

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 324**

51 Int. Cl.:

A23L 2/04 (2006.01)

A23L 1/211 (2006.01)

A23L 1/236 (2006.01)

C07H 15/256 (2006.01)

A23L 1/015 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07834865 .3**

96 Fecha de presentación: **07.09.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2061350**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.05.2009**

54 Título: **Composiciones edulcorantes y sus procedimientos de preparación**

30 Prioridad:
07.09.2006 NZ 54973906

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.03.2012

73 Titular/es:
**BIOVITTORIA LIMITED
WAIKATO INNOVATION PARK RUAKURA ROAD
HAMILTON, NZ**

72 Inventor/es:
**LYNDON, Rex Murray;
MILLER, Christopher John;
SMITH, Garth Selewyn y
FUSHENG, Lan**

74 Agente/Representante:
Ponti Sales, Adelaida

ES 2 377 324 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

Composiciones edulcorantes y sus procedimientos de preparación

SECTOR DE LA INVENCION

5 **[0001]** Esta invención se refiere a composiciones edulcorantes. Se refiere más especialmente a composiciones edulcorantes que contienen glicósidos terpénicos, y a alimentos y bebidas edulcoradas con estas composiciones. La invención también se refiere a procesos para preparar las composiciones edulcorantes.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 **[0002]** Con el aumento de la obesidad en Occidente, los consumidores buscan constantemente reducir el contenido de calorías de su dieta, pero sin sacrificar por ello el sabor. Se han desarrollado varios productos alimenticios y de bebidas de bajas calorías. Hay una serie de productos bajos en calorías que contienen edulcorantes no nutritivos artificiales, tales como la sacarina, el aspartamo, el ciclamato, los dipéptidos, la triclorosacarosa y el acesulfamo K. Sin embargo, hay cada vez más preocupación por la seguridad de algunos de estos edulcorantes artificiales y muchos consumidores prefieren reducir su consumo de edulcorantes.

15 **[0003]** Determinados glicósidos terpénicos presentes en la naturaleza, en especial los glicósidos triterpénicos, son intensamente dulces y no caloríficos. Por estas razones, los glicósidos triterpénicos son muy atractivos para su utilización como agentes edulcorantes en las industrias de alimentos, de bebidas y dietéticas.

20 **[0004]** Luo Han Guo se refiere a la fruta de *Siraitia grosvenorii* (anteriormente conocida como *Momordica grosvenorii*), un miembro de la Familia Cucurbitaceae. Luo Han Guo se cultiva en las provincias del sudeste de China, principalmente en la región de Guangxi. Se ha cultivado y usado durante cientos de años como medicina tradicional china para tratar la tos y la congestión de los pulmones, y también como agente saborizante y edulcorante en sopas y tés.

25 **[0005]** Luo Han Guo y otras frutas de la familia de las cucurbitáceas contienen glicósidos terpénicos conocidos como mogrosidas y siamenosidas, que están presentes en un nivel de alrededor del 1% de la parte carnosa de la fruta. Estos compuestos se han descrito y caracterizado por Matsumoto et al; Chem. Pharm. Bull., 38 (7), 2.030 a 2.032 (1990). Las mogrosidas son compuestos en los que entre una y seis moléculas de glucosa se unen a una red troncal de triterpeno. La más abundante es la mogrosida mogrosida V, cuya dulzura se ha estimado en aproximadamente en 250% con respecto a la de la caña de azúcar, sobre una base másica.

30 **[0006]** La propia fruta Luo Han Guo, aunque sea dulce, no es apta para su uso generalizado como edulcorante no nutritivo, sin procesamiento adicional. La fruta fresca tiene una tendencia a formar fácilmente sabores por fermentación. Además, sus geles de pectina eventuales. El secado de la fruta permite conservarla, pero también provoca la formación de otros sabores amargos, astringentes y cocidos indeseables. Se han descrito varios procedimientos para el procesamiento de Luo Han Guo para eliminar componentes de sabor no deseados, para producir extractos que contienen mogrosidas, que tienen un perfil de sabor más aceptable para su uso como composiciones edulcorantes.

35 **[0007]** En Experiencia 31 (5) 533-534, 1975 (Lee, C.-H.) se describe un proceso para extraer mogrosidas de Luo Han Guo empleando extracción con agua caliente, y haciendo pasar el extracto que contiene mogrosidas a través de una resina Amberlite que retiene a las mogrosidas, y la elución de las mogrosidas con 50% de etanol.

40 **[0008]** La patente americana 5,411,755 describe un proceso para preparar un zumo dulce que contiene mogrosidas y azúcar de fruta Luo Han Guo. El proceso implica separar la cáscara y las semillas del zumo de fruta sin procesar, la acidificación del zumo, la eliminación de los precursores del sabor de la fruta, y la eliminación de una fracción de volátiles extraíbles de cloruro de metileno del zumo.

[0009] La patente americana 5,433,965 describe una composición edulcorante que comprende una combinación de azúcar y un zumo dulce que contiene mogrosidas derivadas de fruta Luo Han Guo.

45 **[0010]** La solicitud de patente americana 10/086,322 describe una composición de mezcla edulcorante que comprende concentrado de fruta Luo Han Guo, fructosa y maltodextrina.

50 **[0011]** La patente americana 6,124,442 describe un proceso para preparar una composición seca que contiene mogrosidas y derivada de fruta Luo Han Guo. El proceso incluye la obtención de un extracto líquido de Luo Han Guo y mezclar el extracto con una solución saturada con al menos un elemento que tiene un número de oxidación de uno o dos. La mezcla resultante proporciona un material de precipitado sólido y una parte líquida que contiene a los glicósidos triterpénicos, que se pasa a través de una resina macroporosa. La resina se lava con un alcohol para obtener una solución de la misma que contiene a los glicósidos triterpénicos. La solución se condensa para

proporcionar una solución de glicósidos triterpénicos líquido purificado y luego se realiza una etapa de secado para obtener una composición seca que contiene a los glicósidos triterpénicos.

5 [0012] La publicación de solicitud de patente americana 20060003053A1 describe un proceso para extraer el zumo de materia vegetal que contiene glicósidos triterpenos. El proceso comprende las etapas de trituración del material vegetal, blanquear el material vegetal triturado en agua acidificada hasta obtener un puré que comprende un extracto de zumo y un residuo de sólidos de la planta, la separación del extracto de zumo del residuo de sólidos de la planta, mezclar una enzima con el extracto de zumo y separar el extracto de zumo para obtener un zumo dulce.

10 [0013] La patente China 1015264 describe un proceso para preparar una composición seca que contiene mogrosidas y derivados de fruta Luo Han Guo. El proceso incluye la obtención de un extracto líquido de Luo Han Guo empleando agua a una temperatura de 50-60 ° C, poner en contacto el extracto líquido con una resina adsorbente para concentrar las mogrosidas, eludir las mogrosidas con alcohol etílico, decolorar el extracto con una resina de intercambio iónico, y a continuación, recuperar el alcohol decolorante otra vez y, finalmente, liofilizar.

15 [0014] A pesar de los avances en la tecnología de procesamiento, las actuales composiciones edulcorantes derivadas de fruta Luo Han Guo aún presentan las desventajas de tener un color marrón / amarillo y sabores indeseables notables.

[0015] Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de composiciones edulcorantes que contienen glicósidos terpénicos que tengan un sabor limpio con un mínimo de notas indeseables o "apagadas", y un color ligero. Es un objeto de la presente invención tender a proporcionar una composición como esta, o al menos ofrecer al público una opción útil.

20 RESUMEN DE LA INVENCION

[0016] Según un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición edulcorante, que contiene la composición desde aproximadamente 16% a aproximadamente 75% de mogrosida V y desde aproximadamente 30% a aproximadamente 95% con respecto al total de glicósidos terpénicos sobre una base de peso seco, y en la cual una solución filtrada (0.2 µm) de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v tiene una absorbancia a 420 nm de aproximadamente 0.55 o inferior.

[0017] En una realización preferida, la composición se presenta en la forma de un polvo. En otra realización, la composición se presenta en la forma de un líquido, convenientemente una solución acuosa.

[0018] Preferentemente, los glicósidos terpénicos en la composición son glicósidos terpénicos que se producen de forma natural obtenidos de la fruta de la familia Cucurbitaceae.

30 [0019] Preferentemente los glicósidos terpénicos en la composición son glicósidos triterpénicos obtenidos de la fruta de Luo Han Guo.

[0020] Más preferentemente, sustancialmente todos los componentes sólidos de la composición se obtienen de la fruta de Luo Han Guo.

35 [0021] En algunas realizaciones preferidas, la composición contiene desde aproximadamente 20% a aproximadamente 70% de mogrosida V y desde aproximadamente 40% a aproximadamente 90% con respecto al total de glicósidos terpénicos, tal como aproximadamente 30% a aproximadamente 65% de mogrosida V y desde aproximadamente 50% a aproximadamente 85% con respecto al total de glicósidos terpénicos, tal como aproximadamente 35% a aproximadamente 60% de mogrosida V y desde aproximadamente 55% a aproximadamente 85% con respecto al total de glicósidos terpénicos, tal como aproximadamente 40% a aproximadamente 55%, mogrosida V y desde aproximadamente 60% a aproximadamente 80% con respecto al total de glicósidos terpénicos, sobre una base de peso seco.

40 [0022] En algunas realizaciones preferidas, la absorbancia a 420 nm de una solución filtrada (0.2 µm) de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v es menor que aproximadamente 0.5, más preferentemente menor que aproximadamente 0.4, tal como menor que aproximadamente 0.35, tal como menor que aproximadamente 0.3, tal como desde aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.25.

[0023] Según otro aspecto, la presente invención proporciona una composición edulcorante que comprende:

50 (a) un primer componente que contiene desde aproximadamente 16% a aproximadamente 75% de mogrosida V y desde aproximadamente 30% a aproximadamente 95% con respecto al total de glicósidos terpénicos sobre una base de peso seco, y en la cual una solución filtrada (0.2 µm) del primer componente en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v tiene una absorbancia a 420 nm de aproximadamente 0.55 o inferior; y

(b) uno o más componentes adicionales.

