

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 062**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)
C12P 19/18 (2006.01)
C12P 19/24 (2006.01)
A61K 31/7016 (2006.01)
C12P 39/00 (2006.01)
A23L 33/10 (2006.01)
A23L 33/20 (2006.01)
A23L 27/30 (2006.01)
C12P 19/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2010 PCT/EP2010/002308**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.10.2010 WO10118866**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2010 E 10713855 (4)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2418971**

54 Título: **Composición que contiene trehalulosa, su preparación y uso**

30 Prioridad:

15.04.2009 US 386187

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.01.2018

73 Titular/es:

**SÜDZUCKER AKTIENGESELLSCHAFT
 MANNHEIM/OCHSENFURT (100.0%)
 Maximilianstrasse 10
 68165 Mannheim, DE**

72 Inventor/es:

**WACH, WOLFGANG;
 ROSE, THOMAS;
 KLINGEBERG, MICHAEL;
 PETERS, SIEGFRIED;
 DÖRR, TILLMANN;
 THEIS, STEPHAN;
 KOWALCZYK, JÖRG y
 HAUSMANN, STEPHAN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 651 062 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición que contiene trehalulosa, su preparación y uso

5 La presente invención se refiere a una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, y a un proceso para su preparación.

10 La trehalulosa (1-O- α -D-glucopiranosil-D-fructosa) y la isomaltulosa (palatinosa, 6-O- α -D-glucopiranosil-D-fructosa) son isómeros estructurales conocidos de la sacarosa. Estos isómeros se encuentran naturalmente dentro de la miel en pequeñas cantidades. Ambos son conocidos como azúcares no cariogénos. Sin embargo sus características físicas y químicas son algo diferentes, en particular por el hecho de que la trehalulosa es más soluble en agua que la isomaltulosa y por tanto su uso como ingredientes alimentarios es distinto.

15 La isomaltulosa y la trehalulosa también son conocidas, por ejemplo, a través de la patente EP 1 424 074 A1 como heterodisacáridos que, en comparación con la sacarosa, presentan una tasa de hidrólisis reducida en el intestino delgado de los consumidores humanos o animales, lo cual sugiere la provisión de composiciones nutricionales para controlar los niveles de azúcar en la sangre, en particular para su uso en los pacientes que padecen diabetes e intolerancia a la glucosa, o para prevenir la obesidad. Sin embargo el documento no menciona el papel específico y la importancia de la isomaltulosa y la trehalulosa contenida en las composiciones nutricionales.

20 La patente EP 0 483 755 B1 revela procesos para preparar composiciones que llevan trehalulosa e isomaltulosa. En particular se utilizó *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45 (FERM-BP 3619) o *Agrobacterium radiobacter* MX-232 (FERM-BP 3620) para convertir un medio que comprendía sacarosa en una disolución que contenía principalmente trehalulosa, pero también cantidades significativas de isomaltulosa. Por lo tanto, los métodos revelados hacen uso de la capacidad de la α -glucosiltransferasa de *Pseudomonas mesoacidophila* o de *Agrobacterium radiobacter* para convertir la sacarosa tanto en trehalulosa como en isomaltulosa, aunque predominantemente se obtiene trehalulosa.

25 La patente EP 0 794 259 B1 revela la preparación de una composición de polisacáridos que contiene trehalulosa mediante el uso de un enzima convertidor de maltosa/trehalulosa procedente de *Pseudomonas putida*, *Thermus ruber*, *Thermus aquatica* o *Pimelobacter* para producir la composición que contiene trehalulosa a partir de una solución de sacarosa.

30 La patente EP 0 091 063 A2 revela un proceso para la preparación de isomaltulosa mediante el uso de células bacterianas inmovilizadas, en particular células de *Protaminobacter rubrum* (CBS 574.77). El procedimiento revelado en esta patente emplea una disolución con contenido de sacarosa, la cual se expone a la acción de estas células inmovilizadas para obtener una composición que contiene principalmente isomaltulosa, pero también trehalulosa.

35 La patente EP 1 393 637 A1 revela agentes para mantener la concentración y la atención, en particular alimentos y bebidas que contienen dichos agentes. La patente revela productos para el consumo humano que supuestamente mejoran la concentración y la atención debido a la presencia de la isomaltulosa contenida en el producto.

40 La patente EP 0 983 374 B1 revela procesos para producir simultáneamente isomaltulosa y/o trehalulosa y betaína.

45 Rhimi y otros (Biologica, volumen 63, nº 6, 2008, páginas 1020-1027) revela propiedades bioquímicas y aspectos estructurales de diferentes isomerasas bacterianas de sacarosa.

50 Nagai y otros (Biosci. Biotech. Biochem., volumen 58 (10), 1994, páginas 1789-1793) revela la identificación de una α -glucosiltransferasa procedente de *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45 que convierte la sacarosa en trehalulosa e isomaltulosa.

55 Kitahata y otros (Glycoenzymes, 2000, págs. 227-239) revela la producción y las propiedades de oligosacáridos sintetizados a partir de sacarosa con α -glucosiltransferasas procedentes de *Protaminobacter rubrum* y *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45.

60 Todos estos procesos pretenden producir una composición que contenga trehalulosa o isomaltulosa, o incluso trehalulosa o isomaltulosa puras, con el fin de aprovechar sus conocidas propiedades fisiológicas, sobre todo su falta de cariogenicidad y su lenta velocidad de hidrólisis en el intestino delgado. Aunque la isomaltulosa es un agente atractivo de cara al desarrollo de productos adecuados para prevenir y tratar el sobrepeso, la obesidad, la diabetes y otras afecciones y enfermedades relacionadas con el metabolismo de la glucosa o la insulina, sigue existiendo la necesidad de proporcionar ingredientes activos aún más eficaces.

65 La producción de composiciones que contienen trehalulosa, también denominada vitalose, con elevado contenido de isomaltulosa no es conveniente para una serie de aplicaciones, tales como las gelatinas o los zumos de frutas, ya que la isomaltulosa tiende a cristalizar, en particular para aplicaciones en medio acuoso. Aunque la preparación de composiciones que comprenden un alto contenido de trehalulosa es ventajosa para algunas aplicaciones, para otras aplicaciones tiene la desventaja de que su capacidad de cristalización está fuertemente inhibida. Hasta ahora no se

han descrito procesos para obtener composiciones que contengan trehalulosa, es decir vitalose que incluya tanto trehalulosa como isomaltulosa en cantidades significativas, que pueda producirse de una manera fácil, económica y comercialmente adecuada empleando una formulación ventajosa, en concreto gracias a una relación ajustable entre trehalulosa y isomaltulosa según las necesidades específicas de la aplicación particular de la composición producida con contenido de trehalulosa, es decir de la vitalose. Además en el estado técnico hay la necesidad de proporcionar medios y métodos mejorados para las profilaxis y el tratamiento de afecciones y enfermedades relacionadas con el metabolismo de la glucosa y/o de la insulina en el cuerpo humano o animal, en particular para grupos específicos de pacientes, a los que hasta ahora no se consideraba adecuado administrarles un carbohidrato, en particular una dieta con contenido de azúcares.

Por lo tanto, el problema técnico del que parte la presente invención es la preparación de composiciones mejoradas de trehalulosa e isomaltulosa - en lo sucesivo llamadas "vitalose" o "composiciones con contenido de trehalulosa" - que superen las desventajas descritas anteriormente y en particular permitan aplicaciones ventajosas, sobre todo en la profilaxis y terapia de afecciones y enfermedades relacionadas con el metabolismo de la glucosa y/o la insulina, preferiblemente para determinados grupos de consumidores o pacientes. Por lo tanto, en el contexto de la presente invención, los términos "composición con contenido de trehalulosa" y "vitalose" se refieren a la misma composición que contiene trehalulosa e isomaltulosa y se emplean indistintamente. El problema técnico del que parte la presente invención es también el de facilitar procedimientos para producir a escala industrial las composiciones que contienen trehalulosa, es decir vitalose, mediante procesos especiales que permitan su producción de manera particularmente variable, es decir que permitan producir preferiblemente una composición de un producto preseleccionado que tenga una relación concreta de trehalulosa/isomaltulosa, preseleccionada de manera preferente.

