

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 965**

51 Int. Cl.:

A23L 7/10 (2006.01)

A23L 7/104 (2006.01)

A23L 33/21 (2006.01)

A61K 31/716 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.03.2014 PCT/EP2014/054083**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.11.2014 WO14177304**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2014 E 14712614 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.07.2017 EP 2996492**

54 Título: **Método para preparar una base líquida de avena y productos preparados por el método**

30 Prioridad:

30.04.2013 SE 1300314

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

18.10.2017

73 Titular/es:

**GLUCANOVA AB (100.0%)
Scheelevägen 22 Box 719
220 07 Lund, SE**

72 Inventor/es:

RASCON, ANA

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 637 965 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

Método para preparar una base líquida de avena y productos preparados por el método

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un método para preparar una base líquida de avena para uso en la fabricación de alimentos para consumo humano, a productos preparados por el método y su uso.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El salvado de avena es la capa de pared celular que encierra el endospermo y el germen de avena del que puede separarse mediante técnicas de molienda. Además de la celulosa, el almidón y la pectina, el salvado de avena es rico en polisacáridos de pared celular de dos tipos, β -glucano y arabinoxilano.

15 El β -glucano es un polisacárido lineal de alto peso molecular que comprende aproximadamente 1-4-O- al 70% y 1-3-O unidades enlazadas de β -D-glucopiranosilo al 30%. El β -glucano natural tiene un peso molecular del orden de $1-2 \times 10^6$ Dalton. La mayor parte del glucano de avena natural se puede solubilizar por tratamiento a 60 °C con agua. En solución acuosa, el β -glucano se puede degradar por tratamiento con β -D-glucanasa, que hidroliza los enlaces glucosídicos 1-3-O. Una característica importante de las soluciones acuosas de β -glucano es su viscosidad.

20 El pentosano arabinoxilano es un constituyente del salvado de avena. Es una hemicelulosa estructuralmente compleja que comprende cadenas de (1-4)- β -D-xilopiranosilo (cadenas de xilosa) a las que se unen α -L-arabinofuranosil (arabinosa) y otros residuos. El arabinoxilano soluble en agua también imparte viscosidad a la fase acuosa. Sin embargo, sólo una pequeña porción de salvado de avena nativo arabinoxilano es soluble en agua. Por esta y otras razones, el arabinoxilano es resistente a la hidrólisis enzimática. Los enlaces internos (endo- β -1,4-xilopiranosilo) en xilano pueden ser hidrolizados por xilanasas (endo- β -1,4-xilanasas).

25 El salvado de avena, la harina de sémola integral (la harina integral), la avena arrollada, sémola o la harina del endospermo de la avena se utiliza como materia prima para los alimentos saludables tales como bebidas de fibra de avena. Se cree que su efecto positivo en la salud, ligado a su contenido de β -glucano, se debe al aumento de la viscosidad del fluido intestinal, al retraso del vaciado gástrico, al retardo del tránsito intestinal y a la absorción de glucosa y esteroides (Johansson et al. Structural characterization of watersoluble β -glucan of oat bran. Carbohydr Polym 42 (2002) 143-148). Las bebidas de fibra de avena contienen materia particulada.

30 El tamaño y otras propiedades de las partículas de harina de salvado de avena en la bebida son importantes por al menos dos razones: la palatabilidad y la estabilidad de la suspensión física. Dependiendo de su naturaleza física y química, las suspensiones se disuelven más lentamente o más rápidamente, es decir, sus componentes acuosos y sus componentes particulados se separan con el tiempo para formar una fase acuosa superior y una fase particulada inferior. La estabilidad física de una suspensión puede definirse como el retraso de sedimentación causado por agentes estabilizadores de la suspensión tales como β -glucano soluble. La estabilidad física se visualiza como separación de fases. Se puede monitorizar registrando la posición del límite de separación de fases.

35 La palatabilidad o sensación de fluidez en la ingestión mejora con un tamaño de partícula decreciente, pero también está influenciada por la viscosidad del medio de suspensión, la dureza y forma de las partículas y su concentración. La palatabilidad y/o la sensación de fluidez mejora con el aumento de la viscosidad y se deteriora con el aumento de la dureza/angularidad y la concentración de las partículas. Un tamaño crítico promedio para las partículas en suspensión es de aproximadamente 25 μ m (Tyle P. Effect of size, shape and hardness of particles in suspension on oral texture and palatability. Acta Physiologica 84 (1993) 111-118). Los alimentos que comprenden partículas de este tamaño y partículas más grandes, en particular duras y/o angulares, no se sentirán fluidas por el consumidor promedio.

40 Sin embargo, es difícil y costoso moler el salvado de avena hasta un tamaño de partícula en el cual las propiedades distintas del tamaño ya no influyen en la palatabilidad, es decir, hasta un tamaño que hace que la bebida se sienta perfectamente fluida en la ingestión independientemente de la naturaleza de las partículas.

45 Otro problema con las bebidas de avena conocidas es su tendencia a desintegrarse físicamente durante el almacenamiento, durante el cual las partículas se asientan en el fondo del recipiente que contiene la bebida y se forma una fase acuosa sobrenadante carente de partículas. Mientras que las partículas se pueden volver a suspender en la fase acuosa por agitación vigorosa, esto es incómodo para algunos consumidores, reduce la elección de recipientes adecuados para envasar la bebida y requiere la provisión de un vacío en la parte superior del recipiente, no ocupado por la bebida.

50 El documento US 2004/0258829 describe un material de fibra dietética obtenido usando enzimas para digerir granos de cereal.

55

60

65

El documento WO 00/30457 describe una base no láctea derivada de avena preparada por digestión enzimática de una suspensión de avena con una enzima que genera glucosa a partir del almidón de avena.

5 El documento US2012/0034341 describe un método de hidrólisis trienzimática para preparar un producto de bebida a base de avena mejorada con oligosacáridos que comprende β -glucano de avena y una mayor cantidad de isomalto oligosacárido.

Existe por lo tanto la necesidad de mejorar las bebidas de avena del tipo antes mencionado.