[0024] Los componentes adicionales se pueden seleccionar de entre agentes colorantes, agentes aromatizantes y otros agentes edulcorantes.

5 **[0025]** En algunas realizaciones preferidas, substancialmente todos los componentes sólidos del primer componente se derivan de la fruta de la familia Cucurbitaceae, preferentemente la fruta de Luo Han Guo.

[0026] Según otro aspecto, la invención proporciona una bebida que contiene una composición edulcorante de la invención tal como se ha descrito más arriba.

[0027] Según otro aspecto, la invención proporciona un producto de alimentación que contiene una composición edulcorante de la invención tal como se ha descrito más arriba.

10 **[0028]** Según otro aspecto, la invención proporciona una composición para la salud que comprende una composición edulcorante de la invención tal como se ha descrito más arriba.

[0029] Según otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para preparar una composición edulcorante que contiene glicósidos terpénicos tal como se ha descrito más arriba, comprendiendo el procedimiento las siguientes etapas:

15 (a) obtener un extracto líquido que contiene un glicósido terpénico de un material de fuente de planta fresca que contiene glicósidos terpénicos;

(b) aclarar el extracto;

(c) concentrar los glicósidos terpénicos en el extracto para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos purificada;

20 (d) calentar la solución que contiene glicósidos terpénicos purificada a una temperatura suficiente y durante suficiente tiempo para formar melanoidinas; y

(e) separar las melanoidinas de los glicósidos terpénicos en la solución para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada.

25 **[0030]** En algunas realizaciones preferidas, el procedimiento también incluye la etapa de secado de la solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada obtenida en la etapa (e) para formar una composición en polvo. En algunas realizaciones preferidas, la solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada obtenida en la etapa (e) se concentra primero antes del secado final.

[0031] En algunas realizaciones preferidas, el material de fuente de planta fresca es una fruta de la familia Cucurbitaceae, más preferentemente Luo Han Guo.

30 **[0032]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa (a) comprende poner en contacto la fruta de Luo Han Guo macerada con agua caliente, durante un tiempo suficiente y una temperatura suficiente para extraer glicósidos triterpénicos de la fruta. En algunas realizaciones especialmente preferidas, la puesta en contacto se lleva a cabo empleando extracción a contracorriente.

[0033] En algunas realizaciones preferidas, la etapa de aclarado (b) comprende la ultrafiltración del extracto.

35 **[0034]** En realizaciones alternativas, la etapa (b) comprende tratar el extracto con una enzima pectinasa (preferentemente una preparación de pectinasa comercial) en condiciones en las que lisan las pectinas y los sacáridos complejos y facilitan el aclarado.

[0035] En algunas realizaciones preferidas, el extracto líquido obtenido en la etapa (b) se filtra, centrifuga o se decanta antes de la etapa (c).

40 **[0036]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa (c) de concentrar los glicósidos terpénicos comprende (i) poner en contacto el extracto aclarado con una resina absorbente, en la que la resina absorbente une los glicósidos terpénicos en el extracto; y (ii) eluir los glicósidos terpénicos de la resina para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos purificada.

45 **[0037]** En algunas realizaciones preferidas, la resina absorbente utilizada en la etapa (c) es una resina absorbente polimérica macroporosa, tal como un copolímero de estireno-divinilbenceno o resina de copolímero de divinilbenceno.

- [0038]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa (c) se lleva a cabo en un recipiente presurizado.
- [0039]** En algunas realizaciones preferidas, en la etapa (c) los glicósidos terpénicos son eluidos de la resina absorbente con una solución acuosa de etanol. En algunas realizaciones especialmente preferidas, la elución se lleva a cabo empleando una pluralidad de etapas de elución empleando soluciones de etanol con concentración de etanol en aumento.
- [0040]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa de calentamiento (d) comprende calentar las soluciones de etanol que contienen glicósidos terpénicos obtenidas en la etapa (c), tanto para promover la formación de melanoidinas como para evaporar el etanol, permitiendo de este modo la recuperación del etanol.
- [0041]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa (d) comprende calentar la solución que contiene glicósidos terpénicos purificada a una temperatura de aproximadamente 80°C a aproximadamente 120°C, durante un periodo de tiempo suficiente para formar melanoidinas.
- [0042]** En determinadas realizaciones, el calentamiento se lleva a cabo a una temperatura de aproximadamente 80°C a aproximadamente 100°C, durante un tiempo de aproximadamente 120 minutos a aproximadamente 45 minutos.
- [0043]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa de descoloración (e) comprende poner en contacto la solución que contiene glicósidos terpénicos y melanoidina de la etapa (d) con una resina descolorante que une las melanoidinas (y opcionalmente otras moléculas con glicósidos no terpénicos), para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada.
- [0044]** En algunas realizaciones preferidas, la resina descolorante utilizada en la etapa (e) comprende una resina aniónica de base fuerte, muy porosa, macroporosa, de tipo I, preferentemente regenerada en forma de cloruro.
- [0045]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa (e) se lleva a cabo en un recipiente presurizado.
- [0046]** Según otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una composición edulcorante tal como se ha descrito más arriba de un material de fuente de planta fresca que contiene glicósidos terpénicos, que se caracteriza por incluir las etapas de:
- (a) calentar una solución que contiene glicósidos terpénicos obtenidos extrayendo glicósidos terpénicos del material de fuente de planta, a una temperatura suficiente y durante suficiente tiempo para formar melanoidinas; y
- (b) separar las melanoidinas de los glicósidos terpénicos en el extracto para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada.
- [0047]** En algunas realizaciones preferidas, la solución que contiene glicósidos terpénicos utilizada en la etapa (a) se obtiene mediante un proceso de extracción que comprende las etapas de poner en contacto la fruta de Luo Han Guo macerada con agua caliente, durante un tiempo suficiente y una temperatura suficiente para extraer glicósidos triterpénicos de la fruta, seguido de un aclarado de la solución.
- [0048]** En algunas realizaciones especialmente preferidas, la puesta en contacto se lleva a cabo empleando extracción a contracorriente.
- [0049]** En algunas realizaciones especialmente preferidas, la etapa de aclarado comprende la ultrafiltración del extracto.
- [0050]** En algunas realizaciones preferidas, la etapa (b) comprende poner en contacto la solución que contiene glicósidos terpénicos y melanoidina resultante con una resina descolorante que une las melanoidinas (y opcionalmente otras moléculas con glicósidos no terpénicos).
- [0051]** En algunas realizaciones preferidas, el procedimiento incluye la etapa de concentrar los glicósidos terpénicos en la solución. Preferentemente esta etapa comprende (i) poner en contacto el extracto aclarado con una resina absorbente, en la que la resina absorbente une los glicósidos terpénicos en el extracto; y (ii) eludir los glicósidos terpénicos de la resina para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos purificada.
- [0052]** En algunas realizaciones preferidas, la resina absorbente empleada en la etapa de concentración es una resina absorbente polimérica macroporosa, tal como un copolímero de estireno-divinilbenceno o resina de copolímero de divinilbenceno.
- [0053]** En algunas realizaciones preferidas el procedimiento incluye la etapa de secado de la solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada obtenida en la etapa (b) para formar una composición en polvo.

[0054] Según otro aspecto, la invención proporciona una composición edulcorante obtenida mediante o que se puede obtener mediante un procedimiento tal como se ha descrito más arriba.

5 [0055] Según otro aspecto, la invención proporciona un producto de alimentación o una bebida que contiene una composición edulcorante obtenida mediante o que se puede obtener by un procedimiento tal como se ha descrito más arriba.

[0056] Aunque la invención es tan amplia como se ha definido más arriba, no se limita lo expuesto y también incluye realizaciones de las cuales la siguiente descripción proporciona ejemplos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Definición

10 [0057] En esta descripción, a menos que el contexto requiera otra cosa, el término "glicósidos terpénicos total" significa la concentración total de glicósidos terpénicos determinada en una composición basada en la acumulación de picos de glicósidos terpénicos observados durante un análisis por HPLC. Además, para evitar dudas, el término "glicósidos triterpénicos" incluye, sin limitaciones, tanto a las mogrosidas como a las siamenosidas.

Composiciones edulcorantes de la invención

15 [0058] Tal como se ha definido más arriba, la presente invención se refiere a composiciones edulcorantes que contienen glicósidos terpénicos. Las composiciones se derivan preferentemente de la fruta de la familia Cucurbitaceae, preferentemente la fruta de Luo Han Guo, que contiene glicósidos triterpénicos (mogrosidas y siamenosidas). Las composiciones edulcorantes de la presente invención, al menos en algunas realizaciones preferidas, tienen un sabor más limpio y un color más ligero que las que existen en composiciones edulcorantes derivadas de Luo Han Guo.

20 [0059] Por lo tanto, según un aspecto, la invención relates a una composición edulcorante que contiene glicósidos terpénicos, en la que una solución filtrada a 0.2 μm de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v tiene una absorbancia a 420 nm o aproximadamente 0.55 o inferior. Las proporciones de glicósidos terpénicos en las composiciones edulcorantes de la presente invención pueden variar, dependiendo de la diversificación natural del material de fuente de fruta a partir de la cual se hace la composición. Las composiciones de la presente invención contienen generalmente entre aproximadamente 16% y desde aproximadamente 75% de mogrosida V y entre aproximadamente 30% y desde aproximadamente 95% con respecto al total de glicósidos terpénicos, sobre una base de peso seco.

25 [0060] En algunas realizaciones preferidas, las composiciones de la invención pueden contener aproximadamente 35% a aproximadamente 60% de mogrosida V, y desde aproximadamente 55% a aproximadamente 85% con respecto al total de glicósidos terpénicos sobre una base de peso seco.

30 [0061] Tal como se ha indicado más arriba, la absorbancia a 420 nm, con una solución filtrada a sub-micras (0.2 μm) en el agua de las composiciones de la presente invención que tienen un contenido de sólidos del 1% w / v es de aproximadamente 0,55 o menos. La absorbancia a 420 nm se correlaciona con el color de las composiciones – cuanto menor sea la absorbancia, más claro será el color. Además, los solicitantes han descubierto que la absorción a 420 nm se correlaciona con el sabor acaramelado, cocinado y a arce de las composiciones - cuanto menor sea la absorbancia, más limpio es el sabor de las composiciones. Las composiciones de la presente invención tienen un color amarillo blanquecino pálido y un sabor limpio, con un mínimo de sabores a regaliz y caramelo quemado y a arce que se asocian con las composiciones de la técnica.

