

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 440 780**

51 Int. Cl.:

A23L 1/211 (2006.01)

A23L 1/221 (2006.01)

A23L 1/222 (2006.01)

C07H 15/256 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2011 E 11179246 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2013 EP 2425721**

54 Título: **Procedimiento para la purificación de mogrósidos de alta pureza**

30 Prioridad:

03.09.2010 US 379729 P

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

30.01.2014

73 Titular/es:

**PURECIRCLE SDN BHD (100.0%)
PT 23419 Lengkok Teknologi Techpark Enstek
71760 Bandar Enstek, Negeri Sembilan, MY**

72 Inventor/es:

MARKOSYAN, AVETIK

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 440 780 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

Procedimiento para la purificación de mogrósidos de alta pureza

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a un procedimiento para la purificación de mogrósidos de alta pureza a partir del extracto de la fruta *Siraitia grosvenorii*, especialmente de mezclas de mogrósidos de alta pureza mogrósidos con alto contenido en mogrósido V.

10

Descripción de la técnica relacionada

Luo han guo generalmente hace referencia a una fruta de *Siraitia grosvenorii*, un miembro de la familia de las cucurbitáceas, es una planta originaria de algunas regiones del sur de Asia y China. El sabor dulce de luo han guo proviene principalmente de glucósidos de triterpenos conocidos generalmente como mogrósidos o glucósidos de mogrol. Los mogrósidos comprenden sólo aproximadamente 1% de la fruta luo han guo. Existen numerosos mogrósidos identificados en luo han guo, pero en general el mogrósido V (CAS n°: 88901-36-4) presenta la concentración más alta en comparación con los demás (Tabla 1). Los glucósidos de mogrol tienen la misma molécula principal - mogrol u oxo-mogrol y se diferencian entre sí por el número y tipo de restos glucosídicos unidos a moléculas de mogrol u oxo-mogrol.

20

TABLA 1. Mogrósidos presentes en frutas Luo han guo

Sustancia	Fórmula mol.	Peso mol.
Mogrósido IIE	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	801,01
Mogrósido III	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	963,15
Mogrósido IV	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₄	1125,29
Mogrósido V	C ₆₀ H ₁₀₂ O ₂₉	1287,43
Mogrósido VI	C ₆₆ H ₁₁₂ O ₃₄	1449,58
11-oxo-Mogrósido V	C ₆₀ H ₁₀₀ O ₂₉	1285,42
Siamenósido I	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₄	1125,29
Grosmomósido I	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₄	1125,29

Para aislar los mogrósidos de la frutas luo han guo se utilizan diversas técnicas de extracción. Como resultado se están preparando extractos en polvo de luo han guo que normalmente contienen 30-65% p/p de mogrósidos totales, y el contenido en mogrósido V de esos materiales puede oscilar tanto como entre 18 y 55%. Dichos extractos generalmente no se pueden utilizar como edulcorantes en alimentos y bebidas, ya que contienen cantidad sustancial de impurezas; algunas de las impurezas poseen propiedades organolépticas indeseables, afectando por lo tanto las características de color, aroma, olor y sabor del extracto de luo han guo.

25

El documento WO-A-2007/062087 da a conocer un procedimiento de preparación de extracto de frutas integral de los frutos de la familia de las cucurbitáceas. El documento WO-A-2008/030121 se refiere a composiciones edulcorantes del fruto Luo Han Guo. El documento WO-A-2009/023975 da a conocer el edulcorante y potenciador de dulzor iso-migrósido V. El documento CN-A-101 407 535 da a conocer el preparado de mogrósido V de alta pureza *Momordica grosvenorii*. El documento CN-A-101 029 071 da a conocer un procedimiento de preparación de un mogrósido V de alta pureza. El documento CN-A-101 050 230 da a conocer un procedimiento para la preparación de un extracto de *Siraitia grosvenorii*.