10 OBJETOS DE LA INVENCION

Un objeto de la invención es proporcionar un método de preparación a partir de una materia prima de avena que comprende arabinoxilano, tal como de salvado de avena, harina de sémola integral, sémola de avena arrollada o harina de endospermo de avena, una base líquida de avena de fluidez mejorada.

15 Otro objeto de la invención es que la mejora con respecto a la fluidez no se obtiene tomando recurso a una materia prima de avena que comprende arabinoxilano, en particular salvado de avena o un material rico en salvado de avena, molido hasta un tamaño de partícula en el cual las propiedades distintas del tamaño ya no influyen en la palatabilidad.

20 Un objeto adicional de la invención es proporcionar una base líquida de avena correspondiente.

Otro objeto más de la invención es proporcionar la base líquida de avena de la invención con una viscosidad deseada, tal como una idéntica o similar a la de una base de avena líquida no mejorada correspondiente.

25 Objetos adicionales de la invención se pondrán de manifiesto a partir del breve resumen de la invención que sigue a continuación, la descripción de una realización preferida de la misma ilustrada en un dibujo, y las reivindicaciones adjuntas.

30 RESUMEN DE LA INVENCION

En esta solicitud " β -glucano, β -glucanasa, arabinoxilano, xilanasas, α -amilasa, β -amilasa, proteína" no se distingue de " β -glucanos, β -glucanasas, arabinoxilanos, xilanasas, α -amilasas, β -amilasas, proteínas ". En esta solicitud, "líquido" se refiere a un líquido acuoso que puede contener partículas suspendidas en el mismo.

35 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para preparar una base líquida de avena para su uso en la fabricación de alimentos para consumo humano, comprendiendo el método:

40 (a) proporcionar un material que comprende salvado de avena que comprende desde 1% en peso a 50% en peso de β -glucano;

(b) suspender el material que comprende el salvado de avena en un medio acuoso, en particular agua, para formar una suspensión acuosa;

45 (c) poner en contacto, en ningún orden particular, dicha suspensión acuosa con α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa, xilanasas para elevar la concentración de arabinoxilano soluble en la suspensión por un factor de 5 o más para proporcionar una base de avena líquida;

50 (d) opcionalmente homogeneizar la base líquida de avena de la etapa (c) para proporcionar una base de avena líquida homogeneizada;

(e) destruir opcionalmente la actividad enzimática en la base líquida de avena de la etapa (c) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (d) para proporcionar una base líquida de avena inactiva enzimáticamente;

55 (f) opcionalmente envasar asépticamente la base de avena líquida de la etapa (c) o la base de avena líquida homogeneizada de la etapa (d) o la base de avena líquida enzimáticamente inactiva de la etapa (e) en un recipiente.

60 Según un primer aspecto preferido de la invención, la etapa (c) comprende poner en contacto la suspensión acuosa de la etapa (b) primero con α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa para hidrolizar parcialmente almidón y β -glucano, luego con xilanasas para elevar la concentración de arabinoxilano soluble en la suspensión en un factor de 5 o más para proporcionar una base líquida de avena.

Una temperatura preferida para el contacto de α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa es desde 30 °C a 70 °C.

65 Una temperatura preferida para el contacto de xilanasas es desde 40 °C a 70 °C, en particular de desde 40 °C a 65 °C, lo más preferiblemente de aproximadamente 60 °C.

Un material preferido comprende salvado de avena que comprende 1% en peso a 25% en peso de β -glucano.

Se prefiere que el material que comprende el salvado de avena sea seleccionado del grupo que consiste en salvado de avena, harina integral de sémola (harina integral), sémola de avena arrollada y endosperma de avena.

5 Además, se prefiere que el material que comprende el salvado de avena comprenda o consista substancialmente en partículas de salvado de avena de un tamaño de 25 μm o más.

10 De acuerdo con un segundo aspecto preferido de la invención, se proporciona una composición en polvo para la producción de base líquida de avena de la invención a partir de un material que comprende salvado de avena, comprendiendo la composición en polvo un material que comprende salvado de avena, α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa, xilanasa.

15 La composición en polvo que comprende o que consiste sustancialmente en un material que comprende salvado de avena, α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa, xilanasa puede usarse en un método de preparación de la base de avena líquida de la invención para su uso en la fabricación de alimentos para consumo humano, comprendiendo el método:

(a) proporcionar dicha composición en polvo;

20 (b) suspender la composición en polvo en un medio acuoso, en particular agua, para formar una suspensión acuosa;

(c) elevar la temperatura de la suspensión acuosa de desde 40 °C a 70 °C durante un tiempo suficiente para degradar almidón, β -glucano y xilano para formar una base líquida de avena;

25 (d) opcionalmente homogeneizar la base líquida de avena de la etapa (c) para proporcionar una base de avena líquida homogeneizada;

30 (d) destruir opcionalmente la actividad enzimática en la base líquida de avena de la etapa (b) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (c) para proporcionar una base líquida de avena inactiva enzimáticamente;

(e) opcionalmente envasar de manera aséptica la base líquida de avena de la etapa (b) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (c) o la base líquida de avena enzimáticamente inactiva de la etapa (d) en un recipiente.

35 El material que comprende partículas de salvado de avena, tales como salvado de avena, harina de sémola integral (harina integral), sémola de avena arrollada o endosperma de avena, proporcionado como material inicial en la etapa (a) comprende o consiste sustancialmente, es decir, consiste en 80% en peso o más, en particular 90% o 95% en peso o más de partículas de un tamaño de 25 μm o superior. Una partícula "de un tamaño de 25 μm o superior" tiene un diámetro medio de 25 μm o superior.

40 En el método de la invención, el 80% o más de β -glucano disuelto en la suspensión acuosa se degrada por β -glucanasa a β -glucano de un peso molecular de 20,000 D a 400,000 D.

45 La base líquida de avena de la invención está destinada al consumo humano como tal o como un aditivo o ingrediente para otros productos alimenticios. Puede añadirse como tal a otros productos alimenticios o en forma de un polvo seco del mismo, en particular en forma de un polvo deshidratado por aspersion, es decir, una base de avena en polvo.

50 De acuerdo con un primer aspecto preferido, el método de la invención no afecta, es decir, conserva, el contenido de β -glucano soluble. La preservación del β -glucano soluble es independiente de la concentración de xilanasa. El método de la invención tampoco afecta la composición de la proteína soluble, como se evidencia por electroforesis en gel de SDS-PAGE.