La presente invención resuelve este problema según las indicaciones de las reivindicaciones independientes.

Así, la presente invención resuelve este problema técnico aportando un proceso para preparar una composición que contiene trehalulosa según la reivindicación 1 del producto, es decir vitalose, en el cual (a) una composición que lleva sacarosa se pone en contacto en condiciones apropiadas con células o extractos celulares de microorganismos del género *Pseudomonas* y del género *Protaminobacter* y (b) se obtiene la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose.

Dicho proceso de la presente invención consiste en someter una composición que contiene sacarosa, en particular un medio acuoso que contiene sacarosa, a la acción de un enzima, en concreto α -glucosiltransferasa, contenido en una célula o extracto celular de microorganismos del género *Pseudomonas* y *Protaminobacter*, durante un periodo de tiempo y en unas condiciones idóneas para convertir la sacarosa en una composición que contenga trehalulosa, es decir vitalose. En una forma de ejecución preferida la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, se aísla y opcionalmente se purifica, preferiblemente de manera completa, es decir hasta el 100% de conversión, o casi completa, lo cual significa al menos un 95, 96, 97, 98 o 99% de conversión de la sacarosa. La composición obtenida con contenido de trehalulosa, es decir vitalose, se puede seguir purificando según los métodos del estado técnico anterior y las necesidades concretas de la aplicación prevista. Por ejemplo, en una forma de ejecución preferida la composición obtenida con contenido de trehalulosa, es decir vitalose, se puede seguir purificando por cromatografía, filtración, desionización, decoloración, tratamiento enzimático, tratamiento catalítico y/o fraccionamiento.

Por tanto la presente invención aporta el conocimiento ventajoso e inesperado de que en un solo proceso se pueden emplear simultánea y conjuntamente células o extractos celulares de un microorganismo del género *Pseudomonas* y células o extractos celulares de un microorganismo del género *Protaminobacter* para generar una composición que contenga trehalulosa, es decir vitalose, a partir de una composición que contiene sacarosa, preferiblemente con una composición preseleccionada y fácilmente adaptable de sus componentes. Este conocimiento permite producir de modo favorable una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, con un amplio intervalo de proporciones entre sus componentes, sobre todo de trehalulosa e isomaltulosa. En particular, el uso combinado y simultáneo de células o extractos celulares tanto de *Pseudomonas* como de *Protaminobacter* produce una composición ventajosa, en particular una composición edulcorante que comprende principalmente trehalulosa e isomaltulosa, designada en lo sucesivo como "composición que contiene trehalulosa", es decir vitalose, la cual ofrece las ventajas detalladas a continuación, en concreto un comportamiento glucémico e insulínico inesperado, y es extensible a otros métodos y usos ventajosos, sobre todo para controlar el peso corporal y en general la diabetes y las afecciones relacionadas con el metabolismo de la glucosa y la insulina. La composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención es básicamente no cariogena, sobre todo no cariogena en absoluto, y tiene un índice glucémico e insulínico bajo. La presente composición es poco calórica, y por tanto apropiada para consumidores preocupados por su salud, y también en particular para diabéticos, y combina un agradable efecto edulcorante con una buena consistencia que favorece su preparación en forma sólida, pero también ventajosamente en forma de jarabe, sobre todo en forma de suspensión o solución. La composición de la presente invención se caracteriza por no cristalizar a las concentraciones empleadas. Con independencia de la teoría, las composiciones de la presente invención tienen como característica principal una relación específica entre sus diversos componentes, en particular la relación entre trehalulosa e isomaltulosa y los carbohidratos minoritarios isomaltosa, isomelezitosa y sus oligómeros.

De aquí en adelante la referencia al porcentaje (%) es una referencia al % en peso, a no ser que se especifique de otra manera. En el contexto de la presente invención todas las proporciones, en particular las proporciones relativas

de los componentes de una composición, no exceden el 100%, preferiblemente suman hasta el 100% sobre la base de la materia seca de la composición o del peso total de la composición, según como se indique.

En el contexto de la presente invención, una composición que lleva sacarosa es preferiblemente una composición que comprende 1 hasta 100%, preferiblemente 1 hasta 99% en peso o 90 hasta 100% en peso de sacarosa (% en peso sobre materia seca). En una forma de ejecución especialmente preferida, una composición que lleva sacarosa tiene preferiblemente un contenido de sacarosa del 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 hasta 98% en peso, preferiblemente del 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 hasta el 97% en peso, preferiblemente del 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 o 80 hasta 96% en peso, preferiblemente del 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 hasta 95, 96, 97, 98 o 99% en peso, preferiblemente del 60 hasta el 90% en peso, preferiblemente del 70 hasta el 80% en peso, preferiblemente del 30 hasta el 60% en peso o preferiblemente del 40 hasta el 50% en peso de sacarosa (respectivamente sobre materia seca de la composición). Con mayor referencia, el contenido de sacarosa de la composición es del 90 hasta el 99% en peso, preferiblemente del 90 hasta el 98% en peso (basado respectivamente en la materia seca de la composición).

En una forma de ejecución particularmente preferida la composición que contiene sacarosa se usa en forma líquida, sobre todo disuelta o suspendida en un medio acuoso; preferiblemente es una solución o una suspensión acuosa que contiene sacarosa. La composición arriba identificada que contiene sacarosa se puede disolver o suspender, preferiblemente en un medio acuoso, p.ej. en agua, para obtener una solución o suspensión que contenga 0,1 hasta 80% en peso, preferiblemente 40 hasta 75% en peso, preferiblemente 40 hasta 60% en peso, en particular 10 hasta 60% en peso, preferiblemente 20 hasta 55% en peso de la composición que contiene sacarosa en agua, añadiendo para ello agua o un medio acuoso hasta llegar al 100% (basado en el peso total de la solución o suspensión). En una forma de ejecución especialmente preferida la solución o suspensión que contiene sacarosa tiene un contenido de sacarosa del 0,1 hasta el 80% en peso, preferiblemente del 5 hasta el 30% en peso, del 20 hasta el 30% en peso, del 20 hasta el 60% en peso, del 30 hasta el 60% en peso o del 40 hasta el 75% en peso, preferiblemente del 40 hasta el 60% en peso, en particular del 10 hasta el 60% en peso, preferiblemente del 20 hasta el 55% en peso de sacarosa (basado en el peso total de la solución o suspensión líquida). En una forma de ejecución particularmente preferida la solución o suspensión que lleva sacarosa también puede ser un zumo claro o espeso procedente de una fábrica del azúcar, que tiene preferiblemente un contenido de sustancia seca del 5 hasta el 30%, preferiblemente del 20 hasta el 27%. También es posible usar melazas u otras composiciones impuras de sacarosa que se encuentran en las fábricas del azúcar.

En el marco de la presente invención una célula o un extracto celular procedente de un microorganismo del género *Pseudomonas* es adecuado en condiciones apropiadas para convertir la sacarosa en una composición que contenga trehalulosa e isomaltulosa. En el marco de la presente invención una célula o un extracto celular procedente de un microorganismo del género *Protaminobacter* es adecuado en condiciones apropiadas para convertir la sacarosa en una composición que contenga trehalulosa e isomaltulosa. Por consiguiente, en la presente invención las células o los extractos celulares de microorganismos de los géneros *Pseudomonas* y *Protaminobacter* son células o extractos celulares capaces de formar trehalulosa e isomaltulosa a partir de sacarosa.

