrógeno líquido. Entonces, las disoluciones se liofilizaron durante dos días (contenido de agua de aproximadamente el 10%) y se molieron en un mortero.

40

El contenido de agua de las muestras se determina usando un valorador de Karl-Fischer automático (véase Procedimientos generales, 4).

45 Para una medición de DSC se pesan aproximadamente 10 mg de sustancia seca de inulina en un crisol de acero inoxidable (volumen 50 µl), se encuentra el peso exacto y se añaden 30 µl de agua destilada. Entonces, los crisoles se cierran herméticamente. Como referencia se usa un crisol de acero inoxidable vacío. La muestra se calienta en un aparato de DSC con inyector automático (Perkin Elmer; Diamond) de 10-160°C a una tasa de calentamiento de 10°C/minutos. El análisis de datos se lleva a cabo por el programa de software PYRIS 7.0 (Perkin Elmer, 63110 Rodgau-Jügesheim, Alemania). Esto implicó la determinación de T₀ (inicial) y la entalpía libre dH.

7. Determinación de la viscosidad

50 Se prepararon disoluciones acuosas de inulina de diversas concentraciones (peso por volumen de agua destilada) agitando a 98°C, y las disoluciones claras se midieron inmediatamente después de un tiempo de disolución que no superó 13 min. Las mediciones se llevaron a cabo en un reómetro BOHLIN Gemini Advanced (Malvern Instruments; Herrenberg, Alemania) usando el modo de viscosimetría isoterma (90°C) en un sistema de cono-plato CP40/40 mm. El espacio de

medición se cubrió con una capa de aceite de parafina extraligero. Se usó una tasa de cizallamiento de 10 s^{-1} durante 60 s con un tiempo de relajación de 10 s para el cizallamiento previo. El cizallamiento se midió en etapas logarítmicas en un modo de tasa de cizallamiento. La tasa de cizallamiento inicial fue 20 s^{-1} , la tasa de cizallamiento final fue 30 s^{-1} en una rampa creciente con un tiempo de retención de 20 s y un tiempo de integración de 10 s. Los datos se basan en los valores promedio en el intervalo de 20 s^{-1} a 30 s^{-1} y son las medias de tres mediciones independientes por punto de datos. Todas las mediciones especificadas como valores atípicos no se incluyen en los valores promedio. La definición de "valor atípico" tuvo lugar por el llamado "procedimiento de cuartiles". Éste supuso valores atípicos que se especifican como todas las mediciones que se encuentran fuera de los criterios del intervalo $Q_2 - k*(Q_3-Q_1) \leq \text{sin valor atípico} \leq Q_2 + k*(Q_3-Q_1)$ (SACHS, Lothar: Angewandte Statistik, 10ª edición, Springer-Verlag Berlin (2002), pág. 364 y siguientes). Q_1 y Q_3 son aquí el cuartil 5 y el cuartil 75, respectivamente, y Q_2 es la mediana (cuartil 50) de los datos medidos. Se usó un valor de 1,5 para el factor k.

8. Determinación de la resistencia del gel y comportamiento viscoelástico

Se pusieron 70 g de una suspensión de inulina al 17% en peso en agua (destilada) en una copa de medición de MV de un viscosímetro Haake Rotovisco VT 550. Entonces se insertó un agitador de paletas y se montó en el aparato precalentado (90°C , camisa de calentamiento). Entonces, la mezcla se calentó con agitación a 128 rpm durante 15 min.

Después de 15 min, la mezcla se transfirió a 90°C a un recipiente que consistió en una base y una pared compuesta por dos anillos cilíndricos de hoja acrílica (cada uno 20 mm de altura, 30 mm de diámetro) que se colocaron uno encima del otro y se fijaron juntos por medio de una cinta adhesiva (19 mm de ancho). La mezcla se introdujo en el recipiente sin burbujas hasta que el nivel estuvo aproximadamente 5 mm por debajo del borde superior. Entonces, el recipiente se cubrió herméticamente con una lámina de aluminio y se dejó reposar a temperatura ambiente (23°C) durante la noche.

La resistencia del gel se midió después del almacenamiento a temperatura ambiente (23°C) durante aproximadamente 20 horas usando un analizador de textura TA XT2. Para hacer posible la medición de la resistencia del gel sobre una superficie sin secar lisa, en primer lugar se quitó la cinta adhesiva que mantenía juntos los dos anillos cilíndricos del recipiente. El gel se dividió luego con una cuchilla de afeitar entre los anillos de manera que la parte inferior del gel presentó una superficie lisa.

La resistencia del gel se midió con el analizador de textura TA XT2 por un domo de nivel (diámetro 24,5 mm) que penetró (1 mm) en el gel. Los parámetros en el analizador de textura fueron como los siguientes:

Principio de medición:	Fuerza en la dirección de la presión
Velocidad de avance:	2 mm/s
Velocidad de prueba:	2 mm/s
Valor umbral:	0,01 N
Velocidad de retroceso:	2 mm/s
Desplazamiento:	1 mm

Se indica el valor máximo con una única penetración del domo en newtons.

Ejemplo 1

30 Caracterización de la inulina de raíces de alcachofa

1. Cultivo de las plantas de alcachofa

Las plantas de alcachofa de la variedad Madrigal se cultivaron en la proximidad de Valencia, España. Las semillas se sembraron en abril de 2005 y las plantas se recogieron en agosto/septiembre de 2005. Las raíces se separaron de la parte de tierra superior, se liberaron de tierra adherente y se secaron. Entonces, las raíces se transportaron sin refrigeración de España a Alemania. Las raíces se almacenaron a -20°C hasta que se extrajo la inulina.

2. Preparación de inulina a partir de raíces de alcachofa

Para preparar la inulina se usan raíces de las plantas de alcachofa de la variedad Madrigal de aproximadamente 4-5 meses. Se liberan 60 kg de raíces de los constituyentes de tierra que se adhieren a ellas lavándolas en el estado ultracongelado con un limpiador a alta presión (Kärcher 240) antes de procesarse adicionalmente a astillas en una cortadora (Gloria Universal garden shredder natura 2800L). Las astillas se ponen en un extractor calentado por camisa con un agitador de compuerta que contiene agua precalentada a $80-90^\circ\text{C}$. La cantidad total de agua añadida es 180 kg. El pH del extracto se ajusta a 9,0 añadiendo NaOH. Después del rápido calentamiento del puré de astillas de 40°C a $80-85^\circ\text{C}$ mediante la camisa del extractor, el puré se agita a $80-85^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 60 minutos con el fin de extraer la inulina (fructano) de las astillas. Después de este tiempo, el extracto bruto se separa de las astillas separándolo por bombeo.

5 El extracto bruto se decolora en un procedimiento de dos etapas formando un total de 0,7 g de $Mg(OH)_2$ /100 ml de extracto. En la primera etapa, 3400 g de $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ (equivalente a 0,5 g de $Mg(OH)_2$ /100 ml de extracto) se disuelven en 170 l de extracto de color marrón oscuro con agitación durante el transcurso de 10 minutos. Posteriormente se añaden 1015 g de $Ca(OH)_2$ al 96% de concentración como suspensión en 3 l de agua y se agitan durante 10 minutos. Se ajusta un pH de 9,4. La mezcla de precipitación completa se clarifica cuantitativamente en un separador de platos (GEA Westfalia tipo SC-6-06-076) durante el transcurso de 120 minutos. La disolución de extracción decolorada tiene un color amarillo pálido y está libre de materiales que producen turbidez. Cuando se saca la fracción de lodo se obtiene una fase sólida en forma de una pasta densa. La etapa de decoloración completa se repite en la disolución de extracción obtenida de esta forma y que comprende 150 l de $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ (equivalente a 0,2 g de $Mg(OH)_2$ /100 ml de extracto) y 410 g de $Ca(OH)_2$ al 96% de concentración como suspensión en 1,5 l de agua. La mezcla de precipitación completa se clarifica cuantitativamente en un separador de platos durante el transcurso de 30 minutos. La disolución de extracción decolorada con un pH de 9,4 es clara, tiene un color amarillo pálido y está libre de materiales que producen turbidez. De nuevo se obtiene un centrifugado en forma de una pasta densa como fracción de lodo.

15 La inulina sólida se obtiene del extracto abrigantado de esta forma enfriando a una temperatura de 4°C durante un periodo de 48 h. La inulina se obtiene como un sedimento similar a lodo por deposición centrífuga usando el separador de platos.

20 El sedimento se purifica adicionalmente sucesivamente dos veces en la misma concentración que está presente en el extracto abrigantado disolviendo la inulina en agua caliente y la precipitación se reanuda mediante almacenamiento a 2°C durante 48 h. El sedimento de inulina finalmente obtenido se disuelve completamente de nuevo en la misma concentración que se ha usado previamente en agua con entrada de calor. Entonces, la disolución caliente se filtra a través de un filtro de placas con capas de filtros. La inulina se precipita posteriormente enfriando la disolución (2°C, 48 h) y el producto final se liofiliza.

La Figura 1 muestra una representación en diagrama del progreso de la extracción.

25 Durante el procedimiento de extracción, la distribución de polímeros se analizó después de las etapas de extracción y de purificación individuales por cromatografía de exclusión molecular con detección del índice de refracción y calibrado con patrones de dextrano (GPC-RI, véase el Procedimiento 3.2 en "Procedimientos generales"). Como es evidente de la Figura 2, la distribución de polímeros del extracto (B) después de la extracción con agua caliente es comparable a la de en raíces lavadas (A). La Figura 2 muestra un análisis de GPC-RI de la distribución de polímeros en las raíces de alcachofa lavadas (A) y el extracto después de la extracción con agua caliente de inulina (B).

30 El análisis de la distribución de polímeros después del fraccionamiento en frío (4°C) de la inulina mostró que una fracción de inulina de alto peso molecular (C) se separó de una fracción de bajo peso molecular (D) (Figura 3). La Figura 3 muestra un análisis de GPC-RI de la distribución de polímeros en el extracto después de la extracción con agua caliente de inulina (B), en el sedimento después de la precipitación de inulina a 4°C (C) y en la ejecución superior obtenida después de la centrifugación de la inulina después de la precipitación (D).

35 Se logró otro enriquecimiento de inulina de alto peso molecular y un agotamiento de sustancias de bajo peso molecular, especialmente mono y disacáridos, por reprecipitación de la fracción de inulina de alto peso molecular (Figura 4). La Figura 4 muestra un análisis de GPC-RI de la distribución de polímeros en la inulina precipitada a 4°C (C), en el sedimento después de la primera reprecipitación (F) y en la fase I clara después de la primera reprecipitación (E).

40 La inulina con un grado de polimerización más bajo permaneció en la fase clara después de reanudarse la precipitación de inulina después de la filtración con agua caliente (Figura 5). La Figura 5 muestra un análisis de GPC-RI de la distribución de polímeros en la disolución de inulina después de la filtración (G), la inulina sedimentada después de la cristalización (K) y la fase III clara después de la cristalización (H).

3. Determinación de la pureza de la inulina preparada

45 La pureza de la inulina de alcachofa obtenida en la sección 2 se determinó determinando los contenidos de fructano y de agua del material liofilizado. El contenido de agua determinado para la inulina de alcachofa fue el 2,9% (véase el procedimiento "Determinación del contenido de agua").

El contenido de fructano se determinó hidrolizando la inulina con la enzima exoinulinasa (véase el procedimiento "Determinación de fructano mediante hidrólisis con exoinulinasa"). La pureza basada en materia seca (MS) se encontró a partir del contenido de fructano y el contenido de agua. Pureza = contenido de fructano x 100 / (100 - contenido de agua)

50 Como es evidente de la Tabla 1, el grado promedio de pureza de la inulina de alcachofa preparada es el 96% de la materia seca (MS).

Tabla 1: Determinación de la pureza de la inulina de alcachofa preparada

Material	Contenido de agua [%]	Digestión con exoinulinasa	
		Fructano [% de peso inicial]	Pureza [% de MS]
Inulina de alcachofa	2,9	93% ± 7%	96%

4. Determinación del peso molecular por GPC-RI-MALLS

Se prepararon disoluciones acuosas al 0,5% (peso/volumen) a partir de la inulina de alcachofa purificada obtenida en la sección 2 y de muestras de referencia compradas de Raftiline HP (de Orafiti, lote: HPBNH4DNH4) e inulina de tubérculos de dalia (de Sigma, número de artículo I-3754, lote: 75H7065), y la distribución de masas moleculares de las inulinas se determinó por cromatografía de exclusión molecular (véase el Procedimiento 3.1). Esta distribución se representa en la Figura 5, y las masas moleculares (anhidrofructosa = 162 g/mol) y las longitudes de cadena promedio calculadas a partir de las mismas se han resumido en la Tabla 2.

El análisis de la distribución de pesos moleculares usando el sistema GPC-RI-MALLS produjo una masa molecular promedio en peso M_w de 13.995 g/mol y una masa molecular promedio en número M_n de 11.620 g/mol para la inulina de alcachofa. Esto se corresponde con una longitud de cadena promedio de 86 para GPw y de 72 para GPn. Las longitudes de cadena de la inulina de alcachofa purificada son en promedio claramente más largas que las de Raftiline HP (GPw=36, GPn=29) y de inulina de dalia (GPw=41, GPn=33). Esto también se refleja en las masas moleculares mínimas y máximas, que son claramente más grandes para inulina de alcachofa.

