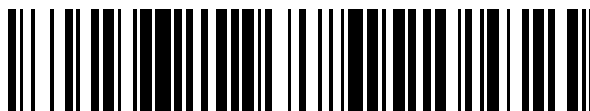


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 110**

51 Int. Cl.:

A23L 1/236 (2006.01)

A23L 2/60 (2006.01)

C12P 19/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09707089 .0**

96 Fecha de presentación: **21.01.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2247195**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.11.2010**

54 Título: **PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS.**

30 Prioridad:
31.01.2008 DE 102008007072

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.12.2011

73 Titular/es:
**Südzucker Aktiengesellschaft
Mannheim/Ochsenfurt
Maximilianstrasse 10
68165 Mannheim, DE**

72 Inventor/es:
**KOWALCZYK, Jörg y
HAUSMANN, Stephan**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 370 110 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).

DESCRIPCION

Procedimiento para la obtención de bebidas fermentadas.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención, en particular, la obtención en continuo, de bebidas fermentadas conteniendo trehalulosa, en particular, bebidas listas ya para beber, o concentrados de bebidas.

10 La trehalulosa (1-O- α -D-glucopiranosil-D-fructosa) es un heterodisacárido, en el cual la glucosa y la fructosa forman un enlace α -1,1. Se le conoce como un edulcorante no cariígeno digestible, que dispone de similares propiedades fisiológicas a la isomaltulosa. La fuerza edulcorante de la trehalulosa es de todas formas solamente de un 40% hasta un 50% de la de la sacarosa.

15 Según la patente DE 32 41 788 la trehalulosa se escinde por el sistema enzimático del intestino delgado humano solamente con mucha dificultad y por ello se escinde sólo parcialmente y se reabsorbe con retraso. La patente EP 1 424 074 da a conocer una composición alimenticia para el control del nivel de azúcar en sangre o para la prevención de un sobrepeso, la cual composición contiene isomaltulosa o trehalulosa. La patente EP 1 393 637 A1 da a conocer agentes para la mejora de la concentración y la atención, los cuales junto con la isomaltulosa contienen también trehalulosa.

20 A partir de la patente EP 0 483 755 B1 se conoce un procedimiento para la obtención de la trehalulosa y la isomaltulosa a partir de la sacarosa. Según el procedimiento dado a conocer, una solución conteniendo sacarosa se pone en contacto con una enzima formadora de trehalulosa, y se obtiene un jarabe de trehalulosa. La enzima formadora de trehalulosa, es una enzima que procede de un microorganismo del género *Pseudomonas* o
25 *Agrobacterium*. La publicación en cuestión da a conocer que el empleo de estos microorganismos conduce a un alto rendimiento de trehalulosa, y solamente se forman muy pocos monosacáridos como productos secundarios. A la vista de lo descrito en esta publicación, de la casi completa reacción de la sacarosa en una mezcla conteniendo trehalulosa con solamente la mitad del dulzor de una solución comparable de sacarosa, no puede emplearse la citada mezcla conteniendo trehalulosa como substitutivo de la sacarosa en bebidas, sin emplear pasos de
30 procedimiento adicionales como por ejemplo, la adición de un edulcorante. El procedimiento conocido a partir de la patente EP 0 794 259 B1 para la obtención de bebidas conteniendo trehalulosa es por lo mismo, tan desfavorable que tiene prevista la especial adición de otros edulcorantes para obtener una bebida lista para el consumo.

35 La presente invención tiene por ello como fundamento el problema técnico de la obtención de un procedimiento perfeccionado, para la obtención de bebidas azucaradas fermentadas con reducidos cariógenos, listas para emplear, el cual procedimiento supere las antes citadas desventajas, en particular, haciendo posible una especialmente fácil y económica obtención de las citadas bebidas.

