

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 259**

51 Int. Cl.:

C12P 19/04 (2006.01)
A21D 2/18 (2006.01)
A21D 8/04 (2006.01)
A21D 10/00 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)
A23L 1/105 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.05.2011 E 11718043 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2013 EP 2429303**

54 Título: **Composiciones ricas en oligosacáridos de arabinoxilano**

30 Prioridad:

03.05.2010 FR 1001893

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

19.11.2013

73 Titular/es:

**PURATOS N.V. (100.0%)
Industrialaan 25
1702 Groot Bijgaarden, BE**

72 Inventor/es:

**LACAZE, GUYLAINE;
TROGH, ISABEL;
GENOT, BERNARD y
ARNAUT, FILIP**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 430 259 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 ricas en oligosacáridos de arabinosilano

5 Campo de la invención

La invención se refiere a composiciones para aplicaciones alimentarias más particularmente adecuadas para productos horneados.

10 Más particularmente, la invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición líquida que tiene un alto contenido de oligosacáridos de arabinosilano (AXOS), al producto que puede obtenerse por este procedimiento, y a su utilización en aplicaciones alimentarias, en particular, en los productos horneados.

15 Antecedentes de la invención y estado de la técnica

Los beneficios para la salud atribuidos a los prebióticos incluyen el aumento de la solubilidad y biodisponibilidad de los minerales (por ejemplo, calcio, magnesio, hierro, cinc), la supresión de bacterias potencialmente patógenas en el colon, reducción de las concentraciones de triglicéridos y colesterol en la sangre, la estimulación de la respuesta de saciedad, la mejora del tránsito de las heces, la reducción del riesgo de cáncer de colon, etc.

20 El arabinosilano (AX), también conocido como pentosano, es un polisacárido sin almidón y el constituyente principal de los granos de cereales.

25 Se ha demostrado que los AXOS (oligosacáridos de arabinosilano) tienen propiedades prebióticas (documento WO 2006/002495).

Los AXOS pueden ser producidos por la acción de endoxilasas y/o productos químicos y/o por tratamiento físico en AX, tales como el AX presente en los cereales. La producción de fragmentos de AX más cortos mediante la acción de endoxilasa en AX ya se produce en un grado limitado durante la elaboración comercial actual de productos de panadería y pastelería (productos horneados), cuando se añaden endoxilasas durante la etapa de mezclado.

30 Sin embargo, debido a las bajas dosis de endoxilasas utilizadas en la elaboración comercial de productos de panadería y pastelería, las concentraciones de AXOS en los productos actuales de panadería y pastelería no son suficientemente altas como para ejercer efectos prebióticos beneficiosos tras la ingestión de una parte normal de dicho producto, y por otra parte, el GP promedio es demasiado alto para que los AXOS ejerzan su efecto prebiótico óptimo.

35 Todos los procedimientos y procesos descritos en la técnica anterior dan a conocer la disolución parcial y/o la hidrólisis de AX presente en el sustrato utilizado o en la formulación (masa).

En los seres humanos, los efectos fisiológicos deseados, tales como el aumento en el número de bifidobacterias presentes en las heces, la reducción de la excreción de amoníaco por la orina y el aumento de la excreción a través de las heces, se observan a altas dosis de ingesta diaria.

45 Para conseguir una alta concentración de AXOS destinada a ejercer el efecto prebiótico que es posible utilizar una cantidad sustancial de materia prima que contiene AX tratada con enzimas.

50 Por ejemplo, el documento WO 2008/087167 describe un procedimiento para aumentar la concentración de AXOS en un producto horneado con un GP medio de 5 a 50 que comprende una etapa de preparación de una masa con harina que tiene un contenido total de AX de por lo menos 2,5% y una etapa de adición a la masa de una endoxilasa termófila en una cantidad relativamente alta. Sin embargo, este enfoque se limita al producto horneado que contiene harina sin refinar y/o fracciones de molienda enriquecidas en el salvado, lo que puede perjudicar la preferencia del consumidor por dichos productos.

55 Se han descrito preparaciones de AXOS purificadas o semipurificadas. Sin embargo, sus costos hacen que su utilización antieconómica en aplicaciones alimentarias tal como el horneado.

60 Por otra parte, debido a la viscosidad de los productos enriquecidos en AXOS obtenidos después del tratamiento enzimático, no es posible obtener productos en una forma anhidra/en polvo utilizando el equipo habitual de la industria alimentaria/ de ingredientes alimenticios.

65 Por tanto, resultan necesarios nuevos productos o procedimientos capaces de proporcionar grandes cantidades de AXOS con un GP inferior a 50 de manera económica.

Sumario de la invención

Un aspecto de la presente invención es un procedimiento para preparar una composición líquida que tiene un contenido de oligosacáridos de arabinoxilano (AXOS) superior al 8% (p:p materia seca), preferentemente superior a 9, 10, 11, 12 o incluso 13 por ciento en peso de materia seca, presentando dicho AXOS un grado medio de polimerización (GP) comprendido entre 5 y 50, preferentemente entre 5 y 35, aún más preferentemente entre 5 y 25, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- proporcionar una mezcla acuosa que comprende una fracción o fracciones de molienda de granos (o consistente en una fracción o fracciones de molienda de granos y agua);
- fermentar dicha mezcla con bacterias ácido lácticas, o tanto con bacterias ácido lácticas como con levaduras;
- incubar dicha mezcla con una endoxilanasas, preferentemente un endoxilanasas exógena, para hidrolizar el arabinoxilano de dicha fracción o fracciones de molienda de granos.

Preferentemente, la fracción o fracciones de la molienda de granos utilizada en el procedimiento de la presente invención comprende(n) (o es/son) fracción o fracciones de la molienda de granos de cereales, preferentemente salvado de cereales, más preferentemente salvado de centeno o salvado de trigo.