Tabla 2: Distribución de masas moleculares de diversas inulinas

Material	M_w [g/mol]	M_n [g/mol]	Distribución de polímeros (mín - máx) [g/mol]	GPw	GPn	Dispersidad molecular
Inulina de alcachofa	13.995	11.620	1377 - 33099	86	72	1,19
Raftiline HP	5823	4759	999 - 15162	36	29	1,24
Inulina de dalia	6678	5358	1139 - 19569	41	33	1,24

5. Resultados de la determinación de glucosa, fructosa y sacarosa

La proporción de glucosa, fructosa y sacarosa en la inulina de alcachofa obtenida en la sección 2 se determinó por determinación fotométrica de los azúcares en disoluciones de inulina al 5% de concentración como se ha descrito en el Procedimiento 3 ("Determinación de azúcares").

Como es evidente de la Tabla 4, los contenidos de glucosa, fructosa y sacarosa en la inulina de alcachofa purificada son inferiores al 0,1% del polvo de inulina.

Tabla 3: Contenido de glucosa, fructosa y sacarosa en inulina de alcachofa purificada

Material	Glucosa (g/100 g de polvo de inulina)	Fructosa (g/100 g de polvo de inulina)	Sacarosa (g/100 g de polvo de inulina)
Inulina de alcachofa	<0,1%	<0,1%	<0,1%

6. Grado de ramificación

6.1 Análisis de metilación convencional

El grado de ramificación se midió en una muestra de inulina de la invención que tenía un GPw de 90 y un GPn de 84.

Los ejemplos comparativos usados fueron Raftiline HP (de Orafiti, lotes HPBNO3DN03 y HPBNH4DNH4) e inulinas de tubérculos de dalia (de Sigma, número de artículo I-3754, lote: 022K7045 ó 75H7065) y raíces de alcachofa de Jerusalén (Sigma, número de artículo I-2880, lotes 111H7045 y 88F7220). El grado de ramificación se determinó por medio de análisis de metilación (véase Procedimientos generales, 5.1).

La hidrólisis, la reducción y la acetilación de fructanos ligados en 2-1 produjeron 1,2,5-tri-O-acetil-3,4,6-tri-O-metil-D-

manitol y -sorbitol. Los radicales fructosilo terminales dan 2,5-di-O-acetil-1,3,4,6-tetra-O-metil-D-manitol y -sorbitol. Una unidad de glucopiranosilo terminal produce 1,5-di-O-acetil-2,3,4,6-tetra-O-metil-D-sorbitol. Los bloques elementales adicionalmente ramificados en la posición 6 dan los correspondientes 1,2,5,6-tetra-O-acetil-3,4-di-O-metilalditoles.

5 Además de los productos que indican un enlace 2-1, en todas las muestras de fructano fue posible detectar aquellos de bloques estructurales de fructosa y glucosa terminales. Los cromatogramas mostraron adicionalmente dianhídrido de difructosa (DFDA, aprox. el 3% en moles) que se forma con la eliminación de TFA en una corriente de nitrógeno a partir de fructosa ligada en 2-1.

10 A partir de los espectros de masas fue adicionalmente posible identificar productos resultantes de un enlace 2-1,6 en todas las muestras. También se identificaron compuestos 1,3- y 1,4-acetilados, que se producirían con ramas en las posiciones 3 y 4, respectivamente, pero también pueden derivarse de metilación incompleta. La aparición no específica de productos 1,3- y 1,4-acetilados es un indicador de submetilación. Asumiendo que la posición 6 está afectada por la submetilación al mismo grado que las posiciones 3 y 4, la proporción no específica (promedio de compuestos 1,3-Ac y 1,4-Ac) se resta de la proporción de unidades de fructosa ramificadas en 2-1,6. La siguiente Tabla 4 muestra los resultados resultantes de la misma.

15 Tabla 4

Muestra	2-1,6-Fructosa [% en moles]*
Inulina Alcachofa	1,4
Raftiline HP	0,4
Dalia	0,2
Alcachofa de Jerusalén	No detectada
* basado en todas las especies encontradas	

La evaluación del análisis de metilación reveló un grado de ramificación del 1,4% en moles para la inulina de alcachofa. Por tanto, el grado de ramificación de esta inulina es claramente superior al de las inulinas de las muestras de referencia de endivia (Raftiline HP), dalia y alcachofa de Jerusalén.

20 6.2 Degradación reductora

De acuerdo con el análisis de metilación convencional es posible identificar por escisión de glucósidos reductores los productos correspondientes de glucopiranos terminal (1,5-anhidro-2,3,4,6-tetra-O-metil-D-sorbitol), de fructofuranosa terminal (2,5-anhidro-1,3,4,6-tetra-O-metil-D-manitol y -sorbitol) y fructofuranosa ligada en 2-1 (1-O-acetil-2,5-anhidro-3,4,6-tri-O-metil-D-manitol y -sorbitol) en todas las muestras. También es posible para todos los fructanos detectar a partir de los espectros de masas los productos resultantes cuando un enlace 2-1,6 está presente (1,6-di-O-acetil-2,5-anhidro-3,4-di-O-metil-D-manitol y -sorbitol). Además, se produce 2,6-di-O-acetil-1,5-anhidro-3,4-di-O-metilmanitol, que es un producto de transposición resultante de unidades de fructosa ligadas en 2-1,6.

30 De nuevo, los productos de submetilación no específicos (véase 6.1) se detectaron en GC-EM. También apareció una pequeña proporción de alditoles de cadena abierta sin separar. Estas pequeñas proporciones se tuvieron en cuenta en el enlace 2-1. La resta de las proporciones no específicas produce un grado de ramificación (= proporción de fructosa ligada en 2-1,6) del 1,7% en moles para la inulina de la invención.

Ejemplo 2

Propiedades de la inulina de raíces de alcachofa

35 Todas las siguientes investigaciones se refieren a la inulina de alcachofa de la invención detallada previamente en la Tabla 2. Las inulinas Raftiline HP y de dalia comparativas son asimismo aquellas detalladas en el Ejemplo 1.

1. Investigación por calorimetría diferencial de barrido de inulina

40 El análisis de calorimetría diferencial de barrido de inulina (para el procedimiento: véase Procedimientos) mostró distintas diferencias entre los diversos materiales (véase la Tabla 5) en relación con el comportamiento de fusión. Ambas muestras de inulina se diferenciaron enormemente en relación con la entalpía de fusión. Ésta era anteriormente 25,2 J/g para inulina de alcachofa y sólo 22,8 J/g para Raftiline HP. Las diferencias en T_{inicial} (T_0) fueron asimismo pronunciadas. La temperatura de fusión inicial para la inulina de alcachofa fue 41,1°C, que fue más de 3°C superior a la de la inulina de endivia comparativa. Este aumento de la estabilidad térmica de la inulina de alcachofa puede ser una ventaja considerable en ciertos procedimientos térmicos en el sector de los productos alimenticios debido a que la inulina de alcachofa es claramente menos sensible a altas temperaturas que la inulina de endivias.

Tabla 5

Material	T ₀ [°C]	Entalpía de fusión dH [J/g]
Inulina de alcachofa	41,1	25,2
Raftiline HP	37,8	22,8

2. Viscosidad

5 Tabla 6: Comparación de la viscosidad dinámica de inulina de endivias e inulina de alcachofa en agua en función de la concentración (T=90°C)

% de concentración (peso/volumen)	Viscosidad (mPas)	
	Raftiline HP (endivia)	Inulina de alcachofa
10	2,4	2,3
24	4,3	6,8
26	4,2	7,5
28	4,5	26,3

10 Como es evidente de la tabla anterior, ambas inulinas mostraron a concentraciones de hasta el 24% (peso/volumen) viscosidades muy bajas a 90°C (agua = 1 mPas). La inulina de la invención se volvió viscosa a concentraciones del 26% (peso/volumen) y especialmente al 28%, mientras que Raftiline HP permaneció muy similar en su viscosidad con respecto al agua de hasta el 28% (peso/volumen).

3. Tamaño de partícula después de la liofilización

15 La muestra liofilizada del Ejemplo 1, GPw = 86, se molió en un molino de cuchillas (Grindomix GM200, Retsch Technologie GmbH, Haan, Alemania) y el tamaño de partícula se determinó por análisis granulométrico (máquina de tamiz vibratorio "Analysette 3" de Fritsch, frecuencia 2,0, ayudas de tamizado: 8 bolas de ágata (10 mm 0)/tamiz, tiempo de tamizado 1-2 min, cantidad cargada aproximadamente 50 g). El resultado se muestra en la siguiente Tabla 7. Fue posible determinar el diámetro de partícula promedio por análisis granulométrico como 108 µm. Una inulina preparada en analogía al Ejemplo 1 y que tenía un GPw de 93-94 también se liofilizó, se molió en un molino de cuchillas y se investigó por análisis granulométrico (Tabla 8). Resultó un tamaño de partícula promedio de 160 µm.

Tabla 7: Análisis granulométrico de inulina GPw = 86:

Ancho de malla/ µm	Masa/g	%
<63	14,00	28,97
<90	6,35	13,14
<125	7,54	15,60
<160	5,53	11,44
<200	4,75	9,83
<500	10,05	20,79
>500	0,11	0,23
Total	48,33	100,00

Tabla 8: Análisis granulométrico de inulina GPw = 94:

Ancho de malla / μm	Masa/g	%
<63	8,33	16,74
<90	3,92	7,88
<125	6,17	12,40
<160	6,05	12,16
<200	7,60	15,28
<500	17,62	35,42
>500	0,06	0,12
Total	49,75	100,00

4. Secado por pulverización

5

La inulina (GPw = 86, Tabla 2) preparada en el Ejemplo 1, nº 2, se redisolvió después de una liofilización intermedia y luego se secó por pulverización en una unidad de secado por pulverización de lecho fluidizado Glatt GPCG3.1. Para este fin, la inulina liofilizada se introdujo en agua, se calentó hasta 85-90°C y se disolvió. La disolución calentada se secó por pulverización con temperatura de salida del aire variable, y se observaron las propiedades del procedimiento y las propiedades del producto. La temperatura de entrada se mantuvo constante a 120°C.

Tabla 9 - Parámetros de secado por pulverización

Prueba/ Muestra	Composición de la alimentación		Temp. de la alimentación/°C	Temp. del aire de salida/°C	Humedad residual KFT/%
	agua/%	inulina/%			
Prueba 1	80	20	85-90	85	3,1
Prueba 2	80	20	85-90	80	2,1
Prueba 3	80	20	85-90	70	5,1
Prueba 4	70	30	85-90	60	6,1

10

Además del secado por pulverización también se llevó a cabo una granulación por pulverización (prueba 5). Los parámetros de procedimiento relevantes se detallan en la siguiente tabla. Se introdujeron inicialmente como semillas de granulación 70 g de material secado por pulverización que se preparó del siguiente modo: secador por pulverización Buchi B-191, alimentación: 20 g de agua y 4 g de inulina (GPw = 86), T (alimentación) = 80-90°C, T (entrada) = 120°C, T (aire de salida) = 93-94°C, velocidad del aspirador 80%, velocidad de la bomba 10%, boquilla de flujo de aire 450 l/h. Los gránulos resultantes fueron de muy buena calidad en forma y consistencia. La granulación fue posible hasta una temperatura del aire de salida de 52°C.

15

Tabla 10: Granulación por pulverización

Prueba/ Muestra	Composición de la alimentación		Temp. de la alimentación/°C	Temp. del aire de salida/°C	Humedad residual KFT/%
	agua/%	inulina/%			
Prueba 5	70	30	90	variable	5,3

Un análisis granulométrico como se ha descrito anteriormente reveló los siguientes diámetros de partícula promedio:

Prueba 2	85 µm
Prueba 5	300 µm

5. Cristalinidad

Se prepararon muestras de inulina en forma de polvo sin pretratamiento adicional en un soporte de muestra de 2 mm de espesor (patrón) entre dos películas de cubierta de PET. Se usó un soporte de muestra de 1 mm para la muestra 2 (véase más adelante). Las mediciones de rayos X se llevaron a cabo con un difractómetro de dos círculos D5000 de Bruker-AXS en transmisión simétrica usando radiación de Cu-K α monocromática (monocromador de Ge(111)). Las grabaciones se hicieron a 30 mA y 40 kV en el intervalo de ángulos de 2 θ de 3-29° (ancho de etapa $\Delta 2\theta = 0,1^\circ$) y 29,5-104 (ancho de etapa $\Delta 2\theta = 0,5$), etapa/ $\Delta 2\theta$: 60 segundos.

Se usó el software basado en el procedimiento de Ruland-Vonk (WAXS 7, desarrollado por Fraunhofer Institut für angewandte Polymerforschung, Potsdam (Alemania), descrito en http://edocs.tuberlin.de/diss/2003/rihm_rainer.pdf, pág. 19 y siguientes) para encontrar el grado de cristalinidad x_c , los tamaños de unidades cristalinas $D_{(hkl)}$ y el parámetro de desorden k , que es una medida de la alteración de la red cristalina en las unidades cristalinas a partir de representaciones de dispersión. La representación de dispersión para la muestra 2 (véase más adelante) se usó como archivo de fondo amorfo. La fructosa se usó como base química calculada con una densidad de 1,65 g/cm³. Los tamaños de las unidades cristalinas $D_{(hkl)}$ se determinaron a partir de las mitades de la anchura de las reflexiones de rayos X por la fórmula de Scherrer en las dos primeras interferencias principales a $2\theta = 8^\circ$ y 12° .