40 La invención proporciona en forma de ejemplo de la reivindicación independiente una solución a este problema técnico. En particular, la presente invención soluciona el problema técnico mediante la puesta a punto de un procedimiento para la obtención, en particular la obtención en continuo, de una bebida fermentada, escasa en cariógenos, en donde este procedimiento comprende los siguientes pasos en el orden en que se citan, o bien en una forma preferida de ejecución, consta de los siguientes pasos en el orden citado:

45 a) puesta en contacto de un sustrato conteniendo sacarosa, por ejemplo una solución conteniendo sacarosa o un zumo de frutas o de un jarabe de un extracto de zumo de frutas o de un jarabe de un concentrado de zumo de frutas, con un sistema formador de trehalulosa a una temperatura de 10 a 30°C bajo un ajuste selectivo de las condiciones de fermentación apropiadas para una reacción enzimática, de forma que la sacarosa contenida en la solución reacciona enzimáticamente hasta un contenido residual
50 de sacarosa del 10 al 70% en peso, en particular del 20 al 40% en peso (% en peso referido sobre el peso del azúcar obtenido en la solución madre, siempre en estado seco), en una mezcla de trehalulosa.

b) filtrado de la mezcla de trehalulosa obtenida, para la separación del sistema formador de trehalulosa y, de preferencia sin ejecutar ningún otro paso de purificación.

55 c) adición de por lo menos un ingrediente de la bebida, de preferencia no edulcorante, por ejemplo un ácido de calidad alimenticia y/o por lo menos una substancia saborizante, por ejemplo, una substancia aromática, un extracto de zumo de frutas, un extracto de hierbas, un extracto de frutas, o un extracto de té, al filtrado de la mezcla de trehalulosa obtenida en el paso b), de manera que se obtenga una bebida
60 dulce, fermentada, reducida en cariógenos, de preferencia lista para beber.

La invención da a conocer por lo tanto en una versión preferida, un procedimiento, en particular un procedimiento en continuo, que permite obtener simultáneamente, de preferencia en continuo, el edulcorante empleado en la obtención de la bebida, y la bebida consumible que contiene este edulcorante. De manera ventajosa esto es posible,
65 de preferencia según la invención, sin que en la obtención de la bebida, tenga que añadirse por separado otro edulcorante, como por ejemplo azúcar, es decir, en particular sacarosa, glucosa o fructosa, o substitutivos del

azúcar, como los alcoholes de azúcar, o sustancias intensamente dulces. En una versión preferida, la invención se refiere por lo tanto al procedimiento antes citado, que se caracteriza por la ausencia de pasos de procedimiento, como por ejemplo una adición de azúcares, sustancias substitutivas del azúcar, alcoholes de azúcar y/o sustancias intensamente dulces. El procedimiento según la invención hace posible de preferencia la puesta a punto de una bebida lista para el consumo, que contiene trehalulosa, de reducidos cariógenos, que en su fuerza edulcorante y sus propiedades organolépticas corresponde esencialmente o incluso mejora las propiedades de las bebidas dulces habituales a base de sacarosa pura.

Una característica esencial del presente método es que en el paso a) la solución de transposición obtenida, a saber la mezcla de trehalulosa, la cual está de preferencia presente como solución acuosa de transposición, directa e inmediatamente, es decir aparte de la separación obtenida por filtración del sistema formador de trehalulosa, sin más pasos de procedimiento, en particular purificaciones, se emplea como único ingrediente de la bebida. Sorprendentemente este tipo de bebidas o respectivamente estos concentrados de bebidas obtenidos, muestran en la prueba sensorial un perfil de sabor claramente mejorado. Las bebidas fermentadas obtenidas tienen cuerpo, son aromáticas, y presentan un dulzor equilibrado. Sin pretender estar unidos a la teoría, puede que la causa de este tipo de sensaciones mejoradas seleccionadas, y el perfil de sabor mejorado sea la presencia de los productos secundarios de la fermentación durante el proceso de obtención no eliminados, los cuales incorporan los efectos sinérgicos con los componentes aromáticos.