Preferentemente, el contenido de arabinoxilano inicial de la fracción o fracciones de la molienda de granos es superior a 10%, preferentemente superior al 15% (p:p; materia seca).

El presente procedimiento comprende posiblemente además una etapa de pasteurización.

Ventajosamente, la etapa de incubación y la etapa de fermentación del procedimiento de la invención se llevan a cabo de forma concomitante (es decir, al mismo tiempo o simultáneamente).

Alternativamente, la etapa de incubación se lleva a cabo antes de la etapa de fermentación.

Sin embargo, alternativamente, la etapa de incubación se lleva a cabo después de la etapa de fermentación.

Ventajosamente, la etapa de incubación y la etapa de pasteurización se realizan de forma concomitante y preferentemente la endoxilanasas (que actúa de manera óptima durante la etapa de incubación) es un endoxilanasas termoestable.

Preferentemente, la etapa de incubación se lleva a cabo a una temperatura de 10°C más alta o más baja que la temperatura óptima de la enzima utilizada, más preferentemente a la temperatura óptima de la enzima utilizada.

Posiblemente, el presente procedimiento comprende además una etapa de secado de la composición resultante, en particular, obtenido después de las etapas de fermentación, incubación (y, opcionalmente, pasteurización).

Un aspecto relacionado de la presente invención es la composición líquida que comprende:

- fracción o fracciones de molienda de granos fermentados,
- bacterias ácido lácticas y posiblemente/opcionalmente levaduras,
- endoxilanasas,

presentando dicha composición un contenido de oligosacáridos de arabinoxilano (AXOS), superior al 8% (p:p, materia seca), siendo dicho AXOS liberado (o extraído) mediante enzimas de dicha fracción o fracciones de molienda de granos, y teniendo dicho AXOS un grado medio de polimerización (GP) comprendido entre 5 y 50.

Preferentemente, la composición de la invención tiene un contenido de AXOS superior al 10 por ciento en peso de la materia seca, más preferentemente superior al 11, 12 o incluso 13% en peso de materia seca.

Preferentemente en esta composición, la fracción o fracciones de la molienda de granos fermentados comprende(n) (o es/son) fracción o fracciones de la molienda de granos de cereal fermentados, preferentemente salvado de cereal fermentado, más preferentemente salvado de centeno fermentado o salvado de trigo fermentado.

Más preferentemente, la composición de la presente invención tiene un contenido de materia seca superior al 18%, aún más preferentemente superior al 20%.

Preferentemente, la composición de la presente invención tiene un pH ácido, preferentemente un pH comprendido entre aproximadamente 2,9 y aproximadamente 4,2, preferentemente entre aproximadamente 3,0 y 4,0, más

preferentemente entre aproximadamente 3,1 y 3,8.

5 Ventajosamente, la composición de la presente invención tiene una viscosidad (dinámica) inferior a aproximadamente 150 Pa s (150.000 centipoises; cP), preferentemente inferior a 100 Pa s (100.000 cP), más preferentemente inferior a aproximadamente 35 Pa s (35.000 cP), aún más preferentemente inferior a aproximadamente 10 Pa s (10.000 cP).

Ventajosamente, la viscosidad (dinámica) de la composición se mide a 30°C.

10 Posiblemente, la viscosidad (dinámica) de la composición se mide utilizando el viscosímetro Brookfield DV-II+ con un husillo giratorio LV4 a 1,5 rpm.

Posiblemente, la composición de la presente invención está pasteurizada y/o seca.

15 Ventajosamente, el AXOS obtenido por el procedimiento de la invención y/o el AXOS presente en la composición de la invención tienen un GP medio comprendido entre 5 y 35, y aún más preferentemente comprendido entre 5 y 25.

Más preferentemente, el GP promedio de los AXOS es el GP medio.

20 Ventajosamente, el contenido de agua de la mezcla acuosa del presente procedimiento o de la presente composición, está comprendido entre aproximadamente 90% y 40% (p/p) (correspondiente a una materia seca comprendida entre aproximadamente 10% y 60%), más preferentemente entre aproximadamente 82% y 50% (correspondiente a una materia seca comprendida entre aproximadamente 18% y 50%), aún más preferentemente entre aproximadamente 80% y 60% (correspondiente a una materia seca comprendida entre aproximadamente 20% y 40 %), y aún más preferentemente entre 80% y 70% (correspondiente a una materia seca comprendida entre aproximadamente 20% y 30%).

25 Ventajosamente, el pH de la presente composición es ácido, preferentemente está comprendido entre aproximadamente 2,9 y aproximadamente 4,2, más preferentemente entre aproximadamente 3,0 y 4,0, aún más preferentemente entre 3,1 y 3,8.

30 Preferentemente, las bacterias ácido lácticas utilizadas en el procedimiento de la invención, o que se encuentran en la composición de la invención son *Leuconostoc* o lactobacilos, preferentemente seleccionado del grupo que consiste en *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sanfranciscensis* y *Lactobacillus reuterii*, siendo más preferentemente *Lactobacillus plantarum*.

35 La levadura preferida utilizada en el presente procedimiento y/o parte de la presente composición es *S. cerevisiae*.

40 Ventajosamente, la endoxilanasas del procedimiento y de la composición es una endoxilanasas termoestable, posiblemente derivada de las especies fúngicas o bacterianas. Más especialmente, dicha endoxilanasas es una composición que comprende uno o más enzima(s) (purificada(s) o parcialmente purificada(s)) que presenta actividad endoxilanolítica.

45 Otro aspecto de la presente invención es una premezcla o una mezcla completa que comprende esta composición.

La presente invención se refiere además a la utilización de la composición como masa fermentada o como un producto de masa fermentada y/o para la elaboración de productos horneados.