35

Los ejemplos no limitativos de dichas impurezas comprenden proteínas, pigmentos, polisacáridos, aldehídos, aldehídos insaturados, cetonas de metilo, crotonato de butilo y compuestos fenólicos.

40

Por lo tanto existe una necesidad de un proceso comercialmente viable para mejorar el contenido de mogrósidos, particularmente el contenido de mogrósido V de los preparados de luo han guo de baja pureza y eliminar las impurezas no deseadas a fin de mejorar significativamente las características organolépticas de los preparados de luo han guo y así permitir su utilización en los alimentos.

45

No se dispone actualmente de técnicas para la purificación del extracto de luo han guo de baja pureza en mogrósidos de alta pureza. Por lo tanto, existe una necesidad de un proceso para la purificación de mogrósidos de alta pureza a partir de extracto del fruto de *Siraitia grosvenorii*.

Sumario de la invención

La invención se refiere a un procedimiento para la preparación de mezclas de alta pureza de mogrósidos de extracto de la fruta *Siraitia grosvenorii*.

5 En una forma de realización, el procedimiento para la preparación de la mezcla de mogrósidos muy purificada a partir de una mezcla de mogrósidos de baja pureza comprende:

- 10 a. proporcionar una mezcla de mogrósidos de baja pureza;
- b. disolver la mezcla de mogrósidos de baja pureza en agua o en una solución acuosa de alcohol para formar una solución inicial de mogrósidos;
- 15 c. pasar la solución inicial a través de un sistema de columna, en el que el sistema de la columna comprende un gran número de columnas, y cada columna está rellena de un adsorbente que tiene diferentes afinidades a las impurezas y mogrósidos de manera que una o más columnas retienen más mogrósidos que otras columnas;
- 20 d. lavar las columnas para eliminar las impurezas con una solución acuosa ácida, una solución acuosa básica y una solución acuosa alcohólica sucesivamente;
- e. eluir las columnas con una solución acuosa alcohólica que contiene mayor contenido de alcohol que la solución acuosa alcohólica utilizada en la etapa de lavado, en la que se combinan los eluidos de las columnas con alto contenido de mogrósidos; y
- 25 f. secar el eluido combinado para obtener mogrósidos de alta pureza siendo el contenido de los mogrósidos totales más del 70% (p/p).

30 En otra forma de realización del procedimiento, en la etapa de lavado (d), la proporción de agua a alcohol (vol/vol) en la solución acuosa alcohólica es 99,9:0,1 a 60:40, y en la que en la etapa de elución (e), la proporción de agua a alcohol (vol/vol) de la solución acuosa alcohólica es de 60:40 a 0,1:99,9.

En otra forma de realización del procedimiento, en la etapa de lavado (d), la solución acuosa ácida comprende HCl y la solución acuosa básica comprende NaOH.

35 En otra forma de realización del procedimiento, la solución acuosa alcohólica comprende alcohol que se selecciona de entre el grupo que consiste en metanol, etanol, n-propanol, 2-propanol, 1-butanol y 2-butanol.

En otra forma de realización del procedimiento, el adsorbente es una resina de adsorción polimérica macroporosa capaz de adsorber mogrósidos.

40 En otra forma de realización del procedimiento, la pluralidad de columnas están conectadas consecutivamente.

En otra forma de realización del procedimiento, la pluralidad de columnas están conectadas en paralelo.

45 En otra forma de realización del procedimiento, éste comprende además:

- 50 g. disolver los mogrósidos de alta pureza en agua o en una solución acuosa alcohólica para producir una solución de mogrósidos;
- h. pasar las soluciones de mogrósidos a través de una secuencia de membranas de ultrafiltración y/o nanofiltración con un tamaño de MWCO de 1.000 a 2.500 para aumentar la pureza de la mezcla de mogrósidos (contenido de mogrósidos totales, % en seco); e
- 55 i. secar la solución de la mezcla de mogrósidos obtenida para obtener la mezcla mogrósidos muy purificada.

