

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 392**

51 Int. Cl.:

**A23L 2/02** (2006.01)

**A23L 2/52** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2009 E 09779802 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.08.2015 EP 2299852**

54 Título: **Composición de bebida**

30 Prioridad:

**16.06.2008 EP 08010905**

**15.09.2008 EP 08016218**

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

**10.09.2015**

73 Titular/es:

**ECKES-GRANINI GROUP GMBH (100.0%)**

**Ludwig-Eckes-Allee 6**

**55268 Nieder-Olm, DE**

72 Inventor/es:

**POPKEN, ANNE M.;**

**DECHENT, HANS-MARIO;**

**SCHANNE, SIBYLLE y**

**TOUZE, BRIGITTE**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 545 392 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

## Composición de bebida

- 5 La presente invención se refiere a bebidas que comprenden una combinación de frutas con un contenido de polifenoles naturales muy alto y una composición de polifenoles característica.

10 Para mucha gente, las recomendaciones dietéticas que promueven la salud se centran en consumir bebidas saludables, por ejemplo, zumos de frutas o té. La demanda para impulsar activamente la salud es muy diversa y cubre una amplia diversidad de recetas de bebidas. Hay muchas variedades posibles, desde una bebida con un requerimiento saludable global hasta un producto médico especial, que son atractivos desde un punto de vista relacionado con la salud por un lado. Por otro lado, a la gente le gustaría más y más disfrutar de la satisfacción, y por lo tanto se aumentan los requerimientos para un olor y un sabor excelentes. Los zumos de fruta refrescantes y sabrosos suministran al cuerpo líquidos, así como nutrientes esenciales. Y pueden hacer mucho más: los zumos de fruta y los purés de fruta, especialmente de bayas rojas y de uvas rojas, son un proveedor magnífico de polifenoles como componentes vegetales secundarios.

20 Las dietas ricas en frutas y verduras (F&V) se consideran normalmente que protegen frente al desarrollo de enfermedades crónicas, tales como la Enfermedad Cardíaca Coronaria (CHD) y el cáncer, que son las principales enfermedades que matan entre las poblaciones acomodadas. Los nutricionistas están recomendando un aumento del consumo de las frutas y de las verduras para impedir o prevenir la incidencia de las enfermedades crónicas y para proporcionar cantidades adecuadas de nutrientes vitales, fibra y antioxidantes para mantener los cuerpos saludables.

25 Se ha reconocido durante algún tiempo que estos efectos beneficiosos de las frutas y de las verduras se deben, al menos en parte, a los componentes antioxidantes de estos productos alimentarios, que pueden inhibir el daño celular por radicales libres. En el cuerpo, el daño por radicales libres surge debido a las especies reactivas de oxígeno que se forman endógenamente dentro de los tejidos, y también como resultado de una exposición a los radicales que surgen del humo de los cigarrillos, de la radiación ionizante, de la contaminación del aire y de otras agresiones ambientales. Estos radicales libres tienen la posibilidad de interactuar con moléculas biológicas, tales como proteínas, lípidos y ADN, y están implicadas en la etiología de varias enfermedades.

30 Los componentes antioxidantes incluyen, por ejemplo, polifenoles que se considera que son beneficiosos para la salud y la actividad anti-oxidante general de los polifenoles se ha analizado en la técnica.

35 Se describe un suplemento alimenticio que comprende gamma-tocoferol, flavonoides, ácido carnósico y carnosol en el documento FR 2899768 A1 para prevenir la enfermedad cardiovascular y para reducir el envejecimiento. El documento JP 2000125823 A describe una bebida que contiene polvo de extracto de uva roja, polvo de extracto de semilla de uva y galactooligosacárido como componentes principales que se dice que muestra un efecto de belleza excelente y que es útil para prevenir la arterioesclerosis. El documento AU 2006235822 A1 se refiere a un producto farmacéutico, a un suplemento dietético o a un aditivo alimentario que comprende un monómero de procianidina de cacao y/o un oligómero y un agente de disminución del colesterol basado en un esteroide y/o un estanol que se dice que promueve la salud cardiovascular y/o reduce el riesgo de enfermedad cardíaca. El uso de procianidina contenida en el extracto de uva para disminuir los niveles de lipoproteína y de colesterol se describe en el documento EP 713706 A2. En el documento JP 2006306797 A, se describe que una composición que comprende un producto derivado de la fruta del arándano como principio activo tiene propiedades anti-inflamatorias. El documento US 20060088610 A1 se refiere a una composición útil para la prevención y el tratamiento de afecciones inflamatorias por ejemplo artritis reumatoide, enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes, que comprende miricetin-3-β-xilopiranosido, quercetin-3-β-glucósido, quercetin-3-α-arabinopiranosido, 3'-metoxiquercetin-3-α-xilopiranosido, quercetin-3-O-(6''-p-cumaroil)-β-galactósido que se han extraído de arándanos agrios. El documento WO 2006083666 A1 se refiere a una composición terapéutica que comprende una mezcla de extractos alimentarios que transportan catequinas, proantocianidinas y curcumina, que se dice que son eficaces para el fin de reducir los marcadores de la inflamación crónica (proteína C-reactiva (CRP), ciclooxigenasa-2 (COX-2), 5-lipoxigenasa (5-LOX), factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), factor nuclear κB (NF-κB), interleucina 6 (IL-6) o interleucina 1-β (IL1-β)), reduciendo de esta manera los riesgos de enfermedad cardiovascular y de inflamación de las articulaciones. El uso del extracto de procianidina de semillas de uva para la prevención o la reducción de la lesión gástrica inducida por estrés se describe en el documento US 6291517 B1.

60 El documento EP 0954986 A3 describe una bebida herbal antioxidante basada en extractos vegetales que tienen efectos cardioprotectores y estabilizantes del colágeno y que disminuyen los niveles de homocisteína en sangre que contienen vitaminas B, ácido fólico y polifenoles incoloros. En este documento se señala que los zumos de frutas pertenecen a las bebidas con alto valor añadido con respecto a la salud y a la satisfacción, los ingredientes de los mismos por tanto contribuyen altamente al bienestar físico. Entre su contenido de vitaminas esenciales, minerales, ácidos y fibras de la fruta, pequeñas cantidades de componentes adicionales en las frutas y en los zumos de las mismas parecen ser responsables de los efectos positivos adicionales en la fisiología humana. Una amplia variedad de resultados de investigación publicados indican asociaciones complejas entre esos componentes conocidos como

metabolitos vegetales secundarios o sustancias bioactivas y el metabolismo humano. Se supone una relación entre los metabolitos secundarios y la "Paradoja Francesa", lo que significa que a pesar de una nutrición con un contenido graso relativamente alto, la frecuencia de la CHD es relativamente baja en Francia. Los metabolitos secundarios como procianidinas y flavanoles del vino tinto juegan un papel importante a este respecto. Entonces se observó una  
 5 relación inversa entre la ingesta de polifenol y la mortalidad por infarto de miocardio. Estos componentes que tienen un alto potencial antioxidante, principalmente basado en la eliminación de radicales de oxígeno, se distribuyen ampliamente en las frutas de baya europeas principalmente en las uvas rojas y en los arándanos rojos.

El documento WO 2008025627 A1 se refiere a un producto alimentario líquido que comprende frutas y verduras, y comprende adicionalmente *Helianthus tuberosus*. El documento DE 102004052882 A1 desvela un aditivo alimentario líquido que comprende una selección de concentrados de frutas y verduras que se dice que fortalece al sistema inmune y que reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares.  
 10

Una comparación de la potencia antioxidante de las bebidas ricas en polifenol incluyendo zumo de granada, zumo de manzana, zumo de asaí, zumo de cereza negra, zumo de arándanos, zumo de arándanos amargos, zumo de uva Concord, zumo de naranja, vinos tintos y bebidas de té helado la han publicado N. P. Seeram et al. en J. Agric. Food Chem., 56 (4), pág. 1415-1422, 2008. M.J. Bermúdez-Sota et al., Eur. Food Res. Technol. (2004), 219, 133-141, han investigado los perfiles fenólicos de nueve concentrados de zumo comercial de frutos rojos con vista a su uso como  
 15 ingredientes para zumos funcionales antioxidantes.  
 20

Un objetivo de la presente invención es proporcionar una bebida que combine un alto contenido de polifenoles beneficiosos, dando como resultado un efecto saludable aumentado con un sabor agradable.