50 Descripción detallada de la invención

Se ha descubierto un procedimiento y una composición que supera las limitaciones de la técnica anterior.

55 En general, AX de cereales consiste en un esqueleto de restos de D-xilopiranosil (xilosa) unidos a beta-(1-4), algunos de los cuales están mono- o disustituidos con restos de alfa-L-arabinofuranosil (arabinosa). Además, otros sustituyentes, tales como el ácido ferúlico, el ácido cumárico, ácido acético o ácido (metil)glucurónico, pueden acoplarse a algunos de los restos de xilosa y/o de arabinosa de AX.

60 AX se puede dividir en cualquiera de AX extraíble en agua (WE-AX) y AX no extraíble en agua (WU-AX), ambos de los cuales tienen una estructura similar, pero difieren en el nivel de reticulación con otros polímeros naturales.

65 Las concentraciones de AX en los cereales varían en función de las especies de plantas, de los parámetros genéticos y ambientales, y del tipo de fracción de la semilla del grano. La harina de trigo y de centeno contienen un total de aproximadamente 1% a 3% y 3 a 5% de AX, respectivamente. En las fracciones de salvado, los contenidos totales de AX oscilan entre el 12% y el 22% y entre el 12% y el 15%, respectivamente (Gebruers *et al.*, 2008, *J. Agric Food Chem.* 56, pág. 9740; Nyström *et al.*, 2008, *J. Agric. Food Chem.* 56, pág. 9756).

Más especialmente, se ha desarrollado una composición líquida rica en AXOS y un procedimiento para obtener dicha composición líquida rica en AXOS de una fuente rica en AX, con un GP inferior a 50 y tiene una viscosidad aceptable.

5 En el contexto de la presente invención, el "componente rico en AX" o "fuente rica en AX" se refiere a cualquier grano, o cualquier fracción de molienda de granos, incluyendo salvado, harina, harina de cereal integral, que contiene 10% o más del 10% de AX (p/p de materia seca).

10 El término "grano", en el contexto de la presente invención, se refiere a las semillas de una planta, tal como, pero sin limitarse a cereales o pseudocereales, con o sin restos del fruto y con o sin restos de la flor.

15 El término "cereal", en el contexto de la presente invención, se refiere a plantas de la familia botánica de las *Poaceae*, que comprenden de manera no limitativa especies tales como el trigo, cebada, avena, escanda, centeno, sorgo, maíz, tritical, mijo, teff y arroz.

Los pseudocereales son plantas de hoja ancha (no gramíneas) que tienen una composición química similar y de forma de utilización similar como cereales. Son ejemplos de pseudocereales el amaranto, quinoa y trigo sarraceno.

20 El término "fracción de molienda" o "fracción de molienda de granos", en el contexto de la presente invención, se refiere a la totalidad o parte de las fracciones resultantes de la reducción mecánica del tamaño de los granos, mediante, como ejemplos, pero sin limitarse a, corte, enrollado, triturado, rotura o molienda, con o sin fraccionamiento, mediante, a modo de ejemplo pero sin limitarse a, tamizado, cribado, tamizado, soplado, aspiración, tamizado centrífugo, separación por aire, separación electrostática, o la separación de campo eléctrico.

25 El término "salvado" en el contexto de la presente invención, se refiere a una fracción de molienda que comprende de aleurona y/o pericarpio como fracción principal, o preferentemente que comprende principalmente de aleurona y/o pericarpio.

30 Posiblemente, este salvado que comprende como fracción principal, o principalmente aleurona y/o pericarpio, puede comprender además cualquier o todos los tejidos seleccionados de entre el grupo que consiste en los sépalos, pétalos, epidermis nucelar y testa.

35 El salvado utilizado en la presente invención puede ser extruido o granulado, seguido de molienda o de cualquier otra forma de homogeneización física.

Ventajosamente, la fracción o fracciones de la molienda, y más especialmente el salvado utilizado en la presente invención tiene(n) un contenido de AX endógeno de por lo menos 10% (p:p), preferentemente de por lo menos 15% (p:p) en materia seca.

40 El término "masa fermentada" en el contexto de la presente invención se refiere a una masa fermentada por bacterias ácido lácticas y, posiblemente, de levadura, que tiene un sabor ácido característico debido a la producción de ácido láctico y/o ácido acético por las bacterias ácido lácticas, y algunos componentes menores, así como aromas dominantes del sabor típico producidas por la levadura, si está presente.

45 El término "producto de masa fermentada" se refiere a la masa fermentada como se ha definido anteriormente, que está estabilizada en una u otra manera (p. ej., por secado, pasteurización, enfriamiento, congelación,...) de manera que este producto puede añadirse a una masa uniforme, sustituyendo de este modo la fermentación previa producida en la panadería.

50 El término "células vivas" o "cultivo iniciador" en el contexto de la presente invención se refiere a bacterias ácido lácticas vivas y opcionalmente levaduras que se utilizan para la etapa de fermentación.

55 Preferentemente, las bacterias ácido lácticas se seleccionan de entre las bacterias que forman ácido tales como *Leuconostoc* o lactobacilos, preferentemente seleccionadas de entre el grupo de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sanfrancisciensis* y *Lactobacillus reuterii*.

Las cepas de levadura se seleccionan ventajosamente de entre *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces exiguus*.

60 Los inóculos pueden encontrarse en forma anhidra o líquida antes de ser utilizados. Los inóculos anhidros pueden rehidratarse antes de su utilización, por ejemplo poniendo en suspensión el inóculo en agua que contiene azúcar y sal.