En el marco de la presente invención extracto celular se refiere a un extracto o a una parte de una o más células del microorganismo empleado conforme a la presente invención, por ejemplo a células rotas. En una forma de ejecución particularmente preferida, extracto celular también se refiere a una solución o suspensión de un enzima o sistema enzimático que tiene la capacidad de convertir sacarosa en trehalulosa e isomaltulosa; en concreto es una solución o suspensión que contiene la α -glucosiltransferasa de *Pseudomonas* y/o *Protaminobacter*, es decir, preferiblemente una α -glucosiltransferasa o sacarosa-6-glucosilmutasa (EC 5.4.99.10). Por tanto, la presente invención prevé el uso de células o extractos celulares, pues según una forma de ejecución preferida el término "extracto celular" también significa enzimas y además este término incluye los sistemas enzimáticos que contienen dicha α -glucosiltransferasa. Según la presente invención se pueden utilizar células completas o rotas del microorganismo, cuyas células actúan como vehículo del sistema enzimático. Las células, sobre todo las células inmovilizadas, son preferiblemente células muertas. El enzima o sistema enzimático empleado conforme a la presente invención se puede extraer de las células del microorganismo utilizando técnicas convencionales, por ejemplo mediante extracción con disolvente, con prensa francesa, por liofilización y/o tratamiento enzimático. Para facilitar la extracción se pueden usar procesos auxiliares, como la rotura de las células o el choque osmótico. El enzima o sistema enzimático extraído se puede purificar más o usarse tal cual. La presente invención no prevé únicamente el uso de los enzimas de origen natural, es decir de la α -glucosiltransferasa procedente de *Pseudomonas* y/o *Protaminobacter*, sino también de derivados genéticamente modificados de los mismos, así como de células de mutantes de *Pseudomonas* y/o *Protaminobacter* genéticamente modificadas.

Según una forma de ejecución particularmente preferida de la presente invención, el microorganismo del género *Pseudomonas* es un microorganismo de la especie *Pseudomonas mesoacidophila*, preferiblemente *Pseudomonas mesoacidophila* MX-45, preferiblemente *P. mesoacidophila* MX-45 (FERM-BP 3619, dicho organismo está revelado por ejemplo en las patentes EP 0 483 755 B1 o EP 0 625 578 B1, depositado también como FERM 11808, o también se encuentra disponible públicamente a partir de Nagai y otros (Biosc. Sci. Biotech. Biochem. 58 (10), (1994) 1789 - 1793)). En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, el microorganismo del género *Protaminobacter* es un microorganismo de la especie *Protaminobacter rubrum*, sobre todo *Protaminobacter rubrum*

CBS 574.77 (el *Protaminobacter rubrum* CBS 574.77 está descrito, por ejemplo, en las patentes EP 0 091 063 A2 o EP 0 625 578 B1).

5 Según una forma de ejecución especialmente preferida, las condiciones apropiadas para convertir la composición que contiene sacarosa en la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, son: una temperatura de 10°C, preferiblemente de 15°C a 40°C, preferiblemente de 10°C a 37°C, preferiblemente de 25°C a 40°C, preferiblemente de 30°C a 40°C, preferiblemente de 10°C a 25°C, preferiblemente de 15°C a 30°C, de 18°C a 26°C y sobre todo de 10°C a 20°C, y con especial preferencia de 10 a 17°C.

10 En una forma de ejecución más preferida, el proceso se lleva a cabo a un valor de pH de 5,0 a 9,0, preferiblemente de 5,0 a 7,0, preferiblemente de 6,0 a 7,0.

15 En una forma de ejecución más preferida, la composición que contiene sacarosa se expone a las células o extractos celulares de los géneros de microorganismos *Protaminobacter* y *Pseudomonas* durante un período de tiempo y en condiciones adecuadas para lograr una conversión de sacarosa a la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, del 20 hasta el 100%, preferiblemente del 30 hasta el 95, 96, 97, 98, 99% y preferiblemente del 100%, preferiblemente del 40 hasta el 98%, preferiblemente del 50, 60 o 70 hasta el 97%, preferiblemente del 50, 60, 70 u 80 hasta el 98%, preferiblemente del 75 hasta el 98%, con mayor preferencia del 50 hasta el 99%, con mayor preferencia del 60 hasta el 98%, del 85 hasta el 100% y preferiblemente más del 95, 96, 97, 98 o 99% (basado en la cantidad del sacarosa). Sobre todo, la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, está esencialmente libre de sacarosa, preferiblemente está libre de sacarosa.

25 En una forma de ejecución preferida de la presente invención, las células - que pueden ser vivas o muertas - o el extracto celular se pueden usar de forma no inmovilizada. En una forma de ejecución más preferida, las células o los extractos celulares, en particular los enzimas, se inmovilizan sobre al menos un vehículo, preferiblemente sobre dos tipos distintos de vehículos. Según esta forma de ejecución preferida, un vehículo inmoviliza la célula o el extracto celular del microorganismo del género *Pseudomonas* y el otro vehículo diferente inmoviliza las células o el extracto celular del microorganismo del género *Protaminobacter*.

30 En una forma de ejecución especialmente preferida, las células o los extractos celulares de los microorganismos de los géneros *Pseudomonas* y *Protaminobacter* se coinmovilizan sobre el mismo vehículo. Por tanto en esta forma de ejecución el mismo vehículo, es decir preferiblemente un solo tipo de partículas vehiculares, contiene tanto células como extractos celulares combinados sobre o en el vehículo.

35 La inmovilización puede llevarse a cabo usando tecnologías del estado técnico anterior. Preferiblemente, la presente invención prevé la inclusión en un gel. Preferiblemente, las células también pueden adsorberse físicamente sobre un soporte interno. Preferiblemente, también se pueden acoplar por enlace covalente a un soporte interno o se pueden agregar usando un agente reticulante. Según la presente invención se prefiere la inclusión en un gel. Los materiales adecuados para formar el gel pueden ser: alginato, poliacrilamida, agar, goma xantana/goma de algarrobo, kappa-carragenano o kappa-carragenano/goma de algarrobo, colágeno o acetato de celulosa.

45 En una forma de ejecución preferida la presente invención prevé la inmovilización de las células o de los extractos celulares en un vehículo de alginato, en particular de alginato cálcico. Una inmovilización preferida produce una red polimérica tridimensional inerte, que facilita mucho la difusión de la sacarosa hacia el interior de la red y tiene una gran estabilidad. En una forma de ejecución preferida, para preparar células o extractos celulares inmovilizados, preferiblemente en un gel de alginato, las células o los extractos celulares, preferiblemente de ambos géneros de microorganismos, se mezclan juntos con una solución acuosa de un alginato soluble, por ejemplo de alginato sódico. En un proceso preferido, esto consistirá en suspender las células enteras o las células rotas, es decir los extractos celulares, con un alginato soluble. En una forma de ejecución preferida la concentración de células varía entre el 1 y el 90% en peso de la solución, preferiblemente entre el 10 y el 40% en peso, preferiblemente es del 20% en peso (respecto a peso (volumen) neto) de la solución. Luego la mezcla de alginato resultante se dosifica a una solución de una sal metálica con la que el alginato soluble forma un gel, por ejemplo un alginato cálcico producido con cloruro de calcio. Los microorganismos del género *Pseudomonas* y los microorganismos del género *Protaminobacter* también pueden inmovilizarse por separado y mezclarse en una etapa posterior, antes de iniciar la conversión de sacarosa.

55 En una forma de ejecución preferida, al dosificar la suspensión u otra mezcla de alginato en gotitas discretas pueden obtenerse gránulos esféricos de gel que atrapen las células o los extractos celulares. Preferiblemente, el tamaño del gránulo puede variarse, prefiriéndose los gránulos que tienen un tamaño de 3 hasta 5 de diámetro. En una forma de ejecución más preferida las células o los extractos celulares también se pueden inmovilizar en un bloque de gel, en una cadena de gel o en partículas microfibrosas. También es posible adsorber células o extractos celulares sobre DEAE-celulosa o reticular las células o los extractos celulares, por ejemplo con glutaraldehído.