35 [0062] Algunas composiciones preferidas de la presente invención incluyen aquellas en las que la absorbancia a 420 nm de una solución filtrada (0.2 μm) de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1 % p/v tiene una absorbancia menor que aproximadamente 0.3, tal como desde aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.25.

40 [0063] Las composiciones de la presente invención pueden estar en forma líquida o sólida. En algunas realizaciones especialmente preferidas, las composiciones de la invención se presentan en la forma de un polvo. En otras realizaciones, las composiciones pueden presentarse en la forma de una solución acuosa.

45 [0064] En algunas realizaciones preferidas, las composiciones de la invención consisten en, o consisten esencialmente en, material presente de forma natural y extraído de la fruta de la familia Cucurbitaceae, preferentemente la fruta de Luo Han Guo, es decir las composiciones no incluyen proporciones significativas de componentes sólidos de fuentes distintas a la fruta Cucurbitaceae. Estas composiciones de la invención son no nutritivas, siendo los únicos componentes edulcorantes en las composiciones los glicósidos terpénicos.

50

- 5 [0065] En realizaciones alternativas, las composiciones edulcorantes de la presente invención se pueden combinar con otros materiales, tales como otros sabores deseados adicionales, agentes edulcorantes y/o colorantes. Según otro aspecto, entonces, la invención se refiere a una composición edulcorante que comprende (a) como primer componente, una composición de la presente invención tal como se ha descrito más arriba, que contiene desde aproximadamente 16% a aproximadamente 75% de mogrosida V y desde aproximadamente 30% a aproximadamente 95% con respecto al total de glicósidos terpénicos sobre una base de peso seco, y en la cual una solución filtrada (0.2 μm) del primer componente en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v tiene una absorbancia a 420 nm de aproximadamente 0.55 o inferior; y (b) uno o más componentes adicionales.
- 10 [0066] En algunas realizaciones preferidas, substancialmente todos los componentes sólidos del primer componente se derivan de la fruta de la familia Cucurbitaceae, preferentemente la fruta de Luo Han Guo.
- [0067] Los componentes adicionales se pueden seleccionar de entre agentes colorantes, agentes aromatizantes y otros agentes edulcorantes.
- [0068] Las composiciones de la presente invención se pueden utilizar como agentes edulcorantes en varios productos de alimentación, bebidas y dulces.
- 15 **Preparación de composiciones edulcorantes de la invención**
- [0069] Las melanoidinas son compuestos coloreados formados principalmente por las interacciones entre los hidratos de carbono y los compuestos que tienen un grupo amino libre, tales como aminoácidos libres y los grupos amino- libres de péptidos y proteínas. La compleja red de interacciones, que resulta en melanoidinas como los productos de reacción final, se conoce comúnmente como la reacción de Maillard.
- 20 [0070] Los solicitantes han descubierto para su sorpresa que, mediante la incorporación en un proceso de extracción de glicósidos terpénicos de un material de origen vegetal tal como el Luo Han Guo, la etapa de calentamiento de un extracto que contiene un glucósido terpénico durante un tiempo suficiente y con la temperatura suficiente para favorecer la reacción de Maillard y la formación de melanoidinas (a partir de los hidratos de carbono fruto endógeno y amino-grupo que contienen impurezas que quedan en el extracto), los compuestos de melanoidina coloreados formados a partir de esta se pueden eliminar del extracto, utilizando convenientemente una etapa de decoloración, suministrando un producto de sabor limpio y de color suave.
- 25 [0071] Los procesos de preparación de las composiciones edulcorantes de la presente invención se describirán ahora con más detalle.
- 30 [0072] Las composiciones edulcorantes de la presente invención se pueden hacer a partir de cualquier fruta de la familia Cucurbitaceae, tribu Jollifaeae, subtribu Thladianthinae, género Siraítia, que contiene glucósidos terpénicos dulces. Estas frutas incluyen grosvenorii, S. siamensis, S. silomaradjae, S. sikkimensis, S. africana, S. borneensis y S. taiwaniana. Sin embargo, se utiliza preferentemente la fruta S. grosvenorii, también conocida como fruta de Luo Han Guo. La siguiente descripción del proceso se refiere a la preparación de composiciones edulcorantes a partir de la fruta de Luo Han Guo.
- 35 [0073] La fruta de Luo Han Guo se selecciona, se almacena y se procesa para proporcionar un material de partida de buena calidad que tiene preferentemente un alto nivel de dulzura. Generalmente, la fruta fresca se pica o se tritura después mecánicamente. La fruta rallada o triturada se pone entonces preferiblemente en contacto con agua caliente para extraer mogrosidas de la fruta. Es preferible que el proceso de extracción incluya un período inmediatamente posterior al de triturado durante el que la temperatura del agua sea superior a alrededor de 60 ° C, preferiblemente superior a alrededor de 80 ° C, suficiente para pasteurizar la fruta y para inactivar enzimas endógenas (tales como la proteasa) presentes en la fruta. La inactivación de las enzimas endógenas en este momento tiene el efecto beneficioso de reducir el pardeamiento enzimático y la limitación de sabor desagradable causados por la formación de la acción enzimática. Es preferible que la fruta y el agua se mezclen bien para asegurar un contacto entre la fruta y el agua caliente lo cual garantiza que las enzimas estén igualmente expuestas al agua caliente y por lo tanto, se desnaturalicen lo más rápido posible.
- 40 [0074] Por ejemplo, se puede utilizar un proceso de extracción a contracorriente continua, en el que la fruta triturada se introduce en el extractor a contracorriente, donde se pone en contacto con agua a aproximadamente 80 ° C durante aproximadamente 30 minutos. Los procesos y los aparatos de extracción a contracorriente son conocidos en la técnica. A modo de ejemplo, se puede utilizar un extractor de contracorriente del tipo descrito en la patente de EE.UU. 5, 419, 251 (Mantius et al), con o sin los miembros longitudinales descritos, en los procesos de la presente invención. Una ventaja de utilizar un proceso de extracción a contracorriente es que los tiempos de extracción necesarios para obtener substancialmente todos los sólidos solubles disponibles suelen ser menores que utilizando un proceso de extracción convencional de tipo recipiente. En general, el tiempo de contacto entre la fruta y el agua en un proceso de extracción a contracorriente se sitúa entre 30 y 60 minutos, mientras que lograr la misma
- 50

- extracción de sólidos solubles en un proceso de recipiente puede emplear 3 decocciones separadas y requiere un tiempo de contacto de entre 90 y 120 minutos. Otra ventaja es que habitualmente se necesita menos agua. Generalmente, una proporción de agua: fruta de alrededor de un 0,5: 1 será suficiente en un proceso de extracción a contracorriente, mientras que en un proceso de extracción múltiple en recipiente se requiere generalmente una relación agua: fruta de alrededor de 3: 1.
- 5
- [0075]** Como alternativa, el agua se puede calentar a alrededor de 100 ° C y la mezcla se cuece de 30 a 60 minutos aproximadamente, como unos 45 minutos. Después, la decocción se drena de la fruta y preferentemente se filtra o se criba para eliminar las grandes partículas de pulpa de fruta. El proceso de extracción con agua caliente se puede repetir una o más veces en el resto de la fruta, y se pueden combinar las decocciones obtenidas de cada extracción.
- 10
- [0076]** El extracto de decocción o líquido obtenido se enfría preferentemente, y se aclara para proporcionar claridad y evitar la gelificación del zumo. La aclaración puede llevarse a cabo utilizando cualquier método adecuado.
- [0077]** En realizaciones preferidas, la aclaración se lleva a cabo mediante el uso de ultrafiltración, por ejemplo, utilizando una membrana de ultrafiltración con un peso molecular de corte que permite el paso de las mogrosidas en el permeado, y retiene a la vez las proteínas y pectinas no deseadas en el retenido. Se prefiere por lo tanto una
- 15
- membrana de ultrafiltración de entre 50, 000 y 100, 000 daltons.
- [0078]** Como alternativa, el aclarado se puede llevar a cabo por tratamiento con ácido fosfórico o con enzima pectinasa. La enzima pectinasa se puede utilizar convenientemente en la forma de una mezcla de enzima disponible comercialmente que contiene enzima de pectina, con el fin de lisar la pectina y de precipitar los péptidos y proteínas pectino- estabilizadas a partir del extracto líquido. Los preparados enzimáticos disponibles en el mercado incluyen el Novozyme 3356 y el B1 Rohapect. La pectinasa se puede añadir como una solución diluida, en una cantidad de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 1%, sobre una base de peso seco. Convenientemente, el extracto líquido se lleva a cabo con la pectinasa con una suave agitación a una temperatura de unos 30 ° C a 55 ° C, como por ejemplo alrededor de 40 ° C a 50 ° C, hasta que el extracto líquido esté sustancialmente libre de pectina, generalmente durante aproximadamente de 15 a aproximadamente 60 minutos, tal como unos 30 minutos.
- 20
- [0079]** El extracto líquido se trata preferiblemente para desactivar la pectinasa y para desnaturalizar las proteínas, mejorando la coagulación y su co-precipitación con la pectina degradada. Este resultado se puede lograr mediante el calentamiento rápido a aproximadamente 80 ° C hasta aproximadamente 90 ° C, como por ejemplo a 85 ° C, durante un tiempo suficiente para desactivar la pectinasa, tal como desde unos 30 segundos hasta aproximadamente 5 minutos.
- 25
- [0080]** Después de la desactivación de la pectinasa, y de la coagulación y co-precipitación de la proteína, preferiblemente el extracto líquido se enfría lo suficiente para que se pueda filtrar fácilmente con el fin de eliminar los copos y las proteínas desnaturalizadas. El extracto se enfría generalmente a menos de aproximadamente 65 ° C, más generalmente a menos de aproximadamente 50 ° C. La filtración se puede realizar utilizando cualquier método conveniente conocido en la técnica, como por ejemplo a través de tierra de diatomeas, o por ultra o micro- filtración de flujo cruzado. Preferiblemente el extracto se filtra hasta claridad óptica (menos de 5 NTU).
- 30
- 35
- [0081]** La siguiente etapa consiste en concentrar los glucósidos triterpénicos a partir del extracto líquido clarificado. Este resultado se puede conseguir poniendo en contacto el extracto líquido con una resina adsorbente que una los glucósidos triterpénicos. Algunas resinas adsorbentes adecuadas para recoger glucósidos triterpénicos incluyen resinas con una matriz hidrófoba humidificable y aptas para su contacto con alimentos, tales como la PVPP (polivinilpolipirrolidona), el nylon, los ésteres de ácido acrílico, los copolímeros de estireno-divinilbenceno, los copolímeros de divinilbenceno, y el carbón activado. Estas resinas están comercialmente disponibles. Las resinas preferidas adecuadas para su uso en la presente invención son los copolímeros de estireno divinilbenceno y los copolímeros de divinilbenceno. Un ejemplo de una resina preferida es una resina de copolímero de divinilbenceno conocida como Alimentech P470 y comercialmente disponible en Bucher-Alimentech Ltd. Una disposición preferida es el uso de al menos 3 columnas de resina que operen en modo de carrusel. También se prefiere que esta etapa del proceso se lleve a cabo en un recipiente presurizado.
- 40
- 45
- [0082]** Después de poner en contacto el extracto que contiene el glucósido triterpénico líquido con la resina adsorbente para recoger las mogrosidas en la resina, los glucósidos triterpénicos consolidados se eluyen de la resina usando un disolvente adecuado para alimentación. Por ejemplo, cuando la resina utilizada es Alimentech P470, las mogrosidas se pueden eluir convenientemente con incrementos sucesivos de etanol acuoso. A modo de ejemplo, una secuencia de elución adecuada puede precisar en primer lugar desplazar el extracto líquido residual de Luo Han Guo con un aclarado con agua, luego efectuar la hinchazón de la resina de pre-elución utilizando etanol en agua primero a 10% y después a 20%, siguiendo con la elución de glucósidos triterpénicos utilizando etanol en agua a 35%, 42%, y luego a 50% v / v, y con la recogida del licor madre rico en glucósidos triterpénicos. La resina se puede convenientemente rejuvenecer para su reutilización con una solución a 80% v / v de etanol en agua, y luego
- 50
- 55