65 En el contexto de la presente invención, el término "endoxilanasas" se refiere a una enzima o una mezcla de enzimas que es/son capaces de hidrolizar enlaces internos glucosilo que unen restos de xilosa en polisacáridos que contienen xilosa. Dichos enlaces de glucosilo pueden ser, por ejemplo, el enlace beta 1,4-glucosilo en unidades de

beta-D-xilopiranosil-1,4-beta-D-xilopiranosilo de dichos polisacáridos.

Las endoxilanasas proceden preferentemente de hongos (p. ej., especies de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Disporotrichum*, *Neurospora*, *Fusarium*, *Humicola*, *Trichoderma*) o especies bacterianas (p. ej., especies de *Bacillus*, *Aeromonas*, *Streptomyces*, *Nocardiopsis*, *Thermomyces*, *Thermotoga*, *Thermomonospora*, *Nonomuraea*, *Pseudoalteromonas*) (véase, por ejemplo, los documentos WO 92/17573 , WO 92/01793, WO 91/19782, WO 94/21785).

Los preparados de endoxilanasas purificadas o parcialmente purificadas comercialmente disponibles incluyen Belase™ B210, Belase™ B218 (Puratos); Shearzyme™, trigo bioalimentado™, Pentopan™ Mono BG, Pentopan™ 500 BG y Pulpzyme™ (Novozymes); Ecopulp™, Rohament GE™, Veron HTX™, Veron™ 191 y Veron™ Special (AB Enzymes); endoxilanasas Multifect™, Multifect™ 720, Spezyme™ CP, Grindamyl™ H640 y Grindamyl™ Powerbake™ (Danisco).

La actividad endoxilanasas se puede determinar por procedimientos bien conocidos en la técnica.

Particularmente adecuado es un procedimiento que utiliza la propiedad de endoxilanasas para hidrolizar xilano como sustrato. La reacción de hidrólisis libera azúcares reductores que causan un color típico que se desarrolla por reacción con el ácido dinitrosalicílico (DNS). La intensidad del color a 570 nm es directamente proporcional a la actividad de endoxilanasas en la muestra. Una UI (unidad internacional) de endoxilanasas se define como la cantidad de enzima que libera 1 μmol de azúcares reductores (como equivalente de xilosa) por minuto a partir de xilano de madera de abedul en las condiciones de la prueba.

Un procedimiento alternativo es el procedimiento Azo-Xylan (Megazyme, Irlanda). El sustrato es xilano de Azo-oat, un xilano de avena purificada teñida con azul Remazobrilant R. La hidrólisis por endoxilanasas produce fragmentos de colorante hidrosoluble liberado después de la precipitación con etanol del sustrato no hidrolizado. La velocidad de liberación de estos fragmentos es seguida por el aumento de la absorbancia a 590 nm y se puede relacionar directamente con la actividad enzimática expresada en AXU/g o ml.

Según la presente invención, la fracción o fracciones de la molienda de granos, más especialmente el salvado, se pone(n) en suspensión en primer lugar en un líquido adecuado, preferentemente agua. La materia seca de esta mezcla acuosa está preferentemente entre 20 y 40%. La mezcla acuosa fermenta por la adición de las células vivas que comprenden (o consiste en) bacterias ácido lácticas y opcionalmente de levadura e incubación durante un período entre 10 y 50 horas, preferentemente entre 15 y 45 horas, más preferentemente entre 20 y 30 horas y a una temperatura entre 25°C y 40°C, preferentemente entre 25°C y 35°C.

Opcionalmente, durante la incubación, la mezcla se combina regularmente o en varios intervalos.

El pH al final de la fermentación es inferior a 4,2, preferentemente inferior a 4,0, más preferentemente inferior a 3,8.

Aún según la presente invención, el tratamiento con un endoxilanasas se puede realizar antes, simultáneamente o después de la etapa de fermentación.

En un aspecto de la presente invención, la endoxilanasas y las células vivas que comprenden (o consisten en) bacterias ácido lácticas y, opcionalmente, la levadura se añaden a la mezcla acuosa, que por lo tanto fermenta y se incuba simultáneamente. Esta etapa de fermentación/incubación es seguida opcionalmente de una etapa de incubación adicional, preferentemente a una temperatura próxima a la temperatura óptima de la endoxilanasas.

En otro aspecto de la presente invención, la mezcla acuosa de la fracción o fracciones de la molienda de granos se incuba con la endoxilanasas, preferentemente a una temperatura próxima a la temperatura óptima de la endoxilanasas, a continuación, las células vivas que comprenden o que consisten en bacterias ácido lácticas (y, opcionalmente, de levadura) se añaden y la mezcla fermenta.

En otro aspecto de la presente invención, la mezcla acuosa de la fracción o fracciones de la molienda de granos es fermentada por las células vivas que comprenden o que consisten en bacterias ácido lácticas (y, opcionalmente, levadura), a continuación, se añade la endoxilanasas y la mezcla se incuba preferentemente a una temperatura próxima a la temperatura óptima de la endoxilanasas.

Al final de la fermentación y/o de la incubación con la enzima, la composición puede inactivarse mediante una etapa de calentamiento.

La pasteurización es un procedimiento preferido para la inactivación. Un ejemplo de la pasteurización es un tratamiento a 75°C durante 30 min.

Una incubación realizada a temperaturas de 70°C o superiores tiene un efecto similar a la pasteurización (por ejemplo, un tratamiento a 70°C durante 1 a 5 horas).

La etapa de incubación (que sirve posiblemente como etapa de pasteurización) se lleva a cabo preferentemente a una temperatura entre la temperatura óptima de la endoxilanasas menos 15°C y la temperatura óptima más 15°C, más preferentemente a una temperatura entre la temperatura óptima menos 10°C y la temperatura óptima más 10°C, incluso más preferentemente a una temperatura próxima a la temperatura óptima, durante un período de tiempo entre 1 y 10 horas, preferentemente entre 3 y 8 horas, más preferentemente entre 4 y 6 horas.