65 En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención se prevé el empleo de una relación específica, en particular de una relación de las actividades enzimáticas, o una relación en peso, de las células o los extractos celulares de *Pseudomonas* y *Protaminobacter* en el proceso de la presente invención. En una forma de ejecución especialmente preferida se ofrece un proceso para producir una composición que contiene trehalulosa, es

decir vitalose, en el cual la proporción en peso o la relación de actividades enzimáticas entre las células o de los extractos celulares de *Pseudomonas* y *Protaminobacter* es de 10:1 hasta 1:10, en particular de 8:1 hasta 1:8, de 5:1 hasta 1:5, de 3:1 hasta 1:3, de 2:1 hasta 1:2 y en particular es de 1:1. En una forma de ejecución más preferida de la presente invención se ofrece un proceso para producir una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, en el cual la relación de peso o actividad enzimática entre *Pseudomonas* y *Protaminobacter* es de 10:1 hasta 1,1:1, de 8:1 hasta 1,1:1, de 5:1 hasta 1,1:1, de 3:1 hasta 1,1:1, preferiblemente de 2:1 hasta 1,1:1. En una forma de ejecución más preferida de la presente invención se ofrece un proceso para producir una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, en el cual la relación de peso o actividad enzimática entre *Pseudomonas* y *Protaminobacter* es de 1:1,1 hasta 1:10, de 1:1,1 hasta 1:8, de 1:1,1 hasta 1:5, de 1:1,1 hasta 1:3, de 1:1,1 hasta 1:2. En una forma de ejecución especialmente preferida se ofrece un proceso según lo anteriormente dicho, donde la relación de peso o actividades enzimáticas entre células o extractos celulares de *Pseudomonas* y *Protaminobacter* es distinta de una relación 1:1, en particular mayor que 1, o sea $> 1:1$, o menor que 1, o sea $< 1:1$.

Un proceso de acuerdo con la presente invención tiene lugar preferiblemente como proceso continuo, discontinuo - preferiblemente por lotes - o semicontinuo. El proceso puede realizarse preferiblemente en un reactor de lecho fijo. El proceso se puede efectuar preferiblemente en un recipiente de reacción, en un biofermentador o en un tanque, preferiblemente con agitación mecánica.

En otra forma de ejecución preferida las células o los extractos celulares inmovilizados se cargan en una columna y el substrato, es decir la solución o suspensión que contiene sacarosa, se hace pasar a través de la columna para recoger del flujo continuo la composición que contiene trehalulosa. Preferiblemente se pueden usar varias columnas en paralelo, por ejemplo en un carrusel.

La presente invención también proporciona una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, que tiene un contenido de trehalulosa del 20 al 78% en peso (respecto a materia seca); el resto de la composición se completa hasta 100% con isomaltulosa o isomaltulosa más un 0,1 hasta un 4% en peso de componentes minoritarios como isomaltosa, isomelezitosa, carbohidratos oligómeros con GP (grado de polimerización) igual o superior a 3, glucosa, fructosa y/o sacarosa. Dicha composición se puede obtener mediante un proceso en que (a) se pone en contacto una composición que lleve sacarosa, en condiciones idóneas, con células o extractos celulares de microorganismos de los géneros *Pseudomonas* y *Protaminobacter* y (b) se produce la composición que contiene trehalulosa. El uso combinado y simultáneo de las células o extractos celulares del microorganismo de los géneros *Pseudomonas* y *Protaminobacter* favorece en particular que la composición que contiene sacarosa se convierta en una composición específica que contiene trehalulosa, es decir vitalose. Dicha composición - que constituye un edulcorante natural, esencialmente no cariígeno y de bajo índice insulínico y glucémico - tiene las ventajosas propiedades fisiológicas aquí descritas y proporciona simultáneamente un perfil temporal de sabor similar a la sacarosa, que no se encuentra en las composiciones que solo contienen isomaltulosa o trehalulosa. Preferiblemente, la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención se usa en forma líquida, sobre todo en forma de un jarabe que, según una forma de ejecución especialmente preferida, tiene la ventaja de no cristalizar. La trehalulosa y la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención tienen una buena solubilidad en medios acuosos, lo cual permite una gama de aplicaciones especialmente amplia.

En el marco de la presente invención, una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención es una composición que lleva principalmente trehalulosa e isomaltulosa y además contiene componentes minoritarios; en concreto isomaltosa, isomelezitosa, carbohidratos oligómeros con GP (grado de polimerización) igual o superior a 3, glucosa, fructosa y/o sacarosa. En una forma de ejecución se prevé la eliminación de uno o más componentes minoritarios o de todos ellos, por ejemplo isomaltosa, isomelezitosa y/o los oligómeros. En una forma de ejecución la composición edulcorante según la presente invención muestra un perfil temporal y/o de sabor más parecido a la sacarosa que una composición edulcorante que solo contenga isomaltulosa o trehalulosa. Tal como se usan aquí, las frases "característica similar a la sacarosa", "sabor similar a la sacarosa", "dulce como la sacarosa" y "similar a la sacarosa" son sinónimas y siempre se entienden como relativas a la sacarosa. Las características del tipo de la sacarosa incluyen cualquier característica similar a ella e incluyen, sin limitarse a ellas, respuesta máxima, perfil de sabor, perfil temporal, comportamiento de adaptación, sensación en la boca, comportamiento en función de la concentración/respuesta, interacciones entre las sustancias sápidas y el aroma/sabor dulce, selectividad de los patrones espaciales y efectos de la temperatura. El nivel de mayor similitud de una característica con la sacarosa, la isomaltulosa o la trehalulosa se determina mediante evaluaciones de paneles sensoriales de sacarosa por expertos y de composiciones que contienen trehalulosa y/o isomaltulosa. Estas valoraciones cuantifican las similitudes de las características de las composiciones que contienen trehalulosa y/o isomaltulosa, con las que contienen sacarosa.

En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, preparada según la presente invención tiene un contenido de trehalulosa apropiado para lograr las propiedades fisiológicas ventajosas aquí descritas, en particular la baja respuesta insulínica inducida en la sangre del consumidor. En una forma de ejecución especialmente preferida, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, de la presente invención contiene trehalulosa e isomaltulosa, cada una en cantidad adecuada para que la composición es cualquiera las ventajosas propiedades fisiológicas aquí descritas, es decir, la baja respuesta insulínica inducida en la sangre del consumidor. En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, el producto para consumo humano o animal de la presente invención lleva la composición que contiene trehalulosa,

es decir vitalose, conforme a la presente invención, en una cantidad correspondiente a las propiedades fisiológicas ventajosas para el consumidor aquí descritas, en particular la inducción de la deseada respuesta insulínica baja en la sangre del consumidor.

5 Según una forma de ejecución especialmente preferida, la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, preparada de acuerdo con la presente invención lleva preferiblemente 25 hasta 75% en peso, preferiblemente 30 hasta 70% en peso, preferiblemente 35 hasta 65% en peso, preferiblemente 45 hasta 70% en peso de trehalulosa (respecto a la materia seca de la composición). Con mayor preferencia la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, contiene 65 a 78% en peso de trehalulosa. El resto de la composición según la presente invención se completa hasta el 100% con isomaltulosa o isomaltulosa y 0,1 hasta 4% en peso de los componentes minoritarios, preferiblemente 0,1 hasta 3% en peso, preferiblemente 0,1 hasta 2% en peso o preferiblemente 0,1 hasta 1% en peso.

15 En otra forma de ejecución preferida la composición que comprende trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención contiene 20, 30 o 35 hasta 50% en peso, en particular 9 hasta 40% en peso, preferiblemente 9 hasta 30% en peso, preferiblemente 22 hasta 35% en peso, preferiblemente 20 hasta 40% en peso, preferiblemente 20 hasta 30% en peso, preferiblemente 18 hasta 27% en peso y sobre todo 20 hasta 25% en peso de isomaltulosa (respecto a la materia seca de la composición). Preferiblemente, el resto de la composición se completa hasta el 100% con trehalulosa u opcionalmente con trehalulosa y 0,1 hasta 1, 2, 3 o 4% en peso de los componentes minoritarios.