El presente procedimiento es también ventajoso en la medida en que la inmediata, de preferencia continua obtención de bebidas fermentadas con un contenido en edulcorante, en particular con un contenido de trehalulosa, permite que antes de la obtención, el componente edulcorante de obtención de la bebida no tenga que almacenarse, almacenarse en parte, o deba ser acondicionado. De manera ventajosa puede lograrse como ya se ha explicado, simultáneamente con la obtención de bebida, el procedimiento de obtención del componente edulcorante de la bebida de preferencia en continuo. De manera ventajosa puede lograrse simultáneamente con la obtención de la bebida mediante el ajuste previsto según la invención, seleccionado y controlado de las condiciones de fermentación en el paso a) del procedimiento, que el deseado contenido en edulcorante de la bebida se ajuste sin que tenga que añadirse por separado otro componente edulcorante como por ejemplo la sacarosa, sustancias fuertemente edulcorantes o similares. Este contenido en dulzor se determina a partir de la proporción de la sacarosa no transformada con una fuerza edulcorante comparativamente más alta, de la cual se calcula la proporción de trehalulosa obtenida, así como la proporción de los productos secundarios, isomaltulosa, glucosa, fructosa, isomaltosa y trazas de oligosacáridos. El procedimiento según la invención hace posible las condiciones de fermentación, ajustar selectivamente el contenido de dulzor que se desea, en el que participa la mezcla de edulcorantes preparados en la bebida, de por lo menos trehalulosa y sacarosa, la cual mezcla debido al contenido en trehalulosa es de reducidas calorías así como de reducidos cariógenos, y en donde la mezcla puede ser obtenida. económica y fácilmente en un procedimiento de preferencia continuo, es decir en un procedimiento en línea,

En una versión particularmente preferida, la invención proporciona un procedimiento para la obtención de una bebida fermentada de reducidos cariógenos, en donde la sola obtención de la bebida, consta de los pasos de procedimiento citados a), b) y c). En una versión particularmente preferida, el substrato que contiene la sacarosa es puesto en contacto con un sistema formador de trehalulosa para la obtención de una solución de transposición que contiene la mezcla de trehalulosa, el sistema formador de trehalulosa de la solución de transposición se separa, y la solución de transposición, aparte de la separación efectuada del sistema formador de trehalulosa, se emplea directa e inmediatamente sin otra purificación o ningún especial paso de procedimiento, como componente de una bebida o respectivamente de un concentrado de bebida y correspondientemente se encuentra en esta forma en la bebida final consumida.

En conexión con la presente invención, se conoce bajo el concepto de "bebida", una bebida lista para beber, de preferencia con una base acuosa, pero también comprende un concentrado de bebida que puede prepararse por ejemplo mediante evaporación de la mezcla obtenida de trehalulosa con por lo menos un ingrediente de la bebida y antes de ser consumida puede convertirse en lista para beber mediante la adición de un disolvente, por ejemplo agua, así como eventualmente CO₂. Las bebidas preparadas pueden por ello, en conexión con la presente invención, estar presentes en forma de soluciones, concentrados, extractos, polvos para bebidas o suspensiones.

En relación con la presente invención están comprendidas también bajo el concepto de bebida, una bebida a base de frutas, un batido de frutas o respectivamente, después de espesar, o sea después de eliminar el agua, también un concentrado de frutas, empleado por ejemplo para la obtención de preparaciones de frutas, como por ejemplo, productos a base de yogurt.

En relación con la presente invención se comprende bajo el concepto de substrato conteniendo sacarosa, un substrato que contiene sacarosa y que se emplea en el paso de procedimiento a) para convertirse en una mezcla de trehalulosa. Un substrato que contienen sacarosa puede ser por ejemplo una solución acuosa conteniendo sacarosa, una solución acuosa o un jarabe de un extracto de frutas que contienen sacarosa, un jarabe que contienen sacarosa, un concentrado de fruta que contienen sacarosa en forma de jarabe, un concentrado de fruta que contienen sacarosa, un zumo de fruta que contiene sacarosa, un polvo de zumo de fruta que contienen sacarosa o un jarabe acuoso de preparaciones de fruta que contienen sacarosa o similares. En una forma de

ejecución preferida este substrato se encuentra por ejemplo en forma de extracto de zumo de frutas, un concentrado de zumo de frutas, un polvo de zumo de frutas, o sacarosa en solución, de preferencia una solución acuosa, para hacer posible la transformación enzimática subsiguiente. El substrato que contiene sacarosa está presente a continuación como una solución que contiene sacarosa.

5 En relación con la presente invención se entiende bajo el concepto de purificación de una mezcla o respectivamente purificación de una solución de transposición, la separación de por lo menos una sustancia de esta mezcla o de esta solución, en donde esta sustancia separada no es agua.