En un procedimiento de la invención, por lo menos el 50%, preferentemente, el 60%, más preferentemente el 70%, incluso más preferentemente el 80% del AX inicial de la fracción o fracciones de la molienda de granos se disuelven para formar AXOS.

Una composición líquida según la invención o una composición líquida que puede obtenerse por un procedimiento según la invención comprende:

- fracción o fracciones de la molienda de granos fermentados,
- bacterias ácido lácticas y, posiblemente (opcionalmente) levaduras,
- endoxilanasas;

tiene un contenido en oligosacáridos de arabinoxilano (AXOS), superior al 8% (p:p en materia seca); siendo dichos AXOS liberados (o extraídos) mediante enzimas de dicha fracción o fracciones de la molienda de granos, y teniendo dichos AXOS con un GP medio comprendido entre 5 y 50, más preferentemente comprendido entre 5 y 35 y aún más preferentemente comprendido entre 5 y 25.

Preferentemente, la composición de la invención tiene un contenido de AXOS superior al 10% (p:p en materia seca), más preferentemente superior al 11, 12 o incluso 13%.

Las composiciones líquidas preferidas contienen más del 18%, más preferentemente más del 20% de materia seca.

Las composiciones líquidas preferidas tienen una viscosidad inferior a 150.000 cP (es decir, 150 Pa s).

La viscosidad (dinámica) se puede medir utilizando varios dispositivos y/o procedimientos adecuados.

En la presente invención, la viscosidad (dinámica) se mide preferentemente a 30°C, posiblemente utilizando un viscosímetro Brookfield DV-II+ con un husillo giratorio LV4 (viscosidades superiores a 10.000 cP -10 Pa s) a 1,5 rpm o (viscosidades inferiores a 10.000 cP - 10 Pa s) con un husillo LV2 a 3 rpm.

Se ha descubierto que la combinación de las etapas de la presente invención genera composiciones (ricas en AXOS) que se pueden verter, son fácilmente bombeables y se pueden secar fácilmente con el equipo convencional utilizado en la industria alimentaria.

La forma seca/sólida tal como polvo puede obtenerse por lo tanto sometiendo la composición líquida a una etapa de secado tal como un secado por pulverización o un secado en tambor. La materia seca preferida de la composición sólida/en polvo es más del 90%, preferentemente 92%.

Posiblemente esta composición se utiliza como un ingrediente para la preparación de productos alimenticios. Un ejemplo de preparación es la preparación de la masa para un producto horneado.

También se proporciona un producto horneado que comprende una composición según la invención.

Un producto horneado de la presente invención comprende un producto horneado sin fermentar, uno fermentado con levadura o uno fermentado químicamente, cuyo principal ingrediente es la harina procedente de granos de cereales. El producto horneado de la invención también puede contener grasa o sustituto de grasa, azúcar, huevos, gluten, almidón, hidrocoloides, enzimas, emulsionantes, oxidantes o compuestos reductores, compuestos prebióticos y/o un mejorador. Son ejemplos de productos horneados los productos de panadería y los productos de pastelería.

Ventajosamente, la composición de la presente invención forma parte de un mejorador, una premezcla o una mezcla completa de productos horneados, más especialmente para productos de panadería.

Un mejorador según la presente invención comprende una composición de la invención y comprende, además, ingredientes y/o coadyuvantes tecnológicos utilizados por sus propiedades beneficiosas durante la preparación de productos horneados y/o después de la cocción. Estas propiedades comprenden pero no se limitan al aspecto, el volumen, la frescura, la conservación, el color, la estructura o pequeño bocado de los productos horneados.

El término "premezcla" se refiere normalmente a una composición mejoradora en la que la concentración en

componente "activo" es menor que en un mejorador de panadería. Normalmente una premezcla se utiliza a una dosis superior a la de un mejorador (peso/peso de harina).

5 El término "mezcla completa" se refiere normalmente a una composición que comprende todos los ingredientes necesarios para preparar una masa que puede hornearse para obtener un producto horneado, en general, con la excepción de agua. En particular, cuando el agente de fermentación es un agente biológico, más especialmente levadura para hornear, también puede excluirse de la mezcla completa.

10 Una mezcla completa según la invención comprende una composición de la invención y todos los ingredientes necesarios para preparar una masa que puede ser horneada para obtener un producto horneado.

La invención se describirá en los siguientes ejemplos no limitativos.

15 Ejemplos

Ejemplo 1:

Enzimas utilizadas:

20 La endoxilanas de *Nonomuraea flexuosa* contiene 49.500 AXU/ml determinadas por el método AZO-xylan (Megazyme) a 60°C pH 6,0. Belase™ B210 (endoxilanas de *Bacillus subtilis* - Puratos) contiene 210 U/g determinado por el método de la reducción de azúcares a 30°C pH 4,5.

25 La endoxilanas de *Pseudoalteromonas haloplantis* contiene 300 U/g determinado por el método de la reducción de azúcares a 25°C pH 6,5.

30 La fracción o fracciones de la molienda de grano que tiene un contenido de AX superior o igual al 10% se mezclaron con agua, se inocularon con bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus plantarum*) y, posiblemente, con la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y se sometieron a fermentación.

La(s) enzima(s) se añadieron antes, simultáneamente o después de la fermentación.

La etapa de incubación se llevó a cabo a una temperatura próxima a la temperatura óptima de la enzima.

35 Al final del proceso se determinaron el pH y la viscosidad de las composiciones líquidas. Las composiciones se trataron a 90°C durante 30 minutos y se almacenaron a -20°C hasta su posterior tratamiento. Unas muestras de 15 a 20 g se congelaron y liofilizaron.