20 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención contiene 0,0, preferiblemente 0,1 hasta 2,0, 0,1 hasta 1,5, preferiblemente 0,1 hasta 1,0, preferiblemente 0,1 hasta 0,4% en peso de glucosa.

25 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención contiene 0,0, preferiblemente 0,1 hasta 2,0, 0,1 hasta 1,5, preferiblemente 0,1 hasta 1,0, preferiblemente 0,1 hasta 0,4% en peso de fructosa.

30 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención contiene 0,0, preferiblemente 0,1 hasta 2,0, 0,1 hasta 1,5, preferiblemente 0,1 hasta 1,0, preferiblemente 0,1 hasta 0,4% en peso de isomaltosa.

35 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención contiene 0,0, preferiblemente 0,1 hasta 2,0, 0,1 hasta 1,5, preferiblemente 0,1 hasta 1,0, preferiblemente 0,1 hasta 0,4% en peso de isomelezitosa.

40 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención contiene 0,0, preferiblemente 0,1 hasta 2,0, 0,1 hasta 1,5, preferiblemente 0,1 hasta 1,0, preferiblemente 0,1 hasta 0,4% en peso de carbohidratos oligómeros, preferiblemente con un GP \geq 3.

45 En una forma de ejecución particularmente preferida, la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, preparada según la presente invención contiene 70 hasta 78% en peso de trehalulosa y 20 hasta 30% en peso de isomaltulosa. En una forma de ejecución particularmente preferida, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, no contiene ningún otro componente más que la isomaltulosa y la trehalulosa. En otra forma de ejecución preferida, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, contiene 70 hasta 80% en peso de trehalulosa y 20 hasta 30% en peso de isomaltulosa y uno o más carbohidratos seleccionados del grupo constituido por isomaltosa, isomelezitosa y carbohidratos oligómeros, hasta totalizar el 100% en peso de la materia seca de la composición, preferiblemente en una suma de 1 hasta 6, 1 hasta 5, 1 hasta 4 y sobre todo 1 hasta 3% en peso (respecto al peso de la composición). En otra forma de ejecución preferida, la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, también lleva isomaltosa, isomelezitosa, glucosa, fructosa, sacarosa y carbohidratos oligómeros, preferiblemente en una suma global que llega hasta el 100% en peso (MS), preferiblemente sumando 1 hasta 6, 1 hasta 5, 1 hasta 4 y sobre todo 1 hasta 3% en peso (respecto al peso de la composición).

55 En una forma de ejecución de la presente invención se prevé la eliminación de uno o más componentes minoritarios de la composición resultante que lleva trehalulosa, es decir vitalose, preferiblemente uno o más del grupo formado por sacarosa, glucosa, fructosa, isomaltosa, isomelezitosa y carbohidratos oligómeros, con mayor preferencia del grupo formado por glucosa, fructosa y sacarosa. Según una forma de ejecución preferida dicha eliminación se puede realizar por métodos conocidos del estado técnico tales como filtración, cromatografía, por ejemplo cromatografía de intercambio aniónico y/o catiónico, escisión enzimática, por ejemplo mediante invertasa, o catalítica. Preferiblemente se puede llevar a cabo un tratamiento con carbón y/o resina. Así, en una forma de ejecución especialmente preferida se puede producir una composición que contenga trehalulosa, es decir vitalose, y esté exenta de glucosa, fructosa y sacarosa, que sea totalmente no cariogena y presente un bajo índice glucémico e insulínico.

65 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención se proporciona un producto para consumo humano o animal que incluye la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención y al menos un aditivo, de manera que el producto contiene 3 hasta 95% en peso de la composición que lleva trehalulosa, es decir

vitalose, y 5 hasta 97% en peso (respecto a materia seca) del al menos un aditivo.

También se describe un producto para consumo humano o animal que lleva 0,02 hasta 3,0% en peso, en concreto 0,02 hasta 1,0% en peso, preferiblemente 0,02 hasta 0,5% en peso del al menos un aditivo, más una cantidad de la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, hasta completar el 100%, en particular 97 hasta 99,98% en peso, preferiblemente 99,0 hasta 99,98% en peso, en concreto 99,5 hasta 99,98% en peso de la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose (respecto a materia seca). El aditivo contenido como mínimo en el producto es preferiblemente, (a) un extracto de estevia o un esteviolglicósido, (b) un extracto de estevia o un esteviolglicósido y al menos otro aditivo entre ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal del ácido lactobiónico o una mezcla de los mismos, o (c) al menos otro aditivo entre ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal del ácido lactobiónico o una mezcla de los mismos.

El producto para el consumo humano o animal, conforme a la presente invención, contiene 3 hasta 95% en peso, preferiblemente 5 hasta 95% en peso, preferiblemente 20 hasta 95% en peso, preferiblemente 5 hasta 90% en peso, preferiblemente 10 hasta 90% en peso, preferiblemente 20 hasta 80% en peso, preferiblemente 7 hasta 70% en peso, sobre todo 40 hasta 60% en peso de la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención y 5 hasta 97% en peso, preferiblemente 5 hasta 95% en peso, sobre todo 5 hasta 80% en peso, y sobre todo el resto hasta el 100% en peso, del al menos un aditivo (respecto a la materia seca del producto global).

Según una forma de ejecución preferida de la presente invención el aditivo es un edulcorante de gran intensidad, al menos uno elegido preferiblemente entre un extracto de estevia o un esteviolglicósido, en particular un rebaudiósido, preferiblemente el rebaudiósido A (Reb A, n° CAS 58 543-16-1 , $C_{44}H_{70}O_{23}$). Con mayor preferencia, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, está contenida en un producto para el consumo humano o animal junto con Reb A como aditivo.

Por ejemplo, las formas de ejecución particulares también pueden incluir combinaciones de esteviolglicósidos.

Como ejemplos no limitativos de esteviolglicósidos adecuados, que pueden estar o no combinados, cabe mencionar: rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rebaudiósido D, rebaudiósido E, rebaudiósido F, dulcósido A, dulcósido B, rubusósido, esteviósido (n° CAS 57817-89-7, $C_{38}H_{60}O_{18}$) o esteviolbiósido. De acuerdo con unas formas de ejecución particularmente deseables de la presente invención, la combinación de edulcorantes de gran intensidad lleva rebaudiósido A combinado con rebaudiósido B, rebaudiósido C, rebaudiósido E, rebaudiósido F, esteviósido, esteviolbiósido, dulcósido A o combinaciones de ellos. Para la nomenclatura química se remite a la 68ª reunión del CMEAA (2007) publicada en FAO JECFA Monographs 4 (2007).

En una forma de ejecución especialmente preferida, un esteviolglicósido empleado como aditivo edulcorante de gran intensidad según la presente invención es al menos uno elegido del grupo formado por esteviósido, rebaudiósido A, rebaudiósido C, dulcósido A, rubusósido, esteviolbiósido y rebaudiósido B.

Según una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, el edulcorante de gran intensidad utilizado en la presente invención es una mezcla de Reb A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, dulcósido A, rubusósido, esteviolbiósido y esteviósido, que contiene al menos 95% en peso (respecto a la materia seca de la composición edulcorante) de dichos esteviolglicósidos.

En una forma de ejecución particularmente preferida de la presente invención se emplea un edulcorante de gran intensidad que contiene rebaudiósido A en una proporción de, como mínimo, el 97% en peso, preferiblemente > 97% en peso respecto al peso seco de la composición edulcorante.