con un aclarado con agua y un ajuste del pH según sea necesario. El disolvente se puede recuperar por destilación para su reutilización.

5 **[0083]** El licor madre (solución purificada que contiene glicósidos triterpénicos) obtenido a partir de la resina adsorbente se somete a una etapa de calentamiento, para fomentar la formación de melanoidinas de color a partir de las proteínas y de los péptidos residuales en el licor madre. La temperatura y el tiempo de calentamiento preferidos dependerán de los niveles residuales de proteínas y de péptidos en el licor madre, y también de la presión a la que se lleve a cabo la etapa de calentamiento. La formación de melanoidinas se puede detectar visualmente, cuando la solución se vuelve de un color marrón más oscuro.

10 **[0084]** Generalmente, las temperaturas adecuadas para permitir el desarrollo de las melanoidinas varía de alrededor de 80 ° C a 120 ° C. El tiempo de calentamiento requerido dependerá de los factores mencionados anteriormente, y también de la temperatura a la que se lleva a cabo el calentamiento. Sin embargo, los tiempos preferidos de calentamiento pueden variar de unos 120 minutos a unos 45 minutos, a unos 80 ° C a 100 ° C, como por ejemplo de unos 120 minutos a unos 90 minutos a una temperatura de entre 80 ° C y 90 ° C, si el calentamiento no se realiza bajo una presión elevada. Se podrá apreciar que si el calentamiento se realiza bajo una presión elevada, el tiempo necesario para el desarrollo de las melanoidinas se reducirá. Por ejemplo, si el calentamiento se realiza bajo una presión de aproximadamente 1 bar efectivos y a una temperatura de unos 120 ° C, un tiempo de calentamiento de tan sólo 10 minutos puede ser suficiente. Por otro lado, si el calentamiento se realiza a unos 90 ° C a presión atmosférica, puede ser necesario un tiempo de calentamiento de hasta cerca de dos horas.

20 **[0085]** Convenientemente, así como para promover el desarrollo de las melanoidinas, la etapa de calentamiento (d) también puede servir para evaporar parte del alcohol del licor madre, lo que permite la recuperación de etanol a partir del licor madre.

25 **[0086]** Después de la etapa de calentamiento, el licor madre se enfría rápidamente, preferentemente a temperatura ambiente, convenientemente a menos de aproximadamente 30 ° C. El licor madre se somete luego a una etapa de decoloración, para separar los glicósidos terpénicos en la solución de las melanoidinas, y también preferentemente a partir de otras moléculas de glicósido no terpénico. Convenientemente, esto se puede lograr poniendo en contacto el licor madre con una resina decolorante que absorba los compuestos coloreados de melanoidina, y otras moléculas de glicósido no terpénico en la solución. Las resinas decolorantes adecuadas son conocidas en la técnica y están disponibles comercialmente. Resinas de aniones fuertemente alcalinas, altamente porosas, macroporosas, de tipo I, preferentemente regeneradas en forma de cloruro, son ejemplos de resinas especialmente adecuadas para su uso en la presente invención. Un ejemplo de una tal resina es la que se conoce como A330 Alimentech, disponible comercialmente en Bucher-Alimentech Limitada.

30 **[0087]** La etapa de decoloración se puede llevar a cabo en varias fases, comprendiendo el ajuste del pH entre las etapas, y utilizando una serie de columnas de cromatografía, por ejemplo, dos o tres columnas, unidas en secuencia, o segmentadas en una sola columna. La resina A330 se puede regenerar con salmuera cáustica y, a continuación, con un enjuague con agua libre de dureza. El licor madre se bombea sucesivamente a través de las columnas de resina para permitir la unión de las melanoidinas con la resina. También se apreciará que otros no terpeno componentes glicósido presente en las aguas madres, como las proteínas y las flavonas, también se unen a la resina decolorante. Es preferible que el acuerdo permite la inyección de un agente regulador del pH, tales como el ácido cítrico diluido, en las columnas de resina, para mantener un pH de aproximadamente 3.3 a 4.3 en el licor madre que pasa en las sucesivas columnas o segmentos de la columna. También es preferible que el pH de la solución que contiene glicósidos triterpénicos descolorada se ajuste según sea necesario a aproximadamente 4 o menos, convenientemente cerca de 3.8, para inhibir la reversión de color en la posterior concentración y secado.

35 **[0088]** La solución que contiene glicósidos triterpénicos descolorada se procesa entonces para obtener un concentrado o un polvo, como se desee, más dulce, refinado, de sabor suave y de color pálido. Preferiblemente, la solución que contiene glicósidos triterpénicos se concentra antes del secado. Esta práctica se puede realizar mediante cualquier método adecuado, por ejemplo, utilizando un cono evaporador girando al vacío, a una temperatura de alrededor de 65 ° C. Entonces, la solución concentrada resultante se puede secar utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica, como, por ejemplo, el secado por congelación, el secado al vacío, el secado por aspersión o en un horno de aire forzado, a una temperatura de aplicable al procedimiento.

40 **[0089]** El proceso de la presente invención se puede emplear a escala comercial para producir cantidades sustanciales de composiciones edulcorantes. También se apreciará que diversos lotes de composiciones edulcorantes de la presente invención que contienen diferentes niveles de glicósidos triterpénicos se pueden combinar entre sí cuando se desea una composición coherente con proporciones particulares de mogrosida V y de glicósidos triterpénicos totales.

45 **[0090]** La invención se describirá ahora más detalladamente con referencia a los siguientes ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

5 [0091] Los ejemplos 1, 2 y 3 de más abajo describen la preparación de tres composiciones edulcorantes de acuerdo con la presente invención, que contienen el 54% p/p de mogrosida V, el 39% p/p de mogrosida V, y el 42% p/p de mogrosida V, respectivamente. Los porcentajes de mogrosida V se basan en el peso seco, después de un secado de 2 horas a 85 ° C.

Ejemplo 1

[0092] El extracto de la fruta de Luo Han Guo que se recibió congelado de Guilin, P R China (pH 4.2 y 6.2 % en p/p de sólidos solubles mediante refractómetro) se ha preparado con el procedimiento siguiente.

10 [0093] 1,2 toneladas de fruta de Luo Han de buena calidad y fresca se han triturado mecánicamente y se han dejado gotear en una cuba con camisa de vapor. Se agregan 1.500 litros de agua filtrada a la fruta macerada. El agua se calienta a 100 ° C y la mezcla se cuece durante 45 minutos. Después de 45 minutos, la decocción se drena de la fruta y se filtra para eliminar las partículas grandes de la fruta. Otros 1, 500 litros de agua se agregan a la fruta que queda en la cuba. El agua se calienta a 100 ° C y la mezcla se cuece durante 45 minutos. Después de 45 minutos, la decocción se drena de la fruta, se filtra para eliminar las partículas grandes de fruta, y se combina con la decocción del primer ciclo. Este ciclo se repite una vez más para dar un volumen total de 4.500 L de sobrenadante. El sobrenadante posee sólidos solubles en una cantidad de entre el 3% y el 6,5%.

[0094] El extracto se descongeló y 988 g se calentaron en un baño de agua controlado por termostato a 45±5°C.

1. Eliminación de sólidos en suspensión para evitar el cegamiento de la resina adsorbente de la cosecha.

20 Se añadió una preparación de enzima pectinasa de propiedad (Novozym 3XL) de 0,2 ml y la mezcla se agitó suavemente durante 30 minutos hasta que se formó un copo y comenzó a asentarse, con lo cual la temperatura se elevó rápidamente a 85 ° C para terminar la actividad de las enzimas y para mantener a 85 ° C durante 5 minutos más para desnaturalizar las proteínas frutales lábiles nativas. Posteriormente, la mezcla de separación se enfrió lo suficiente (a <50 ° C) para facilitar la filtración a través de tierras diatomeas (Celite Filtercel) al vacío, (20 - 30 mm Hg), material de rendimiento, pH a 0,4 y 6.1 % p/p de sólidos solubles de y 6 4 0,1% w / w, Absorbancia a 420 un 25 1.006, de turbidez líquida ópticamente de un color marrón /dorado brillante <5 NTU (unidades nefelométricas de turbidez).