Los análisis realizados fueron los siguientes:

40 - *Determinación del pH:*

El pH se mide en la composición con un pH-metro Handylab 1 (Schott) equipado con un electrodo de pH InLab 419 (Mettler-Toledo)

45 - *Determinación de la viscosidad:*

50 La viscosidad se mide con un viscosímetro Brookfield DV-II+, con un husillo LV2 a 3 rpm para viscosidades inferiores a 10.000 cp (10 Pa s) y con un husillo LV4 a 1,5 rpm para viscosidades superiores a 10.000 cp (10 Pa s). Para estas medidas, la temperatura se fija en 30°C.

- *Determinación del contenido total de AX:*

55 Muestras liofilizadas (15 a 50 mg) se hidrolizaron en primer lugar en ácido trifluoroacético 2,0 M (5,0 ml) a 110°C durante 60 min.

60 El contenido total de monosacáridos (expresado en % de materia seca (MS) en la composición) se determinó por cromatografía de gas-líquido de acetatos de alditol obtenida después de la hidrólisis de la muestra, reducción y acetilación de los monosacáridos resultantes tal como se describe (Trogh *et al. Cereal Chem.*, 2004, 81 (5), 576-581).

$$\text{AX total (\% de materia seca en la composición)} = 0,88 \times [(\% \text{ arabinosa}_{\text{total}} - 0,7 \times \% \text{ galactosa}_{\text{WE}} \times \% \text{ de fracción soluble en la composición}) + \% \text{ xilosa}_{\text{total}}]$$

65 - *Determinación del arabinoxilano extraíble con agua (WE-AX):*

La muestra liofilizada se puso en suspensión en agua (1/20: p/p).

Después de 30 min a 90°C, la suspensión se enfrió y se centrifugó (10.000 g; 15 min, 4°C). El sobrenadante se utilizó para medir las cantidades de monosacáridos extraíbles con agua.

5 Este sobrenadante (2,5 ml) se hidrolizó en primer lugar, en de ácido trifluoroacético 4,0 M (2,5 ml) a 110°C durante 60 min y se trató además como anteriormente.

10 $WE-AX$ (% de materia seca en la fracción soluble de la composición) = $0,88 \times [(\% \text{ arabinosa}_{WE} - \% \text{ arabinosa}_{\text{libre, WE}} - 0,7 \times \% \text{ galactosa}_{WE}) + (\% \text{ xilosa}_{WE} - \% \text{ xilosa}_{\text{libre, WE}})]$

- *Determinación de contenidos de restos de azúcar terminales reductores y monosacáridos libres:*

15 Los restos de azúcar terminal reductores (_{roja}) del sobrenadante mencionado anteriormente se estimaron por cromatografía de gas-líquido de acetatos de alditol como han descrito Courtin *et al.* 2000 (*J. Chromatogr. A*, 866, 97-104).

20 El análisis monomérico o de monosacárido libre (_{libre}) fue similar al de monosacáridos terminales reductores, excepto que, después de la reducción, las muestras se acetilaron inmediatamente sin hidrolizarlas primero (Courtin *et al.* 2000).

- *Determinación del grado de polimerización (GP) de AX/AXOS:*

25 $GP = (\% \text{ arabinosa}_{WE} - \% \text{ arabinosa}_{\text{libre, WE}} + \% \text{ xilosa}_{WE} - \% \text{ xilosa}_{\text{libre, E}}) / (\% \text{ xilosa}_{\text{roja, WE}} - \% \text{ xilosa}_{\text{libre, WE}})$.

- *Determinación de las concentraciones de AXOS:*

30 $AXOS$ (% de materia seca en la composición) = $WE-AX$ (% de MS de fracción soluble de la composición) x % de fracción soluble en la composición

- *Determinación del nivel de disolución de AX:*

Disolución de AX (%) = $(\% AXOS / \% AX \text{ total}) \times 100$

35 En todos los casos, el contenido de arabinosa se corrigió por la presencia de arabinogalactano-péptido, basándose una relación arabinosa : galactosa de 0,7, y suponiendo que todo el arabinogalactano-péptido está presente en el extracto acuoso y que la galactosa en el extracto acuoso procede únicamente de arabinogalactan-péptido (Loosveld *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45, 1998-2002).

40 Los resultados se presentan en la Tabla 2. Estos resultados demuestran que una combinación de fermentación y tratamiento enzimático permite la obtención de una composición ácida rica en AXOS con GP, concentración y viscosidad favorables.

Tabla 1: Condiciones de la prueba

Etapas del proceso	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M°	N°	O°
Salvado de centeno (Roggen VK)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Salvado de trigo													X	
Agua	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Endoxilanasas de <i>N. flexuosa</i>		X	X			X	X							X
Belase™ B210								X						
Endoxilanasas de <i>P. haloplanktis</i>												X		
<i>Lactobacillus plantarum</i> (cepa LACTOL)			1,4 g 10 ⁹ CFU	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Crema de levadura (<i>S. Cerevisiae</i> MS 18%)			6 g							X	X			
Incubación 5 h 70°C														X
Adición de <i>L. plantarum</i>			1,4 g 10 ⁹ CFU											X
Fermentación 24 h 30°C 100 rpm				X	X									X
Fermentación 48 h 30°C 100 rpm							X	X	X	X	X		X	X
Fermentación 48 h 25°C 100 rpm												X		
Ajuste de pH (3,5 con ácido láctico)														
Adición de endoxilanasas de <i>N. flexuosa</i>			0,21 ml		X						X		X	
Incubación 5 h 70°C	X	X			X		X				X		X	
Incubación 5 h 45°C									X					