Un objetivo de la invención es para desarrollar un procedimiento eficiente de preparación de mezcla de mogrósidos muy purificados.

Descripción detallada de la invención

60 Las ventajas de la presente invención resultarán más evidentes a partir de la descripción detallada proporcionada a continuación. Sin embargo, debe apreciarse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican formas de realización preferidas de la invención, son proporcionados únicamente a título ilustrativo, ya que diversos cambios y modificaciones comprendidos en el espíritu y el alcance de la invención resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir de esta descripción detallada.

65

ES 2 440 780 T3

La presente invención proporciona un procedimiento para la purificación de mogrosidos de alta pureza con alto contenido en mogrosido V a partir del extracto de la fruta *Siraitia grosvenorii*.

5 En adelante, el término "mogrosidos" se refiere a mogrol y glucósidos de oxo-mogrol, entre ellos mogrosido IIE, mogrosido IIB, mogrosido III, mogrosido IV, mogrosido V, 11-oxo-mogrosido V, mogrosido VI, siamenósido I y grosmomósido I.

10 En adelante, la expresión "contenido de TM" se refiere al contenido total de mogrosidos, y se calcula como la suma de 4 mogrosidos entre ellos mogrosido V, 11-oxo-mogrosido V, Siamenósido I y Grosmomósido I.

15 En adelante, la expresión "muy purificado" o "alta pureza" se refiere al contenido de TM de por lo menos 70% (p/p) en seco.

20 En adelante, la expresión "contenido alto en mogrosido V" se refiere al contenido en mogrosido V de por lo menos el 60% (p/p) en seco.

En adelante, la expresión "baja pureza" se refiere al contenido de TM inferior al 70% (p/p) en seco.

25 En adelante, la expresión "bajo contenido de mogrosido V" se refiere al contenido de mogrosido V inferior al 60% (p/p) en seco.

30 En adelante las concentraciones de pureza indicadas se determinan por el método de HPLC con los parámetros siguientes. Sistema HPLC - "serie Agilent 1200" (EE.UU.) equipado con desgasificador, bomba cuaternaria, muestreador automático, compartimento termostatzado de la columna y detector DAD UV. Columna - "YMC Polyamine II" 4,6 x 150 mm 5 µm (Japón) a 30°C; fase móvil acetronitrilo/agua 70: 30 (vol/vol) a 1 ml/min, detector - UV a 204 nm. Los patrones de referencia de mogrosido V, 11-oxo-mogrosido V, siamenósido I y grosmomósido I se obtuvieron de "Chromadex Inc" (EE.UU.).

35 En adelante, el término "impureza" se refiere a cualquier compuesto que no sea mogrosidos que están presentes en la mezcla a más de 0,0001% (p/p) en seco. Los ejemplos no restrictivos de impurezas comprenden proteínas, pigmentos, polisacáridos, aldehídos, aldehídos insaturados, metilcetonas, crotonato de butilo, compuestos fenólicos, así como otros compuestos no mogrosidos que pueden afectar a las características organolépticas del edulcorante luohan guo.

40 El procedimiento de purificación de mogrosidos de la presente invención es aplicable a cualquier mezcla de mogrosidos de baja de pureza con el contenido de TM inferior al 70% p/p en seco.