55 Una xilanasa preferida de la invención es endo-1,4- β -xilanasa. Una concentración de xilanasa preferida es 1250 FXU por 100 g de harina, pero pueden emplearse otras concentraciones, tales como desde 100 FXU por 100 g de harina a 5000 FXU o más por 100 g de harina. Un FXU es la cantidad de endo-1,4- β -xilanasa que libera 7,8 mM por minuto de azúcares reductoras (equivalentes de xilosa) de azo-trigo arabinóxilano a pH 6,0 y 50 °C.

60 Una temperatura preferida para poner en contacto la suspensión acuosa de un material que comprende partículas de salvado de avena con cualquiera de α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa es una temperatura de 30 °C a 70 °C, en particular de 55 °C a 65 °C, lo más preferido de alrededor de 60 °C.

De acuerdo con otro aspecto preferido de la invención, el contacto de la suspensión acuosa de un material que comprende partículas de salvado de avena con xilanasa no afecta la viscosidad de la misma o sólo la afecta moderadamente, tal como aumentando la viscosidad hasta un 5% o hasta un 10% o hasta un 20%. Una temperatura

preferida para el contacto con xilanasa es una temperatura por encima de la temperatura ambiente, tal como una temperatura de 40 °C a 70 °C, en particular de 40 °C a 65 °C, más preferiblemente de aproximadamente 60 °C.

5 De acuerdo con otro aspecto preferido, el método de la invención conserva las propiedades organolépticas de la suspensión acuosa de un material rico en salvado de avena, o incluso las mejora moderadamente.

10 De acuerdo con todavía otro aspecto preferido, el método de la invención suministra un producto de estabilidad física superior con respecto a la suspensión acuosa de material inicial de un material que comprende salvado de avena, tal como un producto que presenta separación de fases a 20 °C (temperatura ambiente) retrasado hasta un 20% o hasta un 50% o incluso hasta un 90% y hasta un 100% o más. Aunque la base líquida de avena de la invención no es de manera completa estable físicamente cuando se almacena a temperatura ambiente, se desintegra o se asienta en una fase acuosa superior y una fase de material particulado inferior sustancialmente más lenta que una base líquida de avena correspondiente de la técnica anterior. Una "base líquida de avena correspondiente de la técnica anterior" es una base de avena conocida que difiere de la base líquida de avena de la invención al menos por no haber sido incubada con xilanasa. La estabilización de acuerdo con la invención no se obtiene por e independiente de la adición de un agente o agentes estabilizantes de suspensión, tal como celulosa hidroxipropil metil (HPMC) o alginato.

20 La estabilidad física del producto de la invención se puede mejorar adicionalmente por homogeneización, en particular por homogeneización a alta presión a una presión de 150/30 bar o más.

25 De acuerdo con un aspecto preferido adicional, un producto preferido de la invención, aunque tiene un tamaño medio de partícula de aproximadamente 140 a 225 µm, en particular de aproximadamente 170 µm, es decir, muy por encima del umbral de arenosidad de 25 µm, no se siente arenoso. Se cree que esto se debe a un efecto de "redondeo" o curvatura del tratamiento enzimático que influye en la percepción de la arenosidad y/o a una rigidez o resistencia disminuida de las partículas. "Umbral de arenosidad" es el umbral de tamaño de partícula en el que una suspensión acuosa con material particulado se siente arenosa en la boca durante la ingestión.

30 De acuerdo con la invención se describe una base de avena líquida mejorada, comprendiendo la mejora en una o más de: estabilidad física mejorada, propiedades organolépticas mejoradas, percepción disminuida o ausente de arenosidad. Además se describe una base seca de avena en polvo preparada mediante deshidratación por aspersion de la base líquida de avena de la invención o por cualquier otro método de secado adecuado. La base líquida de avena de la invención puede reconstituirse suspendiendo la base de avena en polvo en agua o un disolvente acuoso. La base de avena en polvo también se puede utilizar como aditivo alimentario. También se describe un producto alimenticio que comprende base líquida de avena y/o en polvo.

40 En particular se proporciona una gama de productos alimenticios de diversas clases que comprenden la base de avena de la invención. Estos productos comprenden, pero no se limitan a, una bebida a base de salvado de avena, una bebida a base de avena integral, una bebida aromatizada con fruta que comprende la base de avena de la invención y concentrado de fruta y un yogur para beber con alto contenido de fibra que comprende la base de avena de la invención y leche de vaca fermentada con un cultivo bacteriano.

45 La mejora por el método de la invención y del producto correspondiente se obtiene mientras se conserva sustancialmente el contenido de β-glucano soluble en agua del material inicial. En este contexto, "sustancialmente" significa una conservación de 75% en peso o más, tal como 80% en peso o más e incluso 90% o 95% en peso o más.

50 La invención se describirá ahora con más detalle haciendo referencia a un número de realizaciones preferidas y un dibujo que comprende tres figuras.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

55 La figura 1 es un gráfico que ilustra el efecto de la homogeneización a alta presión sobre la base líquida de salvado de avena de la invención que contiene toda la fibra presente en el material inicial y sobre una base de salvado de avena decantada de la técnica anterior de la cual dicha fibra insoluble ha sido eliminada por decantación;

60 La figura 2 es un gráfico que ilustra el efecto de la homogeneización a alta presión sobre la base líquida de avena de avena integral de la invención y sobre una base de salvado de avena decantada de la técnica anterior a partir de la cual dicha fibra insoluble se ha eliminado por decantación;

La figura 3 es un gráfico que ilustra la distribución del tamaño de partícula de la base de salvado de avena homogeneizada y no homogeneizada de la invención así como de un control de la técnica anterior.