10 El contenido particularmente preferido en sacarosa de la solución que contiene sacarosa, es de un 3 hasta un 100% en peso, de preferencia desde un 3 hasta un 99% en peso, en particular desde un 20 hasta un 100% en peso (cada vez sobre sustancia seca, abreviadamente TS), de preferencia desde un 25 hasta un 90% en peso, desde un 30 hasta un 80% peso, desde un 35 hasta un 45% en peso, desde un 40 hasta un 75% en peso, en particular desde un 45 hasta un 70% en peso o de preferencia desde un 50 hasta un 65% en peso (referido cada vez a la TS de la solución). En una versión particularmente preferida, el contenido de sacarosa de la solución que contiene sacarosa es de un 5 hasta un 100 %, de preferencia desde un 10 hasta un 50%, particularmente desde un 20 hasta un 40% (siempre referido al contenido del resto de sacarosa de la mezcla que contiene trehalulosa, (en TS ó sustancia seca), más alto que el contenido de sacarosa del resto de la mezcla que contiene trehalulosa (en TS ó sustancia seca). En una forma de versión preferida, en la solución que contiene sacarosa antes de la fermentación no está presente, ninguna trehalulosa o bien está presente la trehalulosa en una cantidad de un 0,1 a un 5% en peso, en particular de un 0,1 a un 3 % en peso (siempre en TS ó sustancia seca).

25 En relación con la presente invención, se comprenden bajo el concepto de condiciones apropiadas de fermentación para la transformación enzimática, en particular las condiciones de fermentación a ajustar selectivamente, en particular, la temperatura ajustada en el paso de reacción a), el valor del pH y la duración de la transformación.

30 En una versión particularmente preferida, se controla durante la fermentación, en el paso de procedimiento a), continuamente, o periódicamente, la composición de la solución de transposición obtenida, es decir se controla la solución de azúcar para poder garantizar el control seleccionado y/o la regulación del producto deseado, es decir la deseada composición de azúcares, en particular la deseada relación entre trehalulosa y sacarosa durante el procedimiento continuo .

35 En relación con la presente invención se comprende bajo el concepto de una mezcla que contiene trehalulosa, la cual recibe en la presente el nombre de trehalulosa, una mezcla que contiene por lo menos trehalulosa y sacarosa (resto), la cual procede de la fermentación según el paso a) de la presente sucesión de procesos.

40 La duración de la transformación se controla ventajosamente en una versión preferida mediante la velocidad del fluido de la solución conteniendo sacarosa que se añade al recipiente empleado para la ejecución del paso de procedimiento a), en particular del biorreactor.

45 En otra versión preferida está previsto que el procedimiento según la invención, en particular el paso a) , se efectúe a una temperatura de 10 a 25 °C, de preferencia de 10 a 20 °C, de preferencia 10 a 17 °C. En otra versión preferida está previsto que el procedimiento según la invención en particular su paso a) se efectúe a un valor del pH de 5,0 a 7,0, de preferencia de 6,0 a 7,0. En otra versión preferida está previsto que el procedimiento según la invención, en particular el paso a), se efectúe en condiciones aeróbicas. Según la invención puede preverse que la fermentación en el paso de procedimiento a) se efectúe en un biorreactor o fermentador habitual, por ejemplo con una tasas de ventilación de 1/10 hasta 1 wm. En una versión preferida puede efectuarse también una circulación de la solución de transposición, en particular con velocidades de giro de 100 a 600 rpm.

50 En una versión particularmente preferida puede estar previsto el ajustar selectivamente las condiciones de fermentación, de manera que en la solución de transposición obtenida después de la transformación, a saber la solución que contiene la mezcla de trehalulosa, están contenidos del 10 al 70% en peso, de preferencia del 20 al 40% en peso, sacarosa del 0 al 10% en peso, isomaltulosa del 0 al 3% en peso, otros hidratos de carbono, como por ejemplo la glucosa, la fructosa y la isomaltulosa y del 50 al 80% en peso de trehalulosa, en donde la cantidad total de los componentes es el 100 % en peso (referido a la sustancia seca (TS) del azúcar contenida en la solución de transformación).

60 Una forma preferentemente ventajosa es la solución preferentemente empleada conteniendo sacarosa, de preferencia una solución acuosa de sacarosa. El substrato empleado según la invención conteniendo sacarosa, por ejemplo la solución conteniendo sacarosa o un concentrado de zumo de frutas, presenta de preferencia un contenido en sacarosa del 0,1% en peso al 60% en peso, en particular de un 10% en peso a un 60% en peso, de preferencia de un 20% en peso a un 50% en peso de sacarosa (referido al peso total del substrato, por ejemplo de la solución).