Según una forma de ejecución especialmente conveniente el edulcorante de gran intensidad contiene una mezcla de rebaudiósido A, esteviósido, rebaudiósido B, rebaudiósido C y rebaudiósido F; cuya proporción de rebaudiósido A está comprendida en el intervalo de aproximadamente 75 hasta 85 por ciento en peso respecto al peso total de la mezcla de edulcorantes de alta intensidad; la proporción de esteviósido está comprendida en el intervalo de aproximadamente 1 hasta 6 por ciento en peso, la proporción de rebaudiósido B está comprendida en el intervalo de aproximadamente 2 hasta 5 por ciento en peso, la proporción de rebaudiósido C está comprendida en el intervalo de aproximadamente 3 hasta 8 por ciento en peso, y la proporción de rebaudiósido F está comprendida en el intervalo de aproximadamente 0,1 hasta 2 por ciento en peso.

De acuerdo con unas formas de ejecución especialmente preferidas, la pureza del rebaudiósido A empleado puede variar aproximadamente entre el 50% y el 100%; aproximadamente entre el 70% y el 100%; aproximadamente entre el 80% y el 100%; aproximadamente entre el 90% y el 100%; aproximadamente entre el 95% y el 100%; aproximadamente entre el 95% y el 99,5%; aproximadamente entre el 96% y el 100%; aproximadamente entre el 97% y el 100%; aproximadamente entre el 98% y el 100%; y aproximadamente entre el 99% y el 100%. Según unas formas de ejecución especialmente preferidas, tras la cristalización del rebaudiósido A bruto la composición de rebaudiósido A sustancialmente puro contiene rebaudiósido A con una pureza superior aproximadamente al 95% en peso hasta aproximadamente el 100% en peso respecto a materia seca. En otras formas de ejecución preferidas, el rebaudiósido A sustancialmente puro tiene unos niveles de pureza superiores aproximadamente al 97% hasta

aproximadamente el 100% en peso de rebaudiósido A respecto a materia seca, superiores aproximadamente al 98% hasta aproximadamente el 100% en peso respecto a materia seca o superiores aproximadamente al 99% hasta aproximadamente el 100% en peso respecto a materia seca.

5 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención el aditivo es al menos ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal de ácido lactobiónico o una mezcla de los mismos. Según la presente invención, el uso de estos aditivos basados en ácido lactobiónico tiene la ventaja de enmascarar o reducir el regusto amargo de compuestos que por lo demás son dulces y logra un efecto potenciador del sabor dulce.

10 Por tanto el ácido lactobiónico, la lactobiono- δ -lactona, una sal de ácido lactobiónico o mezclas de los mismos son capaces de enmascarar, por ejemplo, sabores amargos. Una forma de ejecución preferida de la presente invención es el enmascaramiento de sabores amargos atribuibles en particular a extractos de estevia o a un esteviolglicósido, por ejemplo al rebaudiósido A, en la cual se emplea ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal de ácido lactobiónico o mezclas de los mismos, en combinación con la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención y extractos de estevia o un esteviolglicósido, por ejemplo Reb A, de los que se sabe que tienen un desagradable regusto amargo.

Así, preferiblemente, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, se combina con un extracto de estevia o con un esteviolglicósido, especialmente un rebaudiósido, sobre todo rebaudiósido A, y con otro aditivo, en concreto al menos uno entre ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal de ácido lactobiónico o una mezcla de ellos.

25 En una forma de ejecución preferida, el producto para consumo humano o animal contiene por tanto la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención y al menos dos aditivos, en concreto un extracto de estevia o un esteviolglicósido, en particular Reb A, y al menos otro entre ácido lactobiónico ácido, lactobiono- δ -lactona o una sal o una mezcla de los mismos. Este producto tiene un poder edulcorante similar al de los productos usuales a base de sacarosa o sacarosa/glucosa y además las ventajosas propiedades fisiológicas aquí descritas, y no posee características organolépticas o sápidas desfavorables, como las que son atribuibles a los edulcorantes artificiales convencionales. Este producto proporciona en particular un alto valor nutricional e incluso terapéutico en combinación con un perfil de características similar al de la sacarosa, sobre todo un sabor y un dulzor similares a los de la sacarosa.

30 La cantidad de ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, sal de ácido lactobiónico o mezclas de los mismos que se pueden incorporar preferentemente a una composición alimenticia para poder beneficiarse de sus propiedades de enmascaramiento y/o mejora del sabor puede variar dentro de amplios márgenes, y oscila preferiblemente entre el 0,01% en peso y el 90% en peso, respecto a la totalidad de la composición alimenticia. Preferiblemente, la cantidad de ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, sal de ácido lactobiónico o una mezcla de los mismos que se incorpora a una composición alimenticia es al menos del 0,05, 0,10, 0,25, 0,50 o 1,00% en peso, respecto a la totalidad de la composición alimenticia. Preferiblemente, la proporción de ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal de ácido lactobiónico o una mezcla de los mismos que se incorpora a una composición alimenticia es como máximo del 95, 85, 75, 65, 55, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 o 10% en peso, respecto a la totalidad de la composición alimenticia. Las dosificaciones de ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, una sal de ácido lactobiónico o mezclas de los mismos en cantidades del 5 o 10% en peso al 90% en peso suelen ser adecuadas para su uso en concentrados, edulcorantes de mesa y sucedáneos de sal. Además, se encontró que estas dosis elevadas de ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona, sal de ácido lactobiónico o mezclas de los mismos pueden estar relacionadas con su uso como vehículo, por ejemplo como vehículo de aromas.

El ácido lactobiónico utilizado tal cual puede llevar a la formación de lactobiono- δ -lactona. En este caso la relación entre ácido lactobiónico y lactobiono- δ -lactona está determinada, al menos en parte, por las condiciones específicas de uso. Por analogía, el uso de lactobiono- δ -lactona tal cual puede llevar a la formación de ácido lactobiónico. Se entiende que dicha formación y la posterior presencia de lactobiono- δ -lactona o ácido lactobiónico son conformes al uso según la presente invención.

Si se usa una mezcla de ácido lactobiónico, lactobiono- δ -lactona y una sal de ácido lactobiónico en una forma de ejecución preferida, entonces la relación pondera en la mezcla entre, por un lado la suma de ácido lactobiónico y lactobiono- δ -lactona y, por el otro la sal del ácido lactobiónico, está comprendida preferiblemente entre 1:10 y 10: 1.

60 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención el aditivo se escoge del grupo constituido por aromas ácidos, sabores frutales, sabores dulces, saborizantes, sabores salados, edulcorantes intensivos, alcoholes de azúcar, sucromalt, ribosa, tagatosa, trehalosa, ácidos orgánicos como p.ej. ácido cítrico o láctico, extractos frutales, edulcorantes masivos, fibras, agentes prebióticos, espesantes, vitaminas, minerales, conservantes, preparados de frutas, colorantes alimentarios, medios líquidos como agua o leche y agentes terapéuticos.

65 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención el aditivo se escoge del grupo constituido por creatina, polifenoles, L-carnitina, ácidos grasos poliinsaturados omega-3, ácidos grasos poliinsaturados omega-6, extracto de té verde, EGCG (epigallocatequina galato), aminoácidos y peptopro, que es una proteína láctea predigerida derivada de la caseína.

En otra forma de ejecución especialmente preferida, como edulcorante de gran intensidad se puede usar aspartamo, monellina, brazzeína, ciclamato, neotamo, acesulfamo K, glicirricina, sacarina, sucralosa, alitame, neohesperidina-dihidrocalcona, esteviósido, Reb A o taumatina.

5 Por lo tanto, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, también se puede combinar con un aditivo, que sea al menos un alcohol de azúcar, escogido preferiblemente del grupo formado por isomalt, isomalt ST, isomalt GS, manita, sorbita, xilitol, lactitol, eritritol o maltitol.

10 En una forma de ejecución preferida, como aditivo se puede emplear una fibra, preferiblemente una fibra soluble, dextrinas especialmente resistentes, maltodextrinas resistentes, por ejemplo, nutria, pectina, carragenano, almidón de arroz, jarabe de arroz, polidextrosa, oligosacáridos, por ejemplo galacto-oligosacáridos o fructo-oligosacáridos, o fructanos, por ejemplo inulina.