°: estas composiciones se obtuvieron en un experimento aparte

Tabla 2: Resultados

	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M°	N°	O°
AX total (% MS en la composición)	19,7	19,3	20,4	21,1	20,7	19,3	19,9	18,7	18,3	19,6	19,8	16,7	20,8	16,7
AXOS (% MS en la composición)	3,5	11,0	12,8	4,7	13,6	10,3	10,3	10,3	10,6	5,8	13,7	12,01	11,9	14,7
DP-AX/AXOS	269	8	9	318	8	9	8	10	9	193	9	12	10	13
Disolución de AX (%)	18	57	63	22	66	54	52	55	58	29	69	72	58	88
pH de la composición	6,1	6,08	3,67	3,74	3,78	3,54	3,78	3,39	3,41	3,43	3,41	3,53	3,61	nd
Viscosidad (cP)	127000	nd	268000	Nd	nd	2040	2769	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Viscosity (Pa s)	127	nd	268	Nd	nd	2,04	2,77	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nd : no determinado	DM : materia seca													

Condiciones de control (véase anteriormente la Tabla 1):

5 A: Una mezcla de salvado de centeno y agua se calentó durante 5 horas a 70°C para simular la etapa de incubación y/o la etapa de pasteurización.

Como se muestra en la Tabla 2, el GP resultante de AX es demasiado alto y no es aceptable para la utilización prevista y/o con fines prebióticos.

10 Efectos de la adición de una endoxilanasas B: igual que A, pero a la mezcla se le añade endoxilanasas de *N. Flexuosa* (endoxilanasas termoestable) y se lleva a cabo una etapa de incubación durante 5 horas a 70°C.

El GP de AX se redujo considerablemente, pero aumentó la viscosidad.

15 C: igual que la B, pero el pH de la mezcla se ajusta a 3,5 antes de la adición de enzima.

La viscosidad era más del doble en comparación con A debido a la acción de la endoxilanasas. pH no tuvo ningún efecto.

20 Efectos de la fermentación

D: Las bacterias ácido lácticas, *L. plantarum* (cepa LACTOL), se añaden a una mezcla de salvado de centeno y agua, a continuación, se lleva a cabo una fermentación de 24 horas a 30°C.

25 K: La misma mezcla que en D, en la que la levadura se añade también 24 h después de las bacterias ácido lácticas. Se realizó un total de 48 horas de fermentación a 30°C.

La fermentación sola (es decir, sin incubación con la endoxilanasas) no resuelve el problema de proporcionar una composición con una viscosidad aceptable o con AXOS con un GP medio <50.

30

Condiciones según la invención

Primera variante: la fermentación antes de la incubación

35 E: La misma mezcla y protocolo que en D, excepto que la mezcla fermentada se trata además con endoxilanasas de *N. Flexuosa* durante una etapa de incubación de 5 horas a 70°C.

Esta fermentación seguida de incubación corresponde a una primera variante según la invención, en la que la viscosidad de la composición obtenida y el GP de AXOS son ambos óptimos (es decir, viscosidad inferior a 150.000 cp (150 Pa s) y GP <50).

40

Segunda variante: la fermentación y la incubación son simultáneas.

45 F: Para una mezcla acuosa de salvado de centeno, se añaden bacterias ácido lácticas y endoxilanasas de *N. Flexuosa*. La fermentación junto con la incubación se realizan durante 48 horas a 30°C.

G: Igual que F, en el que la etapa de incubación se prolonga además durante 5 horas a 70°C.

50 Esta fermentación e incubación simultánea corresponde a una segunda variante según la invención en la que tanto la viscosidad como el GP de AXOS son óptimos (véase más especialmente la condición F en la Tabla 2). Estas condiciones corresponden a procedimientos y composiciones preferidas de la invención.

Otra endoxilanasas también es eficaz

55 I: igual que F, con la sustitución de endoxilanasas de *N. Flexuosa* por Belase™ B210 endoxilanasas en la mezcla.

J: igual que I, en el que la etapa de incubación se prolonga durante 5 horas a 45°C.

Estas condiciones demuestran que otra endoxilanasas (mesófila) también es muy adecuada.

60 La adición de la levadura durante la fermentación con bacterias ácido lácticas es eficaz.

L: Una mezcla acuosa de salvado de centeno y agua es fermentada por las bacterias ácido lácticas y la levadura, y se trata además con endoxilanasas de *N. Flexuosa* en una etapa de incubación de 5 horas a 70°C.

65 Un procedimiento basado en la fermentación con bacterias ácido lácticas y levadura, y en la incubación con una endoxilanasas es igualmente eficaz en el suministro de una composición con una viscosidad y GP medio

de AXOS aceptables.

Una tercera endoxilanasas funciona

5 En otra serie de experimentos, la condición M° es una mezcla de salvado de centeno y agua a la que se añaden bacterias ácido lácticas y endoxilanasas de *Pseudoalteromonas haloplanktis*. Una fermentación e incubación simultánea se realiza durante 48 horas a 25°C.

10 Una tercera endoxilanasas (psicrofílica) también es eficaz y la temperatura para la fermentación se puede reducir a 25°C (con el fin de coincidir con la temperatura óptima de la endoxilanasas) sin ser perjudicial para la composición resultante.

Se puede utilizar otra fuente de fracción de molienda de granos rica en AX

15 N° (realizado en una segunda serie de experimentos): una mezcla de salvado de trigo y agua se somete a una fermentación durante 48 horas a 30°C por bacterias ácido lácticas y la mezcla fermentada se trata además con endoxilanasas de *N. Flexuosa*, en el etapa de incubación de 5 horas a 70°C.