2. Concentración de mogrosidas mediante la recolección sobre la resina adsorbente Alimentech P470 compatible con US-FDA.

30 Se preparó la resina adsorbente de copolímero de divinilbenceno disponible comercialmente, (Alimentech P470), para el contacto con los alimentos tal como se define en los EE.UU. la FDA 21 CFR Ch. 1, 173.65, siguiendo las instrucciones del proveedor (Bucher-Alimentech Ltd). 100 ml de resina preparada se empaquetó en una columna cromatográfica de cristal (Catálogo de la marca No 566 14) y el extracto filtrado de Luo Han, previamente extraído en Guislin y preparado de acuerdo a la Sección 1, se filtró a través de la resina a temperatura ambiente (21±3 ° C), con el flujo controlado a 9±1 mL / min. El zumo de Luo Han sin mogrosidas que salía de la columna contenía los 35 azúcares de la fruta, los ácidos y los minerales, y se reservó para la evaluación por separado para su posible uso como base para bebidas de fruta.

3. Desorción, (incluyendo la purificación parcial), de la mogrosidas de la resina adsorbente impregnada mediante la aplicación de una concentración en aumento de un disolvente compatible alimentario.

40 Sin perturbar el relleno de la columna, el zumo residual de Luo Han se desplazó desde el interior de las perlas de resina con 200 ml de agua potable de enjuague, con un flujo de 9±1 mL / min a temperatura ambiente.

Todas las fases de elución posteriores se llevaron a cabo con el flujo reducido 6±1 mL / min y a temperatura ambiente. Cada incremento de alcohol siguió inmediatamente el precedente, cuidando de no dejar que el menisco se bañase en el lecho de resina. La concentración de etanol se ajustó de acuerdo con su gravedad específica medida por el hidrómetro.

45 Las perlas de resina adsorbente estaban hinchadas y los fenólicos de fruta de bajo peso molecular frágilmente enlazados se eluyeron en dos etapas, siendo la primera de 50 ml de 10% v / v de etanol, [gravedad específica a 20 °C (s.g 20) = 0.9865], y luego 70 mL de 20 % v/v de etanol, [s.g20 0.9753]. Estas dos fracciones de pre-elución se recogieron, el etanol se recuperó para el reciclaje y el fondo residual acuoso se dejó de lado para su evaluación por separado como una fuente potencial de antioxidantes "naturales". La mogrosida se eluyó en tres etapas, primero en 100 ml de 35% v / v de etanol, [s.g20 0.9572], sustituidos por 100 mL de 42 % v/v de etanol, [s.g20 0.9479] y 50 finalmente 100 mL de 50 % v/v de etanol, [s.g20 0.9316]. Los tres eluyentes ricos en mogrosida se combinaron y el etanol se recuperó para su reciclaje mediante un rotavapor (Büchi 111) al vacío (20 - 30 mm Hg) a 55 ° C. El

- material residual acuoso era de color marrón oscuro y ligeramente turbio, pH 3,3 y sólidos solubles al 5,4% p / p, Absorbancia a 420 de 1,32. Este licor madre rico en mogrosidas fue llevado a la etapa de calentamiento que se describe en el apartado 4. La resina adsorbente se regeneró posteriormente con 100 ml de 80% v / v de etanol, [s.g20 0.8605], luego se aclaró con agua hasta que quedase libre de alcohol para permitir entonces su reutilización repetida para recoger más cargas de licor madre rico en mogrosidas. El etanol se recuperó para el reciclaje y el fondo acuoso, el cual contenía residuos de mogrosida medibles, se reservaron para su inclusión en posteriores ciclos de producción añadidos antes de la etapa de aclarado descrito en la sección 1.
- 5 4. Aireación y tratamiento de calor para acelerar la aglomeración melanoidina para promover el desarrollo de los residuos de proteínas y péptidos en el licor madre para facilitar su posterior absorción por la resina decolorante.
- 10 El licor madre rico en mogrosidas fue trasferido a un vaso abierto que fue colocado en un baño de agua hirviendo. Después de equilibrar la temperatura del licor madre se mantuvo en $> 98^{\circ}\text{C}$ durante una hora con agitación suave y la adición ocasional de agua con gas para mantener un volumen constante. A partir de entonces el licor madre tratado térmicamente se enfrió rápidamente a temperatura ambiente. El color del licor madre se había intensificado y la solución se volvió visiblemente turbia lo cual era evidencia de formación de melanoidina. La visibilidad de la neblina de proteína aumentó con el enfriamiento y se pudo filtrar fácilmente en el papel No 4 (Whatman) proporcionando un filtrado de marrón intenso, pH 3,3, sólidos solubles en un 5,3% p / p, Absorbancia₄₂₀ 4,59.
- 15 5. La eliminación del color de la melanoidina (más proteína asociada) se desarrolló en el licor madre mediante un proceso de decoloración en tres fases que incluía el ajuste del pH entre las fases, mediante el contacto con una resina decolorante compatible con US-FDA (Alimentech A330).
- 20 Una resina de intercambio iónico comercialmente disponible en el mercado (Alimentech A330) se cicló varias veces con salmuera acidificada (10% p / v NaCl más del 0,5% p / v de HCl), agua, solución de sosa cáustica (4% p / v NaOH) y agua suavizada conforme a las instrucciones del proveedor (Bucher-Alimentech Limited) hasta cumplir con la FDA de EE.UU. Ch 21 CFR. 1,173.25. A partir de entonces unas cantidades alícuotas de 20 ml de la resina A330 compatible fueron trasferidas en tres columnas de cromatografía (Catálogo de marca No 566 32) y cada una se regeneró con 40 mL de salmuera cáustica, con control de flujo a 1.0 ± 0.2 mL / min, seguido de 140 ml de agua de aclarado desionizada con un flujo aumentado de 4 ± 1 mL / min. Las tres columnas se unieron entonces en secuencia con una dosificación y mezclado entre etapas entre la columna 1 y la columna 2, y otra entre la columna 2 y la 3, lo cual permitió la inyección controlada de ácido cítrico diluido (0,1 mol / L) para mantener un pH de $3,8 \pm 0,5$ en el licor madre pasando sucesivamente por las columnas decolorantes 2 y 3.
- 25 30 El licor madre tratado térmicamente y filtrado se bombeó de forma secuencial a través de las tres columnas decolorantes, se le proporcionó corrección del pH entre etapas, a los $2,0 \pm 0,2$. mL / min, seguido con agua desionizada de desplazamiento y el licor madre de color pajizo claro se recogió hasta que el dulzor fuese apenas perceptible al gusto.
- 35 El pH de la composición decolorada se ajustó a la baja hasta 3.8 con algunos cristales de ácido cítrico para obtener un jarabe de color amarillo pálido con 3,3% en p/p de sólidos solubles, Absorbancia₄₂₀ de 0,123. El ajuste del pH fue fundamental para inhibir la reversión de color en las etapas sucesivas de concentración y de secado.
6. Concentración, secado y molienda para obtener un sabor refinado suave, un edulcorante de color pálido que tiene un contenido en mogrosida V de más del 50% p / p.
- 40 **[0095]** El licor madre decolorado y de PH ajustado se evaporó hasta conseguir 28% en p/p de sólidos solubles en un Rotavapor (Buchi 111) al vacío (20 - 30 mm Hg) a 65°C . El líquido viscoso de color ámbar restante fue trasladado a un vaso y se secó en un horno de aire forzado (Clayson) a 65°C durante seis horas.
- [0096]** La fusión resultante se dejó solidificar a temperatura ambiente y luego fue molida a mano con un mortero hasta obtener un polvo fino que se devolvió al horno de aire forzado (65°C) y que se secó a una temperatura constante, proporcionando un polvo blanco, que contenía 54 % en p/p de mogrosida V. El pH y Absorbancia₄₂₀ de una solución al 1,00% p/p reconstituida en agua desionizada fueron de 4,0 y 0,064 respectivamente.
- 45 **Ejemplo 2**
- [0097]** 4,500 L de zumo de fruta de Luo Han Guo se extrajeron con agua caliente de 1,2 toneladas de fruta utilizando el método descrito en el ejemplo 1, refrigerada a continuación y almacenada a 0° hasta -3°C hasta su procesamiento. El zumo fue retirado del almacenamiento en lotes de 500 L y se calentó en una caldera de vapor abierta con camisa a $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$. El pH del zumo fue de 3 y 0,9 y dió 3,2% en p/p de sólidos solubles, (determinada por gravimetría).
- 50 1. Eliminación de sólidos en suspensión para evitar el cegamiento de la resina adsorbente de recolección.