65 En relación con la presente invención, se comprende bajo el concepto de ingrediente de la bebida, un componente presente en la bebida adicionalmente a la mezcla de trehalulosa que actúa como edulcorante, el cual da cuerpo y/o

propiedades organolépticas a la bebida, por ejemplo propiedades saborizantes o farmacéuticas. Ejemplos de ingredientes para la bebida en el sentido de la presente invención, son sustancias saborizantes, sustancias aromáticas, colorantes, sustancias de carga, vitaminas, sales, sustancias farmacéuticamente activas, extractos de fruta, concentrados de frutas, leche, cacao, te, alcohol, etc.

De manera particularmente ventajosa, está previsto que en el paso de procedimiento c), se inyecta CO₂ a través de la mezcla filtrada de trehalulosa, es decir se efectúa una carbonatación.

En otra versión ventajosa está previsto que el sistema formador de trehalulosa sea un sistema inmovilizado. Para la inmovilización de la actividad enzimática empleada pueden emplearse los procedimientos actuales, por ejemplo el empleo de pequeñas esferas de alginato de sodio, que encima de ellas presentan las enzimas formadoras de trehalulosa inmovilizada o microorganismos.

En otra versión preferida puede estar previsto que el sistema formador de trehalulosa se emplee en una forma no inmovilizada.

En una versión particularmente preferida está previsto que el sistema formador de trehalulosa sea una enzima formadora de trehalulosa, es decir que sea una glucosiltransferasa, la cual está en situación de formar trehalulosa a partir de la sacarosa, en particular, una mezcla de trehalulosa y isomaltulosa, así como eventualmente glucosa, isomaltosa y fructosa con una elevada proporción de trehalulosa en comparación con la isomaltulosa. En una versión particularmente preferida, la trehalulosa está presente en una relación con la isomaltulosa en la mezcla obtenida de trehalulosa en una relación de 4:1 a 10:1.

En otra versión preferida de la invención se emplea como sistema formador de trehalulosa, un microorganismo que contiene por lo menos, una enzima definida anteriormente.

En una versión particularmente ventajosa de la presente invención, la enzima formadora de trehalulosa empleada es una enzima que deriva de un microorganismo del género *Pseudomonas*, en particular de la *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45 (FERM BP 3619). Este organismo está descrito por ejemplo en la patente EP 0 483 755 B1 ó Nagai et al., (Biosci. Biotech. Biochem. 58 (10) 1789-1793 (1994) .

Naturalmente, puede también estar previsto que las enzimas no sean de origen natural, sino que en lugar de éstas, sean enzimas mutadas, en particular aquellas que estén preparadas con mutaciones en el genotipo de los citados microorganismos.

En una versión está previsto que en el paso b) del procedimiento se efectúe adicionalmente a la filtración, una desionización, por ejemplo, en un intercambiador de iones. En una versión preferida, esta desionización no tiene lugar. Según la invención puede estar previsto en otra versión, efectuar en un paso b) o un paso c), una decoloración, por ejemplo con carbón activo. En una versión preferida dicha decoloración no tiene lugar.

La invención prevé en una versión particularmente preferida, que en todo el transcurso del procedimiento no tenga lugar ninguna adición de sustancias edulcorantes, en particular ingredientes edulcorantes de la bebida, de preferencia, edulcorantes en particular a base de azúcares, sustancias sustitutivas del azúcar y/o sustancias intensamente dulces. En una versión particularmente preferida, todos los componentes edulcorantes de la mezcla de trehalulosa obtenida y empleada en la bebida dulce, proceden directamente del sustrato empleado conteniendo sacarosa.

En otra versión preferida, el procedimiento de la invención se caracteriza en que en ninguno de los pasos previstos del procedimiento, tiene lugar una escisión, en particular una escisión significativa, de sacarosa en glucosa y fructosa, por ejemplo enzimáticamente mediante una invertasa o catalizada por un ácido.

En otra versión preferida está previsto que en el paso b) o en el paso c) del procedimiento tenga lugar una adición de disolvente, en particular agua, o una concentración de los componentes, en particular de la mezcla de trehalulosa.

En una versión particularmente preferida está previsto que se emplee como ácido compatible con los alimentos, el ácido cítrico o el ácido láctico.

En otra versión preferida puede estar previsto añadir adicionalmente a la mezcla que contiene la trehalulosa aparecida en la bebida mediante la transposición, la cual contiene del 10 al 70% en peso, de preferencia del 20 al 40% en peso de sacarosa, un edulcorante intenso por separado. En otra versión preferida puede estar previsto en consecuencia, en el paso c) del procedimiento según la invención, añadir a la mezcla de trehalulosa también edulcorantes intensos, como el aspartamo, el ciclamato, el acesulfam-K, la glicirricina, la sacarina, los rebaudiósidos, la sucralosa, el alitamo, la neohesperidin-dihidrochalcona, los steviósidos, la taumatina o similares.

En otra versión preferida puede también estar previsto mezclar la mezcla que contiene trehalulosa en el paso c) del procedimiento, con alcoholes de azúcar, por ejemplo el Isomalt, el Isomalt ST, el Isomalt GS, la manita, la sorbita, la xilita, la eritrina o la maltita.

En otra versión preferida está previsto que la bebida preparada, es una bebida de refresco, una bebida deportiva, una bebida de leche, una bebida carbónica, un agua mineral edulcorada, una limonada, una limonada de hierbas, una bebida de zumo de frutas, una bebida energética, una bebida alcohólica, una bebida de leche agria, un refresco, un café, un te, una bebida de cacao, un zumo de frutas, un jugo de vegetales, un batido de frutas, una bebida de frutas, una preparación de frutas, o similar.

En una versión particularmente preferida del procedimiento éste se efectúa en forma continua. En otra versión preferida puede sin embargo preverse también que el procedimiento se efectúe discontinua o semicontinualmente. En particular es también posible según la invención una fermentación por partidas discontinuas.

Otras ventajosas configuraciones de la invención resultan de las reivindicaciones secundarias.

La invención se aclara con más exactitud a la vista del siguiente ejemplo:

Ejemplo:

Para la obtención del biocatalizador fueron retiradas de un subcultivo de la cepa *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45 (también depositado en FERM BP 11 808), células con 10 ml de un sustrato nutritivo estéril, 8 kg de jugo espeso de un fábrica de azúcar (contenido en sustancia seca = 65%), 2 kg de maíz hinchado con agua, 0,1 kg de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ y 89,9 kg de agua destilada ajustada a un valor del pH de 7,2. Esta suspensión sirvió como inóculo para un subcultivo agitado en máquina, en un matraz de 1 litro con 200 ml de la solución nutritiva.

Después de una incubación de 30 horas a 29 °C, se inocularon cada 10 matraces (con un contenido total de 2 litros), con 18 litros de solución nutritiva de la composición anterior en un fermentador pequeño de 30 litros, y se fermentó a 29 °C con una corriente de aire de 20 litros por minuto y una velocidad de agitación de 350 rpm

Una vez alcanzado el número de gérmenes por encima de 5×10^9 gérmenes/ml, se interrumpió la fermentación, las células se cosecharon por centrifugación a partir de la solución de fermentación, se suspendieron en una solución de alginato de sodio al 2% y mediante la adición gota a gota de la suspensión en una solución de cloruro de calcio al 2%, se inmovilizaron. Las pequeñas esferas inmovilizadas formadas se lavaron con agua.

Para la obtención de la bebida fermentada se cargaron las células inmovilizadas de *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45, obtenidas de esta manera, en un reactor atemperado. Este se atemperó de 25 a 30 °C y se hizo pasar continuamente una solución de sacarosa con un contenido en sustancia seca TS aproximadamente entre el 35 y el 45%. La velocidad del flujo se ajustó de manera que se obtuvo un contenido residual de sacarosa del 20 al 40% en peso en la solución de transposición que contenía la mezcla de trehalulosa (referido a la sustancia seca TS de todo el azúcar de esta solución de transposición). La composición de la solución de transposición se controló continuamente y la velocidad del flujo se adecuó o respectivamente se obtuvo, de manera que se garantizó el contenido de sacarosa residual deseada, al mismo tiempo que se enriquecía en trehalulosa.

La solución conteniendo la mezcla de trehalulosa obtenida de esta manera (tabla 1) se filtró para separar las células inmovilizadas y a continuación, en caso de desearse, se desionizó en un intercambiador catiónico y aniónico.

Un análisis HPLC de la mezcla de trehalulosa aparecida en el reactor, dio por resultado la siguiente composición:

Tabla 1

Fructosa	0,2% de TS
Glucosa	0,2% de TS
Sacarosa	25% de TS
Isomaltulosa	9,5% de TS
Isomaltosa	0,1% de TS
Trehalulosa	64,8% de TS
Oligómeros (DP > 3)	0,2% de TS

A continuación, se añadieron de manera continuada, ácido cítrico, vitamina C, así como otros diferentes ingredientes, como se desprende de las siguientes tablas 2 (bebida de refresco), 3 (bebida de zumo de naranja), y 4 (bebida de leche):

Tabla 2: bebida de refresco (partes en peso referidas a 250 ml de bebida acabada; resto: agua)

Mezcla de trehalulosa con un contenido residual de sacarosa del 25% del peso	8 partes en peso
Acido cítrico	0,15 partes en peso
Vitamina C.	0,03 partes en peso
Cloruro de sodio	0,05 partes en peso
Cloruro de potasio	0,012 partes en peso
Carbonato de magnesio	0,002 partes en peso
Glutamato de sodio	0,006 partes en peso

Tabla 3: bebida de zumo de naranja (partes en peso referidas a 250 ml de bebida; resto: agua)

5

Mezcla de trehalulosa con un contenido residual de sacarosa del 25% en peso	16 partes en peso
Zumo de naranjas, concentrado 1/5	4 partes en peso
Acido cítrico	0,35 partes en peso
Citrato de sodio	0,20 partes en peso
Vitamina C	0,6 partes en peso
Beta-carotina	0,01 partes en peso

Tabla 4: bebida de leche edulcorada (partes en peso referidas a 100 ml de bebida)

Mezcla de trehalulosa con un contenido residual de sacarosa del 25% en peso	4 partes en peso
Leche fresca	96 partes en peso

- 10 Para la obtención de la bebida de leche se esterilizó después de la adición del componente de leche a la solución conteniendo la mezcla de trehalulosa, la mezcla obtenida y se concentró hasta obtener un jarabe del 75% y se envasó estérilmente.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de una bebida fermentada, dulce, con reducidos cariógenos, en donde,
 - a) Se pone en contacto un substrato conteniendo sacarosa con un sistema que contiene trehalulosa a una temperatura de 10 a 30 °C con un ajuste selectivo de las condiciones apropiadas de fermentación, de tal manera que la sacarosa contenida en el substrato se transforma enzimáticamente hasta un contenido en sacarosa residual del 10 al 70% en peso (% en peso de TS, referido al peso del azúcar contenido en la solución de transposición) en una mezcla de trehalulosa.
 - b) La mezcla obtenida de trehalulosa para la separación del sistema que forma la trehalulosa, se filtra, y sin efectuar ningún otro paso de purificación
 - c) La mezcla de trehalulosa obtenida por filtración en el paso b) se le añade por lo menos un ingrediente de la bebida edulcorante, en particular un ácido de calidad alimenticia y/o por lo menos una sustancia saborizante, para obtener la bebida dulce fermentada.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en donde la mezcla filtrada de trehalulosa se trata con CO₂ en el paso c).
3. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el sistema formador de trehalulosa es un sistema inmovilizado.
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 ó 2, en donde el sistema formador de trehalulosa es un sistema no inmovilizado.
5. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el sistema formador de trehalulosa comprende una enzima formadora de trehalulosa.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el sistema formador de trehalulosa comprende un microorganismo formador de trehalulosa .
7. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el microorganismo pertenece al género *Pseudomonas*.
8. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el microorganismo perteneciente al género *Pseudomonas* es el *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45, Ferm BP 3619.
9. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el procedimiento se efectúa a una temperatura de 10 a 20 °C.
10. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde en la mezcla de trehalulosa obtenida en el paso a), la trehalulosa y la isomaltulosa, están en una relación de peso de 4:1 a 10:1.
11. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el procedimiento se efectúa a un valor del pH de 5 a 7.
12. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el contenido de sacarosa residual es del 20 al 40%.
13. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde el substrato está en forma de una solución que contiene sacarosa, un jarabe de un extracto de bebida que contiene sacarosa, un zumo de frutas que contiene sacarosa, o un jarabe de un concentrado de frutas que contiene sacarosa.
14. Procedimiento según una de las precedentes reivindicaciones, en donde la bebida obtenida está en forma de un concentrado de bebida concentrada.