DESCRIPCIÓN DE REALIZACIONES PREFERIDAS

Materiales y métodos

- 5 Materia prima de avena. Salvado de avena, harina de sémola integral (harina integral), sémola de avena arrollada y harina de endosperma de avena que contiene desde 1% en peso a 50% en peso de β -glucano, aproximadamente desde 8% en peso a 26% en peso de fibra dietética total, desde 10% en peso a 22% en peso de proteína y desde 5% en peso a 15% en peso de grasa.
- 10 Endo (1-4) β -xilanasas. La xilanasas Pentopan Mono BG se obtuvo de Novozymes A/S, Dinamarca. Mediante análisis se estableció que la enzima no poseía actividad β -glucanasa. La enzima (UB No. 3.2.1.8; CAS 9025-57-4) se produce por la expresión heterogénea de *Thermococcus lanuginosus* en *Aspergillus oryzae*. Es una xilanasas de la familia GH-11 con una actividad descrita de desde 2500 XU/W-g a > 60000 XU/W-g a 40 °C.
- 15 Determinación de la actividad β -glucanasa. El análisis se realizó usando tabletas de β -glucosidasa de Megazyme International Ireland Ltd. siguiendo el procedimiento proporcionado por el proveedor. Los comprimidos se añadieron a la solución enzimática en regulador de acetato de sodio (25 mM, pH 4,5) a 40 °C y la solución se mantuvo a esta temperatura durante 10 minutos. La reacción se detuvo añadiendo 6 ml de regulador Trizma (2% p/p, pH 8,5). Las muestras para análisis se centrifugaron durante 10 minutos a 2250 rpm. La absorbancia del sobrenadante se leyó a 590 nm.
- 20 Base líquida de avena de tecnología de vanguardia (bebida de avena). Se preparó una bebida de base de avena de tecnología de vanguardia añadiendo preparaciones comerciales secas de α -amilasa y β -amilasa en cantidades suficientes para degradar el almidón a maltosa y maltodextrina. La bebida se utilizó como material inicial en experimentos realizados por razones de comparación.
- 25 Base líquida de avena de la invención. Además de la utilización de α -amilasa y β -amilasa en la preparación de la base líquida de avena de la invención, la β -glucanasa se utiliza para degradar la mayor parte o al menos el 75% en peso e incluso más del 80% en peso o el 90% en peso de β -glucano soluble en agua del material inicial, que tiene un peso molecular de aproximadamente 1.000.000 D a aproximadamente 2.000.000 D, a β -glucano soluble en agua que tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 D, en particular desde aproximadamente 50.000 D a aproximadamente 400.000 D. La suspensión del material inicial contenía aproximadamente 10% en peso de material rico en salvado de avena en agua de aproximadamente 60 °C. Después de la incubación durante 1 hora bajo agitación a esta temperatura, la base líquida de salvado de avena producida de este modo tenía un pH de 6,4 - 6,6 y una viscosidad de aproximadamente 25 cP a 250 cP a 22 °C. Si se desea, el procedimiento puede modificarse para obtener un producto de mayor o menor viscosidad. Esta base de salvado de avena de la invención se usó en los siguientes experimentos.
- 30 Estimación de la liberación de arabinosilano soluble. El contenido de arabinosilano soluble se determinó de acuerdo con el método de floroglucinol de Rose and Inglett, *J Food Anal Meth* 2;1 (2010) 66-72. Se mezcló una parte alícuota de 200 μ l del sobrenadante de la suspensión de avena con 1 ml de reactivo. El reactivo consiste en ácido acético glacial, ácido clorhídrico concentrado, floroglucinol al 20% (p/v) en etanol y glucosa al 1,75% (p/v) en una proporción de 110:2:5:1. Las muestras se incubaron a 100 °C durante 25 minutos. Después de enfriar a temperatura ambiente se leyó la absorbancia a 552 nm y 510 nm. La cuantificación del contenido de arabinosilano soluble se obtuvo relacionando la absorbancia medida con la de una curva de calibración construida usando D(+)-xilosa. Los resultados se expresan como mM de equivalentes de xilosa (XE).
- 35 40 45
- 50 Determinación del contenido de β -glucano. El método se desarrolló utilizando el kit de análisis de β -glucano de enlace mixto de Megazyme International Ireland Ltd. El procedimiento descrito por el proveedor se modificó ligeramente. Se añadió a cada tubo de ensayo un gramo de bebida a base de salvado de avena, 200 μ l de etanol (50% v/v) y 4 ml de regulador de fosfato (20 mM, pH 6,5). Los tubos se mezclaron en vórtice y se pusieron en agua hirviendo durante 2 minutos, luego se transfirieron a un baño de agua a 50 °C y se mantuvieron allí durante 5 minutos. Después de añadir 200 μ l de una solución acuosa de enzima lichenasa (10 U) a cada tubo de ensayo, las muestras se almacenaron en el baño de agua durante 1 hora. Se añadió regulador de acetato de sodio (5 ml, 200 mM, pH 4) a cada tubo. Los tubos se centrifugaron a 1000 rpm durante 15 minutos. Se mezclaron cien μ l del sobrenadante con 100 μ l de la solución enzimática de β -glucosidasa (0,2 U). Se preparó un blanco para cada muestra (sin adición de β -glucosidasa, adición de 100 μ l de regulador de acetato de sodio (50 mM, pH 4)). Las muestras se incubaron en un baño de agua a 50 °C durante 15 minutos. También se analizó un estándar de glucosa.
- 55 60 Se añadieron a cada tubo tres ml de reactivo GODOP (regulador de fosfato de potasio (1 mM, pH 7,4), ácido p-hidroxibenzoico (0,22 M) y azida sódica (0,4% p/p) Los tubos fueron entonces incubados por 20 minutos adicionales a 50 °C. La absorbancia se leyó a 510 nm en 1 hora.
- Electroforesis en gel de SDS-PAGE. Para establecer si la proteína extraída después de la aplicación de la enzima difiere de la proteína original, se realizó una electroforesis en gel a tres concentraciones diferentes de xilanasas. Se

demonstró que el tratamiento con xilanasa no afecta a la distribución del peso molecular ni a la composición de las proteínas.

5 Medición del tamaño de partícula. La medición del tamaño de partícula se realizó por difracción de haz de rayos láser utilizando un instrumento Mastersizer 2000, Hydro 2000SM (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). La distribución del tamaño de partícula registrada por esta técnica tiene el volumen como base y se informa en un gráfico que muestra el porcentaje en volumen de partículas de un tamaño dado. La determinación del tamaño de partícula se basa en el supuesto de que las partículas son esféricas y homogéneas y que las propiedades ópticas del medio son conocidas. Para partículas del mismo tipo, como en el presente contexto, se cree que el método proporciona resultados fiables.