45 La presente invención proporciona asimismo un sistema de columna que puede utilizarse para el procedimiento de purificación de mogrosidos de la presente invención. El sistema de columna es con los siguientes parámetros. El sistema de columna comprende un gran número de columnas que están conectadas, bien de manera consecutiva (en serie) o en paralelo, donde el gran número de columnas son del mismo o diferentes volúmenes rellenos de un adsorbente con diferente afinidad a las impurezas y a los glucósidos de esteviol. Cuando se utiliza el sistema de columnas en el modo de conexión en paralelo, la entrada de cada columna puede conectar a una fuente de alimentación independiente mientras que la salida a un receptor separado. La siguiente descripción pondrá de manifiesto el modo de conexión de la columna específico para cada etapa en particular. Dentro de la misma etapa, el sistema puede funcionar como una entidad de varios grupos de columnas conectadas en paralelo y en serie y columnas separadas. El número de columnas es de 3 a 15. La relación de los volúmenes de la primera columna al volumen de la segunda columna es de 1:1 a 1:10. La relación de los volúmenes de la última columna al volumen de la columna anterior es de 3:1 a 1:10. Las columnas están rellenas de adsorbente hasta el 75-100% de su volumen total. Las columnas se mantienen a temperaturas entre 5 y 80°C.

50 El alcohol se selecciona de entre el grupo que consiste en alcoholes, más particularmente metanol, etanol, n-propanol, 2-propanol, 1-butanol y 2-butanol.

55 El adsorbente es cualquier resina de adsorción polimérica macroporosa capaz de adsorber mogrosidos, tales como Amberlite® serie XAD (Rohm and Haas), Diaion® serie HP (Mitsubishi Chemical Corp), Sepabeads® serie SP (Mitsubishi Chemical Corp), Cangzhou Yuanwei serie YWD (Cangzhou Yuanwei Chemical Co. Ltd., China) o equivalente.

60 El procedimiento de la presente invención comprende varias etapas. En una forma de realización, la primera etapa comprende hacer pasar una solución acuosa o acuosa alcohólica de mezcla de mogrosidos de baja pureza a través de un sistema de columna conectado de manera consecutiva. La relación de agua a alcohol (vol/vol) en la solución acuosa alcohólica es 99,9:0,1 a 60:40. Como resultado, las impurezas y diferentes mogrosidos se retienen en diferentes secciones del sistema de columna. Las impurezas con alta afinidad se retienen en su mayor parte en la primera columna, y las impurezas de baja afinidad se retienen en su mayoría en la última columna, mientras que los mogrosidos son retenidos en su mayor parte en las columnas centrales del sistema de columnas. Los mogrosidos de

menor peso molecular, en particular siamenósido y grosmomósido I, separados parcialmente de los mogrósidos de mayor peso molecular, son retenidos en mayores cantidades en las pocas columnas primeras de las columnas centrales del sistema de columnas, mientras que los mogrósidos de mayor peso molecular, especialmente el mogrósido V, se retienen en las pocas columnas últimas de las columnas centrales del sistema de columnas.

En una forma de realización, el sistema de columna se compone de 6 columnas que están conectadas de manera consecutiva. En la primera etapa, una solución acuosa alcohólica que comprende una mezcla de mogrósidos de baja pureza con 34,73% (p/p en seco) que comprende 19,47% de mogrósido V, 5,60% de 11-oxo-mogrósido V, 5,20% de Siamenósido I y 4,46% de Grosmomósido I se pasó a través del sistema de columna; a continuación cada columna se eluyó con alcohol puro para la elución total a fin de comprobar las retenciones de mogrósidos por cada columna. Los resultados de la elución total de la primera etapa se resumen en la Tabla 2.

TABLA 2. Distribución de mogrósidos después de la primera etapa

Mogrósidos, % p/p en seco	Inicial	Columnas					
		I	II	III	IV	V	VI
Siamenósido I	5,20	2,90	11,30	8,60	4,10	2,81	1,52
Grosmomósido I	4,46	2,80	9,66	7,50	3,13	2,19	1,48
11-oxo-mogrósido V	5,60	1,50	2,30	3,30	9,37	11,30	5,80
Mogrósido V	19,47	2,73	2,33	17,94	40,32	44,54	8,96
Contenido en TM	34,73	9,93	25,59	37,34	56,92	60,84	17,76