- Una preparación de enzima pectinasa de propiedad (Novozym 33056) 100 ml se añadió a cada lote L 500 y la mezcla incubada se agitó suavemente durante 30 minutos hasta que se formó un copo y empezó a depositarse, momento en el cual la temperatura se elevó rápidamente a 85 ° C para terminar la actividad de la enzima y pasteurizar el zumo. El líquido fue entonces vertido en bombonas de polietileno compatible con alimentos de 50 L, tapadas, y se dejó enfriar. Una vez debajo de 65 ° C, el zumo se filtró hasta claridad óptica mediante el bombeo a través de un filtro de placa equipado con una doble capa de "papel filtro" adquirido localmente, superpuesta con tierra diatomea de "grano fino" adquirida localmente. La recuperación para cada lote varió entre 420 y 460 L de zumo de pH 3,9, ópticamente transparente, moderadamente marrón.
2. Concentración de mogrosidas mediante recolección en resina adsorbente conforme a la US-FDA.
- 10 Se prepararon 100 litros de resina adsorbente de copolímero de divinilbenceno disponibles comercialmente, (Alimentech P470), para su contacto con alimentos tal como se define en US FDA 21 CFR Ch.. 1, 173.65, en una columna de cromatografía de acero inoxidable de fabricación local, siguiendo las instrucciones del proveedor de la resina (Bucher-Alimentech Ltd).
- 15 Dos lotes del extracto filtrado de Luo Han, previamente preparados de acuerdo con la sección 1, se filtraron a través de la resina adsorbente bajo gravedad, a 55 5 ° C, variando el flujo entre 3 y 4 L / min dependiendo de la altura de la superficie libre. El zumo de Luo Han sin mogrosidas salió de la columna para ir a los desechos.
- 20 3. Desorción (incluyendo la purificación parcial) de las mogrosidas, a partir de la resina adsorbente impregnada mediante la aplicación de disolvente compatible con alimentos con concentración en aumento. Sin perturbar el contenido de la columna, el zumo residual de Luo Han se desplazó desde el interior de las perlas de resina y la columna se enfrió con 200 litros de agua potable de plantas con un flujo aumentado de 8 L / min.
- Todas las etapas posteriores de elución se llevaron a cabo con la tasa de flujo reducida a 6±2 L / min y a una temperatura ambiente (35±5 ° C). Cada eluyente alcohólico siguió inmediatamente el precedente, y se tomó la precaución de no dejar que la cabeza llegase al lecho de resina.
- 25 La concentración de etanol reciclado se ajustó de acuerdo a su gravedad específica medida por el hidrómetro. Las perlas de resina adsorbente estaban hinchadas y los fenólicos de fruta de bajo peso molecular débilmente atados se eludieron en dos etapas, la primera siendo de 50 L de etanol a 10% v / v, [gravedad específica a 20°C (s.g20) = 0.9865], y luego 50 L de 20 % v/v de etanol, [s.g20 0.9753]. Estas dos fracciones de pre-elución se recogieron, el etanol se recuperó para su reciclaje y los fondos acuosos residuales se desecharon. La mogrosida se eluyó entonces en tres etapas, primero en 100 L de etanol a 35% v / v, [s.g20 0.9572], relleno con 100 L de 42 % v/v de etanol, [s.g20 0.9479] y finalmente 100 L de 50 % v/v de etanol, [s.g20 0.9316]. Los tres eluyentes ricos en mogrosida se combinaron y el etanol se recuperó al vacío, para su reciclaje, empleando un alambique fabricado localmente, con una temperatura inicial de destilación de 65 ° C creciente en rampa hasta los 85 ° C. La resina adsorbente se regeneró posteriormente con 100 L de etanol a 80% v / v, [s.g20 0.8605], luego se aclaró con agua hasta quedar libre de alcohol. El etanol se destiló al vacío para su reciclaje y los fondos acuosos, que contenían residuos medibles de mogrosida, se devolvieron al principio del proceso de clarificación del lote siguiente, tal como se describe en la sección 1.
- 30 40 En una etapa adicional, la resina se desinfectó además mediante un lavado posterior para fluidificar la resina lavándola a flujo descendente con 200 l de solución CIP (2% p / v de sosa cáustica), después se aclaró con agua blanda, la cáustica residual se neutralizó con 50 L de solución de ácido cítrico 4% p / v y finalmente se aclaró con 500 litros de agua potable de planta, lo que permitió la reutilización de la resina para recoger lotes posteriores de licor madre rico en mogrosidas.
- 45 4. Tratamiento con calor para acelerar el desarrollo de melanoidina, promoviendo la aglomeración de los residuos de proteínas y de péptidos en el licor madre para facilitar su posterior absorción por la resina decolorante.
- Después de la recuperación del alcohol, la temperatura de la solución acuosa residual 200±40 L que quedaba en el alambique se elevó a 95 5 ° C durante una hora.
- El licor madre resultante, intensamente marrón y ligeramente turbio, se decantó en seis garrafones de 50 L que se taparon con un tapón y que se enfriaron durante unas dos horas parcialmente sumergidos en agua fría, donde después se determinó que la temperatura del licor madre permanecía por debajo de 50 ° C y era adecuada para la decoloración.
- 50 5. Eliminación del color de la melanoidina (más proteína asociada), desarrollada en el licor madre mediante el contacto con una resina decolorante compatible según FDA, utilizando un proceso de decoloración en dos etapas, que comporta un ajuste del pH entre las etapas.

Una resina de intercambio iónico disponible comercialmente (Alimentech A330) 25 L fue transferida en cada una de dos columnas de cromatografía de acero inoxidable idénticas, de fabricación local.

5 En su interior, la resina se cicló dos veces de acuerdo con las instrucciones del proveedor de resina (Bucher-Alimentech Limited) aplicando secuencialmente, 50 litros de salmuera cáustica (10% p / v de NaCl más el 2% p / v de NaOH), seguidos de un agua blanda de aclarado, luego de 50 L de solución de ácido cítrico (4% p / v de ácido cítrico) y, finalmente, de un aclarado con agua potable de planta, asegurando así el cumplimiento de la FDA de EE.UU. Ch 21 CFR. 1, 173.25. Cada columna de resina ahora compatible con A330 se regeneró con 50 litros de salmuera cáustica, con un flujo controlado de $1,0\pm 0,1$ L / min, seguidos por 150 L de agua potable de planta de aclarado con un flujo mayor, de 6 ± 1 L / min.

10 El licor madre tratado térmicamente y enfriado fue transferido bajo gravedad a través de una de las columnas decolorantes, (flujo de 3 ± 1 L / min), se recogió y se ajustó al pH a $3,8\pm 0,5$, luego se filtró a través de la segunda columna decolorante (flujo correspondiente de 3 ± 1 L / min). El licor madre que quedaba en las columnas se recuperó mediante el lavado de las columnas en secuencia con agua de planta de ósmosis inversa. El licor madre de color pajizo claro se recogió hasta que el dulzor fuese apenas perceptible al gusto. El pH de la composición decolorada al salir de la segunda columna decolorante se ajustó a $3,8\pm 0,5$ con cristales de ácido cítrico para obtener un jarabe de color amarillo pajizo pálido 300 ± 50 L. El ajuste del pH fue fundamental para inhibir la reversión de color en las etapas sucesivas de concentración y de secado.

6. Concentración y secado por atomización para obtener un edulcorante de sabor suave y de color pálido con un contenido en mogrosida V superior a 35% p/p.

20 **[0098]** El licor madre ajustado decolorado y ajustado al pH de cada par de lotes se evaporó a 16 - 25% p/p de sólidos solubles al vacío (40 - 60 mm Hg) a 85 ° C en un evaporador de una sola etapa construido localmente. Los concentrados de cada una de las cuatro y medio pares de lotes, los volúmenes individuales 3 a 5 L, se acumularon congelados hasta disponer del volumen suficiente para el secado por aspersión.

25 **[0099]** Tras la recolección de los 9 lotes, el compuesto concentrado de licor madre decolorado se descongeló y se secó por aspersión en los equipos fabricados en el país, proporcionando un polvo blanco, con un contenido en mogrosida de V 39% p/p y mogrosidas acumuladas 61% p / p. La solución de pH y de Absorbancia₄₂₀ de un 1,00% p/p reconstituida en agua desionizada fue de 3.7 y de 0.208 respectivamente.

Ejemplo 3

30 **[0100]** Se extrajeron 4, 500 L de zumo de fruta Luo Han Guo de agua caliente de 1,2 toneladas de fruta utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1.

1. Eliminación de sólidos en suspensión para evitar el cegamiento de la resina adsorbente de recolección. El zumo se filtró hasta claridad óptica bombeándolo a través de una unidad de ultrafiltración con membranas con un peso molecular de corte de 100 kDa. El permeado es un zumo amarillo pálido ópticamente claro.

35 2. Concentración de mogrosidas mediante recolección en resina adsorbente compatible según US-FDA. Se preparó una resina adsorbente de copolímero de divinilbenceno disponible comercialmente (Alimentech P470) para ponerla en contacto con alimentos tal como se define en US FDA 21 CFR Cap. 1, 173.65, en una columna presurizada de acero inoxidable fabricada localmente, siguiendo las instrucciones del proveedor de resina.

40 El extracto filtrado de Luo Han, previamente preparado de acuerdo con la sección 1, se bombeó a través de la resina adsorbente bajo presión a menos de 50 ° C, variando flujo entre 30 y 50 L / min. El zumo de Luo Han se efundió de la columna a desecho.

3. Desorción (incluyendo purificación parcial) de las mogrosidas de la resina adsorbente impregnada mediante la aplicación una concentración en aumento de un disolvente compatible alimentario. La desorción de la resina adsorbente impregnada se llevó a cabo de acuerdo con el proceso descrito en el ejemplo 2.

45 4. Tratamiento de calor para acelerar el desarrollo de melanoidina para promover la aglomeración de los residuos de proteínas y péptidos en las aguas madres facilitando su posterior absorción por la resina decolorante. Mediante el empleo de un alambique fabricado localmente, los eluyentes ricos en mogrosidas combinados de la etapa 3 se calentaron a 80 5 ° C durante dos horas.

50 El alcohol se recuperó y el licor madre resultante intensamente marrón y ligeramente turbio se enfrió durante aproximadamente una hora tras la cual se determinó que su temperatura estaba por debajo de 50 ° C y era adecuado para la decoloración.

5. La eliminación del color de melanoidina (más la proteína asociada), desarrollado en el licor madre por contacto con resina descolorante compatible según US-FDA, utilizando un proceso de decoloración de dos fases que incorpora una etapa intermedia de ajuste de pH. La decoloración de las aguas madres se llevó a cabo de acuerdo con el proceso descrito en el ejemplo 2.

5 6. Concentración y secado por atomización para obtener un edulcorante de sabor suave y color pálido con un contenido en mogrosida V de más de 35% w / w. El licor madre descolorado y con pH ajustado se evaporó hasta tener un 30% p/p de sólidos solubles en condiciones de vacío (40 - 60 mm Hg) a menos de 70 ° C en un evaporador construido simple fabricado localmente.

10 Tras la evaporación, el licor madre concentrado se secó por aerosol con un equipo fabricado localmente, proporcionando un polvo blanco apagado, contenido en mogrosidas V de 42% w / w. La Absorbancia a 420 de una solución al 1,00% p/p reconstituida en agua desionizada era de 0.1136.