15 **Ejemplo 1.** Contenido de β -glucona de la base de salvado de avena de la invención en relación con la cantidad de xilanasa utilizada para su producción. La bebida a base de salvado de avena de tecnología de vanguardia descrita anteriormente se incubó a 40 °C durante 15 minutos con diferentes cantidades de xilanasa. El producto se analizó para la concentración de β -glucano. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido de β -glucano de muestras de base de salvado de avena tratadas con diferentes cantidades de xilanasa a 40 °C durante 15 minutos

Xilanasa FXU/100 g OBF (salvado de avena)	β -glucano (% en peso)
0	1,3
100	1,4
1000	1,5
2000	1,4

20 **Ejemplo 2.** Estabilidad física de la base líquida de avena mejorada de la invención. La estabilidad física se determinó midiendo la separación de fases al almacenar en un vial de vidrio una muestra de la base líquida de avena mejorada durante un período de tiempo dado a una temperatura seleccionada. Durante el almacenamiento apareció una fase líquida superior clara. Se incrementó en altura hasta que se alcanzó un estado de punto final estable al cual la altura de la fase de partículas más baja permaneció estable. El índice de estabilidad física I_{phs} en el tiempo t_s se expresa convenientemente como 100 x la proporción de la altura de fase superior en t_s a la altura de fase superior en el punto final (almacenamiento por tiempo indefinido) en el que se ha alcanzado el equilibrio de sedimentación.

30 Un índice de separación disminuido es indicativo de una estabilidad física mejorada. Las muestras homogeneizadas de la base acuosa de avena de la invención y la base acuosa de avena de la técnica anterior no tratada con xilanasa se almacenaron en tubos de ensayo a 4 °C. La separación de fases (fase acuosa superior, fase de materia particulada inferior) se midió a 2, 24, 36 y 48 horas desde la homogeneización (Tabla 2). Estabilidad física

Tabla 2. Estabilidad Física, 1 hora de tratamiento enzimático con xilanasa a 40 °C

Xilanasa conc. FXU/100 g OBF	Índice de estabilidad física I_{phs} *			
	2 h	24 h	36 h	48 h
0	67	47	40	33
100	92	82	63	55
1000	97	82	83	75
2000	98	92	83	78

* 100 % = no hay separación de fases; 0 % = separación completa de fases

35 Alrededor del 50% del aumento en la estabilidad física se logra después de un tiempo de reacción de sólo 5 minutos (Tabla 3).

40 Tabla 3. Aumento en la estabilidad física (índice de estabilidad física I_{phs}) con respecto a la duración del tratamiento enzimático a 40 °C, xilanasa conc. 1000 FXU/100 g OBF

Tiempo de almacenamiento, h	Tiempo de reacción, min						
	0	5	10	15	20	25	30
2	67	97	98	95	95	95	98
24	47	97	97	93	95	93	93

Ejemplo 3. Efecto de la concentración de xilanasa en el contenido de arabinosilano soluble. El contenido de arabinosilano soluble se midió después de la incubación a 40 °C de muestras a diferentes concentraciones de xilanasa. Los resultados se muestran en la Tabla 4 expresados como equivalentes de xilosa.

5 Tabla 4. Equivalentes de Xilosa (XE) en muestras tratadas con diferentes concentraciones de xilanasa (p/v) durante 60 minutos

Xilanasa (FXU/100 g OBF)	XE (mM)
0	0,38
100	7,4
1000	15,0
2000	14,0

10 **Ejemplo 4.** Medición del tamaño de partículas. Para determinar si la enzima degrada las paredes celulares y, por tanto, reduce el tamaño de partícula, se midió el tamaño de las partículas de base líquida de salvado de avena de la invención producidas a diferentes concentraciones de xilanasa. Las muestras de control no se incubaron con xilanasa. Se observó una disminución significativa en el tamaño de partícula tras el tratamiento con xilanasa (1 hora a 40 °C). La Tabla 5 muestra el diámetro medio de partícula determinado a partir del peso volumétrico de partículas de muestras tratadas con xilanasa.

15 Tabla 5. Diámetro del peso volumétrico de las muestras de bebida de salvado de avena después del tratamiento con xilanasa

Xilanasa (FXU/100 g)	Diámetro medio (µm)	Disminución (%)
0	307	-
100	207	32,6
1000	184	40,0
2000	154	49,8

20 **Ejemplo 5.** Efecto del tiempo de reacción sobre el contenido de arabinosilano soluble. El contenido de arabinosilano soluble se midió después de la incubación de las muestras para diferentes períodos de tiempo. Este análisis se realizó para evaluar los cambios en la concentración de productos de degradación de arabinosilano durante la reacción. La Tabla 6 muestra que hubo un aumento significativo en la concentración de arabinosilano después de un tiempo de reacción de 5 minutos. Se observó un ligero aumento adicional a tiempos de reacción más largos.

25 Tabla 6. Contenido de arabinosilano soluble en muestras tratadas con xilanasa (1000 FXU/100 g OBF) para diferentes tiempos de reacción

Tiempo de reacción, min	0	5	10	15	20	25	30	35	40	50
Equivalentes de xilosa, mM	0,5	7,7	8,2	9,6	8,3	9,1	8,9	11,1	10,7	11,4

30 **Ejemplo 6.** Efecto de la temperatura de reacción. Se eligió un tiempo de incubación de 15 minutos, puesto que se había mostrado anteriormente para proporcionar una buena estabilidad física y un aumento sustancial de arabinosilano soluble. Se analizó el efecto de la variación de temperatura sobre la degradación enzimática por xilanasa para encontrar una temperatura de reacción óptima. La bebida a base de salvado de avena se incubó con xilanasa 1000 FXU/100 g OBF durante 15 minutos a 40 °C, 50 °C y 60 °C (Tabla 7).