20 Esto demuestra que se puede utilizar otra fuente de molienda de granos rica en AX.

Tercera variante: la incubación es seguida de la fermentación

25 O° (realizado en una segunda serie de experimentos): una mezcla de salvado de centeno y agua se incuba con endoxilanasas de *N. Flexuosa* durante 5 horas a 70°C, a continuación se añaden bacterias ácido lácticas para la fermentación durante 48 horas a 30°C (100 rpm).

En esta tercera variante según la invención, la etapa de incubación precede a la fermentación y la composición resultante tiene tanto GP de AXOS como la viscosidad aceptables.

30 **Ejemplo 2: Composición seca**

Las composiciones se prepararon como se describe en el ejemplo 1 según el esquema de la Tabla 3

Tabla 3

35

Etapas del procedimiento			W	Y	Z
mezcla	Salvado de centeno	140 g	X	X	X
	Agua	410 g	X	X	X
	<i>L. plantarum</i> (cepa LACTOL)	1,4 · 10 ⁹ CFU			X
Fermentación 48 h, 30°C 100 rpm					X
Adición de endoxilanasas de <i>N. flexuosa</i>		0,21 ml	X		X
Acidificación pH 3,5 (ácido láctico)			X		
Incubación 5 h, 70°C			X		X

40 Una muestra de las composiciones Y y Z se obtuvieron y se analizaron como en el ejemplo 1 (muestras Y y Z1). El resto de la composición Z se secó utilizando un único secador de tambor con rodillos aplicadores de E 5/5 (GMF Gouda) a 10 bares de presión de vapor y 7 rpm de velocidad. La muestra W era demasiado viscosa para permitir el secado y no se analizó. Una muestra (Z2) de la composición seca se analizó como en el ejemplo 1.

Los resultados del análisis se presentan en la tabla 4.

Tabla 4

45

	X	Z1	Z2
AX total (% de MS en la composición)	19,1	19,3	19,6
AXOS (% de MS en la composición)	3,3	14,0	14,5
DP-AX/AXOS	273	8	11
Disolución de AX (%)	17	72	74
pH	6,5	3,44	-
Viscosidad (Pa s)	46,8	27,7	-

Estos resultados demuestran que la etapa de secado no afecta a las propiedades de la composición y permite el desarrollo de una composición seca que tiene una alta concentración de AXOS, un buen nivel de disolución y un GP que permite a sus propiedades prebióticas.

Ejemplo 3: Productos horneados

Se produjeron baguettes utilizando la receta de la Tabla 5 (en gramos):

5

Tabla 5

Harina (Surbi)	2000	2000
Agua	1400	1400
Levadura fresca (Bruggeman, Bélgica)	150	150
Cloruro de sodio	50	50
Controlador S-500 (Puratos, Bélgica)	75	75
Sapore Traviata (Puratos, Bélgica)	60	
Composición Z2		60

* Producto de masa fermentada a base de Rye

10 Los ingredientes se mezclaron durante 2 min a baja velocidad y 10 minutos a alta velocidad en una mezcladora espiral de tipo Diosna (SP24). La temperatura final de la masa es de 26°C. Después de una fermentación de la masa durante 45 min a 25°C, se prepararon piezas de masa de 250 g utilizando un moldeador de tipo Alianza compresora (para piezas de masa de 50 cm). Las piezas de masa se impermeabilizan a 30°C y 95% de humedad relativa durante 150 min. A continuación, los panes se hornean en un horno rotatorio durante 25 min a 230/200°C con 7 s de vapor a la carga del horno y se abre la llave de vapor después de 10 min. Los mismos resultados finales se pueden obtener utilizando equipos de otros proveedores.

15

Se evaluaron el aspecto, la forma, el aroma y el sabor de las baguettes por un panel de cata sensorial. No se notó ninguna diferencia en el aroma y el sabor entre los dos tipos de baguettes.

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para preparar una composición líquida que presenta un contenido de oligosacáridos de arabinoxilano (AXOS), superior a 8% (p:p; materia seca), presentando dicho AXOS un grado medio de polimerización comprendido entre 5 y 50, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:
- proporcionar una mezcla acuosa que comprende una(s) fracción o fracciones de molienda de granos;
 - fermentar dicha mezcla con bacterias ácido lácticas, o tanto con bacterias ácido lácticas como con levaduras;
 - incubar dicha mezcla con una endoxilanasas, para hidrolizar el arabinoxilano de dicha(s) fracción o fracciones de la molienda de granos.
- 10
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la(s) fracción o fracciones de la molienda de granos comprende(n) una(s) fracción o fracciones de la molienda de granos de cereal.
3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la endoxilanasas es una endoxilanasas termoestable.
- 20 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una etapa de pasteurización.
5. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que la etapa de incubación y la etapa de pasteurización se llevan a cabo conjuntamente.
- 25 6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además la etapa de secado de la composición resultante.
- 30 7. Composición líquida que comprende:
- una(s) fracción o fracciones fermentadas de molienda de granos,
 - unas bacterias ácido lácticas,
 - endoxilanasas,
- 35
- presentando dicha composición un contenido de AXOS superior a 8% (p:p materia seca); siendo dicho AXOS liberado enzimáticamente de dichas fracción o fracciones de molienda de granos, y presentando dicho AXOS un GP medio comprendido entre 5 y 50.
- 40 8. Composición según la reivindicación 7 que presenta un contenido de materia seca superior a 18%.
9. Composición según la reivindicación 7 u 8 que presenta un pH ácido, preferentemente un pH comprendido entre aproximadamente 2,9 y aproximadamente 4,2.
- 45 10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 que presenta una viscosidad (dinámica) (30°C) inferior a 150 Pa s.
- 50 11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10 que es además secada.
12. Mejorador que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11.
13. Premezcla o mezcla completa que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12.
- 55 14. Utilización de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 como masa fermentada o como producto de masa fermentada.
15. Utilización de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 para la preparación de productos horneados.