Se midieron las muestras de las pruebas de secado por pulverización 1-5 detalladas anteriormente, y las siguientes muestras:

- Prueba 6: Inulina con GPw = 86 preparada como se describe en el Ejemplo 1, n° 2, y liofilizada.
- Prueba 7: Muestra 1 disuelta en agua a 80-90°C y secada por pulverización bajo las siguientes condiciones: secador por pulverización Büchi 190, T (alimentación) = 80-90°C, T (entrada) = 120°C, T (aire de salida) = 80°C, flujo de aire 450 l/h, concentración de inulina = 20% en peso.
- Prueba 8: Muestra 1 suspendida en agua a 25°C y secada por pulverización bajo las siguientes condiciones: secador por pulverización Büchi 190, T (alimentación) = 80-90°C, T (entrada) = 120°C, T (aire de salida) = 80°C, flujo de aire 450 l/h, concentración de inulina = 20% en peso.

Los grados de cristalinidad medidos y los parámetros de desorden se indican en la siguiente Tabla 11.

Tabla 11

	Cristalinidad x_c [%]	Parámetro de desorden k [10 ⁻² nm ²]	$D_{(hkl)} 2\theta = 8^\circ$ [nm]	$D_{(hkl)} 2\theta = 12^\circ$ [nm]
Prueba 1	amorfa	--	--	--
Prueba 2	amorfa	--	--	--
Prueba 3	5-10	--	--	--
Prueba 4	38	2,9	7,0	9,6
Prueba 5	45	2,9	6,9	9,4
Prueba 6	33	4,4	5,5	7,1

Prueba 7	amorfa	--	--	--
Prueba 8	15	3,2	8,1	9,9

6. Formación de estructuras de las inulinas después de calentarlas en agua

5 Se completaron cada una de las porciones de 15 ml de suspensiones al 20% de concentración de las inulinas en agua en vasos de precipitados de aluminio (vasos de precipitados RVA-3d de Winopal Forschungsbedarf GmbH; volumen de aproximadamente 70 ml, diámetro 38 mm), se agitaron y se equiparon con una barra de agitación magnética y finalmente se cubrieron. Las suspensiones se calentaron usando un agitador multitérmico (VARIOMAG Multitherm 15 de H+P Labortechnik AG) con agitación. La temperatura se controló en este caso usando una sonda PT 100 (accesorio para VARIOMAG Multitherm 15) que reposó en un vaso de precipitados de referencia cubierto con agua destilada en el bloque térmico. El agitador multitérmico se precalentó de manera que la temperatura de la muestra de referencia permaneció estable a 90°C. Las suspensiones que iban a calentarse se colocaron en el agitador multitérmico y se agitaron a 90°C durante 8 min. Entonces, las muestras se sacaron del agitador multitérmico, se guardaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Entonces, la concentración de los geles resultantes se midió usando un analizador de textura TA-TX2 (Stable Micro Systems). Esta medición se llevó a cabo usando el punzón de penetración SMSP/0.5 R076 (Stable Micro Systems) con un diámetro de 12 mm como sistema de medición. Se aplicaron los siguientes parámetros para la medición de TA con la célula de medición de 5 kg:

- Opciones: medida de la fuerza en la dirección de la presión
- Prueba única
- Parámetro: velocidad de avance 2,00 mm/s
- Velocidad de prueba 0,50 mm/s
- 20 • Velocidad de retroceso 0,50 mm/s
- Desplazamiento (profundidad de la penetración) 3 mm

Fuerza umbral 2 g

25 Se investigó el comportamiento de formación de la estructura de diversas inulinas después del tratamiento térmico en agua. De esto surgió que las inulinas de endivia (Raftiline HP® y Beneo HPX®) no forman estructuras similares a geles bajo estas condiciones (Tabla 12). A diferencia de esto, las inulinas de la invención (GPw = 86 ó 94 de liofilización) forman estructuras muy fuertes. Sorprendentemente, la muestra en la que se usó la inulina secada por pulverización con GPw = 86 también formó geles considerablemente más fuertes que las muestras comparables en las que se liofilizó la inulina. Esto es particularmente evidente a partir del hecho de que las resistencias del gel encontradas con sólo el 15% (peso/peso) de concentración de inulina empleada eran todavía claramente superiores a aquellas con las muestras comparativas liofilizadas al 20%.

Tabla 12: Formación de la estructura de las inulinas después del calentamiento en agua

	Concentración de inulina, % (peso/peso)	Resistencia del gel [g]	Desviación estándar
Raftiline HP® GPw = 36	20	No gel	-
Beneo HPX® GPw = 33	20	No gel	-
Inulina GPw = 86	20	353	92**
Inulina GPw = 94	20	493	31*
Inulina GPw = 86, secada por pulverización	20	1182	347**
Inulina GPw = 86, secada por pulverización	15	539	93*
* - n = 2			
** - n = 4			

7. Propiedades prebióticas

El efecto prebiótico de la inulina según la invención se investigó en un estudio de modelo *in vivo* en un sistema de fermentación de tres etapas (modelo de intestino). Se determinaron los tipos de bacterias que colonizan el sistema de fermentación y sus actividades metabólicas (formación de ácidos grasos de cadena corta).

5 1. Materiales y procedimientos:

a) Sistema de cultivo continuo de tres etapas:

10 En este estudio se usó un sistema de cultivo continuo de tres etapas que se ha descrito previamente por Pereira y col. (2003) *Appl Environ Microbiol* 69(8), 4743-4752 y Probert y col. (2004) *Appl Environ Microbiol* 70, 4505-4511. El modelo de intestino consistió en tres recipientes de cultivo R1, R2 y R3 con volúmenes útiles de 0,28, 0,30 y 0,30 litros que se dispusieron en serie. Cada recipiente se proveyó de un agitador magnético, la temperatura se mantuvo a 37°C por medio de un baño de agua y el pH en los recipientes individuales se controló por un controlador de pH ElectroLab. Todo el sistema (incluyendo el depósito de medio) funcionó en condiciones anaerobias pasando nitrógeno libre de oxígeno estéril a través del líquido. El pH en los tres recipientes se ajustó añadiendo la cantidad apropiada de HCl 0,5 M-NaOH a 5,5 (R1), 6,2 (R2) y 6,8 (R3). El recipiente 1 simuló las condiciones microbianas en el intestino grueso anterior. Era relativamente rico en nutrientes, tenía un pH relativamente más ácido y un tiempo de residencia más corto que el recipiente 3, con un pH más neutro y comparativamente poco sustrato. El recipiente 3 simuló la parte posterior del intestino grueso. El recipiente 2 modeló la parte central transversal del intestino grueso (colon transversal).

20 El nitrógeno libre de oxígeno se insufló continuamente en el medio de cultivo estéril y se introdujo por medio de una bomba peristáltica en R1 que se condujo secuencialmente a R2 y R3. El medio de cultivo consistió en los siguientes componentes en agua destilada (g/l): almidón de patata, 5,0; pectina (cítrica), 2,0; caseína (sal de sodio), 3,0; Raftiline LS (Orafti, Tienen; BE), 1,0; xilano (cáscara de avena), 2,0; arabinogalactano (Fluka), 2,0; guargam, 1,0; mucina (tipo gástrico porcino III), 4,0; triptona (Oxoid), 5,0; agua de peptona (Oxoid), 5,0; extracto de levadura (Oxoid), 4,5; sales biliares nº 3 (Oxoid), 0,4; L-cisteína-HCl, 0,8; NaHCO₃ (Fisher Scientific), 1,5; hemina, 0,05; NaCl (Fisher Scientific), 4,5; KCl (Fisher Scientific), 4,5; CaCl₂·6H₂O (BDH), 0,15; KH₂PO₄ (BDH), 0,5; FeSO₄·7H₂O (BDH), 0,005; MgSO₄·7H₂O (Fisher Scientific), 1,25. Además, se añadió 1,0 ml de Tween 80 (BDH) y 10 microlitros de vitamina K. Se añadieron 4 ml de una disolución al 0,025% (peso/volumen) de concentración de resazurina al medio de crecimiento como indicador de condiciones anaerobias. El medio se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min y se enfrió bajo una atmósfera de nitrógeno. A menos que se indique de otro modo, todos los productos químicos se compraron de Sigma Chemical Co., RU.

Recogida y preparación de material fecal:

30 El volumen restante de cada recipiente se completó con suspensión fecal recientemente preparada de un hombre de 30 años que no había tomado ningún antibiótico durante tres meses antes de la prueba. La suspensión fecal reciente al 20% (peso/peso) se preparó con solución salina tamponada con fosfato (PBS) previamente reducida y se digirió a velocidad normal durante 2 minutos en un aparato de digestión (estómago). Los residuos de alimentos grandes se eliminaron a través de un saco de filtración. Entonces se emplearon cien ml de la suspensión resultante para inocular cada uno de los tres recipientes de fermentación. El sistema funcionó inicialmente como cultivo discontinuo usando el medio de cultivo durante 48 horas. Después de 48 h de fermentación de cultivo discontinuo, el complejo medio de crecimiento que simulaba la composición de fluido intestinal se introdujo en R1 y luego en R2 y R3 mediante la bomba peristáltica. El tiempo de residencia (R) se calculó como la tasa de dilución recíproca para cada recipiente. El tiempo de residencia se fijó a 27,1 horas, y el sistema funcionó durante 12 días después del periodo de equilibrio inicial de 48 h para garantizar un estado estacionario. El tiempo de residencia global fue el total de los tiempos de residencia individuales R de cada fermentador.

Muestreo:

45 La primera muestra (5 ml) (día 0) se tomó después de la fermentación durante 24 h. La fermentación continuó hasta que se alcanzó un estado estacionario (después de 10-12 días) (EE1). En esta etapa, las muestras del cultivo líquido se sacaron de cada recipiente para el posterior análisis de bacterias y ácidos grasos de cadena corta y se usaron como indicador de EE1. Después de alcanzarse EE1, el sustrato de prueba se puso en el recipiente 1 cada día durante otro periodo de 10-12 días. La fermentación continuó hasta que se alcanzó otro estado estacionario (EE2) y de nuevo se tomaron muestras del cultivo líquido de cada recipiente para el análisis posterior.

Recuento de bacterias en muestras fecales y muestras del modelo de intestino por análisis de FISH:

50 Las muestras de los recipientes individuales del sistema de fermentación se trataron como se muestra a continuación. Preparación de muestras: se sacaron muestras (375 µl) de los cultivos discontinuos, se añadieron a 1125 µl de disolución de paraformaldehído filtrada al 4% (peso/volumen) (pH 7,2), se mezclaron y se guardaron a 4°C durante la noche con el fin de fijar las células. Las células fijadas se centrifugaron a 13.000 rpm durante 5 minutos y se lavaron dos veces en disolución de tampón fosfato filtrada y se resuspendieron en 150 µl de PBS. Se añadió etanol (150 µl) y la muestra se mezcló y se guardó a -20°C hasta que se usó, pero no durante más de 3 meses.

Hibridación:

5 Las células fijadas (16 µl) se añadieron a 264 µl de tampón de hibridación filtrado (en horno) precalentado (precalentado en X (Tris-HCl 30 mM, NaCl 1,36 M, pH 7,2, 0,1% v/v de dodecilsulfato de sodio, SDS) y se mezclaron. La mezcla se añadió a la sonda marcada con Cy3 adecuada (50 ng/µl) en una relación de 9:1 (v/v), se mezcló y se colocó en el horno de hibridación a una temperatura adecuada durante la noche.

Lavado y filtrado:

10 La muestra hibridada (alícuotas adecuadas para lograr de 30 a 150 células por campo de visión) se añadió a 5 ml de tampón de hibridación filtrado precalentado (Tris-HCl 20 mM, NaCl 0,9 M, pH 7,2) junto con 20 µl de DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol, 500 ng/µl) y se dejó a la temperatura de hibridación adecuada durante 30 min. La mezcla se puso sobre un filtro de membrana negra con un tamaño de poro de 0,2 µm (GTBP 01300, Millipore Corp.). Se puso Slowfade-Light Antifade (Molecular Probes Europe, Leiden, NL) en el filtro con el fin de prevenir la pérdida de fluorescencia, y los soportes se almacenaron en la oscuridad a 4°C durante un máximo de 3 días.

15 Se examinaron un mínimo de 15 campos de visión por soporte con un microscopio de fluorescencia Nikon Microphot EPI (1000 x aumento). Se usó el filtro DM510 (550 nm) con el fin de contar las células hibridadas, y se usó el filtro de extracción DM400 para las células teñidas con DAPI.