Tabla 7. Estabilidad física a 4 °C de bebida a base de salvado de avena tratada con xilanasa

Xilanasa, 15 min a °C	Índice de estabilidad física I _{phs} , 4 °C, %		
	2 h	24 h	72 h
Sin xilanasa	58	42	37
40	100	97	88
50	100	93	82
60	100	97	97

35 **Ejemplo 7.** Homogeneización. La estabilidad de almacenamiento físico de la base líquida de avena de la invención puede mejorarse adicionalmente por homogeneización. Realizando la homogeneización en un homogeneizador de dos etapas que proporciona una presión de al menos 150/30 bar, el producto muestra una estabilidad física mejorada incluso en presencia de fibras insolubles, es decir, antes de la decantación mediante la cual se eliminan

las fibras insolubles. En las figuras se muestra una estabilidad mejorada de la base líquida de avena de la invención producida a partir de avena integral (figura 1) y de salvado de avena (figura 2) sobre la de una base de avena comercial (bebida de avena).

5 **Ejemplo 8.** Contenido de arabinosilano soluble en una bebida a base de salvado de avena tratada con xilanasa a diversas temperaturas. La base de salvado de avena conocida (bebida de avena) descrita anteriormente se incubó durante 15 minutos con 1000 FXU/100 g OBF de xilanasa a 40 °C, 50 °C y 60 °C. Se encontró que el contenido de arabinosilano soluble se había incrementado a todas las temperaturas en un factor de 5 o más (Tabla 8).

10 Tabla 8. contenido de arabinosilano soluble de bebida a base de salvado de avena tratada con xilanasa

Xilanasa por 15 min; °C	ninguno	40	50	60
Equivalentes de xilosa, mM	0,89	6,6	8,7	8,1

15 **Ejemplo 9.** Distribución del tamaño de partícula. La figura 3 muestra la distribución del tamaño de partícula de la base de salvado de avena homogeneizada y no homogeneizada de la invención. En la Tabla 10 se dan datos de diámetro de peso volumétrico correspondientes para las siguientes muestras: Para evaluar el efecto de la homogeneización se prepararon cinco muestras:

Control: Base de salvado de avena no homogeneizada no tratada con xilanasa;

20 Muestra A: No homogeneizado; 1000 xilanasa FXU por 100 g OBF; xilanasa 15 min a 60 °C;

Muestra B: Se homogeneizó durante 2 min; 1000 xilanasa FXU por 100 g OBF; xilanasa 15 min a 60 °C;

Muestra C: 500 xilanasa FXU no homogeneizada por 100 g OBF; xilanasa 30 min a 60 °C;

25 Muestra D: se homogeneizó durante 2 min, 500 xilanasa FXU por 100 g OBF; xilanasa 30 min a 60 °C.

Tabla 9. Diámetro de las muestras A a D y del control determinado a partir de su peso volumétrico

Muestra	Diámetro, μm	Disminución (%)
Control	272	0
A	207	24,0
B	159	41,7
C	216	20,5
D	173	36,4

30 Como es evidente a partir de la Tabla 9, la reducción del tamaño de partícula es más pronunciada a la concentración de enzima más alta.

35 **Ejemplo 10.** Preparación de una bebida de salvado de avena. Se preparó una bebida de salvado de avena rica en betaglucano (15% p/p) de acuerdo con la invención suspendiendo desde 7% en peso a 15% en peso de harina de salvado de avena/mezcla de enzimas en agua. La suspensión se incubó a 55 °C a 65 °C bajo agitación durante desde aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 2 horas. La incubación se detuvo por calentamiento, en particular a al menos 80 °C o incluso 100 °C o más. La suspensión se trató con UHT, se homogeneizó a una presión de 150/30 bar y se enfrió a 4 °C. Después del almacenamiento durante 20 días a 4 °C, la preparación no mostró separación de fase significativa (5% o más). No se añadieron aditivos a la bebida de salvado de avena así preparada de la invención para estabilizarla contra la separación de fases. Alternativamente, la bebida de salvado de avena de la invención preparada de esta manera puede pasteurizarse.

45 **Ejemplo 11.** Bebida deshidratada de salvado de avena. La bebida de salvado de avena del Ejemplo 11 se deshidrató a un polvo blanco mediante deshidratación por aspersion usando un equipo para deshidratar leche de vaca por aspersion. El polvo puede utilizarse para la reconstitución de la bebida suspendiéndola en agua o como aditivo alimentario.

Ejemplo 12. Preparación de una bebida de avena de grano integral. El procedimiento seguido fue esencialmente el del Ejemplo 10 excepto que se usó harina de avena de grano integral como material inicial.

50 **Ejemplo 13.** Bebida deshidratada de grano de avena integral. La bebida de avena de grano integral del Ejemplo 12 se deshidrató a un polvo blanco mediante deshidratación por aspersion utilizando un equipo para deshidratar leche de vaca por aspersion. El polvo puede utilizarse para la reconstitución de la bebida suspendiéndola en agua o como aditivo alimentario.

55

5 **Ejemplo 14.** Preparación de una bebida con sabor a fruta que comprende una bebida de salvado de avena. Se prepararon varias muestras mezclando desde 25% (p/p) a 95% (p/p) de la bebida de salvado de avena del Ejemplo 10 o bebida reconstituida según el Ejemplo 11 con concentrado de fruta de sabor deseado. Las mezclas se enfriaron a 4 °C y se embotellaron en condiciones asépticas. Las bebidas resultaron ser estables durante tres semanas a esta temperatura en ausencia de cualquier aditivo alimentario estabilizante.

10 **Ejemplo 15.** Preparación de una bebida con sabor a fruta que comprende una bebida de avena de grano integral. Se prepararon varias muestras mezclando desde 25% (p/p) a 95% (p/p) de bebida de avena de grano integral del Ejemplo 12 o bebida reconstituida de acuerdo con el Ejemplo 13 con concentrado de fruta de sabor deseado. Las mezclas se enfriaron a 4 °C y se embotellaron en condiciones asépticas. Las bebidas resultaron ser estables durante tres semanas a esta temperatura en ausencia de cualquier aditivo alimentario estabilizante.