Los presentes inventores han encontrado que una bebida que comprende una combinación de ciertos polifenoles y que tiene un contenido de polifenoles total y una alta capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) puede mejorar la función vascular (capacidad de dilatación vascular). Además, se ha encontrado que la bebida puede tener una influencia positiva en la alteración celular y en el estrés oxidativo y en las propiedades anti-inflamatorias.  
 25

Específicamente, la presente invención se refiere a los siguientes artículos (1) a (24):  
 30

(1) Bebida que comprende pulpa, puré o zumo de al menos uva, acerola, arándano rojo y manzana, y que comprende flavonoides, ácidos fenólicos y agua, en la que el contenido de polifenoles total, determinado de acuerdo con el método Folin y expresado como equivalentes de catequina, es al menos 2,5 g/l y la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) es al menos 20 mmol/l, y la bebida tiene una densidad relativa de 8 a 20 °Brix.  
 35

(2) Bebida de acuerdo con el artículo (1), que comprende adicionalmente lignanos, estilbenoides y/o elagitaninos.

(3) Bebida de acuerdo con el artículo (1), que comprende adicionalmente lignanos, estilbenoides y elagitaninos.  
 40

(4) Bebida de acuerdo con cualquiera de los artículos (1) a (3), en la que los flavonoides comprenden procianidinas.

(5) Bebida de acuerdo con cualquiera de los artículos (1) a (4) en la que el contenido de polifenoles total consiste en polifenoles de frutas.  
 45

(6) Bebida de acuerdo con cualquiera de los artículos (1) a (5), en la que el contenido de polifenoles sin polimerizar, determinado de acuerdo con el método HPLC y expresado como equivalentes de catequina, es al menos 500 mg/l.  
 50

(7) Bebida de acuerdo con cualquiera de los artículos (1) a (6), que comprende un contenido total de antocianos monoméricos, determinado de acuerdo con el método HPLC, de al menos 200 mg/l.

(8) Bebida de acuerdo con el artículo (7), en la que la relación en peso de los contenidos de cualquier antociano monomérico y de cualquier polifenol incoloro sin polimerizar es de 1:1 a 1:4, preferentemente de 1:1 a 1:2.  
 55

(9) Bebida de acuerdo con el artículo (1), en la que la mezcla de zumo o zumos de frutas, pulpa o pulpas de frutas y/o puré o purés de frutas proporciona un contenido de polifenoles de al menos 2,5 g/l, preferentemente 3,0 g/l, basado en el volumen total de la bebida.  
 60

(10) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (9) que consiste en materias primas que se pueden obtener de frutas y agua adicional opcional.

(11) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (10), que es un zumo de frutas.  
 65

(12) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (11), en la que los flavonoides comprenden

flavonoles y flavanoles incluyendo procianidinas y antocianos.

(13) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (2) a (12), que contiene los elagitaninos de las fresas.

5 (14) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (13), que tiene una densidad relativa de 10 a 17 °Bx, preferentemente de 13 a 15 °Bx.

(15) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (14), que tiene un pH de 3,0 a 4,2, preferentemente de 3,4 a 4.

10 (16) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (15), que tiene un contenido de ácido ascórbico de 50 a 1000, preferentemente de 400 a 1000 mg/l.

15 (17) Bebida de acuerdo con uno de los artículos (1) a (16), que tiene una capacidad antioxidante equivalente de Trolox de al menos 30 mmol/l.

(18) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (17), que tiene un contenido de polifenoles total, determinado de acuerdo con el método Folin y expresado como catequina, de al menos 3,0 g/l.

20 (19) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (18), en la que al menos el 40 % en peso de cualquier flavanol, incluyendo procianidinas, contenido en la bebida son los flavanoles de arándanos rojos y de uvas.

25 (20) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (19), en la que al menos el 50 % en peso de cualquier procianidina contenida en la bebida son las procianidinas de arándanos rojos y de uvas.

(21) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (20), en la que el contenido de cianidin-3-glucósido es mayor del 30 % en peso del contenido de antocianos total.

30 (22) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (21), en la que el contenido de delphinidin-3-glucósido es mayor de 10 mg/l.

(23) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (22), en la que la suma de los contenidos de flavanoles, incluyendo procianidinas, y de flavonoles es mayor de 60 mg/l.

35 (24) Bebida de acuerdo con uno cualquiera de los artículos (1) a (23), que contiene al menos 10 antocianos diferentes, teniendo cada uno un contenido de al menos 5 mg/l.

40 Debido a la alta concentración de los polifenoles en la bebida de acuerdo con la presente invención, que es mayor que, por ejemplo, en el vino tinto, tamaños de porción de menos de 330 ml, menos de 250 ml o incluso menos de 200 ml son ya suficientes para proporcionar al consumidor una cantidad significativa de antioxidantes.

45 Debería entenderse que los polifenoles son preferentemente polifenoles naturales, es decir, polifenoles como se contienen en materias primas naturales, en particular frutas. Se prefiere particularmente que el contenido de polifenoles de la bebida de acuerdo con la invención consista en estos polifenoles naturales y particularmente en polifenoles contenidos en frutas.

50 El alto contenido en polifenoles de la bebida puede lograrse favorablemente seleccionando materias primas con contenidos de polifenoles naturales muy altos. Para las frutas como materia prima, la variedad de la fruta, el país de origen y el tiempo de recolección pueden influenciar el contenido de polifenoles total. Debido a los pequeños tamaños de porción que se necesitan para proporcionar al consumidor estos beneficios saludables, solamente se consumirán pequeñas cantidades de azúcares. Esto da un efecto positivo adicional para una nutrición saludable. El consumo diario regular, que es necesario para el beneficio vascular, es nutricionalmente aceptable con una ingesta de azúcar controlada.

55 El consumo de una bebida al día de la bebida de la invención contribuye significativamente al consumo de polifenol en una dieta equilibrada capaz de prevenir algunas enfermedades, como la enfermedad cardíaca coronaria. La bebida permite mejorar la salud vascular, es decir, proporciona beneficios saludables específicamente en el sistema/estado vascular, a través de la vía más natural. Estos beneficios incluyen una mejora del estado vascular debido a una capacidad de dilatación mayor. Adicionalmente, como se analizará a continuación, la bebida actualmente reivindicada proporciona una composición de polifenol característica que tiene un beneficio saludable aumentado.

65 Como se ha expuesto anteriormente, la bebida de acuerdo con la invención comprende flavonoides, ácidos fenólicos y agua como componentes esenciales. Son componentes adicionales preferidos, lignanos, estilbenoides y/o elagitaninos. Se prefiere particularmente que la bebida de acuerdo con la invención comprenda agua, flavonoides,

ácidos fenólicos, lignanos, estilbenoides y elagitaninos. Además, se prefiere que los flavonoides comprendan procianidinas.

En un sentido amplio, los polifenoles se conocen en la técnica como una clase de metabolitos vegetales secundarios. Son compuestos aromáticos que se encuentran en diversas plantas, que se caracterizan por la presencia de al menos dos, normalmente tres o más grupos hidroxilo fenólicos en sus moléculas. Los polifenoles de acuerdo con la presente invención incluyen flavonoides, lignanos, estilbenoides, ácidos fenólicos y elagitaninos. Salvo que se indique de otra manera, cualquier referencia en el presente documento a los polifenoles en general o a clases específicas de polifenoles, tales como flavonoides, incluye los glucósidos de los compuestos respectivos.

Los flavonoides son una clase de metabolitos vegetales secundarios, que se derivan de la estructura 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona). Como se ha indicado anteriormente, la referencia en el presente documento a los flavonoides en general, así como la referencia a los flavonoides específicos incluye los glucósidos de estos compuestos. En particular, los flavonoides de acuerdo con la presente invención incluyen flavonas, flavonoles, flavanoles, incluyendo procianidinas y antocianos. Además, las flavanonas y los flavanonoles pertenecen al grupo de los flavonoides. Preferentemente, las bebidas están esencialmente libres de flavanonas, es decir comprenden menos del 5 % en peso de flavanonas, preferentemente menos del 1 % en peso, más preferentemente menos del 0,1 % en peso e incluso más preferentemente menos del 0,01 % en peso. Los flavanonoles pueden estar presentes en la bebida de acuerdo con la presente invención.

Las flavonas tienen un esqueleto 2-fenilcromen-4-ona sin sustitución del grupo hidroxilo en el carbono en la posición 3. Los ejemplos de las mismas incluyen luteolina, apigenina y tangeritina.

Los flavonoles o las 3-hidroxi flavonas tienen un esqueleto 3-hidroxi-2-fenilcromen-4-ona. Los ejemplos de los mismos incluyen glucósidos de quercetina, kaempferol, miricetina e isoramnetina. Preferentemente, la bebida contiene los flavonoles de frutos rojos, uvas rojas o manzanas.

Los flavanoles tienen un esqueleto de 2-fenil-3,4-dihidro-2H-cromen-3-ol. Los ejemplos de los mismos incluyen catequina, galocatequina, epicatequina y epigallocatequina galato. Preferentemente, la bebida contiene los flavanoles de frutos rojos, de uvas rojas y/o de manzanas. Salvo que se indique de otra manera, el término "flavanoles", como se usa en el presente documento, también incluye las procianidinas como se definen más adelante.