Se usó la siguiente fórmula para calcular la concentración de células C (células/ml) en cada muestra:

$$C = N \times 15,56 \times 14.873,74 \times (1000/q)$$

N: número promedio de células contadas por campo de visión

q: volumen de hibridación de la mezcla usada

20 14.873,74: constante de aumento

15,56: factor para todas las diluciones hechas

25 Se usaron sondas de oligonucleótidos que eligieron ARNr 16S como diana específica de género marcadas con el colorante fluorescente Cy3 que había sido previamente diseñado y validado para contar grupos importantes de bacterias. Las sondas usadas fueron Bif164, específica para bifidobacteria (Langedijk (1995), Appl Environ Microbiol 61, 3069-3075), Bac303, específica para bacteroides (Manz y col. (1996) Microbiology 142, 1097-1106), His150, específica para el subgrupo de *Clostridium histolyticum* y Erec482, específica para el grupo de *Clostridium coccooides-Eubacterium rectale* (Franks y col. (1998) Appl Environ Microbiol 64, 3336-3345), Lab158, específica para *Lactobacillus/Enterococcus* (Harmsen y col. (1999) Microb Ecol Health Dis 11, 3-12), Ato291, específica para *Atopobium cluster*. Se usó el colorante de ácidos nucleicos 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para el recuento de células totales (Tabla 13)

30 Tabla 13:

Sonda	Género diana	Secuencia (5' a 3')	T de hibridación/ °C
Bsi 164	<i>Bifidobacterium</i> spp.	CATCCGGCATTACCACCC	50
Bac 303	<i>Bacteroides</i> spp.	CCAATGTGGGGGACCTT	45
Chis 150	Grupo de <i>Clostridium histolyticum</i>	TTTCCYTCTAATTATGGCGTATT	50
Lab 158	<i>Lactobacillus/Enterococcus</i> spp.	GGTATTAGCATCTGTTTCCA	50
Ato 291	<i>Atopobium cluster</i>	GGTCGGTCTCTCAACCC	50
Erec 482	Grupo de <i>Clostridium coccooides-E. rectale</i>	GCTTCTTAGTCARGTACCG	52

Análisis de ácidos grasos de cadena corta:

35 Se analizaron ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en muestras tomadas de diversos recipientes del modelo de intestino como se describe en Pereira y col., Appl. Environ Microbiol (2003) 69(8), 4743-4752. Las muestras se centrifugaron (6000 g, 10 min) con el fin de eliminar las bacterias y sólidos y luego se filtraron a través de un filtro de HPLC de polisulfona con un tamaño de poro de 0,2 µm. Entonces, 200 µl de cada sobrenadante filtrado se diluyeron con 800 µl de acetonitrilo (1:4) que contenía ácido 2-etilbutírico 3,7 mM como patrón interno. Los ácidos grasos se determinaron por cromatografía de gases usando un sistema de GC HP 5890 series II provisto de una columna de capilar empaquetada con sílice fundida (Permabond FFAP, Macherey Nagel, DE) (25 m x 0,32 mm, espesor de película 0,25 µm). Se usó helio como gas portador con un flujo volumétrico de 2,42 ml/min. La temperatura de la columna fue 140°C y la temperatura del inyector y del detector

40

5 fue 240°C. 5 minutos después de la inyección de la muestra, la temperatura de la columna se aumentó en etapas de 20°C/min a 240°C y el sistema se dejó funcionar durante otros 5 minutos. La composición del gas se analizó usando un software HP 3365 series II ChemStation Apg-top, versión AO.03.34. Se usaron los siguientes ácidos como patrones externos, cada uno con concentraciones en el intervalo de 0,5 a 40 mM: ácido acético, ácido propiónico, ácido n-butírico, ácido n-valeriánico, ácido isovaleriánico (Fluka), ácido isobutírico (Fluka) y ácido n-caproico. A menos que se indique de otro modo, todos los ácidos se compraron de Sigma y tuvieron más del 99% de pureza. Las concentraciones de AGCC se calcularon usando un calibrado de patrón interno y se expresaron en mM por litro.

2. Resultados

Las siguientes inulinas se probaron en el modelo de intestino descrito anteriormente:

10 Inulina de la invención: GPw = 95

Muestra de comparación: Raftiline HP® (Orafti), GPw = 33

La comparación se hizo entre el segundo estado estacionario (EE2) y el primer estado estacionario (EE1) y los datos se analizaron usando la prueba de la t de Student.

15 La Figura 6 muestra la comparación de la población bacteriana en el recipiente 1 (R1) entre el estado estacionario 1 (EE1) y el estado estacionario 2 (EE2) después del tratamiento con inulina de la invención. Las Figuras 7 y 8 muestran comparaciones correspondientes para el recipiente 2 (R2) y 3 (R3).

La Figura 9 muestra la comparación de la población bacteriana en el recipiente 1 (R1) entre el estado estacionario 1 (EE1) y el estado estacionario 2 (EE2) después del tratamiento con la muestra comparativa. Las Figuras 10 y 11 muestran comparaciones correspondientes para el recipiente 2 (R2) y 3 (R3).

20 La adición de la inulina de la invención en el modelo de intestino condujo a aumentos significativos en bifidobacterias en el recipiente 1 ($P < 0,05$). Se observó un aumento no significativo en los otros recipientes. Con la muestra comparativa se observó un aumento en bifidobacterias en el recipiente 1, pero no fue significativo. La población de *Lactobacillae* en el recipiente 3 fue significativamente superior ($P < 0,05$), pero no se observó cambio en la población de *Clostridia*. Los bacteroides y el grupo de *Clostridium coccoides-E. rectale* fue significativamente inferior en el recipiente 2 ($P < 0,05$).

25 La Figura 12 muestra una comparación de la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en todos los recipientes entre el estado estacionario 1 (línea de base) (EE1) y el estado estacionario 2 (EE2) después del tratamiento con la inulina de la invención. Los ácidos grasos individuales se representan en cada caso como diagrama de bilis para cada recipiente y el estado estacionario (por ejemplo, R1-EE1). De izquierda a derecha: ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido isovaleriánico, ácido n-valeriánico, ácido caproico.

30 La Figura 13 muestra la comparación de la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en todos los recipientes entre el estado estacionario 1 (línea de base) (EE1) y el estado estacionario 2 (EE2) después del tratamiento con la muestra comparativa.

35 Hubo un aumento en la concentración de propiónico en los tres recipientes después de la adición de inulina de la invención, y el aumento en el recipiente 2 fue significativo. La concentración de butirato aumentó en los recipientes 1 y 2. La adición de la muestra comparativa al modelo de intestino condujo a un aumento en la concentración de acetato, propionato y butirato en todos los recipientes, pero esto sólo fue significativo en el recipiente 2.

8. Propiedades de la masa y del horneado

Material

40 El material usado para las pruebas de horneado comprendió cuatro mezclas compuestas por la harina de trigo americana "King Midas"® más Raftiline HP® suministrada por Orafti o inulina de la invención con GPw = 86. El 8% de la harina se sustituyó por inulina. Entonces, la harina mezclada y el control sin sustitución se sometieron a medidas de la reología de la masa y las pruebas de horneado.

Procedimientos:

45 1) Farinograma (que cumple la norma ICC y AACCC):

Se usa el farinograma para averiguar la capacidad de absorción de agua de la harina y para evaluar las propiedades de amasado de la masa preparada.

Reactivos: agua destilada

Equipo:

50 Farinograph® E con puerto USB suministrado por Brabender, Alemania

Amasadora de 10 g con 2 cuchillas de amasado (Brabender)

Se determinaron los siguientes parámetros y se evaluaron para las características de calidad de la harina probada:

5

Absorción de agua de la harina: definida como la cantidad de agua en ml requerida por 100 g de harina con contenido de humedad del 14% cuando la masa ha alcanzado una consistencia de la masa máxima de 500 UF (unidades de Farinograph).

La consistencia de la masa es la resistencia de la masa a revoluciones constantes (63 rpm), que se establece en UF.

El tiempo de desarrollo de la masa se define como el tiempo en minutos entre el inicio de la prueba (adición de agua) y el pico máximo.

10

2) Prueba de horneado (pan blanco de molde):

Equipo

- Farinograph con 300 g de cámara de amasado de harina suministrado por Brabender, Alemania
- Horno de horneado (MIWE gusto, Alemania)
- Fermentador completamente automático (Foster RBC Mk3, de Hobart, Alemania)
- Báscula de 2 kg (Sartorius)
- Amasadora (Brabender, Alemania)

15

Componentes para la masa:

300 g de harina (con humedad de la harina del 14%)

12 g de levadura (fresca)

20

6 g de sal (sal de mesa)

15 g de grasa para hornear

3 g de azúcar

Agua (equivalente a la absorción de agua menos el 2,5%)

Procesamiento de la masa:

25

Las harinas y los componentes se mezclaron en la cámara de amasado durante 1 min y luego se añadió la cantidad apropiada de agua. Después de amasar durante 2 min, el equipo se apagó con el fin de devolver la masa de la pared de la cámara de amasado a la masa de la masa. El procedimiento de amasado continuó durante 6 min o 12 min para las harinas complementadas con inulina, según los datos del farinograma (tiempo de desarrollo de la masa en min). La temperatura final de las masas fue aproximadamente 26°C. Después de completarse el amasado, la masa se dejó reposar durante 10 min y luego se determinó el peso total de la masa. La división y la medida del peso de los trozos de masa tuvieron lugar dentro de 10 min. La masa se dividió en dos trozos de masa de tamaño igual y se amasaron redondos en la amasadora (Brabender) durante 10 s y luego se enrollaron en oblongos. Los trozos de masa se colocaron en los moldes de horneado de pan y se empujaron al fermentador completamente automático (32°C, humedad del 87%) durante 60 min (tiempo de fermentación). El horno de horneado se precalentó a 250°C. Los trozos fermentados de masa se pulverizaron con agua y se empujaron al horno de horneado. Después de un tiempo de horneado de 30 min a aproximadamente 200°C, los panes se sacaron y se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 1 hora. El volumen de pan se midió por el desplazamiento de semillas de colza. Las propiedades de la miga se investigaron visualmente y usando el analizador de textura TA-TX2 (Stable Micro Systems). La resistencia de la miga se midió en trozos de pan de aproximadamente 1,5 cm de espesor usando el punzón de penetración SMSP/0.5 R076 (Stable Micro Systems) con un diámetro de 12 mm. Se usaron los siguientes parámetros en la medición de TA con la célula de medición de 5 kg. La medición tuvo lugar después del siguiente ajuste:

30

35

40

- Opciones: medida de la fuerza en la dirección de la presión
- Prueba única
- Parámetro: velocidad de avance 2,00 mm/s
- Velocidad de prueba 0,50 mm/s

45

- Velocidad de retroceso 0,50 mm/s
- Desplazamiento (profundidad de la penetración) 7 mm

Fuerza umbral 2 g

Resultados:

5 Definición de términos:

Rendimiento de la masa (RM): es la cantidad de masa a partir de 100 partes en peso de harina. Es una característica que hace posible comparar la capacidad de captación de agua y las resistencias de la masa de harinas. Una masa hecha a partir de 100 kg de harina y 60 kg de agua con un RM de 160 es un ejemplo.

El rendimiento de la masa tiene diversas definiciones:

10 Rendimiento neto de la masa: es la cantidad de masa a partir de 100 partes en peso de harina y el agua

Rendimiento bruto de la masa: es la cantidad de masa a partir de 100 partes en peso de harina, el agua y los otros componentes

Rendimiento práctico de la masa: es el rendimiento bruto de la masa que tiene en cuenta las pérdidas de procesamiento, de fermentación y de peso.

15 Pérdida por horneado: la pérdida por horneado es entendida por el experto como la pérdida en peso de la masa o los trozos de masa durante el horneado. Ésta está compuesta principalmente por el agua evaporada de la masa y cantidades mínimas de otros constituyentes volátiles tales como alcohol, ácidos orgánicos y ésteres; por tanto, el experto también habla de la misma forma de "pérdida de agua".

20 La pérdida de peso (= pérdida por horneado) siempre se basa en el peso de la masa y representa la relación de peso de la masa con respecto al peso del pan. Se calcula del siguiente modo:

$$Pérdida por horneado = \frac{\text{peso de la masa} - \text{peso del pan}}{\text{peso de la masa}} \times 100$$

25 Altas pérdidas por horneado tienen efectos desventajosos en el rendimiento del producto del panadero y, por tanto, en el peso y el número de productos horneados que van a venderse. Además, las pérdidas de agua durante el procedimiento de horneado tienen efectos desventajosos en la frescura de los productos horneados que, por tanto, envejecen antes, es decir, "se ponen duros".

Rendimiento del producto (también rendimiento del pan):

El rendimiento del pan (RP) es la cantidad de producto horneado obtenido a partir de 100 partes de harina. El rendimiento del pan se basa en la cantidad de harina procesada.

Ejemplo: 40 kg de harina producen 60 kg de pan y un RP de 150.