Ejemplos 4-7

[0101] Otras composiciones edulcorantes de la presente invención se prepararon utilizando un método similar al descrito en el Ejemplo 1.

15 Ejemplo 8

[0102] 142 kg de zumo de fruta Luo Han Guo se extrajeron de 100 kg de fruta en un extractor a contra corriente continuo con una capacidad de 10 kg por hora a una temperatura de 98 2 ° Celsius. El zumo era de un color pajizo claro y presentaba 0 0,0% p/p de sólidos solubles, (determinado por gravimetría). Este zumo sería adecuado como materia de entrada para el proceso descrito en el ejemplo 3.

20 EJEMPLOS COMPARATIVOS

Ejemplo comparativo A

[0103] Una composición edulcorante seca que contenía mogrosidas se preparó a partir de fruta Luo Han Guo, utilizando el método descrito en la patente americana 6, 124, 442 (Zhou et al).

Ejemplo comparativo B

25 **[0104]** Una composición edulcorante seca que contenía mogrosidas se preparó a partir de fruta Luo Han Guo, utilizando el método siguiente.

- El fruto es aplastado / roto en tamaños irregulares.

- La fruta triturada se introduce directamente en una tolva que luego se llena de agua. El agua y la fruta se calientan a 100 grados.

30 • Contacto por difusión 40 minutos sin agitación. El líquido se filtra y se bombea en un tanque de retención.

- Hay dos extracciones adicionales (cada una con 1.5T de agua), de nuevo se filtra y se almacena el líquido resultante.

- Se lleva a cabo la cuarta (y última) extracción, y después de 40 minutos, el líquido se drena desde del recipiente.

35 • La fruta se extrae del recipiente y el líquido de la cuarta extracción se devuelve al recipiente, y se añade la siguiente carga de fruta.

- El sobrenadante se aclara por filtración, y el sobrenadante se bombea a las columnas de absorción (resina D101). Estas son de 3m de diámetro y 600 mm de altura. La profundidad del lecho es de aproximadamente 2.5m, dando una volumen de lecho de 700 L, lo cual es consistente con un volumen total de resina de ~3m³.

40 • La fracción de mogrosida eluida con etanol por etapas desde 10% a 95%. Recogida del eleuyente. Eluir la fracción mogrosida con etanol gradual de 10% -95%. Recogida de todos los eluyentes.

- Se destila y recupera el etanol.

- La solución eluida se bombea en las columnas de decoloración (resina AB-8)

- Reducir el volumen en veinte veces para formar un concentrado.

- Filtrar hasta liberar de sólidos insolubles y spray dry a 50-150 ° C.

Análisis de composiciones edulcorantes

5 **[0105]** El contenido de nitrógeno de las composiciones edulcorantes producidas con los procedimientos descritos en los ejemplos comparativos A y B y el Ejemplo 3 se determinaron utilizando procedimientos analíticos estándar: Para los ejemplos A y B: laboratorios Hills - Combustión catalítica (900 ° C, O₂), separación, Detector de conductividad térmica, [Elementar VarioMAX Analyser]; para el ejemplo 3: NZ Labs- AOAC 992.15, y se muestran más abajo:

Nitrógeno total para el ejemplo comparativo A era de 4.86 %.

Nitrógeno total para el ejemplo comparativo B era de 3.54 %.

Nitrógeno total para el ejemplo 3 era de 1.75%.

10 **[0106]** Las composiciones edulcorantes de los ejemplos 1 a 6 y ejemplos comparativos A y B se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para determinar los porcentajes de los glicósidos triterpénicos individuales y los glicósidos triterpénicos totales en las composiciones. El método HPLC utilizado se describe a continuación por separado. El color de las composiciones también se evaluó mediante el registro de la absorbancia a 420 nm de una solución con 1% p / v de sólidos totales de las composiciones en agua desionizada y a continuación una filtración a través de membrana de 0.2 µm. Los resultados de los análisis se recogen en la tabla 1.

Tabla 1

Análito	Ejemplo compartivo A	Ejemplo compartivo B	Ejemplo 5	Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4
Color (Absorbancia de una solución 1% p/v a 420 nm AU)	1.064	0.848	0.510	0.129	0.189	0.064	0.208	0.1136	0.254
Mogrosida V % p/p ¹	33.2	37.2	16.1	33.1	26.2	54.1	39.0	42.0	38.0
Σ Mogrosidas % p/p1	47.5	56.2	61.2	61.3	57.2	80.1	60.6	62.0	58.6

1. Los valores de mogrosida V y otros glicósidos triterpenos se presentan en porcentaje p/p todos calculados como equivalentes mogrosida V en polvo seco (85°C durante 2 horas)

Procedimiento HPLC para la cuantificación de mogrosida V e intento de identificación de otros siete glicósidos triterpénicos con contenido abundante en el extracto de Luo Han Guo.

5 **[0107] Referencia:** traducción de un documento chino superficial co-escrito por el Dr. Wei He Ping, (de Guilin Shili Corporation), que describe en términos generales el procedimiento HPLC para cuantificar mogrosida V en Shili. El procedimiento especifica una columna amino Shodex Asahipak y mediante esta se prevé que será una adaptación del procedimiento desarrollado por el Dr. Takekimatsuhar, (Universidad de Dedoa, Japón), empleado para preparar mogrosida V purificada, (una traducción no disponible actualmente).

10 **[0108] Estándares:** una muestra cristalina purificada de mogrosida V, (Con 95.1% p/p certificado, análisis por HPLC), aislada de fruta Luo Han, Momordica grosvenori Swingle, fue amablemente donada por Guilin Bio-GFS Company Limited. Se proporcionó material certificado (95.1 g de mogrosida V / 100 g) se adoptó como estándar principal para todos los otros glucósidos triterpénicos diagnosticados tentativamente mediante aplicación de un coeficiente de extinción en masa equivalente.

15 [Se identificaron glucósidos triterpénicos, (que no sea mogrosida V), tentativamente por su huella de absorbancia de ultravioleta de fotiodo (UV), obtenida en el vértice del pico eluido, comparada con la huella estándar UV de la mogrosida V].

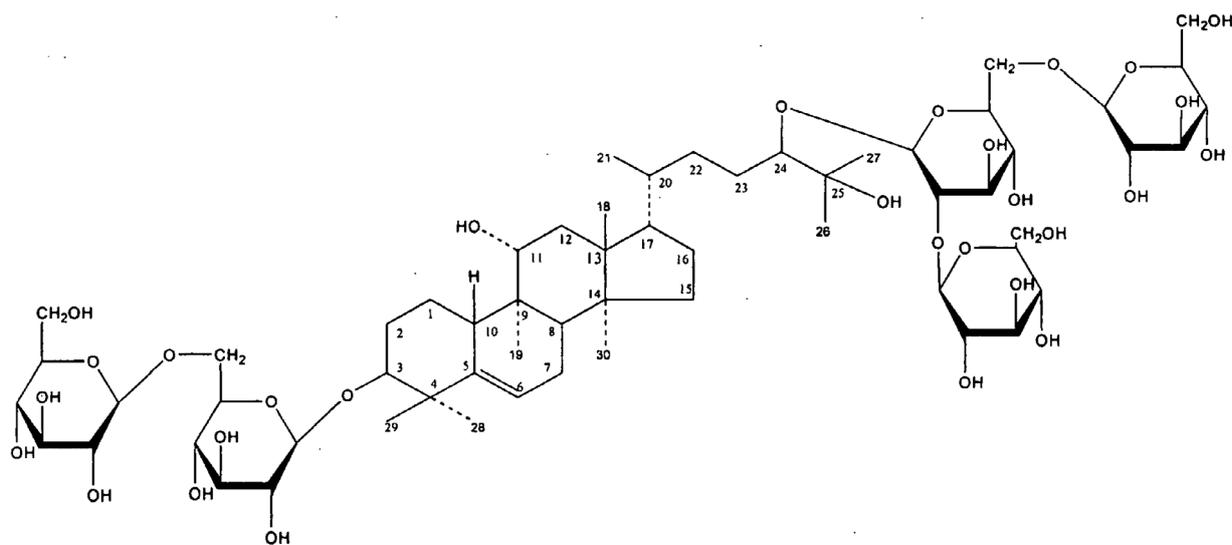
[0109] Estándar primario: aproximadamente 25 mg de mogrosida V cristalina secada (65 ° C durante 2 horas) se pesó con exactitud precisión con una balanza analítica con una precisión de 0,1 mg.

20 **[0110]** La mogrosida V cristalina (23.7 mg) resultante fue transferida a un matraz volumétrico de 50 ml, se disolvió en 15 ml de metanol para cromatografía y llevado a 50.00 mL con 3mM de ácido fosfórico acuoso. La concentración corregida de mogrosida V en el estándar resultante se ajustó de acuerdo con la proporción registrada en el certificado, (por ejemplo, 474 x 0.951 = 450 mg / L). La mogrosida V estándar resultante de 450 mg / L se halló estable durante tres meses al almacenarse a temperatura ambiente.

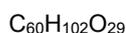
25 **[0111]** Se prepararon dos estándares adicionales de mogrosida V a 50 mg / L y 200 mg / L V diluyendo en serie con el estándar primario con la fase móvil "C" para permitir el desarrollo de la curva de calibración HPLC con tres puntos. Detección de mogrosida V:

30 **[0112]** Los glucósidos triterpénicos no poseen realmente cromóforo de modo que la cuantificación utiliza la absorbancia UV inane atribuible a tronco de carbono de la mogrosida común, monitorizado aquí por el canal 1 ajustado a 205 nm con un ancho de banda de 8 nm. El flujo de elución HPLC fue investigado adicionalmente a 254 nm, 285 nm y a 345 para realizar la identificación y la estimación de pureza de los picos de mogrosida, además de ofrecer una casi clasificación de la mogrosida no prevalente, picos principalmente flavonoides, que absorben fuertemente en las longitudes de onda mencionadas.

Estructura de mogrosida V sobre la que se informa:



mogrosida V



con 1286 g. mol^{-1} de peso molecular, más dos aguas de cristalización

Preparación de la muestra:

5 [0113] El extracto de Luo Han, o concentrado reconstituido, se llevó a temperatura ambiente y se permitió que los componentes solubles se re-distribuyeran de la pulpa durante ~ 2 horas con agitación ocasional. Aquellas muestras con alto contenido de pulpa fueron se centrifugaron a continuación para reducir la carga sobre el medio de filtración.

10 [0114] A partir de entonces los extractos pulposos o turbios se filtraron hasta claridad óptica a través de un filtro de jeringa de membrana de acetato de celulosa de $0,2 \mu\text{m}$ equipado con un prefiltro de profundidad Whatman GFB. Las primeras 5 gotas de filtrado fueron descartadas ya que pueden quedar vacías de mogrosidas menos hidrófilas debido a la absorción en el medio filtrante. Aproximadamente 6 ml de la muestra filtrada posteriormente se recogió para su dilución para proporcionar una concentración de mogrosida V de entre 50 y 500 mg / L en la muestra analizada directamente inyectada en el HPLC. Cualquier dilución se hizo con la fase móvil "C", (definida más abajo), y por lo general fue de 2 a 5 veces.

15 [0115] La claridad del filtrado diluido se comprobó inmediatamente antes de la inyección para asegurarse de que seguía siendo ópticamente transparente ya que los extractos Luo Han comerciales filtrados a $0.2 \mu\text{m}$ contienen suficientes pectatos oligoméricos residuales para volver a nebulizarse en la dilución de disolvente. Siempre que fuera necesario, la muestra inyectada se volvió a filtrar a través de una membrana (PTFE) de 4 mm de diámetro desechable resistente a los disolventes. *(Los extractos de filtración difícil pueden requerir ayudas de filtro adicionales. Antes de la aplicación de una enzima pectinasa ácida comercial para reducir la viscosidad y desestabilizar la pulpa, hay que asegurarse de que la preparación de la enzima elegida contiene actividad lateral insignificante capaz de hidrolizar las fracciones de glucosa, alterando así las proporciones relativas de glucósidos triterpénicos detectados).*

20

Instrumentación:

25 [0116] Todos los análisis se realizaron en una unidad de cromatografía líquida Shimadzu Clase VP con capacidad de gradiente cuaternario y un detector de fotodiodos D2. Los parámetros específicas de definición del aparato Shimadzu se recopilan a continuación.

Condiciones cromatográficas para la separación de gradiente binario:

[0117]

Disolvente A: acetonitrilo 1% de volumen en agua, para purgar el aparato HPLC.

Disolvente B: acetonitrilo 5% en volumen en ácido fosfórico acuoso, 3 mmol en total con disolvente.

30 Disolvente C: acetonitrilo 40% en volumen en ácido fosfórico acuoso, 3 mMol en disolvente total.

Disolvente D: metanol al 100% para humedecer la columna de fase inversa y descarga de agua para la restauración de la cuenta teórica de meseta.

[0118] Todos los solventes acuosos se pre-filtraron a través de un filtro de jeringa desechable de membrana de celulosa hidrofílica de $0.2 \mu\text{m}$, antes de la adición al disolvente de alimentación de la HPLC.

35 Procedimiento: mogrosida V.met

Bomba: 1.0 mL/min, suma de los componentes del gradiente binario.

Mezclador: Mezclador estático de baja presión con 0.5 ml de volumen de retención.

Bucle de Inyección: Rheodyne 20 μL

Columna de reserva: Re-condensable, Adsorbosfera C18, $5 \mu\text{m}$, 10 mm.

40 Columna: Allsphere Hexyl $5 \mu\text{m}$, C6, 4.6 x 250 mm.

Horno de columna: 35 °C

Tiempo de ejecución: 62.05 minutos

[0119] Tiempo promedio de retención y factores de respuesta aplicados:

ES 2 377 324 T3

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Ventana (min)	Factor de respuesta
Fenólico A	24.2	2.4	3.48996×10^{-5}
Fenólico B	25.5	2.5	3.48996×10^{-5}
Fenólico C	26.3	2.6	3.48996×10^{-5}
Glicósido triterpénico I	32.4	3.2	2.16732×10^{-4}
Mogrosida V	33.3	3.3	12.16732×10^{-4}
Glicósido triterpénico II	34.8	3.5	2.16732×10^{-4}
Glicósido triterpénico III	35.4	3.5	2.16732×10^{-4}
Glicósido triterpénico IV	36.2	3.6	2.16732×10^{-4}
Glicósido triterpénico V	41.1	4.1	2.16732×10^{-4}
Glicósido triterpénico VI	43.7	4.3	2.16732×10^{-4}
Glicósido triterpénico VII	44.1	4.4	2.16732×10^{-4}

1. Este factor de respuesta es la respuesta promedio de la curva de calibración de tres puntos desarrollada con el estándar mogrosida V certificada 95,1%. El resto de los factores de respuesta de Glicósidos triterpénicos han sido asignados sobre la premisa de que presentaban un coeficiente de extinción en masa idéntico a la mogrosida V. Las mogrosidas totales que se muestran en la tabla 1 también se calcularon utilizando esta misma premisa

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Composición edulcorante, conteniendo la composición desde aproximadamente 16% a aproximadamente 75% de mogrosida V y desde aproximadamente 30% a aproximadamente 95% con respecto al total de glicósidos terpénicos sobre una base de peso seco, y en la cual una solución filtrada (0.2 μm) de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v tiene una absorbancia a 420 nm de aproximadamente 0.55 o inferior.
- 2.** Composición según la reivindicación 1, en la que los glicósidos terpénicos en la composición son glicósidos terpénicos que se producen de forma natural obtenidos de la fruta de la familia Cucurbitaceae, preferentemente de la fruta de Luo Han Guo.
- 10 **3.** Composición según la reivindicación 1, en la que sustancialmente todos los componentes sólidos de la composición se obtienen de la fruta de Luo Han Guo.
- 15 **4.** Composición según la reivindicación 1, en la que la composición contiene desde aproximadamente 20% a aproximadamente 70% de mogrosida V y desde aproximadamente 40% a aproximadamente 90% con respecto al total de glicósidos terpénicos, sobre una base de peso seco, preferentemente desde aproximadamente 30% a aproximadamente 65% de mogrosida V y desde aproximadamente 50% a aproximadamente 85% con respecto al total de glicósidos terpénicos, sobre una base de peso seco, más preferentemente desde aproximadamente 35% a aproximadamente 60% de mogrosida V y desde aproximadamente 55% a aproximadamente 85% con respecto al total de glicósidos terpénicos, sobre una base de peso seco y más preferentemente desde aproximadamente 40% a aproximadamente 55% de mogrosida V y desde aproximadamente 60% a aproximadamente 80% con respecto al total de glicósidos terpénicos, sobre una base de peso seco.
- 20 **5.** Composición según la reivindicación 1, en la que la absorbancia a 420 nm de una solución filtrada (0.2 μm) de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v es menor que aproximadamente 0.5, preferentemente menor que aproximadamente 0.4, más preferentemente menor que aproximadamente 0.35, y más preferentemente que aproximadamente 0.3.
- 25 **6.** Composición según la reivindicación 1, en la que la absorbancia a 420 nm de una solución filtrada (0.2 μm) de la composición en agua que tiene un contenido en sólidos de 1% p/v va desde aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.25.
- 7.** Composición según la reivindicación 1, en la que la composición es un polvo, o un líquido.
- 8.** Composición según la reivindicación 7, en la que la composición es una solución acuosa.
- 9.** Composición edulcorante que comprende:
- 30 (a) un primer componente como el reivindicado en la reivindicación 1; y
- (b) uno o más componentes adicionales, preferentemente seleccionados del grupo que consiste en agentes colorantes, agentes aromatizantes y otros agentes edulcorantes.
- 10.** Composición según la reivindicación 9, en la que sustancialmente todos los componentes sólidos del primer componente se derivan de la fruta de la familia Cucurbitaceae, preferentemente la fruta de Luo Han Guo.
- 35 **11.** Utilización de una composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores como edulcorante en una bebida, un producto alimenticio o de salud.
- 12.** Procedimiento para preparar una composición edulcorante como la reivindicada en la reivindicación 1, comprendiendo el procedimiento las siguientes etapas:
- 40 (a) obtener un extracto líquido que contiene un glicósido terpénico de un material de fuente de planta fresca que contiene glicósidos terpénicos;
- (b) (b) aclarar el extracto;
- (c) (c) concentrar los glicósidos terpénicos en el extracto para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos purificada;
- 45 (d) (d) calentar la solución que contiene glicósidos terpénicos purificada a una temperatura suficiente y durante suficiente tiempo para formar melanoidinas; y
- (e) (e) separar las melanoidinas de los glicósidos terpénicos en la solución para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada.

13. Procedimiento según la reivindicación 12, en el que la etapa (a) comprende poner en contacto la fruta de Luo Han Guo macerada con agua caliente, durante un tiempo suficiente y una temperatura suficiente para extraer glicósidos triterpénicos de la fruta, en la que la extracción se lleva a cabo empleando una extracción a contracorriente.
- 5 14. Procedimiento según la reivindicación 12, en la que la etapa de aclarado (b) comprende la ultrafiltración del extracto.
15. Procedimiento según la reivindicación 12, en el que la etapa (d) comprende calentar la solución que contiene glicósidos terpénicos purificada a una temperatura de aproximadamente 80°C a aproximadamente 120°C, durante un periodo de tiempo suficiente para formar melanoidinas.
- 10 16. Procedimiento para preparar una composición edulcorante como el reivindicado en la reivindicación 1, de un material de fuente de planta fresca que contiene glicósidos terpénicos, **caracterizado por el hecho de que** el procedimiento incluye las etapas de: (a) calentar una solución que contiene glicósidos terpénicos a una temperatura suficiente y durante suficiente tiempo para formar melanoidinas; en la que la solución que contiene glicósidos terpénicos se ha obtenido mediante un procedimiento que comprende las etapas de extraer glicósidos terpénicos del material de fuente de planta y a continuación aclarar la solución retirando las pectinas y las proteínas; (b) separar las melanoidinas de los glicósidos terpénicos en el extracto para obtener una solución que contiene glicósidos terpénicos descolorada.
- 15