15 **Ejemplo 16.** Preparación de una bebida de yogur nutritivo rico en fibra a base de bebida de salvado de avena fermentada y leche de vaca. Desde 50% en peso a 95% o más en peso (varias muestras preparadas) de la bebida de salvado de avena del Ejemplo 10 o tal bebida reconstituida de acuerdo con el Ejemplo 11 se mezclaron con leche de vaca estándar. La mezcla se hizo pasar a través de un intercambiador de calor. La mezcla se pasteurizó y posteriormente se enfrió a aproximadamente 40 °C a aproximadamente 50 °C seguido por inoculación con la cantidad requerida de cultivo bacteriano deseado. El cultivo puede comprender opcionalmente cepas probióticas. La combinación se mezcló a fondo y se fermentó hasta que alcanzó un pH de aproximadamente 4,5. El producto fermentado puede ser aromatizado con especias para proporcionar un tipo de yogur saborizado para beber o un yogur para beber con sabor a fruta añadiendo un concentrado de fruta de sabor deseado bajo condiciones asépticas. El yogur para beber se embotella en condiciones asépticas y se almacena a +4 °C. El yogur para beber demostró ser estable durante tres semanas a esta temperatura en ausencia de cualquier aditivo alimentario estabilizante.

20

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una base líquida de avena para uso en la fabricación de alimentos para consumo humano, que comprende:
- 5 (a) proporcionar un material que comprende salvado de avena que comprende desde 1% en peso a 50% en peso de β -glucano;
- 10 (b) suspender el material que comprende el salvado de avena en un medio acuoso, en particular agua, para formar una suspensión acuosa;
- 15 (c) poner en contacto, en ningún orden particular, dicha suspensión acuosa con α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa, xilanasa para elevar la concentración de arabinosilano soluble en la suspensión por un factor de 5 o más proporcionando una base líquida de avena;
- 20 (d) opcionalmente homogeneizar la base líquida de avena de la etapa (c) para proporcionar una base líquida de avena homogeneizada;
- (e) destruir opcionalmente la actividad enzimática en la base líquida de avena de la etapa (c) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (d) para proporcionar una base líquida de avena inactiva enzimáticamente;
- 25 (f) opcionalmente envasar asépticamente la base líquida de avena de la etapa (c) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (d) o la base líquida de avena enzimáticamente inactiva de la etapa (e) en un recipiente.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa (c) comprende poner en contacto primero la suspensión acuosa de la etapa (b) con α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa para hidrolizar parcialmente almidón y β -glucano, luego con xilanasa para elevar la concentración de arabinosilano soluble en la suspensión por un factor de 5 o más para proporcionar una base líquida de avena.
3. El método de la reivindicación 1 ó 2, en el que la temperatura para el contacto de α -amilasa, β -amilasa, β -glucanasa es desde 30 °C a 70 °C.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la temperatura para el contacto de xilanasa es desde 40 °C a 70 °C, en particular de desde 40 °C a 65 °C, más preferible de aproximadamente 60 °C.
- 35 5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el material que comprende el salvado de avena se selecciona del grupo que consiste en salvado de avena, harina de sémola integral (harina integral), sémola de avena arrollada y endosperma de avena.
- 40 6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el material que comprende el salvado de avena comprende o consiste sustancialmente en partículas de salvado de avena de un tamaño de 25 μ m o más.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la xilanasa es una endo-1,4- β -xilanasa.
- 45 8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el 80% o más de β -glucano disuelto en la suspensión acuosa se degrada por β -glucanasa a β -glucano de un peso molecular de desde 20.000 D a 400.000 D.
9. Base líquida de avena adecuada para el consumo humano obtenida u obtenible por el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 50 10. La base líquida de avena de la reivindicación 9, homogeneizada a alta presión.
11. La base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, que comprende partículas de salvado de avena de un tamaño de partícula por encima de 25 μ m y hasta 225 μ m, en particular de aproximadamente 170 μ m.
- 55 12. La base de avena líquida de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 que no comprende agente estabilizante de suspensión añadido tal como alginato o hidroxipropil metil celulosa.
13. Base en polvo de avena preparada a partir de la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 mediante deshidratación por aspersion u otro método de deshidratación adecuado.
- 60 14. Uso de la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 o de la base en polvo de avena de la reivindicación 13 como aditivo alimentario.
- 65 15. Uso de la base en polvo de avena de la reivindicación 13 para reconstituir la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12.

16. Bebida aromatizada con fruta que comprende la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 y concentrado de fruta.
- 5 17. Bebida de yogur de alto contenido en fibra que comprende la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 y leche de vaca fermentada con un cultivo bacteriano.
18. Producto alimenticio que comprende la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 y/o la base en polvo de avena de la reivindicación 13.
- 10 19. Composición en polvo para uso en la producción de base líquida de avena, tal como la base líquida de avena de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, comprendiendo la composición o consistente sustancialmente en:
- 15 (a) un material que comprende salvado de avena;
- (b) α -amilasa;
- (c) β -amilasa;
- 20 (d) β -glucanasa;
- (e) xilanasa.
- 25 20. Un método para preparar una base líquida de avena para su uso en la fabricación de alimentos para consumo humano, que comprende:
- (a) proporcionar la composición en polvo de la reivindicación 19;
- 30 (b) suspender la composición en polvo en un medio acuoso, en particular agua, para formar una suspensión acuosa;
- (c) elevar la temperatura de la suspensión acuosa a desde 40 °C a 70 °C durante un tiempo suficiente para degradar almidón, β -glucano y xilano para formar una base líquida de avena;
- 35 (d) opcionalmente homogeneizar la base de avena líquida de la etapa (c) para proporcionar una base de avena líquida homogeneizada;
- (e) destruir opcionalmente la actividad enzimática en la base líquida de avena de la etapa (b) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (c) para proporcionar una base líquida de avena inactiva enzimáticamente;
- 40 (f) de manera opcional envasar asépticamente en un recipiente la base líquida de avena de la etapa (b) o la base líquida de avena homogeneizada de la etapa (c) o la base líquida de avena enzimáticamente inactiva de la etapa (d).

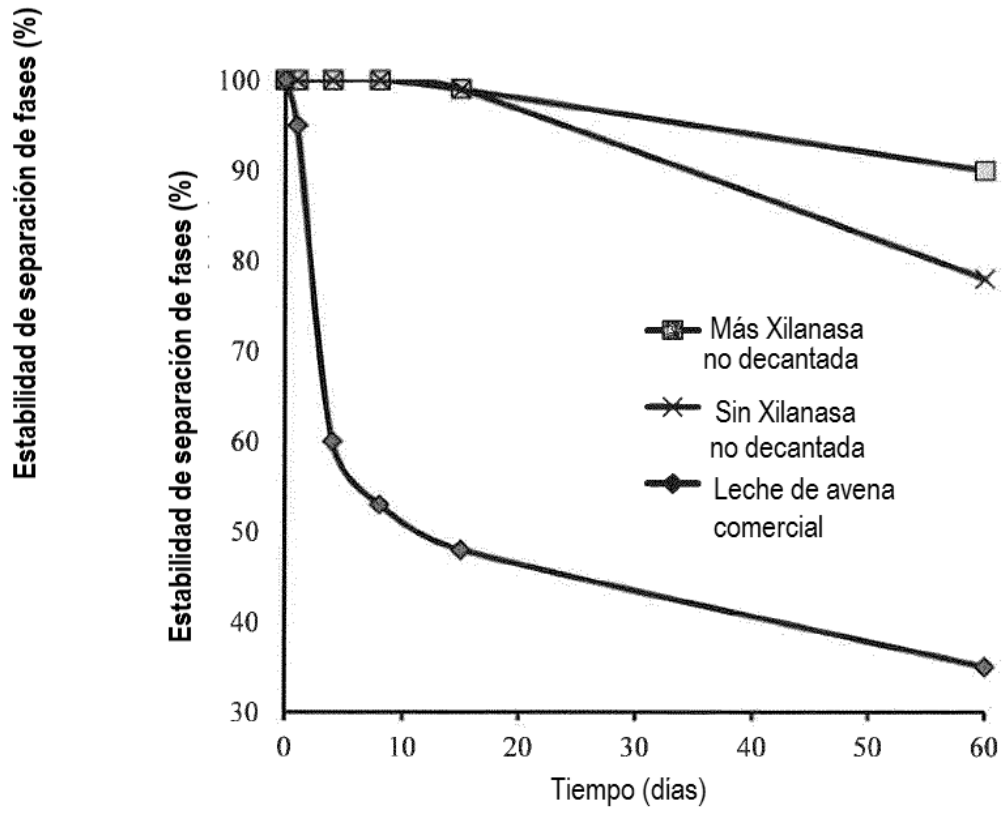


Fig. 1

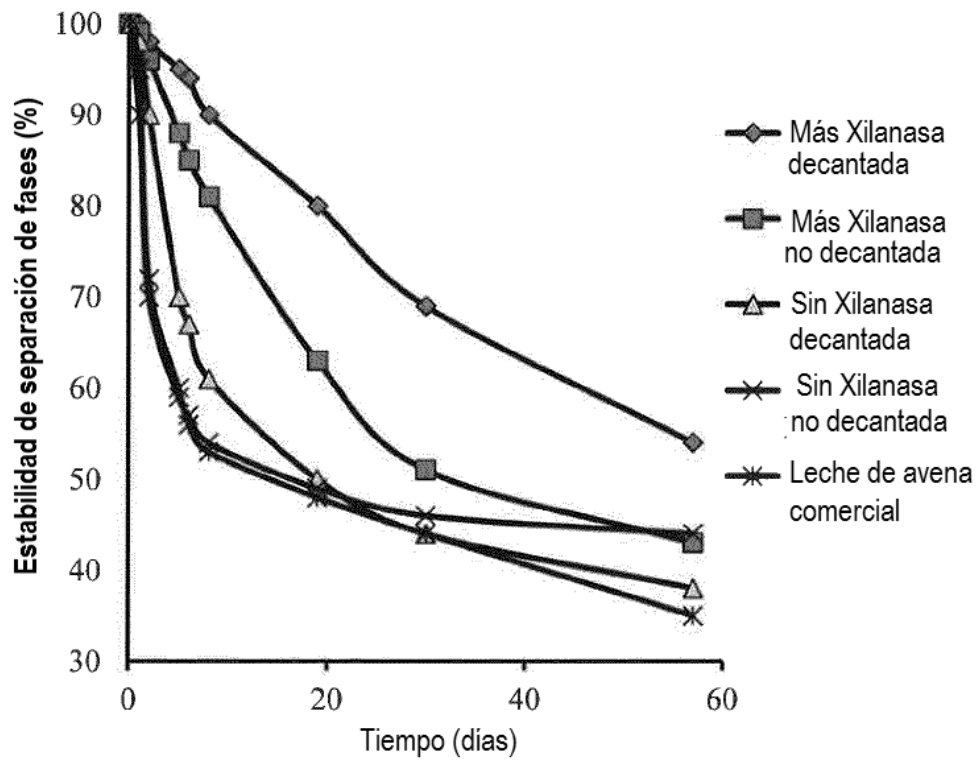


Fig. 2

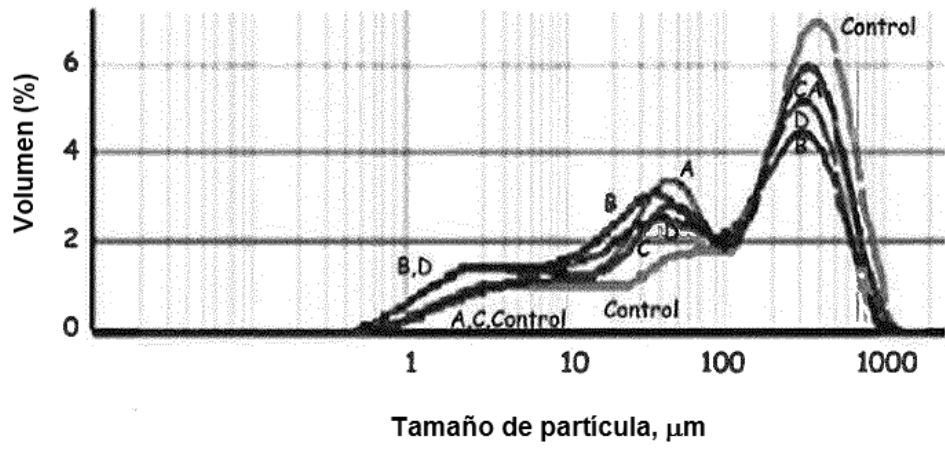


Fig. 3