30 Tabla 14: Datos de farinograma

Parámetro	Control	Control + 8% de Raftiline HP®	Control + 8% de inulina con GPw = 86
Humedad de la harina (%)	12,7	12,2	12
Captación de agua (%)	63,3	57,7	66,3
Tiempo de desarrollo de la masa (min)	8	12,7	8,7

Tabla 15: Resultados del horneado

Parámetro	Control	Control + 8% de Raftiline HP®	Control + 8% de inulina con GPw = 86
Rendimiento neto de la masa (%)	161	155	164
Rendimiento bruto de la masa (%)	171	164	174
Consistencia de la masa	normal	ligeramente pegajosa	normal
Rendimiento del pan (%)	147,6	143	147,9
Pérdida por horneado (%)	13,7	13,9	14,7
Volumen del pan (ml/100 g de harina)	616	513	541
Volumen específico del pan (ml/g de pan)	4,2	3,6	3,7
Miga de pan:			
Color	blanco	blanco	blanco
Elasticidad	buena	satisfactoria	buena
Porosidad	uniforme	uniforme	uniforme
Laxitud	algo gruesa	delicada	lanosa
Resistencia de la miga (g):			
Fresca	73	132	82
3 días	181	221	165
7 días	222	318	211
Contenido de agua (%):			
Fresco	43,2	40,4	44
3 días	43,2	40,6	42,4
7 días	41,8	37,6	43,4
Pardeamiento	normal	algo fuerte	algo fuerte

5 La investigación de la reología de la masa reveló un aumento distinto en la capacidad de absorción de agua de la masa con sustitución por la inulina de la invención (Tabla 14). Es casi el 9 por ciento superior a la de la harina comparativa que contiene Raftiline HP y es todavía el 3% superior a la de la harina comparativa en la que no se hizo sustitución. Por consiguiente, el rendimiento de la masa, que es de interés comercial particular, es claramente el mayor para la masa que contiene la inulina de la invención (Tabla 15). Esto es sorprendente porque la masa a la que se añadió Raftiline HP® muestra una gran reducción en el rendimiento de la masa en comparación con la masa de control. La consistencia de la masa con inulina de la invención también es ventajosa en comparación con la masa con Raftiline HP®. El rendimiento del pan es el mayor para el pan con inulina de la invención, mientras que es el más bajo para el pan que contiene Raftiline HP®. El volumen específico de los dos panes en los que hubo sustitución de la harina es similar, mientras que los otros parámetros de calidad tales como el color de la miga, la elasticidad, la porosidad o la laxitud son algo mejores para el pan con inulina de la invención que para el pan comparativo con Raftiline HP® y el control sin sustitución. El pan que contiene la inulina de la invención muestra una ventaja particular en relación con el mantenimiento de la frescura. Esto mejora como se muestra por la resistencia de la miga en comparación con el pan de control y el pan que contiene Raftiline HP. Otra propiedad ventajosa también es el aumento del contenido de agua de la miga fresca y guardada, que está asociado en particular con una mejora sensorial, además de una reducción del envejecimiento.

10

15

3) Producción de pasta:

Una aplicación adicional de la muestra de inulinas se probó en la producción de pasta. En este caso se sustituyeron el 5% y el 10% de la harina de trigo por inulina.

1) Material:

5 Harina de trigo duro

Inulina de la invención con GPw = 86

Raftiline HP®

2) Preparación de la masa para pasta:

10 La masa para pasta se preparó usando 200 g de mezcla de harina-inulina con adición del 34,5 o el 35% de agua. La masa de control (harina de trigo sin sustitución) se preparó con adición del 34% agua. Como las masas con inulina fueron ligeramente más secas que las de control, la adición de agua se aumentó consiguientemente. Las masas de pasta se prepararon usando la máquina para pasta "Luna" de HAUSSLER. El tiempo de preparación de la masa fue 5 min. Se produjo pasta ancha usando un molde con una anchura de 9,5 mm.

3) Procedimiento:

15 Después de abandonar la máquina, una parte de las tiras de pasta recientemente extruidas se trató inmediatamente con 3 tiempos de cocción diferentes. La segunda parte se dejó secar al aire bajo condiciones ambiente durante 2 días. Para la prueba de cocción, en cada caso se pesaron 3 tiras de pasta (fresca) y se pasaron a un frasco (50 ml) cargado con 45 ml de agua hirviendo. La pasta se hirvió a aproximadamente 100°C durante 2, 3 ó 5 min y luego se dejó escurrir en un colador durante un tiempo constante. Entonces se determinaron los pesos de las tiras de pasta cocida. El hinchamiento de la pasta se determinó a partir de los pesos de las tiras de pasta antes y después de la cocción.

20 También se cocinaron las tiras de pasta que se habían secado durante 2 días, pero durante tiempos de 5, 10 y 15 min. En estos casos también se determinó el índice de hinchamiento de la pasta.

Se usó la siguiente fórmula para calcular el índice de hinchamiento:

$$\text{Índice de hinchamiento} = (\text{peso después de la cocción} / \text{peso antes de la cocción})$$

25 4) Resultado:

30 El aumento de la adición de agua para preparar la masa para pasta con inulina complementada aumentó correspondientemente el rendimiento de la masa para pasta. El aumento en el rendimiento es ventajoso en el sentido comercial. A partir de la prueba de cocción también puede establecerse que la pasta con inulina complementada de la invención deberá aumentar claramente el hinchamiento en comparación con el control y también con la pasta complementada con Raftiline HP®. Este aumento es entre el 5 y el 20% (véase la Tabla 16).

Tabla 16:

Contenido de inulina	Raftiline	% frente al control	Inulina con GPw = 86	% frente al control
Ninguno	2,06		2,09	
5% 5 min	2,08	101	2,18	105
10% 5 min	2,09	101	2,38	114
Ninguno	2,7		2,68	
5% 10 min	2,73	101	2,9	108
10% 10 min	2,93	109	3,09	115
Ninguno	3,25		3,06	
5% 15 min	3,28	101	3,42	112

Contenido de inulina	Raftiline	% frente al control	Inulina con GPw = 86	% frente al control
10% 15 min	3,38	104	3,70	121

9. Producción de yogur

Las recetas de yogur se enumeran en la Tabla 17. La inulina de la invención (inulina de cadena muy larga, ICML) correspondiente a la inulina del Ejemplo 1/Tabla 2 se secó por pulverización en las condiciones de la Tabla 9, prueba 2, y tuvo un grado de polimerización promedio GPw de 86; la muestra comparativa Beneo HP® tuvo un GPw de 34. Todos los porcentajes se refieren a porcentaje en peso basado en la composición total, a menos que se indique de otro modo.

Los componentes secos se mezclaron juntos con el fin de facilitar la dispersión de inulina y leche en polvo desnatada, y luego se añadieron a la leche con cizallamiento moderado con el fin de formar la base del yogur. La base normalizada se mantuvo a 4°C durante 3 horas de manera que la leche en polvo desnatada pudiera disolverse completamente. Cada lote se pasteurizó a 80°C durante 30 minutos, se enfrió rápidamente a 44°C y se inoculó con Yo-Flex 88 (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii*, de Chr. Hansen Inc.) en una concentración de 3,6 g/l. Para el yogur fermentado en cuba (yogur al estilo natillas), la base inoculada se vertió en los envases finales antes de la incubación. Las mezclas de base se incubaron a 44°C durante 4-6 horas hasta que alcanzaron pH 4,5 (pH inicial de aproximadamente 6,8). Cuando el yogur alcanzó pH 4,5, las muestras de yogur al estilo natillas se enfriaron hasta 4°C y se mantuvieron allí durante 48 horas con el fin de alcanzar la viscosidad máxima. La viscosidad se midió con un viscosímetro de Brookfield con un adaptador Heliopath.

La Tabla 17 muestra los resultados con yogur fermentado en cuba (al estilo natillas). El 2,5% de inulina secada por pulverización de la invención produce un mayor aumento en la viscosidad que el 4,5% inulina del ejemplo comparativo. El yogur con inulina de la invención también tiene una mayor viscosidad que un yogur comparativo con un alto contenido de grasa del 3,35%.

Tabla 17

	Ejemplo comparativo 4,5% de inulina comercial	Ejemplo 2,5% de inulina secada por pulverización	Ejemplo comparativo 1,5% de grasa	Ejemplo comparativo 3,35% de grasa
a) Datos de los componentes individuales				
Leche entera	--	--	--	95,91
2% de leche	--	--	71,85	--
Azúcar	--	--	--	--
Leche desnatada	91,51	93,44	24,06	--
Leche desnatada en polvo	3,21	3,28	3,37	3,37
Estabilizador CC723	0,69	0,70	0,72	0,72
Beneo HPX®	4,59	--	--	--
Inulina con GPw = 86 secada por pulverización	--	2,58	--	--
b) Datos de los sólidos				
Sólidos en la leche	11,14	11,37	11,67	11,67
Inulina	4,59	2,58	--	--
Grasa	--	--	1,44	3,36
Sólidos totales	15,73	13,95	13,11	15,03

ES 2 356 690 T3

	Ejemplo comparativo 4,5% de inulina comercial	Ejemplo 2,5% de inulina secada por pulverización	Ejemplo comparativo 1,5% de grasa	Ejemplo comparativo 3,35% de grasa
Viscosidad (centipoise)	302500	335000	281250	320000
pH	4,34	4,45	4,57	4,55
Todos los datos en porcentaje basado en la masa total, excepto la viscosidad y el pH				

REIVINDICACIONES

- 1.- Inulina que tiene un grado de polimerización promedio GP_w determinado por GPC-RI-MALLS de entre 83 y 103, **caracterizada porque** la inulina se seca por pulverización.
- 5 2.- Inulina según la reivindicación 1 que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 85 y 95 determinado por GPC-RI-MALLS.
- 3.- Inulina según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que el cociente GP_w/GP_n , determinado por GPC-RI-MALLS es inferior a 1,25.
- 4.- Inulina según cualquiera de las reivindicaciones 1-3 que está en forma de partículas con un diámetro promedio de 50 - 350 μm determinado por análisis granulométrico.
- 10 5.- Un procedimiento para obtener inulina que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS que comprende
- a) triturar raíces de alcachofa en forma de astillas fibrosas
- b) obtener un extracto tratando las raíces trituradas en forma de astillas fibrosas con agua a una temperatura de 60 - 95°C durante 30 minutos a 4 horas y separar el extracto de las astillas usadas,
- 15 c) extraer los constituyentes colorantes del extracto obtenido,
- d) precipitar la inulina del extracto,
- e) reprecipitar la inulina al menos una vez
- f) disolver y filtrar la inulina obtenida en la etapa e),
- g) precipitar y separar la inulina obtenida en la etapa f) de la disolución filtrada
- 20 h) secar la inulina obtenida en la etapa g).
- 6.- El procedimiento según la reivindicación 5, en el que la inulina se seca por pulverización en la etapa h).
- 7.- El procedimiento según la reivindicación 5, en el que los constituyentes colorantes se eliminan en la etapa c)
- i) mezclando iones magnesio (Mg^{2+}) con el extracto vegetal,
- ii) mezclando al menos un componente alcalino con el extracto vegetal,
- 25 iii) formando un precipitado, y
- iv) extrayendo el precipitado que se ha formado del extracto vegetal.
- 8.- El procedimiento según la reivindicación 7, en el que una sal de magnesio se mezcla en la etapa i).
- 9.- El procedimiento según la reivindicación 8, en el que la sal de magnesio se selecciona de cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, nitrato de magnesio, acetato de magnesio y propionato de magnesio.
- 30 10.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la etapa i) se lleva a cabo a una temperatura de 60 - 80°C.
- 11.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en el que la cantidad de componente alcalino se elige de manera que la relación molar $OH^-:Mg^{2+}$ se ajuste a 2,2:1 - 1,8:1.
- 35 12.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7-11, en el que el componente alcalino es una disolución o suspensión acuosa de hidróxido de metal alcalino o hidróxido de metal alcalinotérreo.
- 13.- El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7-12, en el que el componente alcalino es una suspensión de hidróxido de calcio.
- 14.- Un producto alimenticio que comprende una inulina secada por pulverización que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS.
- 40 15.- El producto alimenticio según la reivindicación 14 que se selecciona de productos lácteos, yogures, helados, helado blando basado en leche, decoraciones basadas en leche, pudines, batidos, natillas de huevo, quesos, barras nutritivas, barras energéticas, barras para el desayuno, productos de confitería, productos de panadería, galletas saladas, galletillas, galletas, copos de cereales, productos de aperitivo, té helado, helado blando hecho de zumo de frutas, bebidas dietéticas, bebidas preparadas, bebidas deportivas, bebidas energizantes, mezclas de bebidas en polvo para

suplementación dietética, alimentos para lactantes y para bebés, zumo de naranja complementado con calcio, pan, cruasanes, cereales para el desayuno, fideos, productos para untar, galletas sin azúcar y chocolates, chicles de calcio, productos cárnicos, mayonesa, aliños para ensaladas, mantequilla de cacahuete, comidas ultracongeladas, salsas, sopas y comidas listas para servir.

5 16.- Un suplemento dietético que comprende inulina secada por pulverización que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS.

17.- Una preparación cosmética que comprende inulina secada por pulverización que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS.

10 18.- El uso de inulina secada por pulverización que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS como aditivo a productos alimenticios.

19.- El uso de la inulina según la reivindicación 18 como aditivo con propiedades prebióticas, agente texturizante, agente potenciador de la estabilidad, agente viscosificante y/o fibra vegetal.

20.- El uso de la inulina secada por pulverización que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS como aditivo en preparaciones cosméticas.

15 21.- El uso de la inulina según la reivindicación 20 como agente texturizante, agente potenciador de la estabilidad y/o agente viscosificante.

22.- Pasta acuosa de inulina secada por pulverización que tiene un grado de polimerización promedio GP_w de entre 83 y 103 determinado por GPC-RI-MALLS.

20 23.- El uso de una pasta acuosa según la reivindicación 22 como componente que confiere estructura, agente texturizante, agente potenciador de la estabilidad y/o agente viscosificante en productos alimenticios o preparaciones cosméticas.