En otra forma de realización de la presente invención, la segunda etapa del proceso de purificación comprende lavar las columnas con mogrósidos retenidos de la primera etapa para eliminar las impurezas residuales restantes aún después de la primera etapa de separación con el fin de aumentar aún más el nivel de pureza de los productos finales. En una forma de realización, las columnas se lavan sucesivamente con una solución acuosa ácida o acuosa alcohólica, una solución acuosa básica o acuosa alcohólica, y una solución acuosa alcohólica. La relación de agua a alcohol (vol/vol) en la solución alcohólica acuosa es 99,9:0,1 a 60:40. La eliminación de impurezas se lleva a cabo ya sea en cada columna por separado (conexión en paralelo) o en grupos de más de una columna conectada consecutivamente (en serie). Similar a la primera etapa, cada columna se eluyó con alcohol puro para la elución total a fin de comprobar las retenciones de mogrósidos por cada columna. Los resultados de la elución total de la segunda etapa con el uso de la misma mezcla de mogrósidos de baja pureza y el mismo sistema de la columna 6 como en la primera etapa se presentan en la Tabla 2.

TABLA 3. Distribución de mogrósidos después de la segunda etapa

Mogrósidos, % p/p en seco	Inicial	Columnas					
		I	II	III	IV	V	VI
Siamenósido I	5,20	5,28	20,41	14,77	6,26	4,03	2,56
Grosmomósido I	4,46	5,09	17,45	12,88	4,73	3,16	2,54
11-oxo-mogrósido V	5,60	2,73	4,15	5,67	14,34	16,25	9,85
Mogrósido V	19,47	4,96	4,21	30,81	61,52	64,05	15,22
Contenido en TM	34,73	18,06	46,23	64,13	86,85	87,49	30,16

En una forma de realización de la presente invención, la tercera etapa del procedimiento de purificación comprende eluir las columnas de la sección central (por ejemplo, columnas IV y V) con una solución acuosa alcohólica, en el que la proporción de agua a alcohol (vol/vol) de la solución acuosa alcohólica está comprendida entre 60:40 y 0,1:99,9. La elución se lleva a cabo ya sea en cada columna por separado (conexión en paralelo) o más de un grupo de columnas conectadas consecutivamente (en serie). La elución da como resultado mogrósidos de alta pureza.

En una forma de realización, la cuarta etapa del proceso de purificación comprende eliminar el alcohol del eluido de mogrósidos obtenido después de la tercera etapa y concentrar más y secar el eluido de mogrósidos para obtener una mezcla seca de mogrósidos muy purificada. Para la eliminación de etanol, concentración y secado puede utilizarse cualquier procedimiento conocido en la técnica.

En una forma de realización, las fracciones de baja pureza se combinan y se someten a purificación repetida desde la primera etapa a la cuarta etapa descritas anteriormente.

En una forma de realización, las fracciones de alta pureza se combinan y se secan para producir una mezcla muy purificada de mogrósidos de alto contenido en Mogrósido V que tienen un contenido de TM de 87,18% (p/p en seco) que comprende 62,82% de Mogrósido V, 15,32% de 11-oxo-mogrósido V, 5,11% de Siamenósido y 3,92% de Grosmomósido I.

5 En una forma de realización, el proceso de purificación de la presente invención comprende además la filtración con la utilización de membranas de ultrafiltración y/o nanofiltración. Se utilizan membranas con tamaño límite de peso molecular (MWCO) de 1000, 1500 y 2000. La mezcla de mogrósidos muy purificada que comprende 62,82% de Mogrósido V, 15,32% de 11-oxo-Mogrósido V, 5,11% de Siamenósido I y 3,92% de Grosmomósido I se disolvió en solución acuosa de alcohol con contenido de alcohol de 0 a 100% (vol/vol) preferentemente de 0 a 50%, para hacer una solución con un contenido total de sólidos de 0,1 a 50% (peso/volumen), preferentemente 0,5 a 10%. La solución resultante se pasó consecutivamente a través de membranas de ultrafiltración y/o nanofiltración con MWCO 1000, 1500 y 2500. Se utilizó con esta finalidad un sistema agitado de membranas celulares de Sterlitech Corp. (EE.UU.). De todos modos con esta finalidad puede utilizarse cualquier sistema de filtración adecuado conocido en la técnica. Los ejemplos no limitativos de fabricantes de membranas son Koch Membrane Systems, Inc. (EE.UU.), GE-Osmonics (EE.UU.), Alfa Laval (Suecia). Pueden utilizarse membranas de lámina plana, de fibra hueca, en espiral y otras. Se utilizó diafiltración para aumentar la eficiencia del proceso de filtración por membrana. Dependiendo del tamaño de la membrana lo retenido o permeado contenía la cantidad principal de mogrósidos. Después de cada tratamiento a través de la membrana la fracción que contiene el mogrósido (retenido o permeado) se concentró o se diluyó de nuevo hasta el contenido de sólidos totales de 0,1 a 50% (peso/volumen), preferentemente de 0,5 a 10% y se pasa a través de la siguiente membrana. La solución se pasó a través aumentando los tamaños de las membranas (desde MWCO 1000 a 2500). De todos modos también es posible otro orden de membrana. Después se obtuvo el tratamiento en membrana de la mezcla de mogrósidos muy purificada que comprende 67,13% de mogrósido V, 16,31% de 11-oxo-mogrósido V, 5,51% de Siamenósido I, y 4,10% de Grosmomósido I (en seco).

Los mogrósidos de alta pureza pueden ser utilizados ya sea solos o en combinación con otros edulcorantes de alta intensidad en alimentos, bebidas, composiciones farmacéuticas, tabaco, nutracéuticos, composiciones orales higiénicas, o cosméticos. Los demás edulcorantes de alta intensidad comprenden glucósidos de esteviol, entre ellos una mezcla dulce purificada de glucósidos de esteviol, esteviósido, rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rebaudiósido D, rebaudiósido E, rebaudiósido F, dulcósido A, dulcósido B, rubusósido y estevia; siamenósido; mogrósido IV; mogrósido V; edulcorante Luo Han Guo; monatina y sus sales (monatina SS, RR, RS, SR), ácido glicirrónico y sus sales; curculina; taumatina; monelina; mabinlina; brazzeína; hernandulcina; filodulcina; glucifilina; floridzina; trilobatina; baiyunósido; osladin; polipodósido A; pterocariósido A; pterocariósido B; mukuroziósido; flomisósido I; periandrina I; abrusósido A; ciclocariósido I y combinaciones de los mismos.

Se proporcionan los siguientes ejemplos para ilustrar el procedimiento y el sistema de columnas de la presente invención.

40 **Ejemplo 1**

Purificación de mogrósidos de alta pureza

Se disolvieron 100 g de extracto de luo han guo (p/p en seco) que comprende 19,47% de Mogrósido V, 5,60% de 11-oxo-Mogrósido V, 5,20% de Siamenósido I y 4,46% de Grosmomósido I (34,73% de contenido en TM) en 2,4 litros de agua desionizada. La solución se pasó a través de 6 columnas de 200 ml conectadas consecutivamente rellenas con adsorbente macroporoso Diaion® HP (Mitsubishi Chemical Corp). Se pasaron posteriormente 2,4 l de agua desionizada a través del sistema. Además, las columnas se lavaron por separado con 2 volúmenes de HCl al 0,5%, a continuación con agua hasta pH neutro, a continuación con NaOH al 0,5% y de nuevo con agua hasta que se consigue un pH neutro de las aguas de lavado. A continuación, las columnas se lavaron por separado con etanol al 10%. A continuación, las columnas se eluyeron con etanol al 50%. Las columnas 4 y 5 estaban conectadas consecutivamente. El eluido de las columna 4 y 5 se evaporó a vacío para la eliminación de etanol. La solución acuosa obtenida se secó por pulverización para producir 31 g de mezcla de mogrósido muy purificado que comprende 62,82% de Mogrósido V, 15,32% de 11-oxo-Mogrósido V, 5,11% de siamenósido y 3,92% de grosmomósido (en seco).