Las procianidinas, también denominadas proantocianidinas o taninos condensados, son polímeros de 2 a 50 (o más) unidades de flavanol (tales como catequina). Estas se unen por enlaces carbono-carbono que no son susceptibles a escindir por hidrólisis. Preferentemente, la bebida contiene las procianidinas de frutos rojos, de uvas rojas y/o de manzanas.

Las antocianidinas son los equivalentes libres de azúcar de los antocianos. Estas pueden identificarse basándose en la estructura de un gran grupo de tintes de polimetina, el ion benzopirilio (cromenilio). En particular, los antocianos son derivados salinos del catión 2-fenilcromenilio también conocido como catión flavilio. Los ejemplos de antocianos incluyen glucósidos de cianidina, delfinidina, pelargonidina, malvidina, peonidina y petunidina. Preferentemente, la bebida contiene los antocianos de frutos rojos y/o de uvas rojas.

Las flavanonas tienen un esqueleto 2,3-dihidro-2-fenilcromen-4-ona sin sustitución del grupo hidroxilo en el carbono en la posición 3. Los ejemplos de las mismas incluyen glucósidos de hesperitina, naringenina, eriodictiol y homoeriodictiol.

Los ácidos fenólicos de acuerdo con la presente invención (ácidos carboxílicos fenólicos) incluyen en particular compuestos seleccionados de ácidos hidroxibenzoicos y de ácidos hidroxicinámicos. Los ejemplos del grupo de ácidos hidroxibenzoicos incluyen ácido gálico, ácido salicílico, ácido protocatecúico y ácido vanílico. Los ejemplos del grupo de los ácidos hidroxicinámicos incluyen ácido ferúlico, ácido caféico, ácido *p*-cumárico y ácido clorogénico y los ésteres y/o glucósidos relacionados, por ejemplo ácido cutárico y ácido caftárico. Preferentemente, la bebida contiene los ácidos fenólicos de uva, acerola, fresa, arándano rojo, arándano, aronia, manzana y/o baya de Boysen, más preferentemente arándano rojo.

Los lignanos son sustancias polifenólicas derivadas de fenilalanina a través de la dimerización de alcoholes cinámicos sustituidos, conocidos como monolignoles, hacia un esqueleto de dibencilbutano. Los ejemplos de lignanos incluyen secoisolarisresinol, lariciresinol, matairesinol y pinoresinol. Preferentemente, la bebida contiene los lignanos de arándanos rojos y/o de fresas.

Los estilbenoides (estilbenos) son derivados hidroxilados del estilbeno, por ejemplo el resveratrol y el pterostilbeno. Preferentemente, la bebida contiene los estilbenos de arándanos rojos, arándanos, fresas y/o uvas rojas.

Los elagitaninos incluyen por ejemplo el ácido elágico y los glucósidos del ácido elágico. Preferentemente, la bebida contiene los elagitaninos de las fresas.

Los polifenoles sin polimerizar de acuerdo con la presente invención incluyen flavonoles, flavanoles (incluyendo

procianidina B1 y B2), flavonas, flavanonas, dihidrocalconas, ácidos fenólicos y antocianos como se ha definido anteriormente. Los polifenoles incoloros sin polimerizar son todos los polifenoles sin polimerizar excluyendo los antocianos.

- 5 Los frutos rojos de acuerdo con la presente invención incluyen arándano rojo, aronia, uvas rojas, fresas y arándanos. Los frutos rojos usados para la bebida de acuerdo con la invención incluyen arándanos rojos y opcionalmente aronia, o combinaciones de arándanos rojos con otros frutos rojos.

10 Las bebidas que se sabe que tienen altos contenidos de polifenol se enriquecen frecuentemente con polifenoles, por ejemplo, usando extractos vegetales que tienen contenidos de polifenol particularmente altos que incluyen extractos de semillas, extractos de piel, por ejemplo, extractos de piel de uva u otros extractos, tales como extractos de té. Como se ha indicado anteriormente, los polifenoles contenidos en la bebida de acuerdo con la invención son preferentemente polifenoles exclusivamente derivados de frutas. Esto significa, por ejemplo, que la bebida de acuerdo con la invención está preferentemente libre de componentes derivados del té, tales como extractos de té.

15 Además, se prefiere que se consiga un contenido de polifenoles de al menos 2,5 g/l, más preferentemente de al menos 2,8 g/l e incluso más preferentemente de 3,0 g/l sin la contribución de extractos de frutas. Se entenderá que tales extractos de frutas pueden estar presentes en la bebida de acuerdo con la invención si se desea alcanzar contenidos de polifenoles totales que excedan significativamente los límites anteriormente mencionados. Sin embargo, más preferentemente, cualquier extracto vegetal, incluyendo los extractos de frutas, está ausente de la bebida de acuerdo con la invención. La presente invención puede proporcionar bebidas que tengan un contenido de polifenoles total sin la necesidad de un enriquecimiento por extractos vegetales.

25 Preferentemente, la bebida de la presente invención contiene, o más preferentemente consiste en, materias primas derivadas de frutas y opcionalmente agua añadida. Normalmente, tal materia prima se selecciona de frutas enteras, zumo de fruta, puré de fruta, pulpa de fruta, extracto de fruta, concentrado de fruta, frutas congeladas o secas en frío, concentrado de fruta y pulpa de fruta o mezclas de los mismos. Más preferentemente, la bebida de acuerdo con la invención consiste en una mezcla de zumo o zumos de fruta, y/o de puré o purés de frutas y/o de pulpa o pulpas de frutas. Si es necesario, el contenido de agua de esta mezcla o de sus componentes puede adaptarse añadiendo o retirando agua. Sin embargo, es generalmente deseable mantener esencialmente el contenido de agua natural del zumo o zumos de fruta/puré o purés de fruta/pulpa o pulpas de fruta en el producto final. De esta manera, como se entenderá por el lector experto, el agua contenida en la bebida de acuerdo con la invención se deriva preferentemente de frutas, o se contiene en la bebida en cantidades como podrían obtenerse mezclando solamente componentes de fruta como se menciona anteriormente.

35 Preferentemente, la bebida de la presente invención se prepara mezclando diferentes zumos, preferentemente concentrado de zumo simple (de acuerdo con la Directiva del Consejo 2001/112/EC con respecto a zumos de fruta y ciertos productos similares destinados para el consumo humano), pulpas de fruta y/o purés de fruta de concentrados de zumo de fruta. Además de las materias primas anteriores, puede añadirse agua a la composición de la bebida. Si se añade agua a la composición, por ejemplo para diluir los concentrados usados en la preparación de la bebida, el contenido total de agua en el producto final no debería ser mayor al contenido de agua que podría conseguirse usando exclusivamente materias primas con el contenido de agua natural de las frutas respectivas, es decir zumos de fruta, pulpas de fruta y/o purés de fruta.

45 El contenido total de productos de fruta seleccionados de puré, pulpa y zumo, y el agua opcionalmente añadida en las bebidas de la presente invención es preferentemente del 5,0 al 100 % en peso, más preferentemente del 75 al 100 % en peso, más preferentemente del 90 al 100 % en peso o del 95 al 100 % en peso, más preferentemente el 100 % en peso, basándose en el peso total de la bebida.

50 Se prefiere particularmente que la bebida sea un zumo de fruta de acuerdo con el significado de esta frase definida en la Directiva del Consejo 2001/112/CE.

55 Un zumo de frutas es el producto fermentable pero sin fermentar obtenido de la fruta que está sana y madura, fresca o conservada enfriando, de uno o más tipos mezclados juntos, que tiene el color, el sabor y el gusto característicos típicos del zumo de la fruta de la que proviene. El sabor, la pulpa y las células del zumo que se separan durante el procesamiento pueden restablecerse en el mismo zumo (de acuerdo con la Directiva del Consejo 2001/112/EC con respecto a zumos de fruta y ciertos productos similares destinados al consumo humano).

60 De acuerdo con la presente invención, un concentrado de fruta, incluyendo concentrado de zumo de fruta y concentrado de pulpa de fruta, significa un producto de fruta que tiene un contenido de agua reducido con respecto al zumo de fruta o a la pulpa de fruta originales. Preferentemente, el contenido de agua se reduce a un 30 % en peso o menos, más preferentemente un 20 % en peso o menos, incluso más preferentemente un 10 % en peso o menos. El concentrado de fruta puede prepararse por cualquier método convencional, por ejemplo el agua puede evaporarse al vacío y/o por calor.

65 Un puré de fruta es un producto fermentable pero sin fermentar obtenido tamizando la parte comestible de la fruta

entera o pelada sin retirar el zumo. Un puré de fruta concentrado es el producto obtenido del puré de fruta por la retirada física de una proporción específica de su contenido de agua.