Figura 1:

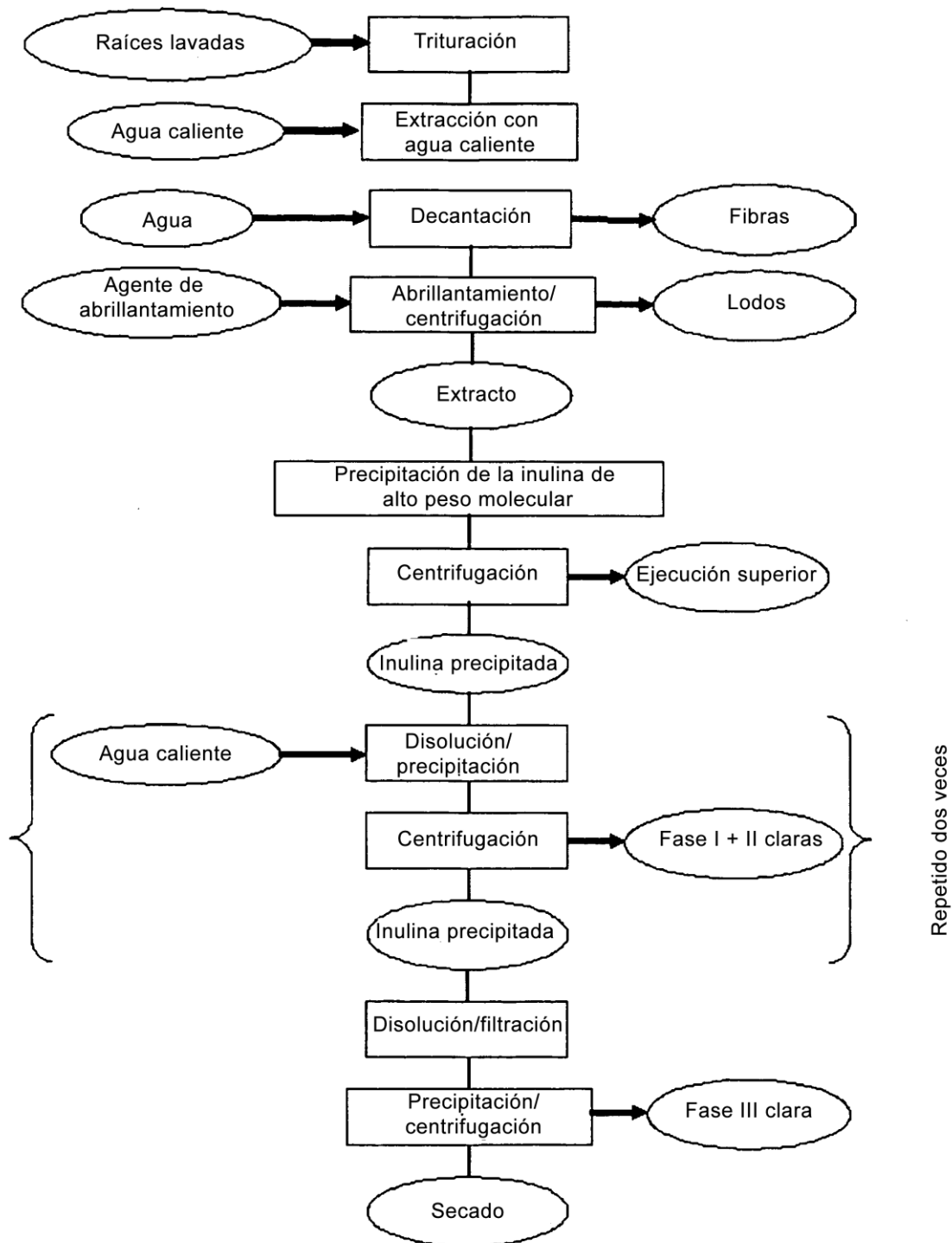


Figura 2:

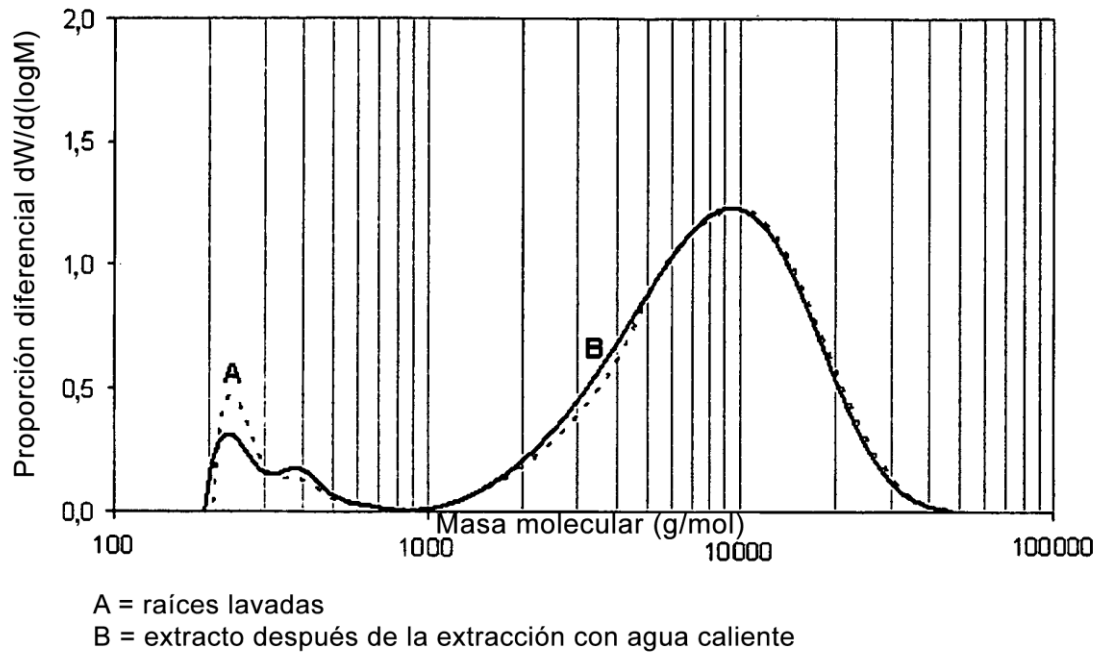


Figura 3:

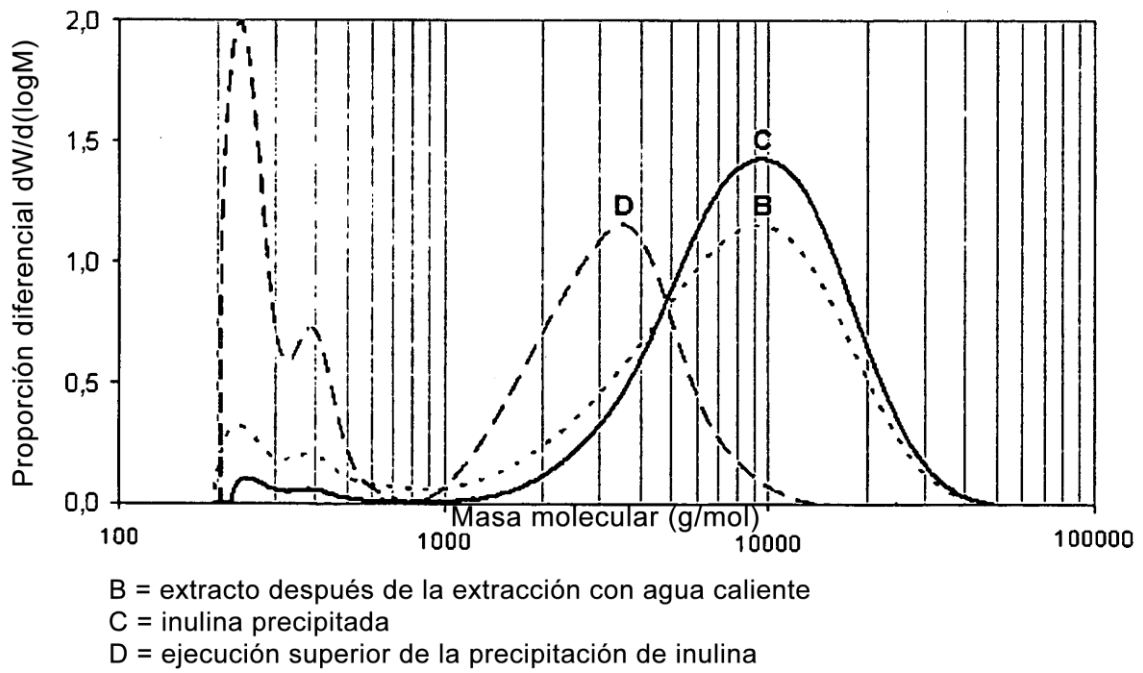
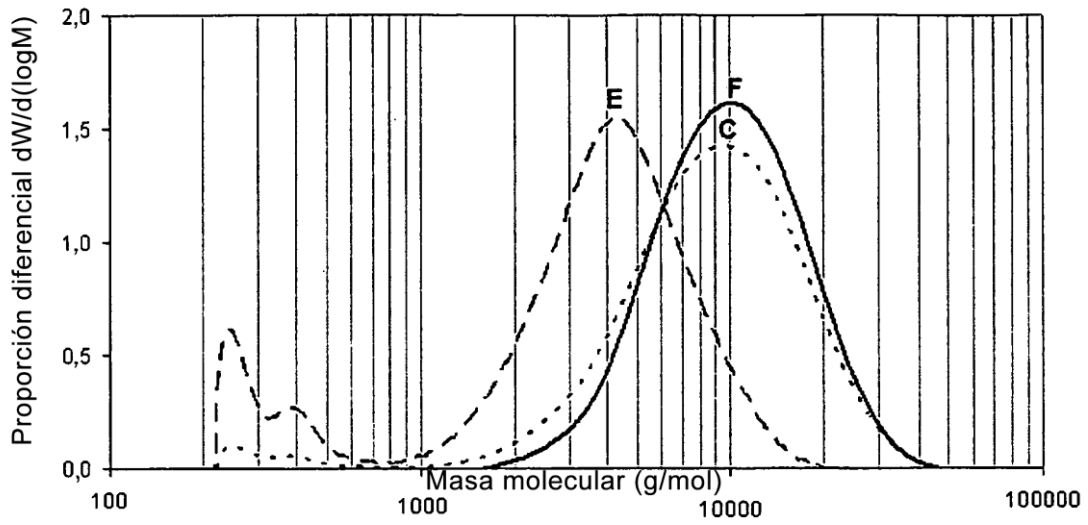
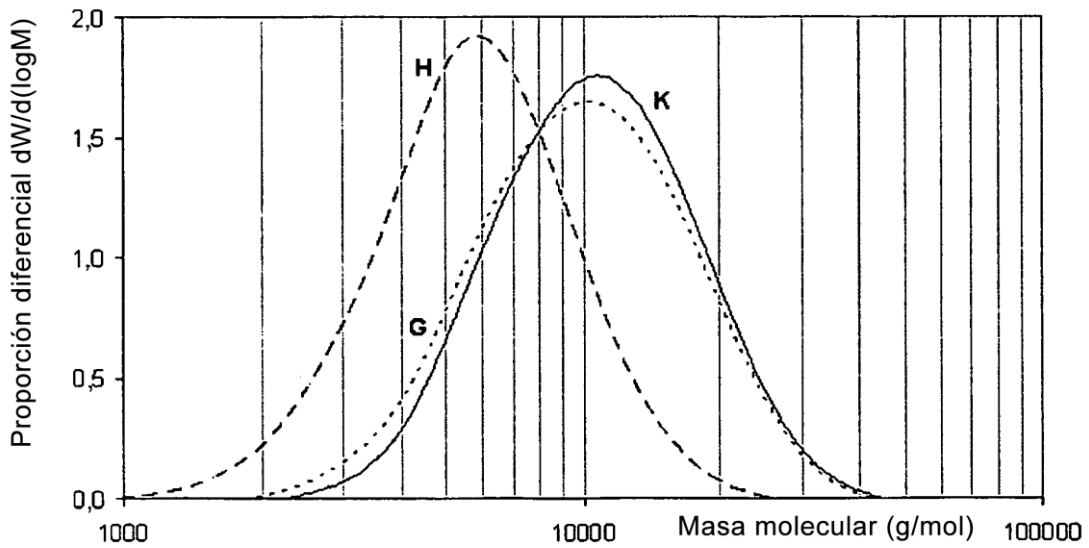


Figura 4:



C = inulina después de la precipitación a 4°C
 E = fase I clara después de la 1ª reprecipitación
 F = inulina sedimentada después de la 1ª reprecipitación

Figura 5:



G = disolución de inulina después de la filtración
 H = fase III clara después de la filtración y la precipitación de inulina
 K = inulina sedimentada después de la precipitación

Figura 6:

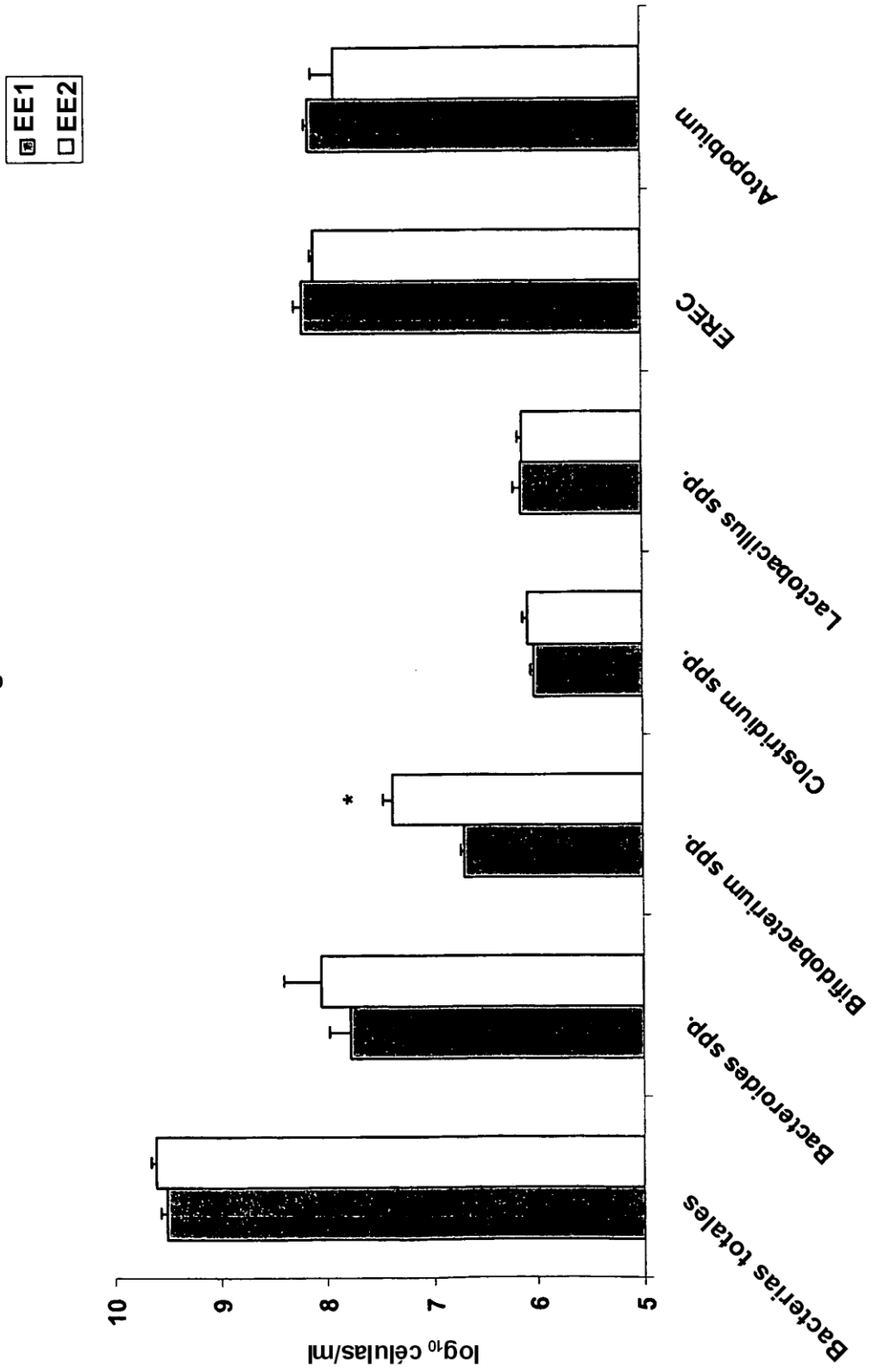
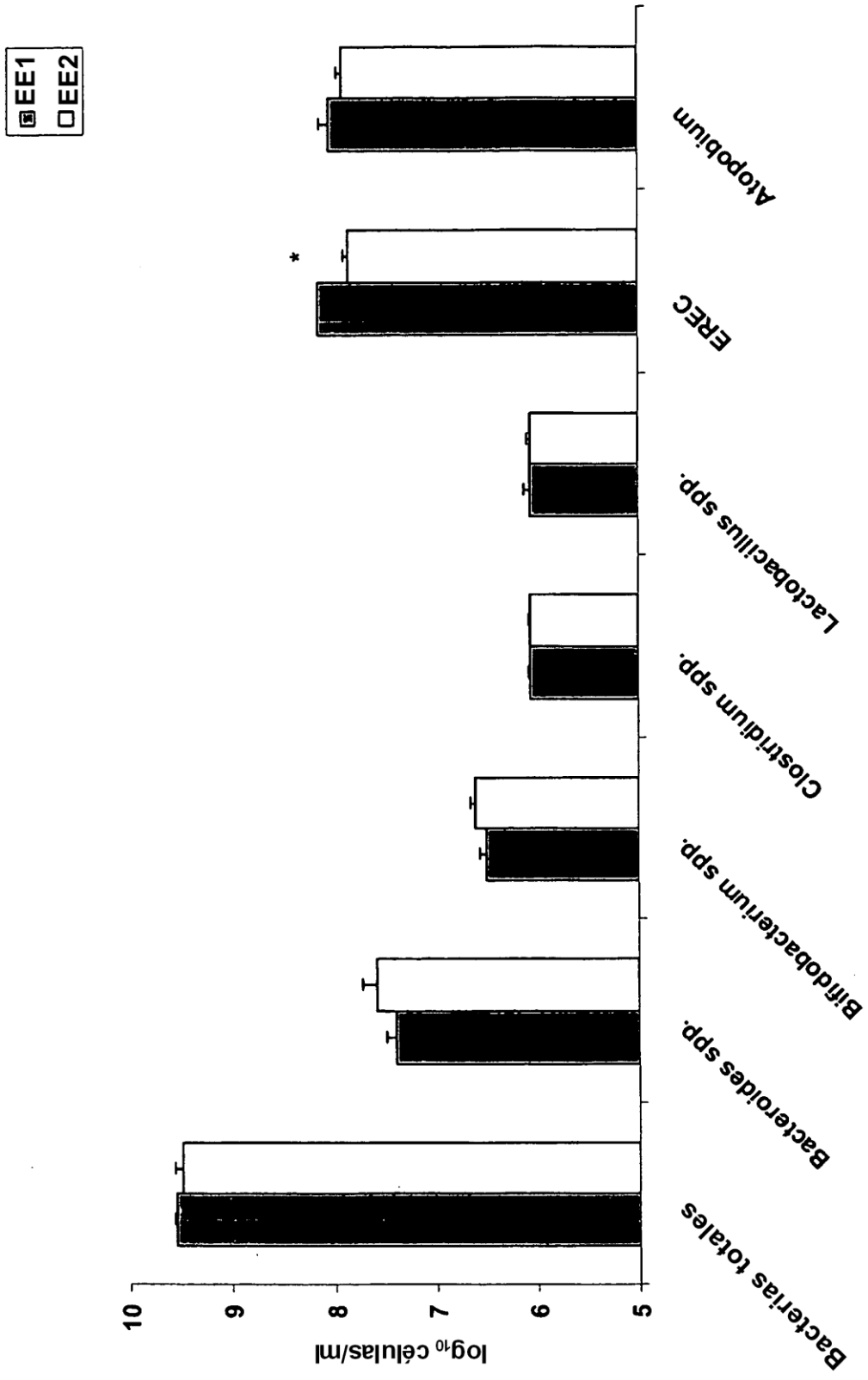


Figura 7:



■ EEE1
□ EEE2

Figura 8:

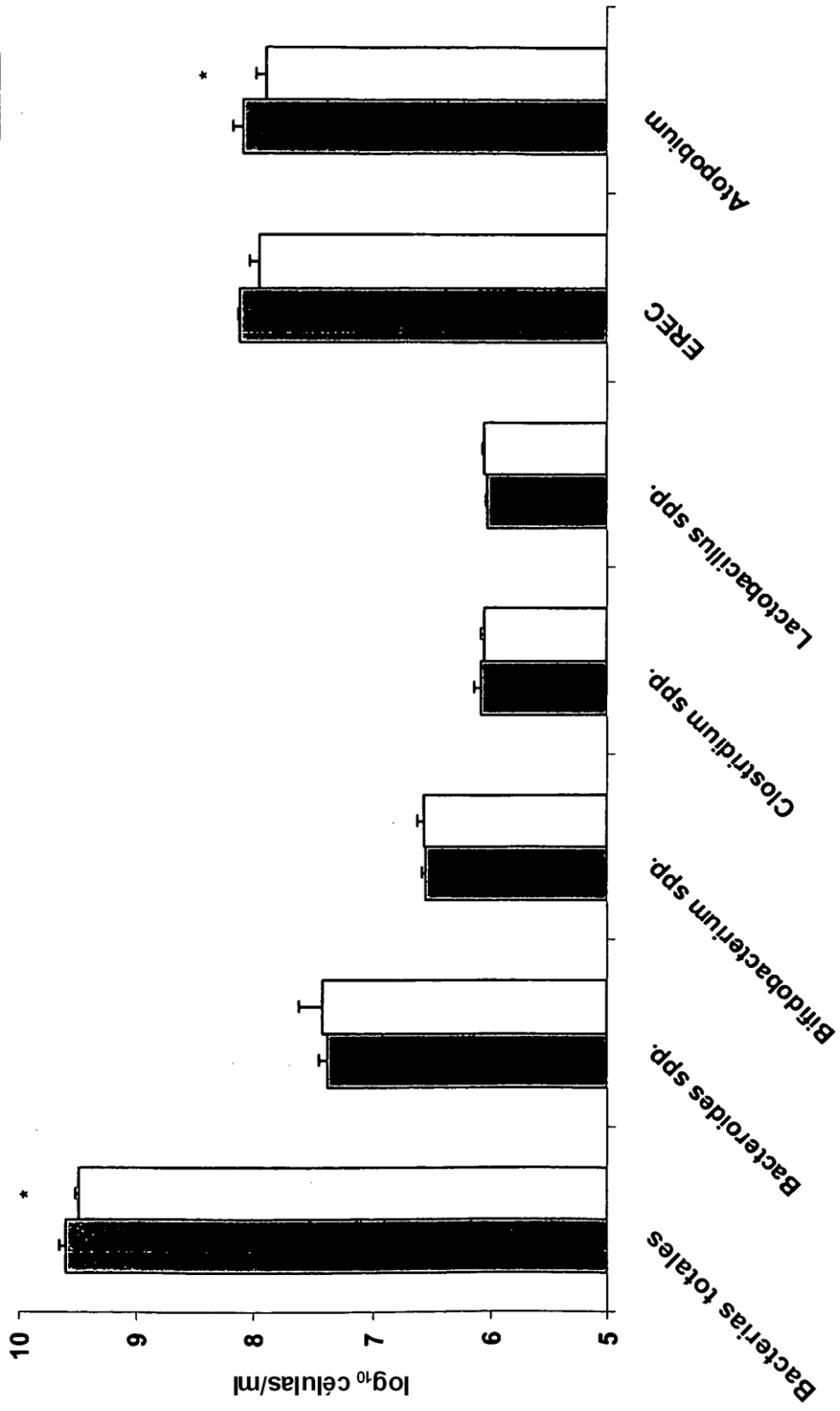
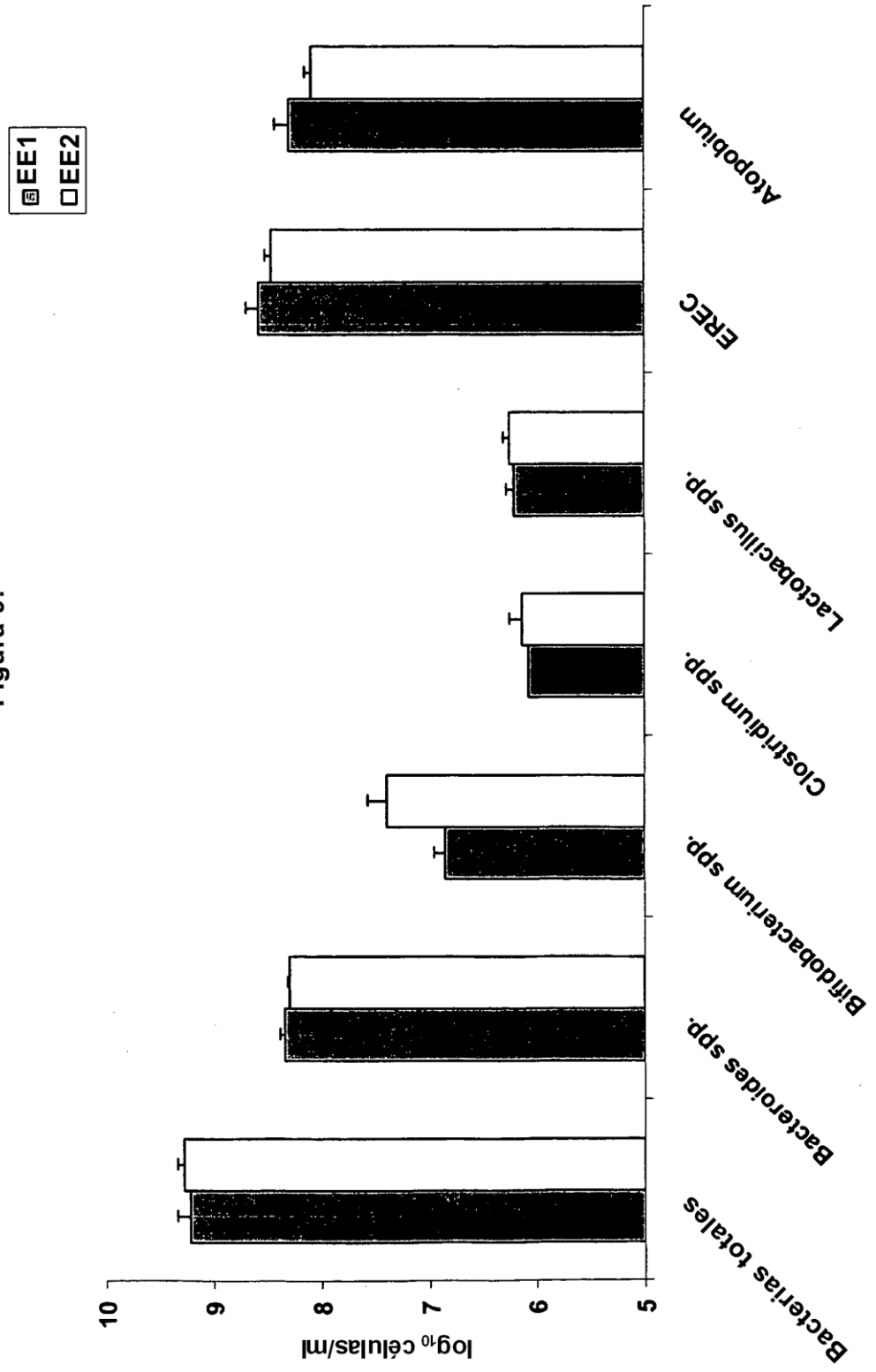