Ejemplo 2

Purificación a través de membrana

Se disolvieron 100 g de mogrósidos de alta pureza preparadas según el ejemplo 1 que comprende 62,82% de Mogrósido V, 15,32% de 11-oxo-mogrósido V, 5,11% de siamenósido I y 3,92% de grosmomósido (en seco) en 2,4 litros de agua desionizada. La solución obtenida se hizo pasar a través del sistema agitado de membrana celular (Sterlitech Corp., EE.UU.). La solución se pasó a través de la membrana GE Osmonics 2500 MWCO. El permeado que contenía los mogrósidos se concentró hasta 5% de sólidos y se pasó además a través de la membrana 1000MWCO. El producto retenido que contenía los mogrósidos se concentró y se secó para producir 90 g de polvo

ES 2 440 780 T3

que contiene 67,13% de Mogrósido V, 16,31% de 11-oxo-mogrósido V, 5,51% de Siamenósido I y 4,10% de Grosmomósido I (en seco).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para la preparación de una mezcla de mogrósidos muy purificados a partir de la mezcla de mogrósidos de baja pureza, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:
- 10 a. proporcionar una mezcla de mogrósidos de baja pureza;
- 15 b. disolver la mezcla de mogrósidos de baja pureza en agua o en una solución acuosa de alcohol para formar una solución inicial de mogrósidos;
- 20 c. pasar la solución inicial a través de un sistema de columnas, en el que el sistema de columnas comprende una pluralidad de columnas, y cada columna está rellena con un adsorbente que presenta diferentes afinidades a las impurezas y los mogrósidos de manera que una o más columnas retienen más mogrósidos que las otras columnas;
- 25 d. lavar las columnas para eliminar las impurezas con una solución acuosa ácida, una solución acuosa básica y una solución acuosa alcohólica sucesivamente;
- 30 e. eluir las columnas con una solución acuosa alcohólica que contiene un contenido de alcohol mayor que la solución acuosa alcohólica utilizada en la etapa de lavado, en el que el eluido de las columnas con alto contenido de mogrósidos se combinan; y
- 35 f. secar el eluido combinado para obtener mogrósidos de alta pureza siendo el contenido de los mogrósidos total superior a 70% (p/p).
- 40 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la etapa de lavado (d), la proporción de agua a alcohol (vol/vol) en la solución acuosa alcohólica es 99,9:0,1 a 60:40, y en el que en la etapa de elución (e), la proporción de agua a alcohol (vol/vol) de la solución acuosa alcohólica es de 60:40 a 0,1:99,9.
- 45 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que en la etapa de lavado (d), la solución acuosa ácida comprende HCl, y la solución acuosa básica comprende NaOH.
- 50 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la solución acuosa alcohólica comprende alcohol que se selecciona de entre el grupo que consiste en metanol, etanol, n-propanol, 2-propanol, 1-butanol y 2-butanol.
- 55 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el adsorbente es una resina de adsorción polimérica macroporosa que puede adsorber mogrósidos.
- 60 6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la pluralidad de columnas están conectadas consecutivamente.
- 65 7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la pluralidad de columnas están conectadas en paralelo.
- 70 8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además las etapas siguientes:
- 75 g. disolver los mogrósidos de alta pureza en agua o en una solución acuosa alcohólica para producir una solución de mogrósidos;
- 80 h. pasar las soluciones de mogrósidos a través de una secuencia de membranas de ultrafiltración y/o nanofiltración con un tamaño de MWCO de 1.000 a 2.500 para aumentar la pureza de la mezcla de mogrósidos (contenido de mogrósidos total, % en seco); e
- 85 i. secar la solución de la mezcla de mogrósidos obtenida para obtener la mezcla de mogrósidos muy purificada.