5 La pulpa o las células son los productos obtenidos de las partes comestibles de la fruta del mismo tipo sin retirar el zumo. A la bebida, de acuerdo con la invención, pueden añadirse edulcorantes normalmente usados en la industria de la bebida, por ejemplo sacarosa, glucosa, fructosa, sirope de azúcar invertido y sirope de glucosa, edulcorantes de fruta, sustitutos del azúcar como sorbitol, manitol, así como Aspartamo, Acesulfamo K, Sucralosa, Sacarina, Neohesperidina, Ciclamato y Taumatina, solos o como una mezcla. Alternativamente o en combinación con lo anterior, puede usarse un componente edulcorante derivado de *Stevia rebaudiana Bertoni* (por ejemplo glucósido de esteviol o Rebaudiósido A). Sin embargo, la bebida de acuerdo con la presente invención preferentemente no contiene ningún edulcorante añadido.

15 De acuerdo con la invención, las sustancias aromáticas pueden estar comprendidas como aditivos en la bebida, especialmente fracciones aromáticas obtenidas como notas superiores de un proceso de concentración de las frutas usadas en la presente invención. Se prefiere que no se añadan sustancias aromáticas a la bebida con la excepción de las sustancias aromáticas que recuperan el aroma original de los componentes de fruta contenidos en la bebida, que pueden haberse reducido durante un proceso de concentración.

20 También pueden añadirse zumo de limón, concentrado de zumo de limón y/o ácidos, como ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico o ácido tartárico para conseguir una relación dulzura-acidez equilibrada. Las bebidas de acuerdo con la invención están preferentemente libres de ácido tartárico, más preferentemente libres de zumo de limón, de concentrado de zumo de limón y/o de ácidos, de ácido málico, de ácido láctico y de ácido tartárico.

25 Otros aditivos opcionales de la bebida de acuerdo con la invención comprenden, por ejemplo, pectina, goma guar, goma de garrofín, alginatos, goma arábiga, goma tara y goma xantana. Preferentemente, no se añaden tales aditivos a la bebida.

30 La densidad relativa de la bebida de la presente invención es de 8 a 20 °Brix, preferentemente de 10 a 20 °Bx, más preferentemente de 10 a 17 °Bx, más preferentemente de 13 a 15 °Bx. Como se establece en la técnica, °Bx (Grados Brix) es una medida de la relación de masas de azúcar disuelto con respecto a agua en un líquido. Específicamente, una solución que tiene 1 °Bx significa que la solución tiene la misma densidad relativa que una solución de 1 g de sacarosa en 100 g de una solución sacarosa/agua, es decir un 1 % en peso de sacarosa en agua, a 20 °C. 1 °Bx es aproximadamente 4 °Oechsle.

35 El pH de la bebida de la presente invención es preferentemente de 3,0 a 4,2, más preferentemente de 3,4 a 4.

40 El contenido de ácido ascórbico (Vitamina C) de la bebida de la presente invención es preferentemente al menos 50 mg/l, más preferentemente al menos 100 mg/l y más preferentemente al menos 400 mg/l. Se prefiere particularmente que la bebida de acuerdo con la invención contenga una combinación de zumo o zumos de fruta y/o de puré o purés de fruta y/o de pulpa o pulpas de fruta que permita que la bebida alcance o exceda estos límites sin tener en cuenta el ácido ascórbico proporcionado por cualquier componente adicional, que puede añadirse, si se desea, pero están preferentemente ausente. La cantidad de ácido ascórbico está normalmente por debajo de 1000 mg/l. Las vitaminas pueden añadirse como tales a la bebida de la presente invención, pero preferentemente no se añade.

45 La capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) de la bebida de la presente invención es al menos 20 mmol/l, preferentemente al menos 25 mmol/l, más preferentemente al menos 28 mmol/l y más preferentemente al menos 30 mmol/l. Se prefiere particularmente que la bebida de acuerdo con la invención contenga una combinación de zumo o zumos de fruta y/o de puré o purés de fruta y/o de pulpa o pulpas de fruta que permite a la bebida alcanzar o exceder estos límites sin tener en cuenta la TEAC proporcionada por cualquier componente adicional, que puede añadirse, si se desea, pero están preferentemente ausentes. Además, la capacidad antioxidante equivalente de Trolox preferentemente no es mayor de 100 mmol/l, más preferentemente no mayor de 60 mmol/l, incluso más preferentemente no mayor de 50 mmol/l y más preferentemente no mayor de 40 mmol/l.

55 El Valor TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox) representa el potencial antioxidante total de la muestra con respecto al derivado Trolox de la vitamina E.

60 El contenido de polifenoles total determinado de acuerdo con el método Folin y expresado como equivalentes de catequina, de la bebida de la presente invención es al menos 2,5 g/l, preferentemente al menos 2,8 g/l y más preferentemente al menos 3,0 g/l. Se prefiere particularmente que la bebida de acuerdo con la invención contenga una combinación de zumo o zumos de fruta y/o puré o purés de fruta y/o pulpa o pulpas de fruta que permita que la bebida alcance o exceda estos límites sin tener en cuenta los polifenoles proporcionados por cualquier componente adicional, que puede añadirse, si se desea, pero están preferentemente ausentes. Además, el contenido de polifenoles total preferentemente no es mayor de 10 g/l, más preferentemente no mayor de 6 g/l, incluso más preferentemente no mayor de 5 g/l y todavía más preferentemente no más de 4,5 g/l. Más preferentemente, el contenido de polifenoles total de la bebida es de 3 a 4 g/l.

Todas las combinaciones de los valores preferidos del valor TEAC y del contenido de polifenoles total debe considerarse como se describen expresamente, por ejemplo la combinación de un TEAC de al menos 28 mmol/l y un contenido de polifenoles total de al menos 3,0 g/l. De forma similar, todas las combinaciones de todas las otras realizaciones preferidas descritas en el presente documento deben considerarse que se describen expresamente.

Por ejemplo, en realizaciones preferidas, la bebida de acuerdo con la presente invención comprende agua, flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos, estilbenoides y elagitaninos; o agua, ácidos fenólicos, lignanos, estilbenoides, elagitaninos, procianidinas y otros flavonoides además de procianidinas; muestra una densidad relativa de 10 a 20 °Bx, una capacidad antioxidante equivalente de Trolox de 30 a 40 mmol/l y tiene un contenido de polifenoles total de 3 a 4 g/l.

Por el método Folin, puede determinarse el contenido de polifenoles total de una bebida incluyendo polifenoles monoméricos, oligoméricos y poliméricos.

El contenido de los polifenoles sin polimerizar (incluyendo antocianos monoméricos) y el contenido de procianidinas puede medirse por el método HPLC. En la bebida de acuerdo con la presente invención, el contenido de polifenoles no poliméricos, determinados de acuerdo con el método HPLC es preferentemente al menos 500 mg/l. El contenido de antocianos monoméricos, determinado de acuerdo con el método HPLC es preferentemente al menos 200 mg/l, más preferentemente al menos 250 mg/l.

El valor TEAC, el contenido de polifenoles total y los contenidos de componentes específicos puede analizarse en la bebida ya mezclada, o en el caso de que las diferentes materias primas interfirieran en la bebida, estos valores pueden medirse en las materias primas comprendidas en la bebida y la TEAC total y el contenido de polifenoles total y los contenidos de los componentes específicos de la bebida pueden calcularse como la suma de los contenidos respectivos en la materia prima pesada por las cantidades de las materias primas en la receta de la bebida.

Aunque los antocianos monoméricos forman una clase de polifenoles coloreados, el resto de polifenoles no polimerizados son principalmente incoloros. El contenido de polifenoles incoloros no polimerizados corresponde por lo tanto a la diferencia entre el contenido de polifenoles no poliméricos y el contenido de antocianos monoméricos.

La relación en peso de antocianos monoméricos a polifenoles incoloros no polimerizados es preferentemente 1:1 a 1:4, más preferentemente 1:1 a 1:3, incluso más preferentemente 1:1 a 1:2.

La bebida de acuerdo con la presente invención es preferentemente una bebida en la que al menos un 40 % en peso de los favanoles, incluyendo procianidinas, contenidos en la bebida son los flavanoles de arándanos rojos y de uvas.

Se prefiere adicionalmente una bebida en la que al menos el 50 % en peso de las procianidinas contenidas en la bebida son las procianidinas de arándanos rojos y de uvas.

Se prefiere adicionalmente una bebida en la que la suma de cianidin-3-glucósido es mayor del 30 % en peso del contenido de antocianos total.

La bebida de acuerdo con la presente invención tiene preferentemente un contenido de delphinidin-3-glucósido mayor de 10 mg/l, preferentemente de 15 a 50 mg/l, más preferentemente de 20 a 40 mg/l, más preferentemente de 25 a 30 mg/l.

Se prefiere además una bebida en la que la suma de los contenidos de flavanoles, incluyendo procianidinas, y flavanoles sea mayor de 60 mg/l.

Preferentemente, la bebida de acuerdo con la presente invención contiene al menos 5, preferentemente al menos 6 o 7, más preferentemente 10 antocianos diferentes, cada uno de un contenido de al menos 5 mg/l, más preferentemente al menos 7 mg/l, 10 mg/l.

La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente polifenoles en contenidos, medidos de acuerdo con el método HPLC, en los intervalos mostrados: suma de delphinidin-glucósido: mayor de 10 mg/l, preferentemente de 15 a 50 mg/l, más preferentemente de 20 a 40 mg/l, más preferentemente de 25 a 30 mg/l; suma de cianidin-glucósido: mayor de 50 mg/l, preferentemente de 70 a 200 mg/l, más preferentemente de 100 a 150 mg/l; suma de petunidin-glucósido: mayor de 5 mg/l, preferentemente de 7 a 30 mg/l, más preferentemente de 10 a 20 mg/l; suma de pelargonidin-glucósido: mayor de 5 mg/l, preferentemente de 7 a 30 mg/l, más preferentemente de 10 a 20 mg/l; suma de peonidin-glucósido: mayor de 5 mg/l, preferentemente de 10 a 40 mg/l, más preferentemente de 15 a 25 mg/l; suma de malvidin-glucósido: mayor de 20 mg/l, preferentemente de 30 a 100 mg/l, más preferentemente de 40 a 70 mg/l; suma de ácidos hidroxibenzoicos: mayor de 10 mg/l, preferentemente de 15 a 50 mg/l, más preferentemente de 20 a 30 mg/l; suma de ácidos hidroxicinámicos: mayor de 50 mg/l, preferentemente de 80 a 250 mg/l, más preferentemente de 120 a 180 mg/l; suma de ácidos fenólicos:



mayor de 50 mg/l, preferentemente de 100 a 300 mg/l, más preferentemente de 150 a 250 mg/l; suma de flavonoles: mayor de 5 mg/l, preferentemente de 10 a 5,0 mg/l, más preferentemente de 15 a 25 mg/l y suma de flavanoles monoméricos: mayor de 5 mg/l, preferentemente de 10 a 50 mg/l, más preferentemente de 20 a 30 mg/l.

- 5 Preferentemente, la bebida de acuerdo con la invención contiene una mezcla de la pulpa, el puré y/o el zumo de al menos 5 frutas diferentes y en particular preferentemente de al menos 6 o 7 frutas diferentes.

10 La bebida de la presente invención comprende una combinación de pulpa, puré y/o zumo de uva, acerola, arándano rojo y manzana, y opcionalmente pulpa, puré y/o zumo de frutas seleccionadas del grupo de: fresa, arándano, aronia, mora, saúco, grosella negra, granada y baya de Boysen. Preferentemente, la bebida de la presente invención comprende una combinación de materias primas que contienen zumo de uva o concentrado de zumo de uva, puré de acerola, zumo de arándano rojo o concentrado de zumo de arándano rojo, y puré de manzana, zumo de manzana o concentrado de zumo de manzana, y opcionalmente materias primas seleccionadas de puré de fresa, puré de arándano, zumo de aronia o concentrado de zumo de aronia y puré de baya de Boysen.

15 La bebida de acuerdo con la presente invención comprende pulpa, puré o zumo de al menos uva, acerola, arándano rojo y manzana. Se prefiere que la bebida adicionalmente comprenda pulpa, puré o zumo de (1) fresa, arándano y aronia y opcionalmente baya de Boysen o (2) mora, aronia y grosella negra. Las realizaciones particularmente preferidas de acuerdo con la invención son bebidas que consisten en estas combinaciones de materias primas de frutas. La bebida de acuerdo con la presente invención contiene preferentemente no más del 10 % v/v, más preferentemente no más de 5 % v/v, basándose en el zumo de fruta de cada uno de uva Concord, mangostán, mora, umbu y/o asaí. Más preferentemente, el mangostán y el umbu están ausentes como componentes de fruta.

20 La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente zumo de uva en una cantidad del 40 al 80 % v/v, más preferentemente del 50 al 75 % v/v; más preferentemente del 60 al 70 % v/v. La uva se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 1.000 a 2.000 mg/l, más preferentemente de 1.400 a 1.800 mg/l. Por ejemplo, puede usarse como tal zumo de uva. De manera alternativa, puede añadirse un concentrado de zumo de uva, que tiene una densidad relativa de 50 a 80 °Brix (preferentemente de 60 a 70 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 7.000 a 13.000 mg/kg (preferentemente de 9.000 a 11.000 mg/kg) a la bebida en una cantidad de 100 a 200 g por litro de la bebida, más preferentemente de 130 a 180 g/l.

25 La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré de acerola o zumo o concentrado de zumo de acerola. Si se usa puré, se usa generalmente en una cantidad del 1 al 10 % v/v, más preferentemente del 2 al 8 % v/v; más preferentemente del 3 al 5 % v/v. La acerola se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 200 a 500 mg/l, más preferentemente de 250 a 420 mg/l. Por ejemplo, el puré de acerola, que tiene una densidad relativa de 5 a 10 °Brix (preferentemente de 6 a 8 °Brix) y un contenido de polifenoles total de 7.000 a 13.000 mg/kg (preferentemente de 9.000 a 11.000 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 20 a 60 g por litro de la bebida, más preferentemente de 25 a 45 g/l.

30 La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente zumo o puré arándano rojo. Si se usa zumo, se usa generalmente en una cantidad del 1 al 10 % v/v, más preferentemente del 2 al 8 % v/v; más preferentemente del 4 al 6 % v/v. El arándano rojo se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 100 a 200 mg/l, más preferentemente de 140 a 180 mg/l. Por ejemplo, el zumo de arándano rojo puede usarse como tal o concentrado de zumo de arándano rojo, que tiene una densidad relativa de 50 a 80 °Brix (preferentemente de 60 a 70 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 15.000 a 25.000 mg/kg (preferentemente de 19.000 a 23.000 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 5 a 12 g por litro de la bebida, más preferentemente de 7 a 10 g/l.

35 La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré de manzana, zumo de manzana o concentrado de zumo de manzana. Si se usa puré, se usa generalmente en una cantidad del 5 al 20 % v/v, más preferentemente del 7 al 15 % v/v; más preferentemente del 8 al 12 % v/v. La manzana se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 100 a 200 mg/l, más preferentemente de 140 a 180 mg/l. Por ejemplo, el puré de manzana, que tiene una densidad relativa de 10 a 20 °Brix (preferentemente de 13 a 15 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 1.000 a 2.000 mg/kg (preferentemente de 1.300 a 1.700 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 50 a 200 g por litro de la bebida, más preferentemente de 70 a 150 g/l.

40 La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente zumo de aronia en una cantidad del 1 al 10 % v/v, más preferentemente del 2 al 8 % v/v; más preferentemente del 3 al 5 % v/v. La aronia se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 200 a 500 mg/l, más preferentemente de 300 a 400 mg/l. Por ejemplo, puede usarse el zumo de aronia como tal, o el concentrado de zumo de aronia, que tiene una densidad relativa de 50 a 80 °Brix (preferentemente de 60 a 70 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 25.000 a 45.000 mg/kg (preferentemente de 30.000 a 40.000 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 5 a 20 g/l.

por litro de la bebida, más preferentemente de 7 a 14 g/l.

La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré de fresa en una cantidad del 0 al 20 % v/v, más preferentemente del 5 al 15 % v/v; más preferentemente del 8 al 13 % v/v. La fresa se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 0 a 500 mg/l, más preferentemente de 200 a 300 mg/l. Por ejemplo, el puré de fresa, que tiene una densidad relativa de 5 a 12 °Brix (preferentemente de 6 a 9 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 1.500 a 3.000 mg/kg (preferentemente de 2.200 a 2.800 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 0 a 200 g por litro de la bebida, más preferentemente de 70 a 150 g/l.

La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré de arándano en una cantidad del 0 al 20 % v/v, más preferentemente del 3 al 15 % v/v; más preferentemente del 5 al 12 % v/v. El arándano se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 0 a 500 mg/l, más preferentemente de 200 a 300 mg/l. Por ejemplo, el puré de arándano, que tiene una densidad relativa de 5 a 15 °Brix (preferentemente de 7 a 10 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 4.000 a 7.000 mg/kg (preferentemente de 5.000 a 6.000 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 0 a 200 g por litro de la bebida, más preferentemente de 50 a 120 g/l.

La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré, zumo o concentrado de zumo de baya de Boysen. Si se usa puré, se usa generalmente en una cantidad del 0 al 10 % v/v, más preferentemente del 1 al 7 % v/v; más preferentemente del 2 al 5 % v/v. La baya de Boysen se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 0 a 50 mg/l, más preferentemente de 20 a 40 mg/l. Por ejemplo, el puré de baya de Boysen, que tiene una densidad relativa de 5 a 15 °Brix (preferentemente de 7 a 10 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 2.000 a 4.000 mg/kg (preferentemente de 2.500 a 3.500 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 0 a 20 g por litro de la bebida, más preferentemente de 5 a 15 g/l.

La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré de mora en una cantidad del 0 al 15 % v/v, más preferentemente del 2 al 12 % v/v; más preferentemente del 3 al 7 % v/v. La mora se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 0 a 500 mg/l, más preferentemente de 50 a 300 mg/l. Por ejemplo, el puré de mora, que tiene una densidad relativa de 5 a 15 °Brix (preferentemente de 7 a 10 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 2.000 a 5.000 mg/kg (preferentemente de 3.000 a 4.000 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 0 a 100 g por litro de la bebida, más preferentemente de 20 a 60 g/l.

La bebida de acuerdo con la presente invención comprende preferentemente puré, zumo o concentrado de zumo de grosella negra. Si se usa puré, se usa generalmente en una cantidad del 0 al 20 % v/v, más preferentemente del 3 al 15 % v/v; más preferentemente del 5 al 12 % v/v. La grosella negra se añade preferentemente como una materia prima como tal para proporcionar una contribución al contenido de polifenoles total (Método Folin) en la bebida de 0 a 800 mg/l, más preferentemente de 300 a 500 mg/l. Por ejemplo, el puré de grosella negra, que tiene una densidad relativa de 10 a 18 °Brix (preferentemente de 12 a 15 °Brix) y un contenido de polifenoles total (Método Folin) de 3.000 a 6.000 mg/kg (preferentemente de 3.500 a 4.500 mg/kg) puede añadirse a la bebida en una cantidad de 0 a 200 g por litro de la bebida, más preferentemente de 50 a 130 g/l.

Las bebidas de la presente invención preferentemente son estables en almacenamiento. Más preferentemente las bebidas de la presente invención tienen una vida útil de al menos 3 meses, incluso más preferentemente 6 meses a temperaturas por debajo de +8 °C. Si se almacenan en PET Barrera, el producto es estable preferentemente a temperatura ambiente (20 °C) durante al menos 6 meses.

La invención en la misma comprende un procedimiento para la producción de una bebida descrita anteriormente en la que los ingredientes se mezclan y se diluyen opcionalmente con agua hasta la concentración deseada. Posteriormente, la bebida producida puede desgasificarse y pasteurizarse. El producto final se carga en contenedores apropiados, por ejemplo botellas.

#### Ejemplos

A continuación, se describen los métodos de ensayo. Los productos químicos usados en los métodos son todos de calidad de análisis (p.a.) excepto los eluyentes de HPLC que son disolventes de calidad HPLC.

#### **Valor TEAC:**

El Valor TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox) representa el potencial antioxidante total de la bebida. El ensayo TEAC, descrito originalmente por Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ (1993; Clinical Science 84; 407-412) se basa en eliminar aniones radicales de larga vida (ABTS.-). Un método de decoloración modificado (Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, nº 9/10, 1231-1237) se usó para medir la actividad antioxidante con respecto a un patrón Trolox. En esta

modificación, el complejo coloreado (ABTS. + catión radical) se construye antes del contacto con los antioxidantes, mientras que en el método original la construcción del color y la decoloración se realizan simultáneamente.

5 Las Soluciones de Calibración Trolox se preparan dentro del intervalo de 0,025-0,450 mmol/l diluyendo una solución madre (con 2,5 mmol/l en etanol) con tampón fosfato de pH 7,2-7,4. Este tampón fosfato también se usa para diluir las muestras (bebidas, zumos, concentrados, purés). Para la bebida de la presente invención se recomienda una dilución de la muestra 1:50 v/v con tampón. La solución madre de ABTS se prepara a partir de 77 mg de ABTS y 13 mg de persulfato potásico en 20 ml de tampón fosfato (preparado un día antes del análisis). Esta solución madre se diluye con tampón fosfato hasta una extinción resultante (medida con un espectrofotómetro a 734 nm d = 1 cm) de 0,7 a 0,8. (¡Esta solución funcional solo es estable durante 1 día!). La decoloración del complejo ABTS empieza con la adición de antioxidantes: se añaden 100 µl de muestra o de solución patrón Trolox a 1900 µl de solución ABTS y se mezcla bien. Como referencia se usan 100 µl de tampón fosfato en lugar de la muestra o del patrón. Exactamente después de 6 min se mide la extinción a 734 nm frente a la referencia. Los valores de extinción de los patrones Trolox se usan para preparar una curva de calibrado. Los equivalentes Trolox de las muestras se calculan (en mmol/l) usando esta curva de calibrado y teniendo en cuenta los factores de dilución.

#### Contenido de Polifenoles total (Folin):

20 El contenido de Polifenoles Total (Folin) se mide de acuerdo con Tanner/Brunner (Getränkeanalytik 2. Auflage 1979, Heller Chemie- und Verwaltungsgesellschaft mbH, Schwäbisch Hall): Los compuestos polifenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu hasta un complejo coloreado rojo. La absorbancia se mide a 720 nm con un espectrofotómetro. Para la curva de calibrado se usan soluciones patrón de catequina. La cantidad total de polifenoles se calcula como mg de catequina por litro (o kg). Para construir una curva de calibrado se disuelven 212,4 mg de hidrato de catequina en 5 ml de metanol en un matraz volumétrico de 100 ml y se cargan hasta la marca con agua desmineralizada. Esta solución madre tiene un contenido de catequina (sin agua) de 2000 mg/l. 1,5, 10, 15, 20 y 25 ml de esta solución madre se cargarán hasta 50 ml cada una con agua desmineralizada. Esto da como resultado 6 soluciones patrón con contenidos de catequina de 40, 200, 400, 600, 800 y 1000 mg/l.

30 Las muestras se diluyen con agua desmineralizada para ajustarse en la curva de calibrado.

La medida fotométrica se hace a 720 nm usando un espectrofotómetro y cubetas de plástico con d = 1 cm. En un vial de reacción se mezclan completamente 8,4 ml de agua + 0,1 ml de muestra o de solución patrón + 0,5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (por ejemplo Merck: Art. Nº 9001) y después de aproximadamente 3 minutos se añadirá 1 ml de solución de carbonato sódico (20 % p/v en agua) - mezcla de nuevo. Exactamente después de 60 minutos, la extinción se mide frente a una referencia (en lugar de la muestra o de la solución patrón se usan 0,1 ml de agua y se trata de la misma manera que los patrones o las muestras).

40 El Contenido de Polifenoles Total como se hace referencia en el presente documento se calcula como catequina en mg/l. Este proporciona el contenido de todos los componentes de la bebida que reaccionan con los reactivos de Folin-Ciocalteu de la manera analizada anteriormente. La dilución de la muestra se tiene en cuenta.

#### Contenido de polifenoles no polimerizados - polifenoles incoloros y antocianos:

45 El contenido de polifenoles no polimerizados - polifenoles incoloros y antocianos - puede medirse usando Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) con Detección de Matriz de Diodos a diferentes longitudes de onda.

Preparación de la muestra, especialmente para flavanonas y sus glucósidos:

50 Se diluyen 10 ml de muestra (bebida) en 10 ml de dimetilformamida (DMF) y 10 ml de una solución recién preparada de 3,55 g de oxalato amónico en 1 l de agua desmineralizada. Esta mezcla se calentará a 90 °C durante 10 min (por ejemplo en un baño de agua). Después de enfriar a temperatura ambiente, esta solución se cargará hasta 50 ml con agua desmineralizada.

55 Preparación de la muestra para muestras turbias o muestras con células de fruta: se diluyen 102 ml de bebida a 25 ml con metanol y se agita durante 1 hora usando un agitador magnético.

60 Extracción en Fase Sólida (SPE) usando cartuchos de SPE C18. La bebida limpia o filtrada se separará en una fracción neutra y una ácida usando cartuchos C18 de 500 mg. El cartucho neutro se precondicionará con 20 volúmenes de lecho de metanol y 20 volúmenes de lecho de agua (pH 6), el cartucho ácido se precondicionará con 20 volúmenes de lecho de metanol y 20 volúmenes de lecho de ácido acético al 0,5 %. Se pondrán 2 ml de la bebida en el cartucho neutro. Después de lavar con 5 ml de agua, el eluato recogido se ajustará a pH 2 con ácido clorhídrico y se transferirá al cartucho ácido. Después de lavar con 5 ml de ácido acético al 5 %, el eluato se descartará. Los polifenoles adsorbidos se lavarán de las columnas con 5 ml de metanol para cada columna. Los eluatos se concentrarán a 2 ml cada uno usando una corriente de nitrógeno.

65 Extracción en Fase Sólida (SPE) usando cartuchos de SPE de poliamida con 1 g de poliamida (por ejemplo

## ES 2 545 392 T3

Chromabond PA 1000 mg de Macherey&Nagel), preacondicionados con metanol (20 ml). Se darán en la columna 2 ml de bebida (limpia o filtrada). Una fracción neutra se eluirá con 5 ml de metanol, una fracción ácida se eluirá usando 5 ml de metanol/ácido fórmico 98,5/1,5 v/v. Los eluatos deberían concentrarse en una corriente de nitrógeno hasta 2 ml cada uno.

5 Para el análisis de HPLC todas las muestras han de filtrarse a través de un filtro de membrana de 0,45 µm o de 0,2 µm.

Condiciones de HPLC:

10 Dispositivo de HPLC con detector de matriz de diodos, bomba de gradiente, calentador de columna

Columna: LiChrospher RP18, 5 mm, 250 x 4,6 mm + 10 x 4 mm

15 Temperatura de la columna: 40 °C

Eluyente A: ácido fórmico 40 mM en agua,

Eluyente B: ácido fórmico 40 mM en metanol

20 Gradiente del 10 % B al 100 % B en 60 minutos

Flujo: 1 ml/min.

25 Detección: 220-260 nm

Longitudes de onda fijadas:

510 nm antocianos

30 325 nm ácidos hidroxicinámicos

355 nm Flavonas, Flavonoles

35 280 nm flavanoles, flavanonas y otros

### Medida del contenido de antocianos total usando un espectrofotómetro a 510 nm:

40 Las muestras se diluyen con tampón citrato a pH 3,2 y se filtran a través de un filtro de membrana de 0,45 µm. Se cargan 0,1 ml de la muestra en una cubeta de plástico (d = 1 cm) y se mezclan con 3 ml de tampón citrato. La extinción de esta dilución se mide frente al tampón citrato (como referencia) a 510 nm. De la misma manera que las muestras, se miden las soluciones patrón de cloruro de calistefina para construir una curva de calibrado entre la extinción 0,1 y 1,0.

45 La cantidad total de antocianos se calcula como mg de cloruro de calistefina/l o mg de cloruro de calistefina/kg.

Para medir la relación de antocianos condensados o polimerizados a antocianos libres o monoméricos debería usarse el siguiente procedimiento:

50 0,1 ml de bebida + 3 ml de tampón citrato a pH 3,2 + 0,1 ml de ácido clorhídrico al 5 % se mezclan en una cubeta de plástico fotométrica d = 1 cm se mide la extinción E1 a 510 nm

Añadir 0,1 g de disulfito potásico, mezclar y medir la extinción E2 (510 nm) después de 20 min.

55 El cociente  $E1/E2 = MI$  (índice Monomérico)

% antocianos condensados =  $100 \% / MI$

### Análisis de flavanoles y pirocianidinas B1 y B2:

60 Para el análisis de los flavanoles y de las pirocianidinas se usó un método de HPLC con derivatización postcolumna usando p-dimetilaminocinamaldehído (DMACA). Este método se describe por Treutter et. al. en el Journal of Chromatography A, 667 (1994) 290-297.

65 Condiciones de HPLC:

Dispositivo de HPLC con detector de matriz de diodos o detector VIS, bomba de gradiente, calentador de

columna

Bomba adicional para el reactivo de derivatización, reactor postcolumna (tubo de teflón de punto de 10 m ID 0,1 mm) + calentador

5

Tiempo de derivatización: 1,7 min

Temperatura de derivatización: 30 °C

10

Columna: 2 columnas de Hyperclone RP18, 3 mm, 150 x 4 mm conectadas en serie

Temperatura de la columna: 30 °C

15

Eluyente A: ácido fórmico al 5 % en agua,

Eluyente B: ácido fórmico al 5 % en metanol

Gradiente: 10 % de Eluyente B al 100 % de Eluyente B en 120 minutos

20

Caudal: 0,5 ml/min.

Detección: 220-260 nm

longitudes de onda fijadas: 640 nm

25

Calibración: curvas patrón externas con flavanoles y procianidinas B1 y B2 disponibles en el mercado

#### Ensayo de Almacenamiento

30

En el ensayo de almacenamiento, dos muestras de 0,1 l del zumo de fruta del Ejemplo 1 se almacenaron durante 14 semanas. La primera muestra se almacena en contenedores PET convencionales, mientras que la segunda muestra se almacena en contenedores hechos de PET Multicapa. Durante el ensayo de almacenamiento, cada 2 semanas se analiza una pequeña muestra de cada contenedor para el contenido de vitamina C (ácido ascórbico), el contenido de polifenoles total y el matiz de color a 530 nm/420 nm. El ensayo mostró que la estabilidad del zumo de fruta del Ejemplo 1 no se influye sustancialmente por la elección del PET Multicapa o del PET Convencional. Las muestras eran estables almacenadas durante 3 meses a temperaturas por debajo de +8 °C.

35

#### Ensayos *in vitro*

40

La reactividad vascular de los zumos de fruta de los Ejemplos 1 y 2 se evaluó usando anillos de arterias coronarias porcinas aisladas de animales sanos. Este material biológico se ha elegido como modelo debido al comportamiento similar al sistema coronario humano. El zumo de fruta se diluye al 0,1 % v/v y se añade a la cámara de órganos con volúmenes en aumento. Los ensayos se han hecho en anillos coronarios con y sin endotelio.

45

La relajación se observa solamente para coronarias con endotelio: los zumos inducen una relajación dependiente de endotelio potente en los anillos arteriales coronarios. Solamente se observa relajación pequeña con zumos peores PP como zumo de manzana sin colorear limpio (0,2 g PP/l) o zumo de naranja (0,3 g PP/l).

50

El zumo de uva Concord CGJ induce relajaciones dependientes de endotelio de las arterias coronarias (ANSELM et al. 2007). Se obtuvieron incluso mejores resultados con la bebida del Ejemplo 1 y del Ejemplo 2 (Véase la Figura 1).

Este resultado muy positivo del ensayo *in vitro* permite la conclusión de que también puede esperarse un efecto positivo en el estado vascular de otros mamíferos, en particular humanos.

55

#### Estudio Clínico

60

En un estudio clínico, 20 sujetos sanos consumieron 200 ml de zumo de fruta del Ejemplo 1 al día durante 14 días, separado por una semana de periodo de lavado (estudio cruzado). La función endotelial se evaluó por el ensayo de hiperemia reactiva isquémica (RHI) determinado usando tonometría arterial periférica antes de y 1 o 2 horas después de la ingesta de los zumos. Esta medida se ha hecho después del primer consumo de 200 ml (1er día del estudio => efecto agudo) y después de 14 días de consumo (efecto crónico). Se han comparado los dos tipos de datos.

65

"Agudo": (véase la Figura 2) Este resultado puede considerarse para la medida de FMD (dilatación mediada por flujo) en la gente ensayada. Es un índice del estado cardiovascular de la gente ensayada. Los datos probaron el estado vascular convencional del paciente (gente sana sin una disfunción endotelial verdadera).

"Crónico": (véase la Figura 3) Este gráfico después de 14 días de consumo muestra una mejora del estado vascular

debido a una mayor capacidad de dilatación frente a la medida inicial ("crónico" frente a "agudo").

Ejemplo 1

5 Concentrado de zumo de uva, puré de acerola, puré de fresa, concentrado de zumo de arándano rojo, puré de arándano, concentrado de zumo de aronia, puré de manzana y puré de baya de Boysen que tienen un contenido de polifenoles total (medido fotométricamente) (PP mg/kg) y una densidad relativa (°Brix) como se indica en la Tabla 1 se mezclaron en cantidades tales como para obtener un contenido de polifenoles en la bebida (PP mg/l) como se indica en la Tabla 1 para conseguir un zumo de fruta. El zumo de fruta tenía una densidad relativa de 14 °Bx, un pH de 3,4 ± 0,3, un contenido de vitamina C de 450 a 470 mg/l, una TEAC de 36 ± 2 mmol/l y un contenido de polifenoles total de 3,5 g/l (± 10 %).

El análisis de HPLC del zumo de fruta se muestra a continuación:

- 15 antocianos monoméricos: 253 mg/l;
- ácidos hidroxibenzoicos: 28 mg/l;
- ácidos hidroxicinámicos: 165 mg/l;
- 20 flavonoles: 21 mg/l; y
- flavonoles, incluyendo procianidinas: 69 mg/l.
- 25 flavonoles, sin procianidinas: 42 mg/l
- procianidinas: 27 mg/l

Tabla 1

	°Brix	PP mg/kg	Peso neto g/l	PP mg/l
Conc. de zumo de uva	65	10000	160	1600
Puré de acerola	6,5	9601	42	403
Puré de fresa	8	2622	106	278
Conc. de zumo de arándano rojo	65	21190	8,1	172
Puré de arándano	9	5587	106	592
Conc. de zumo de aronia	66	35112	9,6	337
Puré de manzana	14	1470	105	154
+520 g de agua desmineralizada.				

30

Ejemplo 2

De forma similar al método del Ejemplo 1, los componentes mostrados en la Tabla 2 se mezclaron para conseguir un zumo de fruta. El zumo de fruta tenía un contenido de vitamina C de 480 a 500 mg/l, una TEAC de 36 ± 2 mmol/l y un contenido de polifenoles total de 3,3 g/l (± 10 %).

35

Tabla 2

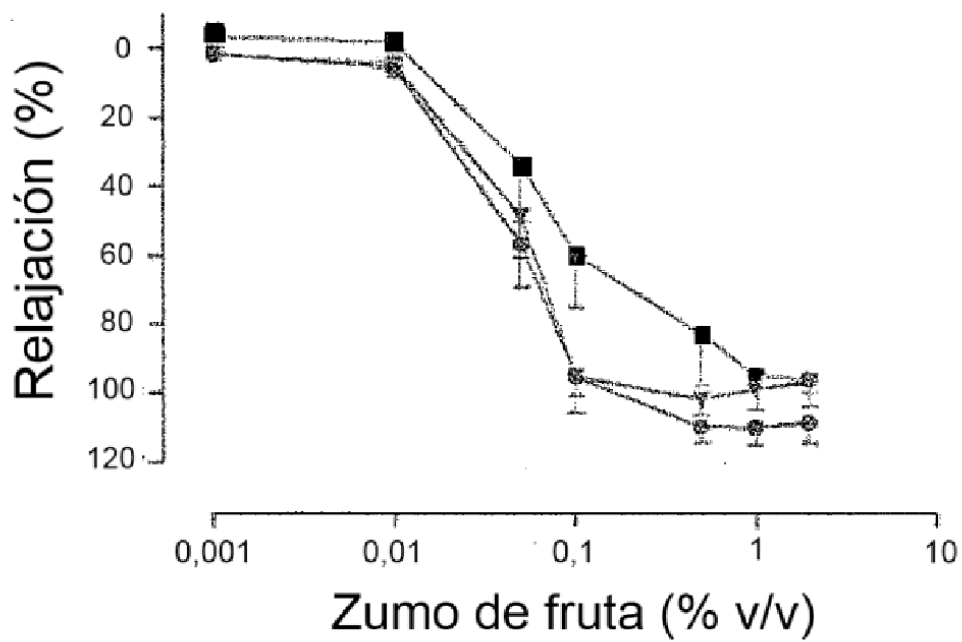
	°Brix	PP mg/kg	Peso neto g/l	PP mg/l
Conc. de zumo de uva	65	10000	158	1600
Puré de acerola	6,5	9601	42	403
Puré de arándano	8	3900	53	207
Conc. de zumo de arándano rojo	65	21190	8,1	172
Conc. de zumo de aronia	66	35112	9,6	337
Puré de manzana	14	1470	105	154
Puré de grosella negra	13	4300	105	452
+575 g de agua desmineralizada.				

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Bebida que comprende pulpa, puré o zumo de al menos uva, acerola, arándano rojo y manzana, y que comprende flavonoides, ácidos fenólicos y agua, en la que el contenido de polifenoles total, determinado de acuerdo con el método Folin y expresado como equivalentes de catequina, es al menos 2,5 g/l y la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) es al menos 20 mmol/l, y la bebida tiene una densidad relativa de 8 a 20 °Brix.
- 10 2. Bebida de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el contenido de polifenoles total consiste en polifenoles de frutas.
3. Bebida de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en la que el contenido de polifenoles no polimerizados, determinado de acuerdo con el método HPLC y expresado como equivalentes de catequina, es al menos 500 mg/l.
- 15 4. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende un contenido total de antocianos monoméricos, determinado de acuerdo con el método HPLC, de al menos 200 mg/l.
5. Bebida de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la relación de peso de los contenidos de cualquier antociano monomérico y de cualquier polifenol incoloro no polimerizado es de 1:1 a 1:4, preferentemente de 1:1 a 1:2.
- 20 6. Bebida de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la mezcla de zumo o zumos de fruta, pulpa o pulpas de fruta y/o puré o purés de fruta proporciona el contenido de polifenoles de al menos 2,5 g/l, basado en el volumen total de la bebida.
- 25 7. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que consiste en materias primas obtenibles a partir de frutas y agua adicional opcional.
8. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que es un zumo de fruta.
- 30 9. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que tiene una densidad relativa de 10 a 17 °Bx.
10. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que tiene un pH de 3,0 a 4,2.
- 35 11. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que tiene una capacidad antioxidante equivalente de Trolox de al menos 30 mmol/l.
12. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que tiene un contenido de polifenoles total, determinado de acuerdo con el método Folin y expresado como catequina, de al menos 3,0 g/l.
- 40 13. Bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que la suma de los contenidos de flavanoles, incluyendo procianidinas, y de flavonoles es mayor de 60 mg/l.

Figura 1

### Efecto de los zumos de fruta en arterias coronarias porcinas aisladas



Con endotelio

—●— Ejemplo 1

—▼— Ejemplo 2

—■— Zumo de uva Concord



Figura 2

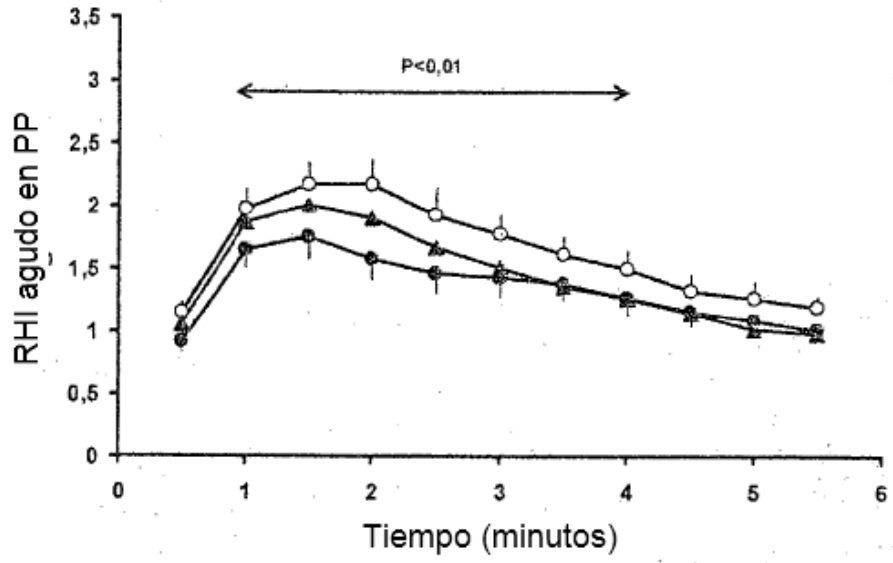
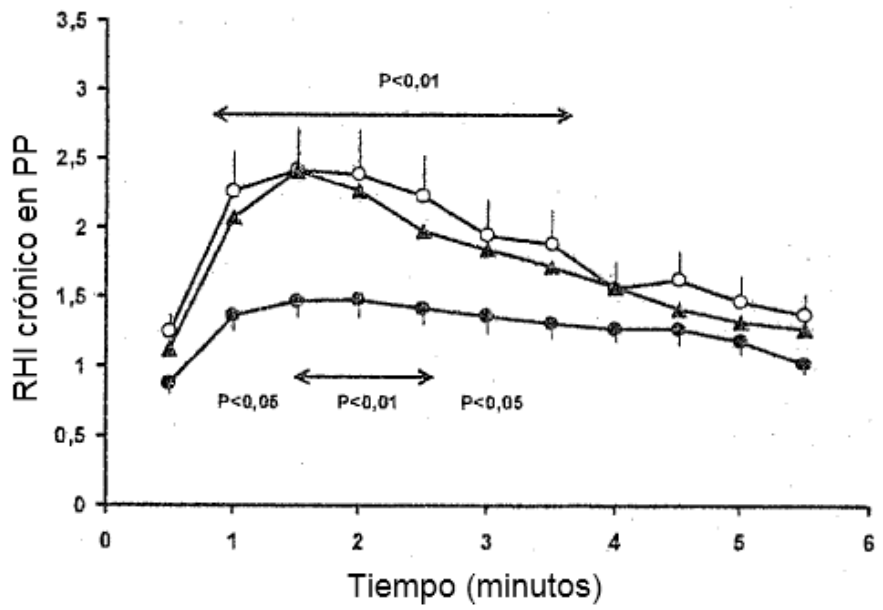


Figura 3



- Antes de la ingesta del zumo
- 1 h después de la ingesta del zumo
- ▲ 2 h después