Figura 9:



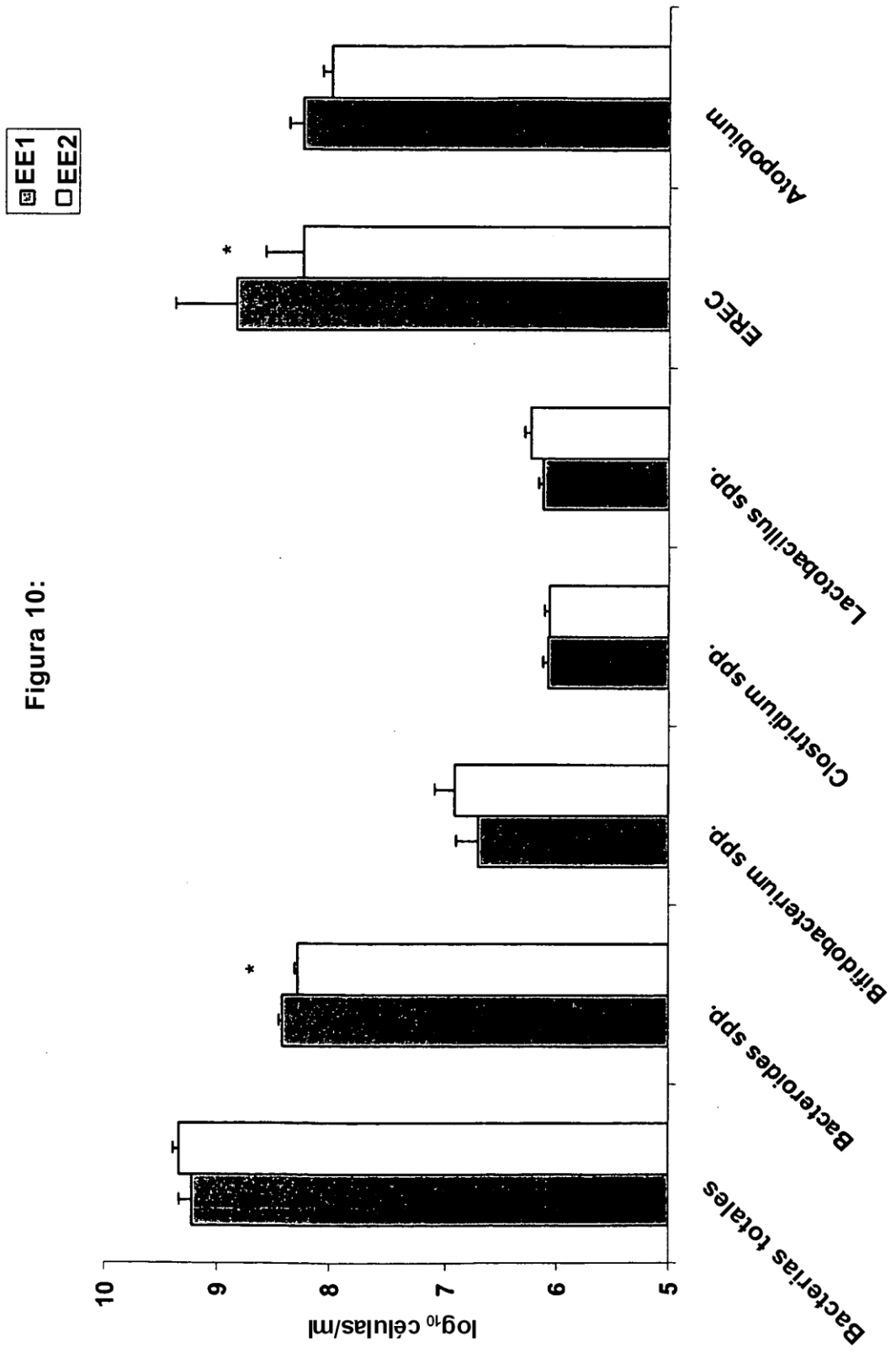


Figura 10:

Figura 11:

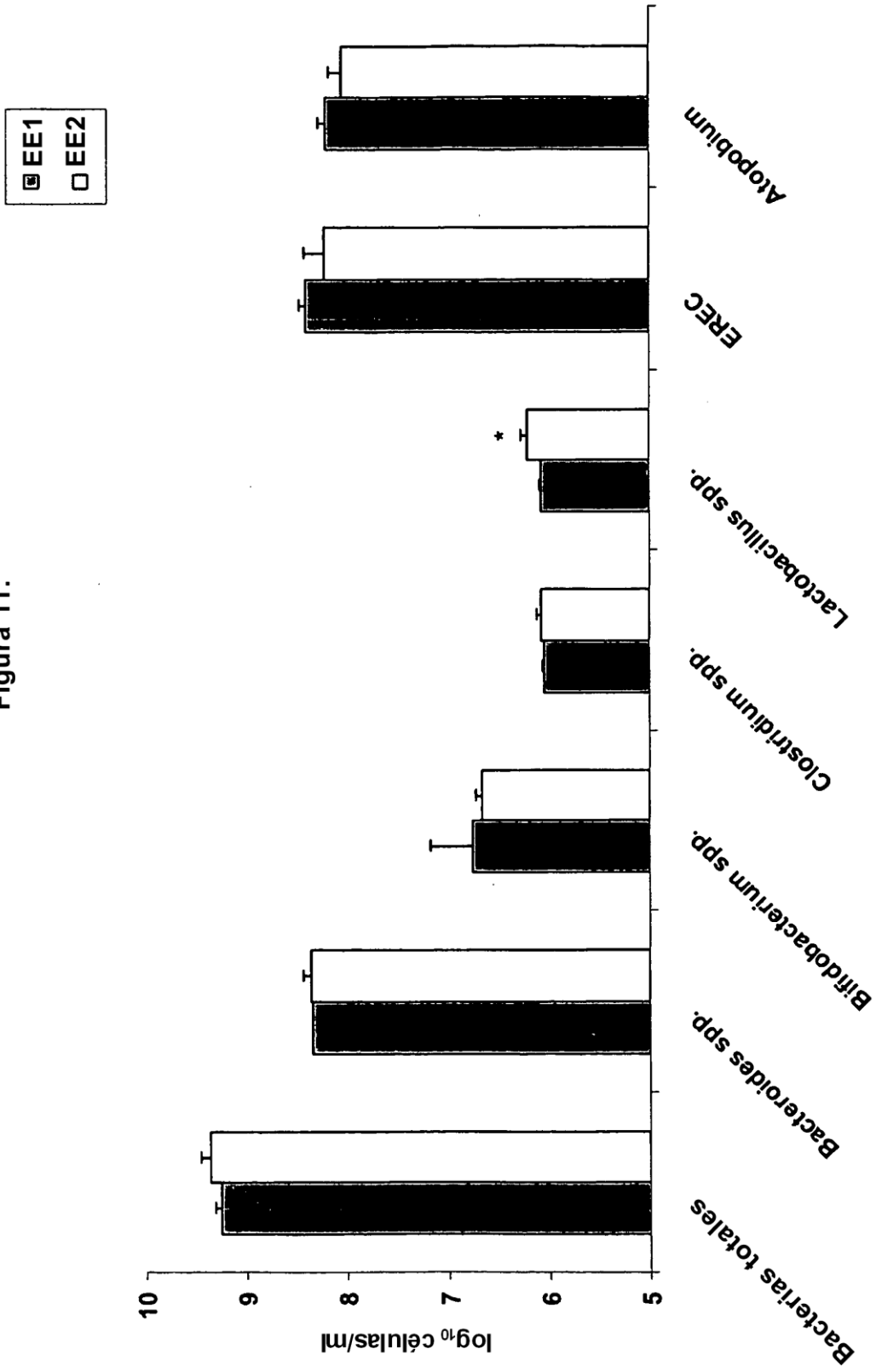


Figura 12:

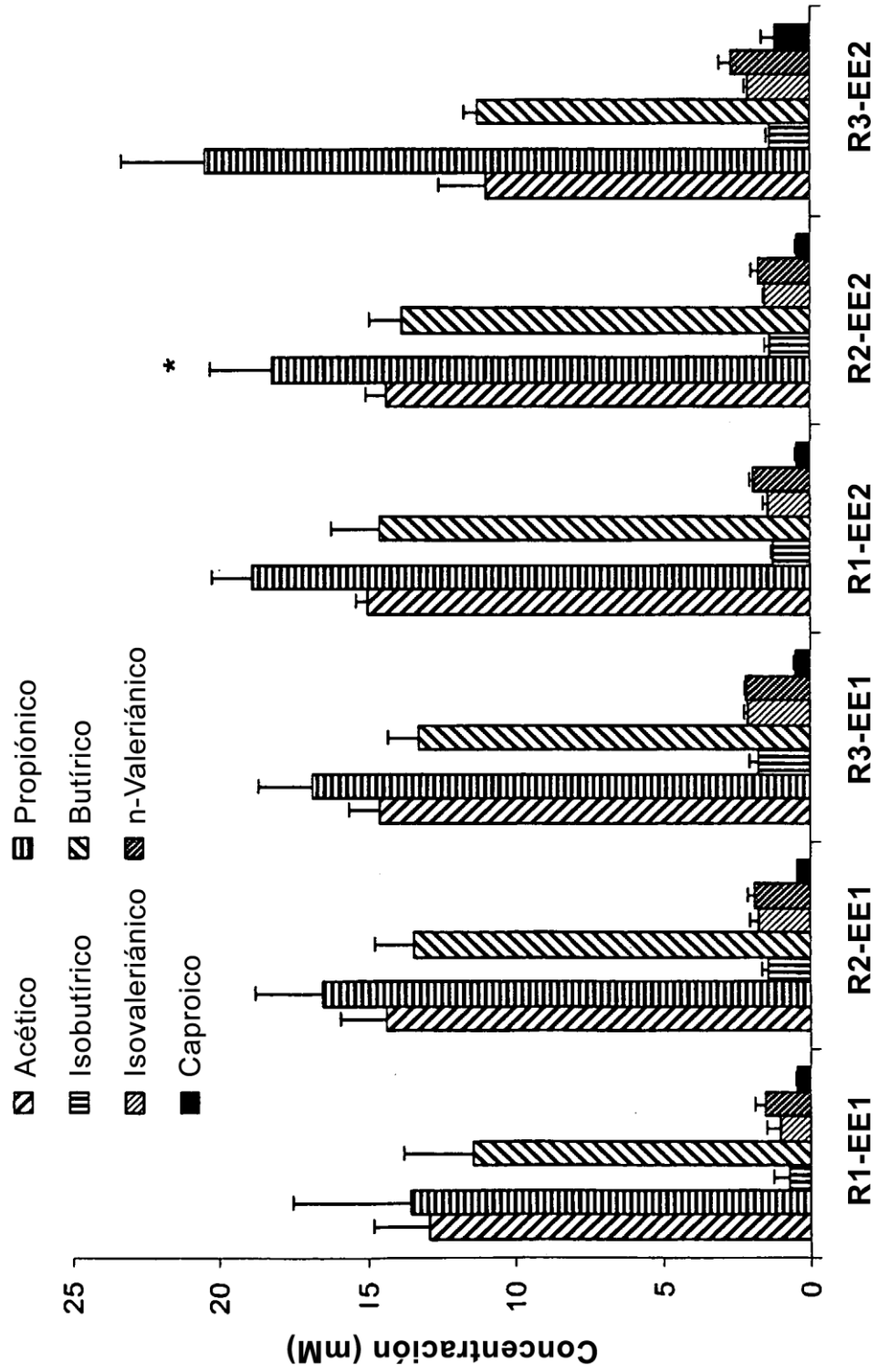


Figura 13:

