(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 628 979**

(51) Int. Cl.:

C08B 37/00	(2006.01)
C12P 19/18	(2006.01)
C07H 3/06	(2006.01)
A23K 20/163	(2006.01)
A23L 29/244	(2006.01)
A23L 29/30	(2006.01)
A23L 33/10	(2006.01)
A23L 33/21	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.06.2009** **PCT/EP2009/004222**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.12.2009** **WO09149940**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2009** **E 09761503 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2017** **EP 2294093**

(54) Título: **Proceso de producción de una composición de fructooligosacárido**

(30) Prioridad:

12.06.2008 EP 08010679
13.06.2008 EP 08010793

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.08.2017

(73) Titular/es:

TIENSE SUIKERRAFFINADERIJ N.V. (100.0%)
Tervurenlaan 182
1150 Brussel, BE

(72) Inventor/es:

DE LEENHEER, LENA;
FROONINCKX, KIM, MARTHA, JOZEFA y
HÉROUFOSSE, FRANÇOIS, ALICE, ALPHONSE

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 628 979 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

Proceso de producción de una composición de fructooligosacárido

La invención se refiere a un proceso para la producción de un fructooligosacárido, a una composición de fructooligosacárido y su uso.

Los fructooligosacáridos como tales son conocidos, y encuentran cada vez más uso en, entre otros, alimentos, en los que pueden usarse en, por ejemplo, su calidad de suministro de dulzor no de sacarosa, como sustituto de grasas, como texturizante, o para sus propiedades prebióticas.

Una característica de los fructooligosacáridos es que se ajustan en un perfil de alimentación y vida natural y sana. Sin embargo, se observa que el perfil de propiedades de los fructooligosacáridos puede mejorarse a este respecto incluso más, y este objetivo representa el objetivo de la presente invención.

Dicho objetivo se logra proporcionando un proceso para la producción de una composición de fructooligosacárido (FOS) (FC) a escala industrial, que comprende las etapas de:

a) proporcionar un material de partida que contiene sacarosa;
b) poner el material de partida junto con una enzima para formar una mezcla, por lo que la enzima tiene una actividad de endo-inulinasa y está en forma no inmovilizada libre;
c) exponer la mezcla a condiciones por las cuales puede tener lugar la formación de FOS durante una cantidad de tiempo tal que el FOS en la mezcla constituya al menos el 45 % en peso de la cantidad total de hidratos de carbono en la mezcla, formando así la composición de FOS; en el que el contenido de sólidos de la mezcla se encuentra entre 55 ºBx y 80 ºBx y la temperatura se encuentra entre 55 ºC y 76 ºC;
d) opcionalmente desactivar la enzima;
e) recuperar la composición de FOS, en el que en la etapa a) la cantidad de sacarosa procesada se encuentra entre 500 y 500.000 kg por 24 horas.

Una ventaja del proceso según la invención es que puede implementarse de un modo que cumpla todas las normas principales con referencia a la producción de ingredientes para alimentos Orgánicos. La FC así producida puede, por consiguiente, ser comercializada como ingrediente Orgánico y así ya no representa un factor de impedimento en la preparación de alimentos completamente Orgánicos, pero puede ser fácilmente incorporada en su interior y puede conferir dulzor, textura y propiedades prebióticas al mismo.

En la solicitud de patente japonesa 62-295299 (publicación número 1-137974), se desvela la preparación enzimática de una FC a partir de sacarosa. La enzima usada debe ser inmovilizada.

En "The Production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or Fructosyltransferase from Aspergillus ficuum", Barrie E. Norman & Birgitte Højer-Pedersen, Denpun Kagaku vol 36, No. 2, pp 103-111 (1989), se desvela la preparación a escala de laboratorio de una FC a partir de inulina de cadena más larga o de sacarosa dentro del marco de la investigación básica en enzimas y sus funcionamientos.

En "Synthesis of Fructooligosaccharides from Sucrose Using Inulinase from Kluyveromyces marxianus", Andrelina M.P. Santos & Francisco Maugeri, Food Technol. Biotechnol. 45 (2) pp. 181-186 (2007), se desvela la preparación de una FC. La preparación es enzimática; la enzima se inmoviliza en alginato de calcio.

En el documento EPA-0 889 134 se desvela un proceso de producción de una β-fructofuranisodasa específica, que comprende las etapas de cultivar un OGM (célula hospedadora) que se transformó mediante un plásmido recombinante.

El fructooligosacárido (FOS) pertenece a los compuestos conocidos como inulina. Inulina es un término genérico que se refiere a un material de hidrato de carbono que consiste principalmente en restos de fructosa unidos mediante enlaces de fructosilfructosa de tipo β(2→1), con opcionalmente un resto de inicio de glucosa. La inulina es normalmente polidispersa, es decir, una mezcla de compuestos de diversas longitudes de cadena, por lo que el grado de polimerización (DP) de los compuestos individuales puede oscilar de 2 a 100 o más alto. El término fructooligosacárido - abreviado FOS - indica así una forma específica de un material de inulina, tanto monodisperso como polidisperso, por lo que el DP de los compuestos individuales oscila de 2 a 10, en la práctica frecuentemente de 2 a 9, o de 2 a 8 o de 2 a 7. El FOS comercialmente disponible es normalmente un material polidisperso que tiene un grado de polimerización (DP) promedio en número de aproximadamente 2 a 4.

En la práctica, el FOS también se denomina oligofructosa. Como se usa en el presente documento, se considera que los términos fructooligosacárido y oligofructosa son sinónimos.

Según la invención, el FOS es parte de una composición. Como se entiende en el presente documento, una composición de FOS significa una composición que contiene FOS - tanto monodisperso como polidisperso - y que

además puede contener otros compuestos. Ejemplos de tales otros compuestos son: agua, sacarosa, fructosa, glucosa, compuestos de inulina distintos de FOS, maltosa, sales orgánicas y sales inorgánicas. Se indica, sin embargo, que como se usa en el contexto de la presente invención y cuando la composición de FOS está prevista para consumo por un ser humano o animal, el término composición de FOS debe considerarse un ingrediente para un alimento en vez de como en sí un alimento. La creación de un alimento es así otra etapa por la que la composición de FOS sirve de un ingrediente de alimento.

El proceso según la invención se ejecuta a escala industrial. Es muy sabido que no hay trivialidad para transferir los hallazgos de laboratorio a la práctica a gran escala; en particular, se sabe que como resultado podrían surgir muchos problemas y pueden necesitar ser resueltos. Ejemplos de tales problemas en el campo de los procesos de hidratos de carbono incluyen incrustaciones, turbidez, espumación, contaminación con patógenos microbiológicos y la necesidad de etapas de purificación. Como se indica en el presente documento, el término escala industrial significa que el proceso se lleva a cabo en una instalación que es capaz de procesar al menos 500 kg de materiales de partida por 24 horas de operación; preferentemente esta cantidad está entre 1.000 y 1.000.000 kg por 24 horas. En una realización principal, el proceso según la invención se refiere únicamente a la preparación de una composición de FOS: en esta realización principal el proceso no se combina con la preparación de otro alimento; también preferentemente, la composición de FOS no se prepara *in situ* en un producto de alimento existente, sino que es un ingrediente de alimento.

En la etapa a) del proceso según la invención, se proporciona un material de partida. Este material de partida debe contener, o consistir preferentemente esencialmente en, sacarosa. En una realización, la sacarosa es sacarosa Orgánica.

Los términos consistir (que consiste) esencialmente en o 'esencialmente solo' y equivalentes tienen, a menos que se indique de otro modo, en relación con una composición, el significado usual que además de compuestos que son obligatorios, también pueden estar presentes otros compuestos, a condición de que las características esenciales de la composición no sea materialmente afectadas por su presencia.

La sacarosa Orgánica es conocida como tal, y está comercialmente disponible. Una fuente conocida de sacarosa Orgánica es sacarosa Orgánica de cañas de azúcar, suministrada por Candico® (Bélgica) y normalmente suministrada en forma de cristales sólidos. Preferentemente, el material de partida está certificado según al menos una de las regulaciones (UE) o actas (EE.UU.) referentes a las prácticas Orgánicas actualmente en vigor. Si los materiales de partida para el presente proceso Orgánico contienen otros materiales, además de sacarosa, entonces también estos otros materiales de partida deben ser permisibles bajo las prácticas de procesos Orgánicos.

En la etapa b) del proceso según la invención, el material de partida se lleva junto con una enzima, formando así una mezcla.

El fin de la enzima es catalizar la formación de FOS de sacarosa; esto puede lograrse seleccionando una enzima que tiene actividad de fructosiltransferasa. Tales enzimas son conocidas como tales, por ejemplo como se clasifica con el número de categoría de enzimas EC 2.4.1.99 o EC 2.4.1.9. Una divulgación temprana de una enzima tal es en "The Production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or Fructosyltransferase from Aspergillus ficuum", Barrie E. Norman & Birgitte Højer-Pedersen, Denpun Kagaku vol 36, No. 2, pp 103-111 (1989). Además, se sabe que algunas β-fructofuranosidasas, es decir, enzimas clasificadas bajo EC 3.2.1.26, también pueden tener actividad de fructosiltransferasa.

Se encontró, sorprendentemente, que también enzimas que tienen una actividad de endo-inulinasa - tales como enzimas clasificadas bajo EC 3.2.1.7 - pueden en presencia de sacarosa dar lugar a la formación de FOS, en particular si actúan en una mezcla que tiene un alto contenido de sólidos de 60 ºBx o más alto. Así, la invención se refiere a un método para la preparación enzimática de una composición de fructooligosacárido a partir de sacarosa en el que la enzima contiene o incluso consiste esencialmente en una endo-inulinasa.

Un ejemplo de una enzima preferida para su uso en la etapa b) de la invención es la endo-inulinasa Novozyme 960 (proveedor: Novozymes). Otro ejemplo de una enzima preferida para su uso en la etapa b) de la invención es Pectinex Ultra SP-L (proveedor: Novozymes).

En una realización de la invención, la enzima usada en la etapa b) es una enzima que también se produce como tal en la naturaleza. En esta realización, no se ha realizado actividad de ingeniería genética para cambiar la secuencia de aminoácidos de la enzima, o del ADN subyacente que conduce a la formación de la enzima. Se prefiere además que no se use organismo genéticamente modificado (OGM) con el fin de preparar la enzima a escala comercial, de manera que la enzima no se prepare por un OGM. Similarmente, se prefiere que no se use microorganismo obtenido mediante mutación, por ejemplo mediante exposición intencionada a productos químicos o radiación, en la preparación de la enzima usada en el proceso según la invención.

La enzima puede usarse parcialmente en forma inmovilizada, pero también debe parcialmente o preferentemente incluso completamente en forma no inmovilizada - por lo que se sabe que no inmovilizado también se denomina

'libre'. Si la enzima se usa parcialmente en forma inmovilizada, se prefiere que la inmovilización se haga sin el uso de reticulantes u otras sustancias que son no son permitidas en las prácticas de producción Orgánica. En una realización principal de la invención, sin embargo, la enzima no está inmovilizada en absoluto.

La cantidad de enzima necesaria en el proceso según la invención depende de diversos factores conocidos como tales, tales como la temperatura de proceso, cantidad de materiales de partida, pH, duración de proceso permisible y velocidades de conversión deseadas. Estos y otros factores relevantes pueden ser determinados por el experto en la materia siguiendo los procedimientos generalmente aceptados en este campo técnico.

Cuando se forma la mezcla, se prefiere - como es usual en este tipo de proceso - que esté presente agua o se añada de manera que el agua se convierta en la fase continua en la mezcla. Si es así, entonces esto también puede hacerse, sin embargo, como parte de la etapa c) posterior.

En la etapa c) de la invención, la mezcla como se forma en la etapa b) se expone a condiciones por las cuales puede tener lugar la formación de FOS durante una cantidad de tiempo tal que se forme una cantidad deseada de FOS, formándose así la composición de FOS. Cuando no se ha hecho ya en la etapa b), se prefiere en la etapa c) que se añada el agua tal que llegue a ser la fase continua en la mezcla. Puede ser útil o incluso necesario enviar la mezcla a un tratamiento tal como un tratamiento de temperatura ultra-alta (UHT); esto puede, entre otras cosas, ayudar a garantizar que esencialmente no estén contenidos patógenos o queden en la mezcla. En una realización principal de la invención, la mezcla se expone a condiciones por las que la formación de FOS puede tener lugar durante una cantidad de tiempo de forma que el FOS en la composición de FOS así formada constituya al menos el 45 % en peso de la cantidad total de hidratos de carbono en la mezcla. Preferentemente, dicha cantidad de FOS es al menos el 50, 53, 55, 56, o incluso al menos el 57 % en peso de la cantidad total de hidratos de carbono en la mezcla. Debido a la circunstancia que normalmente se formará una cierta cantidad de glucosa libre en el proceso, puede existir un límite en la máxima cantidad de FOS obtenible en la mezcla. Así, la cantidad de FOS en la mezcla en esta etapa del proceso es preferentemente como máximo el 65, 64 o el 63 % en peso de la cantidad total de los hidratos de carbono.

Como se sabe, la unidad 'ºBx' – abreviatura de 'grados Brix' – es un término ampliamente usado en la industria del azúcar para indicar el contenido de sólidos de una solución de azúcar, como se deriva de su índice de refracción. Como se usa en el presente documento, se usa el mismo método en muestras de sacarosa (Orgánica) o en composiciones de FOS. Como se sabe, los valores numéricos de ºBx están muy próximos a, o incluso son esencialmente idénticos a, los porcentajes en peso; así, en una expresión alternativa de la presente invención, todos los valores de ºBx como se han mencionado en la presente descripción y reivindicaciones se leen como que son los porcentajes en peso de materia seca.

La temperatura en la etapa c) es al menos 55 ºC. Sorprendentemente, se encontró que la etapa de proceso c) según la invención podría mostrar resultados inesperados cuando la temperatura en la etapa c) se encontrara entre 60 ºC y 75 ºC y el contenido de sólidos se encontrara entre 61 y 75 ºBx. A diferencia de la previsión de que a tales condiciones de temperatura elevada la formación de FOS se deterioraría en comparación con temperaturas por debajo de 60 ºC, se encontró que podía tener lugar formación de FOS buena o incluso mejorada.

Además, se encontró que cuando el contenido de sólidos de la mezcla estaba por encima de 55, 58, 60, 61, 62, 63 o 64 ºBx, que entonces en el proceso según la invención las condiciones para el crecimiento de microorganismos eran cada vez más desfavorables. Dichas condiciones pueden incluso ser desfavorables a tal grado que no hubiera necesidad del uso de adyuvantes de procesamiento que pretendieran suprimir el crecimiento de microorganismos como bactericidas. Esta característica del proceso según la invención es además fundamental en caso de una implementación Orgánica altamente eficiente de él.

La enzima o combinación de enzimas como se usa en el proceso de la invención puede usarse parcialmente en forma inmovilizada. Sin embargo, en la principal realización del proceso según la invención, se encontró que el proceso puede ser operado de una manera particularmente eficiente si en la etapa c) la enzima no se inmoviliza en absoluto. Según la invención, en la etapa c) el contenido de sólidos de la mezcla se encuentra entre 55, 58, 60, 61, 62, 63 o 64 y 80, 78, 76, 75, 74, 73 o 72 ºBx. La temperatura se encuentra entonces entre 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, o 65°C y 76, 75, 74, 73, 72 o 71 ºC.

Cuando la mezcla se expone en la etapa c) a condiciones de temperatura y concentración como se indican anteriormente, la acción enzimática conducirá a la formación de FOS Orgánico; al mismo tiempo puede formarse - y normalmente se forma – glucosa libre. Puede ser útil o incluso necesario controlar el pH durante la ejecución de la etapa c). El intervalo de pH preciso es, como conoce el experto, dependiente de varios factores tales como en particular la elección y las características de la enzima que se usa. El control del pH puede ser ejecutado por medios que son conocidos como tales, por lo que preferentemente debe tenerse cuidado de que cualquier compuesto usado para este fin sea aceptable dentro del marco de la producción Orgánica. Ejemplos de compuestos acidificantes que son aceptables en al menos una reglamentación/ley/norma Orgánica son ácido cítrico y ácido sulfúrico. La duración de la ejecución de la etapa c) según la invención se elige principalmente en función de la cantidad de FOS que se

desea. Como el experto sabe, esta duración está frecuentemente en el intervalo entre 1 y 72 horas, preferentemente entre 5 y 50 horas, más preferentemente entre 12 y 36 horas, durante el cual se forma la composición de FOS (FC).

Tras completarse la etapa c) de la invención, puede desearse garantizar que la enzima se desactive. Si es éste el caso, entonces puede implementarse una etapa de desactivación de la enzima d). La implementación de la etapa d) también se prefiere debido a la circunstancia que la enzima usada está al menos parcialmente no inmovilizada. La desactivación de la enzima puede lograrse por métodos que son conocidos como tales y pueden diferenciarse para cada tipo de enzima específica. Un ejemplo de un método de desactivación tal es un aumento en la temperatura - a un nivel de, por ejemplo, aproximadamente 80, 85 o 90 ºC - seguido de un tiempo de residencia de entre 5 y 30 minutos a una temperatura elevada tal. Otro beneficio de la exposición a una temperatura tal es que las cantidades de cualquier bacteria que pueda estar presente se reducen espectacularmente.

Posterior a la etapa c) - o posiblemente la etapa d) - la FC se recupera en una etapa de recuperación e). La etapa de recuperación e) de la invención puede incluir opcionalmente la adición de compuestos a FC. Se encontró que cuando la FC se recupera como tal - es decir, normalmente como solución acuosa - ya es adecuada para el uso posterior como ingrediente en alimentos o en pienso para animales. También es posible utilizar una etapa de procesamiento posterior, por lo que cualquier etapa posterior tal es preferentemente aceptable dentro de la región estructural de la producción Orgánica (ingrediente). Ejemplos de tales etapas posteriores son:

1. Una etapa de esterilización, por ejemplo por medio de UHT;
2. Una etapa de filtración en la que la FC se pasa a través de filtros; dichos filtros pueden tener opcionalmente como fin ayudar a asegurar que la FC llegue a ser o se vuelva estéril;
3. Una etapa de calentamiento, por ejemplo a una temperatura que se encuentra entre 85 ºC y el punto de ebullición de la FC o más alta, por ejemplo con el objetivo de evaporar una porción del agua presente en la FC.

Preferentemente y en vista de su carácter Orgánico preferido, en ninguna de las etapas del proceso según la invención se hace uso de una o más de las siguientes sustancias: agente anti-cascarilla, agente antiespumante, bactericida, biocida y floculante. Además, se prefiere que no se usen técnicas de separación cromatográfica en ninguna etapa del proceso según la invención. Similarmente, se prefiere que no se usen resinas de intercambio iónico en ninguna etapa del proceso según la invención. En general, las etapas de refino no se usan preferentemente. Se encontró en particular que la operación del proceso a altas temperaturas y a alto contenido de sólidos es fundamental en permitir renunciar a las sustancias y técnicas anteriormente mencionadas cuando se implementa el proceso de la invención a escala industrial.

Se observa que el no uso de las sustancias y técnicas como se han mencionado anteriormente no es una trivialidad, ya que estas son sustancias y técnicas que son bastante comunes en la industria de la preparación de FOS. La no trivialidad se mantiene así en particular para la implementación a escala industrial del proceso de la invención. En este contexto el experto en la materia puede, mediante experimentación rutinaria, variar las condiciones de proceso tales como en particular el contenido de sólidos y la temperatura dentro de los intervalos e intervalos preferidos como se dan anteriormente de manera que se llegue a condiciones por las cuales sea de hecho posible la ausencia anteriormente mencionada de ciertas sustancias y técnicas a escala industrial.

Según la invención, por tanto, la cantidad de sacarosa procesada en la etapa a) se encuentra entre 500 y 500.000 kg por 24 horas. De esta forma, el proceso según la invención puede convertir entre 500 kg y 500.000 kg de sacarosa por 24 horas en una composición de FOS.

Cuando se ejecuta un proceso para la preparación de una composición de FOS, se apreciará que el experto en la materia tiene a su disposición varios parámetros que pueden variarse con el fin de optimizar el proceso y la composición de FOS resultante. Entre los más importantes de este rango de parámetros, como el experto sabe: la temperatura a la que la síntesis se lleva a cabo, el contenido de sólidos de la mezcla en las etapas b) y c), la duración de la reacción enzimática y la cantidad de enzima que se añadió.

Se encontró, sorprendentemente, que ciertas selecciones de estos parámetros pueden conducir a composiciones de FOS específicas que tienen características deseables. En particular, la combinación de:

- valores relativamente altos de contenido de sólidos y temperatura con las pautas que se han dado anteriormente;
- el uso de una enzima libre no inmovilizada, por el cual preferentemente dicha enzima no se preparó usando OGM; y
- realizar experimentos rutinarios para reducir la cantidad de enzima en la medida de lo posible mientras que todavía se obtienen velocidades de conversión al menos aceptables,

puede conducir a la composición de FOS que tiene una o más de las siguientes características:

- una alta cantidad de FOS que tiene un grado de polimerización (DP) de 3, con respecto a la cantidad total de fructooligosacáridos; y/o

- una baja cantidad de FOS que tienen un DP de 7 o más alto, con respecto a la cantidad total de fructooligosacáridos; y/o
- una alta cantidad de FOS en la composición en conjunto, mientras que todavía retiene una cantidad relativamente alta de sacarosa.

Se prefiere que una porción de como máximo el 3, más preferentemente de como máximo el 2, 1, o incluso el 0,50, 0,40, 0,30 o el 0,20 % en peso de los hidratos de carbono en FC consista en oligosacáridos que tienen un grado de polimerización (DP) de 7 o más. En esta realización, puede estar presente una cantidad de o por encima del 0,01, 0,05 o el 0,10 % en peso de oligosacáridos que tienen un grado de polimerización (DP) de 7 o más, mientras que se respetan los límites superiores como se han dado antes.

Se encontró que el proceso según la invención puede conducir a una FC en la que un alto porcentaje de los fructooligosacáridos en la FC tienen un grado de polimerización (DP) de 3 como se mide en HPLC. El compuesto dominante que tiene un DP de 3 en la FC preparada según la invención es 1-kestosa. Sorprendentemente, se encontró que puede lograrse una FC tal que tiene una alta cantidad de FOS con DP3 mediante el uso de enzimas que son conocidas por producirse como tales en la naturaleza.

El proceso de la invención, por tanto, produce una FC en la que:

- al menos el 56 % en peso de los fructooligosacáridos en la FC tienen un DP de 3 como se mide en HPLC; y
- la FC se obtiene a partir de sacarosa en un proceso enzimático, por lo que no se usa enzima que se obtiene de un organismo genéticamente modificado.

Preferentemente, una porción de como máximo el 2 % en peso de los hidratos de carbono en la FC consiste en oligosacáridos que tienen un grado de polimerización (DP) de 7 o más. En realizaciones preferidas adicionales, la cantidad de FOS que tienen DP 3, calculada basándose en la cantidad total de FOS en la FC y como se mide en HPLC, es al menos el 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, o incluso al menos el 70 % en peso. Se encontró que la circunstancia de que al menos el 56 % en peso de los fructooligosacáridos tuviera un DP de 3 tiene la ventaja de aumentar la solubilidad de la FC en agua y/o disminuir la tendencia de la FC a mostrar turbidez.

Preferentemente, los hidratos de carbono en la FC contienen al menos el 11 % en peso, preferentemente al menos el 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,0 o incluso al menos el 14 % en peso de sacarosa - esto aunque la FC debe obtenerse a partir de sacarosa en un proceso enzimático, por el cual no se usó OGM y preferentemente ningún microorganismo mutado para preparar la enzima; la enzima estuvo preferentemente en forma libre no inmovilizada. Esto tiene la ventaja de que se reduce la cantidad de hidratos de carbono que no son FOS, y que son generalmente menos deseables. En esta realización, se prefiere que la FC no se haya sometido a técnicas de separación tales como separación cromatográfica para eliminar hidratos de carbono de la FC. El proceso de la invención también produce una FC en la que:

- al menos el 55 % en peso de los hidratos de carbono en la FC son fructooligosacáridos; y
- al menos el 11 % en peso de los hidratos de carbono en la FC consisten en sacarosa; y
- la FC se obtiene de sacarosa en un proceso enzimático, por el cual no se usa enzima que se obtiene de un organismo genéticamente modificado.

En esta realización principal, los hidratos de carbono en la FC contienen una alta cantidad de al menos el 55 % en peso, preferentemente al menos el 56, 57, 58, 59 o incluso al menos el 60 % en peso de fructooligosacáridos; al mismo tiempo, los hidratos de carbono en la FC contienen al menos el 11 % en peso, preferentemente al menos el 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,0 o incluso al menos el 14 % en peso de sacarosa - esto aunque la FC debe obtenerse de sacarosa en un proceso enzimático, por el cual no se usó OGM y preferentemente ningún microorganismo mutado para preparar la enzima; la enzima estuvo preferentemente en forma libre no inmovilizada. Esto tiene la ventaja de que se reduce la cantidad de hidratos de carbono que no son FOS, y que son generalmente menos deseables. En esta realización, se prefiere que la FC no se haya sometido a técnicas de separación tales como separación cromatográfica para eliminar hidratos de carbono de la FC.

El proceso según la invención puede dar un producto Orgánico. Esto implica que la elección y ejecución de las etapas de proceso según la invención son entonces tales que cumplen las reglamentaciones relevantes.

Como se usa en el presente documento, el término 'orgánico' significa referente a la química orgánica; el término 'Orgánico' - es decir, con 'O' mayúscula – significa referente a la agricultura, procesos y productos que cumplen ciertos criterios y normalmente que pretenden integrar las prácticas culturales, biológicas y mecánicas que fomentan el reciclaje de recursos, promueven el equilibrio ecológico y conservan la biodiversidad.

El FOS producido según la invención puede ser Orgánico. Como se sabe, la caracterización "Orgánico" de un proceso o un producto es en muchos países un término legalmente protegido y lleva consigo una serie de exigencias planteadas al proceso o producto. Ejemplos de tales exigencias en la agricultura son:

- La evitación / ausencia de ciertos o todos los herbicidas y pesticidas. Normalmente, los herbicidas y pesticidas sintéticamente preparados están prohibidos, excepto cuando están puestos en una lista positiva.
- La evitación / ausencia de ciertos o todos los fertilizantes, combinados con el tratamiento de fertilidad de la tierra activo. Normalmente, los fertilizantes sintéticamente preparados están prohibidos, excepto cuando están puestos en una lista positiva.
- Maximizar el uso de recursos renovables;
- Rotación de cultivos multianual;
- La ausencia / no uso de organismos genéticamente modificados;
- La evitación o no uso de ciertos adyuvantes de procesamiento o etapas de procesamiento, por ejemplo en la obtención de un ingrediente de un material de partida. Por ejemplo, la obtención de una sacarosa Orgánica de caña de azúcar Orgánica o remolachas azucareras Orgánicas se hace, entre otros, sin el uso de ciertas etapas de refino tales como separación cromatográfica y preferentemente también el uso de resinas de intercambio iónico.

Además, los productos procesados Orgánicos deben producirse preferentemente usando métodos de procesamiento que garanticen que se mantengan la integridad Orgánica y las cualidades vitales del producto en todas las etapas de la cadena de producción. Un ejemplo de una medida tomada en este contexto es la evitación del uso de enzimas que se preparan por o usando OGM.

Como es evidente de lo anterior, el término Orgánico puede aplicarse a productos y procesos en una variedad de etapas y tipos, tales como, por ejemplo: un método de cultivo, un cultivo agrícola, un proceso para obtener un ingrediente de un cultivo agrícola, el propio ingrediente, un producto compuesto de diversos ingredientes, etc.

El término Orgánico tiene así ciertos elementos centrales que son universales, aunque dependiendo del tipo de proceso o producto al que se refiere. Con referencia a procesos para obtener un ingrediente de un cultivo agrícola, el significado de Orgánico incluye el uso de materiales de partida Orgánicos y en cuanto a las prácticas de fabricación Orgánica. Con respecto a los ingredientes obtenidos de un cultivo agrícola, el significado de Orgánico incluye una certeza de la naturaleza Orgánica de los materiales de partida usados, en cuanto a las prácticas de fabricación Orgánica, y la ausencia de ciertos compuestos tales como herbicidas y pesticidas, y preferentemente también fertilizantes en el ingrediente como se suministra.

El significado del término Orgánico puede tener, en confirmación de o adición a esto, ciertos elementos específicos del país, que entonces se incorporan explícitamente en normas, leyes, directivas, reglamentaciones y similares. Dos implementaciones ampliamente conocidas de las exigencias que vienen con el término Orgánico son: en Europa la reglamentación europea CE 834/2007 de 28 de junio de 2007 (publicada el 20.07.2007 en la Revista Oficial de la Unión Europea, OJ L189, como sucesora de la Reglamentación de 2092/91) y en los EE.UU. el Acta de Producción de Alimentos Orgánicos de EE.UU. (OFPA). Preferentemente, la composición de FOS Orgánica según la invención cumple todas las secciones aplicables de dichas reglamentaciones europeas y/o el OFPA de EE.UU. La composición de FOS Orgánica según la invención también cumplirá así las mismas secciones, similares o equivalentes de versiones futuras de dichas reglamentaciones/Acta.

En una realización relacionada, la composición de FOS Orgánica según la invención se obtiene por un proceso que cumple todas las secciones aplicables de dichas reglamentaciones europeas y/o el OFPA de EE.UU.

Una composición de FOS Orgánica (OFC) producida según la invención preferentemente no contendrá esencialmente, y en línea con su carácter Orgánico, herbicidas, pesticidas o fertilizantes, excepto aquellos que son permitidos para su uso bajo las reglamentaciones Orgánicas o actas. Más preferentemente, una OFC producida según la invención no contiene esencialmente cantidades detectables de herbicidas, pesticidas, o fertilizantes en absoluto.

En una realización de la invención, el proceso para la preparación de una OFC y también la OFC producida según la invención están esencialmente libres de las sustancias prohibidas que aparecen en la Lista Nacional de EE.UU. de Sustancias Permitidas y Prohibidas como se publica dentro del marco del Programa Orgánico Nacional de EE.UU. (NOP), presentado por el Servicio de Comercialización Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. En particular, esto se refiere a la Parte 205 del título 7 (Agricultura) del Código de las Reglamentaciones Federales, específicamente al Párrafo 205.602, "Nonsynthetic substances prohibited for use in organic crop production". Además, se prefiere que cualquier sustancia que se lleve del cultivo de sacarosa Orgánica al proceso de la invención y posiblemente también a la OFC según la invención aparezca en las listas positivas aplicables de dicha Lista Nacional de Sustancias Permitidas y Prohibidas, en particular el Párrafo 205.601 "Synthetic substances allowed for use in organic crop production". El Párrafo 205.605 "Nonagricultural (nonorganic) substances allowed as ingredients in or on processed products labelled as "organic" or "made with organic (specified ingredients or food group(s))"", y el Párrafo 205.606 "Nonorganically produced agricultural products allowed as ingredients in or on processed products labelled as "organic."

En otra realización de la invención, el proceso para la preparación de una OFC y también la OFC producida según la invención cumplen la Reglamentación de la Comisión Europea 207/93 de 29.01.1993 y modificada el 26.02.1997 (con la Reglamentación 345/97) y el 26.09.2000 (con la Reglamentación 2020/2000). Esta reglamentación define el contenido del Anexo VI de la Reglamentación 2092/91 anteriormente mencionada y cubre los ingredientes y adyuvantes de procesamiento que pueden usarse en la preparación de alimentos compuestos esencialmente de uno o más ingredientes de origen vegetal, referidos en el Artículo 1 (1) (b) de esta Reglamentación, con la excepción de vinos.

Una composición de FOS producida según la invención puede contener, como normalmente es el caso para las composiciones recuperadas en procesos industriales, una pequeña cantidad de impurezas. Como se indica en el presente documento, el término impureza se refiere a compuestos distintos de hidratos de carbono o agua. En el caso de una FC, las impurezas más importantes son sales inorgánicas, ácidos orgánicos y proteínas. La cantidad total de impurezas en la FC producida según la invención puede estar en el intervalo del 0,1 - 3 % en peso de la FC en conjunto. Si la FC según la invención es una OFC, entonces puede ser, y en particular si el proceso según la invención usa sacarosa Orgánica de caña de azúcar, que la cantidad de impurezas se encuentre entre el 0,5 y el 5 % en peso; mientras que en el caso de sacarosa refinada como material de partida la cantidad de impurezas normalmente se encuentra en el intervalo entre el 0,1 o el 0,2 y el 0,5 % en peso.

Si la FC producida según la invención es una OFC y el material de partida usado para preparar la OFC contuvo o incluso consistió en sacarosa Orgánica de caña de azúcar, entonces se encontró que una mezcla de diversos compuestos no de hidrato de carbono que estaba contenida en la sacarosa Orgánica, y considerada en ella como valiosa ya que eleva la sacarosa Orgánica de ser un mero proveedor de 'calorías muertas', también puede estar contenida al menos parcialmente en la OFC. Por tanto, la presente invención también se refiere a una FC que contiene en total entre el 0,1 y el 5 % en peso de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en minerales, vitaminas, aminoácidos y proteínas. Preferentemente, la cantidad total de dichos compuestos es al menos el 0,2, 0,3, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, o incluso al menos el 1 % en peso; esto tiene la ventaja de que pueden estar presentes efectos beneficiosos adicionales en el sabor y/o la salud en o asociada a la FC. Preferentemente, la cantidad total de dichos compuestos es de como máximo del 4,5, 4,0, 3,5, 3,0, 2,9, 2,8, 2,7, 2,6, 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,1, o incluso de como máximo el 2,0 % en peso.

Se prefiere, en particular en el caso cuando la FC es una OFC, que cualquier mineral, vitamina, aminoácido o proteína presente no se añada a la FC, sino que ya esté tanto íntegramente contenido en los materiales de partida usados para preparar la (O)FC, en particular en el material de partida sacarosa Orgánica, como resulte de los adyuvantes de procesamiento que se usan en la preparación de la (O)FC.

La cantidad de FOS en la composición de FOS producida según la invención se encuentra preferentemente entre el 35 % en peso y el 99 % en peso, más preferentemente entre el 40 % en peso y el 98 % en peso, lo más preferentemente entre el 45 % en peso y el 97 % en peso. Si la FC debe contener más FOS que el logrado en las etapas a) a d) según la invención, entonces es necesaria una etapa posterior con el fin de aumentar la cantidad de FOS en la FC; y ejemplo de una etapa posterior tal es - como tal se conoce - la etapa de separación cromatográfica. La FC no contiene esencialmente microorganismos patógenos y tampoco esencialmente Enterobacteriaceae. Como se indica en el presente documento, la cualificación 'esencialmente no microorganismos patógenos' significa que en un (1) gramo de la FC se detectaron cero (0) microorganismos patógenos (como se expresa en UFC, unidades formadoras de colonias). La ausencia de microorganismos patógenos en un gramo de muestra es en particular cierta para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli, Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum, Salmonella* y *Listeria.* Como se indica en el presente documento, la cualificación 'esencialmente no Enterobacteriaceae' significa que en un (1) gramo de la FC se detectaron cero (0) Enterobacteriaceae (como se expresa en UFC, unidades formadoras de colonias). Para la Enterobacteriaceae esto se establece preferentemente usando la evaluación muy conocida en el color usando VRBGA (agar de glucosa de bilis rojo violeta) y después de 24 horas de incubación a 37 ºC.

Más preferentemente, la FC producida según la invención no contiene Enterobacteriaceae después del enriquecimiento. Como se indica en el presente documento, enriquecimiento significa que una muestra de material se incuba primero en condiciones que se eligen de manera que sean óptimas para cualquier Enterobacteriaceae presente para crecer y multiplicarse. Esto se hace poniendo primero 25 gramos de una muestra de material junto con 225 ml de agua peptonada y dejando que esta mezcla se incube a una temperatura que se encuentra entre 35 - 37 ºC durante 18 - 24 horas. Entonces, se añade 1 ml de esta mezcla a 9 ml de un caldo de enriquecimiento de Enterobacteriaceae (EE), seguido de incubación a una temperatura que se encuentra entre 35 - 37 ºC durante 18 - 24 horas. Esto completa el enriquecimiento. Posteriormente, la muestra de caldo de EE se prueba en presencia de Enterobacteriaceae usando VRBGA. En esta realización preferida de la invención, incluso después del enriquecimiento no se detectan Enterobacteriaceae.

Un método favorable de obtención de una composición de FOS Orgánica (OFC) según la invención empieza a partir del material de partida sacarosa Orgánica, preferentemente preparada a partir de caña de azúcar Orgánica o remolacha azucarera Orgánica. Debido a las características de producción de la sacarosa Orgánica, en particular la ausencia de ciertas o incluso de todas las etapas de refino, este material de partida puede contener como ya se ha indicado los compuestos anteriores distintos de sacarosa que producen un color y aroma característico; esto se

mantiene en particular para la sacarosa Orgánica de caña de azúcar. Como las mismas restricciones al refino se aplican a un proceso Orgánico para la preparación de sacarosa Orgánica, también se aplican a un proceso Orgánico para la preparación de una composición de FOS, puede ser que los compuestos anteriormente mencionados que causan color o aroma se mantengan en la OFC. Además, un proceso para la preparación de una OFC en sí puede introducir compuestos distintos de FOS en la OFC. Como resultado de estos factores, se encontró que en una realización de la OFC según la invención, la OFC tiene un color que se encuentra entre 30 y 20.000 unidades de Icumsa, preferentemente entre 75 y 15.000, más preferentemente entre 100 y 10.000, en particular entre 125 y 9.000 o entre 150 y 8.000, y lo más preferentemente entre 175 y 7.000. En esta realización, pero también según la invención en una realización separada de la OFC producida según la invención, la OFC tiene una conductividad que se encuentra entre 30 y 5.000 µS/cm, preferentemente entre 40 o 50 o 60 y 4.000, más preferentemente entre 70 u 80 o 100 y 3.000 y lo más preferentemente entre 125 o 150 o 175 y 2.000 µS/cm.

Las unidades de Icumsa como indicación para el color son ampliamente conocidas y se usan en la industria productora de sacarosa. Un método de prueba acreditado para determinar el color de Icumsa es el método GS2/3-9 (2005), que es en esencia una medición de la absorción de una solución acuosa de sacarosa a una longitud de onda de 420 nm; la absorción se recalcula entonces en el valor de Icumsa. Valores de Icumsa bajos indican un color incoloro/blanco; valores más altos son la evidencia de un producto que tiene un color, que es frecuentemente de amarillo a parduzco. El método GS2/3-9 (2005) también se usa en el presente documento para la determinación del color de una OFC, con los siguientes cometarios / modificaciones:

- El pH está regulado a 6 (no a 7 como en la norma);
- La fórmula para determinar el color de Icumsa de una muestra es:

$$\text{Color de Icumsa} = \frac{100000 \times A}{Bx \times \rho \times b}$$

en la que *A* es la absorción a 420 nm, *Bx* es el contenido de sólidos en grados Brix, ρ es la densidad de la muestra y *b* es la longitud de la trayectoria de absorción.

La conductividad de una OFC se determina en una OFC acuosa que tiene un contenido de sólidos de 28 ºBx, y expresada en microSiemens por centímetro (µS/cm).

La invención se ilustrará por medio de los siguientes ejemplos, sin estar limitada a éstos.

Ejemplos 1 - 3

En un experimento de laboratorio, se combinó sacarosa Orgánica (proveedor: Candico) de origen de caña de azúcar con agua y una enzima para formar una mezcla. El contenido de sólidos fue 72 ºBx. La enzima fue la endo-inulinasa Novozyme 960, no inmovilizada. La actividad de la enzima fue 470 U por gramo. Una unidad (denominada en el presente documento U, también conocida como EU) de una enzima endo-inulinasa es la cantidad de enzima que es capaz de liberar 1 µmol de azúcar reductor por minuto de una muestra de inulina (véase también la página 108, columna izquierda de "The Production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or Fructosyltransferase from Aspergillus ficuum", Barrie E. Norman & Birgitte Højer-Pedersen, Denpun Kagaku vol 36, No. 2, pp 103-111 (1989)). La cantidad de enzima usada en la mezcla fue 0,4 U por gramo de materia seca de material de partida.

La mezcla se llevó a un pH de 6,25 usando H_2SO_4 y/o NaOH. La mezcla se calentó a una temperatura como se indica en la tabla a continuación, y se dejó reaccionar durante 20 horas. Durante este tiempo, el pH disminuyó muy ligeramente a un nivel de aproximadamente 6,12. Se formó una FC Orgánica (OFC). Después de dichas 20 horas, la reacción se detuvo; esto se hizo cocinando brevemente la OFC en un horno microondas. No se realizaron etapas de refino adicionales o etapas de purificación en la OFC.

La OFC se analizó por medio de HPLC. Los resultados se resumen en la Tabla 1 a continuación. La OFC también se sometió a un recuento de bacterias; no se encontraron Enterobacteriaceae.

Tabla 1

Número de ejemplo	1	2	3
Temperatura (ºC)	66	70	72
No fructooligosacáridos			
- Fructosa	3,1	4,7	4,7
- Glucosa	24,1	22,2	20,4
- Sacarosa	14,6	14,8	19,6
Fructooligosacáridos			
- DP2 (distinto de Sacarosa)	0,7	0,7	0,5

Número de ejemplo	1	2	3
- DP3	37,5	37,5	39,2
- DP4	18,0	18,2	14,2
- DP5 y superior	1,9	1,9	1,2
→ FOS total	58,2	58,3	55,3
→ % de FOS que tiene DP3	64	64	71

Leyenda de la Tabla 1

- Las cantidades de los diversos compuestos se dan en porcentaje en peso de la materia de hidrato de carbono seca total;
- Los términos DP2, DP3, DP4 y DP5 indican compuestos que tienen un grado de polimerización de 2, 3, 4 y 5, respectivamente.

Los Ejemplos 1 a 3 muestran claramente que puede obtenerse una OFC, por medio de un método que respeta los principios de la producción Orgánica y usando una endo-inulinasa no inmovilizada.

Ejemplo 4

En una prueba de planta piloto, se produjo una FC Orgánica (OFC) a partir de una cantidad de partida de 1000 kg de sacarosa Orgánica de caña de azúcar (proveedor: Candico). Se creó una mezcla combinando la sacarosa Orgánica con agua y una enzima. La cantidad de agua fue tal que el contenido de sólidos de la mezcla fue 60 ºBx. La enzima (Novozyme 960) se usó en una cantidad de 0,280 U por gramo de sacarosa Orgánica. La enzima no se inmovilizó. El pH se reguló a 6,2 usando H_2SO_4 y/o NaOH y la temperatura se llevó a 56 ºC. Bajo estas condiciones, la mezcla se dejó reaccionar durante 20 horas, formando así una OFC. Posterior a esto, la reacción se ralentizó hasta esencialmente parada llevando el pH de la OFC a 8. La OFC se empujó a través de un filtro de 18 µ y la OFC se concentró mediante calentamiento de manera que se llevara el contenido de sólidos a 75 ºBx y se desactivara la enzima. La OFC como se recuperó entonces tuvo un color de 350 unidades de Icumsa y una conductividad de 400 µS/cm. No se hizo uso de un agente anti-cascarilla, un agente antiespumante, un bactericida, un biocida, o un floculante. La composición de la OFC como se analizó por medio de HPLC se da en la Tabla 2. Los términos en la Tabla 2 tienen el mismo significado que en la Tabla 1.

Tabla 2

Número de ejemplo	4
Temperatura (ºC)	56
No fructooligosacáridos	
- Fructosa	1,3
- Glucosa	25,8
- Sacarosa	13,2
Fructooligosacáridos	
- DP2 (distinto de Sacarosa)	0,4
- DP3	37,7
- DP4	19,7
- DP5 y superior	1,9
→ FOS total	59,6
→ % de FOS que tiene DP3	63

El Ejemplo 4 muestra claramente que también a condiciones que se diferencian significativamente de aquellas en los Ejemplos 1 a 3, y en un proceso que incorpora diversos tratamientos posteriores después de la formación de FOS inicial - aunque todavía según la invención - puede prepararse una OFC. Además, este ejemplo muestra que el proceso según la invención puede de hecho ser satisfactoriamente implementado a escala industrial.

Ejemplo 5: Experimento A comparativo

En dos pruebas de laboratorio, se hizo una comparación entre el uso de una enzima inmovilizada (Experimento A comparativo) y una enzima libre (es decir, no inmovilizada) (Ejemplo 5). En ambos casos, la enzima fue Novozyme 960. El vehículo para la enzima inmovilizada fue alginato de calcio. En ambos casos, el material de partida fue sacarosa Orgánica de caña de azúcar (proveedor: Candico), y la cantidad de agua fue tal que el contenido de sólidos de la mezcla fuera 60 ºBx. Se usó la enzima libre en una cantidad de 0,3 U por gramo (materia seca) de

sacarosa Orgánica; la enzima inmovilizada se usó en una cantidad de 2,43 U por gramo (materia seca) de sacarosa Orgánica. Las otras condiciones fueron como en el Ejemplo 4. La composición de la FC Orgánica resultante se determinó por medio de HPLC y se resume en la Tabla 3, en la que los términos tienen el mismo significado que en la Tabla 1.

Tabla 3

Experimento comparativo / Número de ejemplo	A	5
Temperatura (ºC)	56	56
No fructooligosacáridos		
- Fructosa	1,8	1,1
- Glucosa	30,1	27,0
- Sacarosa	12,4	12,3
Fructooligosacáridos		
- DP2 (distinto de Sacarosa)	2,5	0,5
- DP3	28,4	36,5
- DP4	18,3	20,8
- DP5 y superior	6,5	1,9
→ FOS total	55,7	59,6
→ % de FOS que tiene DP3	46	61

El Ejemplo 5 según la invención muestra que pueden obtenerse resultados superiores por una enzima libre, ya que el uso de una enzima libre en el Ejemplo 5 condujo a:

- un rendimiento global más alto de compuestos de FOS;
- una cantidad más alta por encima del 56 % de oligosacáridos que tienen DP3, y
- una cantidad más baja de compuestos de FOS que tienen DP5 o más alto,

cuando se comparó con el uso de una enzima inmovilizada en el Experimento A comparativo.

Ejemplo 6

(no según la invención)

En un experimento de laboratorio, se combinó sacarosa Orgánica (proveedor: Candico) de origen de caña de azúcar con agua y una enzima para formar una mezcla. El contenido de sólidos fue 59,7 ºBx. La enzima fue Pectinex Ultra SP-L (proveedor: Novozymes). Aunque esta enzima tiene como su área de aplicación principal la hidrólisis de pectina, se sabe que también tiene actividad de fructosiltransferasa - véase, por ejemplo, "Immobilization of pectinex ultra SP-L pectinase and its application to production of fructooligosaccharides" por Csanadi, Zs. and Sisak, Cs. en Acta Alimentaria Vol. 35 (2) pp 205-212 (2006). La cantidad de enzima usada en la mezcla fue 162 U por gramo de materia seca de material de partida. La enzima fue no inmovilizada (es decir, libre).

La mezcla se llevó a un pH de 6,10 usando H_2SO_4 y/o NaOH. La mezcla se calentó a 56 ºC, y se dejó reaccionar durante 20 horas. Se formó una FC Orgánica (OFC). Después de dichas 20 horas la reacción se detuvo; esto se hizo cocinando brevemente la OFC en un horno microondas. No se realizaron etapas de refino o etapas de purificación adicionales en la OFC.

La OFC se analizó por medio de HPLC. Los resultados se resumen en la Tabla 4 a continuación. La OFC también se sometió a un recuento de bacterias; no se encontraron Enterobacteriaceae.

Tabla 4

Número de ejemplo	6
No fructooligosacáridos	
- Fructosa	2,1
- Glucosa	26,1
- Sacarosa	11,5
Fructooligosacáridos	
- DP2 (distinto de sacarosa)	0,7
- DP3	37,1
- DP4	20,8

Número de ejemplo	6
- DP5 y superior	1,8
→ FOS total	60,3
→ % de FOS que tiene DP3	61,5

Ejemplo 7

En un experimento de laboratorio, se combinó sacarosa Orgánica de origen de remolacha azucarera Orgánica (proveedor: Südzucker AG) con agua y una enzima para formar una mezcla. El contenido de sólidos fue 60,0 ºBx. La enzima fue Novozyme 960. La cantidad de enzima usada en la mezcla fue 0,64 U por gramo de materia seca de material de partida. La enzima fue no inmovilizada (es decir, libre).

La mezcla se llevó a un pH de 6,2 usando H_2SO_4 y/o NaOH. La mezcla se calentó a 56 ºC, y se dejó reaccionar durante 15 horas. Se formó una FC Orgánica (OFC). Después de dichas 15 horas la reacción se detuvo, esto se hizo cocinando brevemente la OFC en un horno microondas. No se realizaron etapas de refino o etapas de purificación adicionales en la OFC.

La OFC se analizó por medio de HPLC. Los resultados se resumen en la Tabla 5 a continuación. La OFC también se sometió a un recuento de bacterias; no se encontraron Enterobacteriaceae. Se determinó que el color de la OFC era 40 unidades de Icumsa. La conductividad de la OFC, medida después de diluir la OFC a un contenido de sólidos de 28 ºBx, fue 80 µS/cm.

Tabla 5

Número de ejemplo	7
No fructooligosacáridos	
- Fructosa	2,5
- Glucosa	29,5
- Sacarosa	8,7
Fructooligosacáridos	
- DP2 (distinto de sacarosa)	0,9
- DP3	22,6
- DP4	28,2
- DP5 y superior	7,6
→ FOS total	59,2

Este ejemplo muestra que una OFC según la invención también puede prepararse usando sacarosa Orgánica de origen de remolacha azucarera. Se observa que en este Ejemplo 7, la cantidad de enzima usada, a 0,64 U por gramo de materia seca de material de partida, era bastante alta cuando se tiene en cuenta esta enzima específica y estas condiciones de reacción específicas. Se propone que esta alta dosificación se encuentra en la causa de la circunstancia de que el porcentaje en peso de FOS que tienen DP3 en la OFC sea algo más bajo que en otros ejemplos.

Experimento comparativo B

Se obtuvo una muestra de una FC comercialmente disponible. La FC se identificó como Meioligo W, el proveedor de la FC era Meiji Food Materia Co, una empresa del grupo Meiji Seika. La muestra se analizó por medio de HPLC; los resultados se proporcionan en la Tabla 6.

Tabla 6

Experimento comparativo	B
No fructooligosacáridos	
- Fructosa	3,8
- Glucosa	28,7
- Sacarosa	11,3
Fructooligosacáridos	
- DP2 (distinto de sacarosa)	0,8
- DP3	27,8
- DP4	24,0

Experimento comparativo	B
- DP5 y superior	3,5
→ FOS total	56,2
→ % de FOS que tiene DP3	49

El Experimento B comparativo demuestra que la cantidad de fructooligosacáridos que tienen un DP3 en la FC comercialmente disponible es significativamente más baja que en la FC producida según la invención.

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la producción de una composición de fructooligosacárido (FOS) a escala industrial, que comprende las etapas de:

a) proporcionar un material de partida que contiene sacarosa;
b) poner el material de partida junto con una enzima para formar una mezcla, por el cual la enzima tiene una actividad de endo-inulinasa y está en forma libre no inmovilizada;
c) exponer la mezcla a condiciones por las cuales pueda tener lugar la formación de FOS durante una cantidad de tiempo tal que el FOS en la mezcla constituya al menos el 45 % en peso de la cantidad total de hidratos de carbono en la mezcla, formando así la composición de FOS; en el que el contenido de sólidos de la mezcla se encuentra entre 55 ºBx y 80 ºBx y la temperatura se encuentra entre 55 ºC y 76 ºC;
d) opcionalmente desactivar la enzima;
e) recuperar la composición de FOS,

en el que en la etapa a) la cantidad de sacarosa procesada se encuentra entre 500 y 500.000 kg por 24 horas.

2. Proceso según la reivindicación 1, en el que en ninguna de las etapas se hace uso de una o más de las siguientes sustancias: agente anti-cascarilla, agente antiespumante, bactericida, biocida y floculante.

3. Proceso según la reivindicación 1 o 2, en el que en ninguna de las etapas se hace uso de una resina de intercambio iónico.

4. Proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3, en el que la enzima no se prepara por un organismo genéticamente modificado.

5. Proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, en el que en la etapa c) las condiciones por las cuales puede tener lugar la formación de FOS incluyen una temperatura que se encuentra dentro del intervalo de 55 ºC - 75 ºC y un contenido de sólidos que se encuentra entre 55 ºBx y 80 ºBx, y en el que la cantidad de tiempo que la mezcla se expone a estas condiciones es tal que al menos el 50 % en peso de los hidratos de carbono en la mezcla son FOS.

6. Proceso según la reivindicación 5, en el que la temperatura en la etapa c) se encuentra entre 60 ºC y 72 ºC y el contenido de sólidos se encuentra entre 61 y 75 ºBx.