15 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención, el aditivo es una composición peptídica que contiene triptófano, en particular péptidos que contienen triptófano o el propio triptófano. En una forma de ejecución preferida la composición peptídica que contiene triptófano comprende al menos dos péptidos diferentes que llevan triptófano y que preferiblemente son solubles en agua. En una forma de ejecución especialmente preferida, los péptidos que llevan triptófano son di o tripéptidos. En una forma de ejecución especialmente preferida, un producto alimenticio, un pienso o un fármaco que lleve vitalose y la composición peptídica que contiene triptófano comprende 0,5 hasta 5%
20 en peso, preferiblemente 0,9 hasta 3,5% en peso (seco) de la composición peptídica que contiene triptófano. En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, este producto sirve sobre todo para mejorar el rendimiento mental de un sujeto.

25 La presente invención también proporciona un producto para el consumo humano y animal que es un alimento, un pienso para animales o un producto farmacéutico. El producto según la presente invención es preferiblemente una golosina, un relleno de repostería, un caramelo blando, un caramelo duro, un fondant, un yogur, un producto de bollería, un chicle, un helado, un producto lácteo, una gelatina, una bebida, un zumo de fruta concentrado, un preparado frutal, una mermelada o un batido. Preferiblemente, el producto es un preparado frutal, un zumo de fruta, una jalea o un fondant. La bebida puede ser preferiblemente una cerveza, un zumo de fruta, una bebida láctea, un refresco, una bebida isotónica, una bebida hipertónica, una bebida de cacao, una bebida de arroz, una bebida de soja, una bebida sin alcohol, una bebida con una osmolaridad estable al calor y al pH, una bebida energética o una bebida deportiva.

35 En una forma de ejecución preferida de la presente invención el producto para consumo humano o animal es una bebida, en particular una bebida que comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60 o 70% en peso de la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, incluyendo al menos un aditivo, y como máximo 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 75 u 80% en peso (respecto al peso total de la bebida) de la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, incluyendo al menos un aditivo según la presente invención, siendo el resto un medio líquido, sobre todo una solución acuosa o lechosa, tal como agua o leche. En una forma de ejecución especialmente
40 preferida la bebida contiene 1 hasta 30%, preferiblemente 2 hasta 25%, con mayor preferencia 3 hasta 15% (respecto al peso total de la bebida) de la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, incluyendo al menos un aditivo según la presente invención, siendo el resto un medio líquido, sobre todo una solución acuosa o lechosa, tal como agua o leche. Por lo tanto, en una forma de ejecución preferida, la bebida puede contener uno o más de los aditivos arriba descritos, en concreto (a) un extracto de estevia o un estevioglicósido, preferiblemente Reb A, o (b)
45 un ácido lactobiónico, lactobionolactona, una sal del ácido lactobiónico o una mezcla de los mismos o ambos, es decir (a) y (b). En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, o un producto que comprende la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, no contiene ningún otro agente edulcorante, excepto la propia composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose. En otra forma de ejecución preferida de la presente
50 invención, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, o un producto que incluye dicha composición, no contiene ningún otro azúcar además de los azúcares contenidos en la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose.

55 En otra forma de ejecución preferida de la presente invención, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención o un producto que incluye la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, está libre de edulcorantes de gran intensidad, libre de sucedáneos de azúcar tales como los alcoholes de azúcar o libre de ambos. En una forma de ejecución especialmente preferida de la presente invención, la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, o un producto que contiene dicha composición, está libre de sorbita, de manita, de lactitol, de maltitol, de xilitol, de eritritol o está libre de dos, tres, cuatro, cinco o de todos ellos.

60 Se revela también el uso de la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, o de la propia trehalulosa, para preparar un producto destinado al consumo humano o animal, el cual es capaz y está diseñado para una liberación continua de glucosa y para producir simultáneamente (en este caso también inducir) en un consumidor una baja respuesta insulínica en la sangre, sobre todo una respuesta insulínica significativamente
65 menor que la producida solo por la isomaltulosa.

También se revela el uso antedicho, en que el producto es un fármaco.

También se revela un método para tratar un estado o una enfermedad relacionada con el metabolismo de glucosa o insulina, aplicando el producto a un sujeto necesitado de ello de manera que produzca una baja respuesta insulínica y una liberación continua de glucosa.

Se revela también el método anterior, en que el estado o la enfermedad relacionada con la glucosa o la insulina se selecciona del grupo formado por diabetes, síndrome metabólico, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, adiposidad, obesidad, hiperlipidemia, cáncer, en particular cáncer de colon, enfermedades hepáticas, sensibilidad a la insulina y arterosclerosis.

Por lo tanto la presente invención también se basa en el hallazgo inesperado de que la trehalulosa ingerida por un consumidor humano o animal produce, en comparación con isomaltulosa, un nivel elevado de glucosa en sangre y al mismo tiempo produce, en comparación con la isomaltulosa, un nivel más bajo de insulina en la sangre. Así, aunque tanto la isomaltulosa como la trehalulosa son azúcares de bajo índice glucémico, la trehalulosa tiene inesperada y ventajosamente la ventaja de proporcionar en contraste con la isomaltulosa un nivel más alto de glucosa en sangre tras la ingestión por el cuerpo humano o animal y al mismo tiempo induce una menor respuesta insulínica, es decir un nivel de insulina más bajo en la sangre, en contraste con la isomaltulosa. Por lo tanto la trehalulosa es un agente de IG (índice glucémico) especialmente bajo que produce una respuesta insulínica extremadamente baja, es decir un índice II (índice de insulina) muy bajo.

En el contexto de la presente invención, una "respuesta insulínica baja" es una respuesta a la insulina inducida por trehalulosa que es inferior a la respuesta insulínica inducida por isomaltulosa. Por consiguiente la presente invención revela inesperadamente que la isomaltulosa y trehalulosa tienen un IG bajo y que la trehalulosa tiene un índice de insulina (II) especialmente bajo, lo cual significa que produce una respuesta insulínica, baja, es decir inferior a la de la isomaltulosa. Por consiguiente la presente invención inaugura nuevos y ventajosos métodos y aplicaciones para la trehalulosa y para las composiciones que contienen trehalulosa, con el uso del hallazgo arriba descrito. En particular la presente invención revela el uso de trehalulosa o de una composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, para la preparación de productos, en particular para el consumo humano y animal, que están diseñados y son adecuados para proporcionar una liberación continua de glucosa y al mismo tiempo inducir una respuesta insulínica baja, si se compara con un producto alimenticio que solo contenga isomaltulosa. Por lo tanto, un producto alimenticio conforme a la presente invención tiene como objetivo reducir el nivel de insulina en la sangre, y ayuda a prevenir y tratar la obesidad, el sobrepeso, la adiposidad, la diabetes mellitus y otros tipos de afecciones y enfermedades relacionadas con la glucosa y la insulina.

Por lo tanto, una composición o un producto alimenticio según la presente invención que comprenda las cantidades indicadas de trehalulosa resulta inesperadamente ventajosa en comparación con las composiciones conocidas, en particular, con las composiciones o productos que contienen única o principalmente isomaltulosa, debido entre otras cosas a su bajo índice insulinémico. Por tanto la presente invención proporciona el conocimiento técnico para usar y adaptar específicamente el contenido de trehalulosa en una composición, en un producto alimenticio o en un método de tratamiento, sustituyendo otros edulcorantes, en particular sacarosa, glucosa y/o isomaltulosa, de manera total o parcial, a fin de ofrecer una composición alimenticia o una terapia que aporte una cantidad de glucosa relativamente alta, induciendo al mismo tiempo una respuesta insulínica muy baja en la sangre del consumidor. Por consiguiente la presente invención revela ventajosamente que, aplicando el conocimiento específico de la misma, con un cierto nivel de aporte energético se proporciona al consumidor una carga insulínica comparablemente inferior, o viceversa, que con una cierta carga insulínica se puede proporcionar al consumidor una mayor cantidad de energía, es decir, que las propiedades particulares de la trehalulosa producen un índice glucémico extremadamente bajo y un suministro de glucosa comparablemente mayor para el consumidor, en contraste con la isomaltulosa.

Por tanto la presente invención también proporciona productos para tratar afecciones o enfermedades relacionadas con el metabolismo de la glucosa o de la insulina, aplicando un producto según la presente invención en cantidad adecuada para conseguir el efecto deseado en un sujeto necesitado de ello, en particular un ser humano o animal, mediante la inducción de una baja respuesta insulínica y de una liberación continua de glucosa. En el marco de la presente invención, una enfermedad relacionada con el metabolismo de la glucosa o de la insulina se selecciona del grupo formado por diabetes, sobre todo diabetes mellitus de tipo II, síndrome metabólico, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, sensibilidad a la insulina, adiposidad, obesidad, hiperlipidemia, cáncer, enfermedades hepáticas, cáncer de colon y sobrepeso. La presente invención también revela que el empleo de trehalulosa o de composiciones que llevan trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, aumenta el rendimiento físico y mental, incrementa el consumo y la oxidación de las grasas, controla los niveles de glucosa e insulina en la sangre, moviliza ácidos grasos libres y reduce el consumo de glucógeno.

La presente invención revela ventajosamente que la trehalulosa o las composiciones que llevan trehalulosa, es decir significa vitalose, según la presente invención, pueden aportar continuamente al cuerpo del consumidor, sobre todo a las células cerebrales, nerviosas, sanguíneas y musculares, glucosa durante un tiempo prolongado y continuo, a un nivel incluso mayor que el aportado por la isomaltulosa, mientras que al mismo tiempo, sobre todo respecto a la isomaltulosa, inducen una respuesta insulínica comparativamente baja. Así el cuerpo recibe un aporte energético

duradero y continuo que evita una disminución del rendimiento físico y mental y aumenta la resistencia, el estado y la actividad física y mental, a la vez que reduce el consumo de las reservas de glucógeno y favorece el control de y la reducción de peso .

5 La presente revelación también se refiere a un método para la profilaxis y el tratamiento de enfermedades dentales, en particular la formación de placas o defectos dentales como las caries, mediante la aplicación de un producto o de una composición que contiene trehalosa según la presente invención, en cantidad adecuada para lograr el efecto deseado en un sujeto necesitado de ello. En particular la presente revelación, según la cual un producto o una
10 composición que contiene trehalulosa según la presente invención se aplica a un sujeto que lo necesita, reduce la formación de placa en la boca del consumidor. Por lo tanto la presente revelación ofrece un método para mejorar la salud dental.

En otra forma de ejecución preferida, la presente revelación se refiere a un método para mejorar el rendimiento mental y/o físico, sobre todo la resistencia, mediante la aplicación de un producto o de una composición que lleve trehalulosa según la presente invención en una cantidad adecuada para lograr el efecto deseado en un sujeto que lo necesite. Por lo tanto, en una forma de ejecución particularmente preferida la presente revelación ofrece un método para mejorar la resistencia de un sujeto que lo necesite, por lo cual en una forma de ejecución especialmente preferida se reduce el consumo de glucógeno.

20 En otra forma de ejecución preferida la presente revelación se refiere a un método para mejorar, preferiblemente aumentar, la oxidación de grasas en un sujeto que lo necesite, aplicando un producto o una composición que lleve trehalulosa en cantidad adecuada para lograr el efecto deseado en un sujeto que lo necesite. Además, la presente revelación se refiere a un método para el control del peso corporal, que consiste en aplicar un producto o una composición que lleve trehalulosa según la presente invención a un sujeto que lo necesite.

25 En una forma de ejecución particularmente preferida, la presente revelación proporciona un método para reducir el cociente respiratorio ($CR = \text{CO}_2 \text{ eliminado} / \text{O}_2 \text{ consumido}$) de un paciente, aplicando el producto o la composición que contiene trehalulosa según la presente invención en cantidad adecuada para lograr el efecto deseado antes, durante o después de un ejercicio físico en el sujeto que lo necesite.

30 Todos los métodos de empleo de los productos y composiciones de la presente invención pueden ser terapéuticos o no terapéuticos, como por ejemplo los métodos relacionados con la cosmética, con la actividad, con el deporte o bien orientados al estilo de vida.

35 Otras formas de ejecución preferidas son objeto de las reivindicaciones dependientes.

La presente invención se describe a continuación mediante los siguientes ejemplos y figuras adjuntas. Las figuras representan:

40 las figuras 1 hasta 6 muestran una gráfica de la conversión de una composición que contiene sacarosa a una composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención para distintas relaciones entre *Pseudomonas mesacidophila* y *Protaminobacter rubrum*;

las figuras 7 hasta 14 muestran gráficamente la dureza y la cohesión de gelatinas preparadas según la presente invención en comparación con jaleas convencionales basadas en sacarosa;

45 la figura 15 muestra el nivel de glucosa en sangre de un consumidor después del consumo de isomaltulosa y trehalulosa, y

la figura 16 muestra el nivel de insulina en sangre de un consumidor después del consumo de isomaltulosa y trehalulosa.

50 Ejemplo 1: preparación de vitalose

A. Preparación del biocatalizador de *Protaminobacter*

55 Se enjuagan células de una subcultura de la cepa *Protaminobacter rubrum* (CBS 574.77) con 10 ml de un sustrato nutriente estéril compuesto de 8 kg de jarabe de una fábrica de azúcar (contenido de materia seca del 65%), 2 kg de licor de maceración de maíz, 0,1 kg de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ y 89,9 kg de agua destilada, ajustados a pH 7,2 si es necesario. Esta suspensión se usa como inóculo para el precultivo agitado en matraces de 1 litro que contienen 200 ml de la solución nutriente con la composición anterior.

60 Tras un tiempo de incubación de 30 horas a 29°C se inoculan 18 litros de la solución nutriente según la composición anterior a un pequeño fermentador de 30 litros con, en cada caso, 10 matraces (contenido total de 2 litros) y se cultivan a 29°C con 20 litros de aire por minuto y una velocidad de agitación de 350 rpm.

65 Cuando el recuento de organismos ha llegado a más de 5×10^9 organismos/ml se detiene el cultivo y las células de la solución de fermentación se recogen por centrifugación, se suspenden en una solución de alginato sódico al 2% y se inmovilizan añadiendo la suspensión gota a gota a una solución de cloruro de calcio al 2%.

Las perlas de inmovilizado resultantes se lavan con agua. Este biocatalizador se puede conservar a + 4°C durante varias semanas.

B. Preparación del biocatalizador de Pseudomonas

Para preparar este biocatalizador se enjuagaron células de un subcultivo de la cepa Pseudomonas mesoacidophila MX-45 (FERM BP 3619) con 10 ml de un sustrato nutriente estéril compuesto de 8 kg de jarabe de una fábrica de azúcar (contenido de materia seca = 65%), 2 kg de licor de maceración de maíz, 0,1 kg de (NH₄)₂HPO₄ y 89,9 kg de agua destilada, ajustados a pH 7,2 si es necesario. Esta suspensión se usó como inóculo para el precultivo agitado en matraces de 1 litro que contenía 200 ml de la solución nutriente.

Tras un tiempo de incubación de 30 horas a 29°C se inocularon 18 litros de la solución nutriente de la composición anterior a un pequeño fermentador de 30 litros con, en cada caso, 10 matraces (contenido total de 2 litros) y se cultivaron a 29°C con 20 litros de aire por minuto y una velocidad de agitación de 350 rpm.

Cuando el recuento de organismos llegó a más de 5 x 10⁹ organismos/ml se detuvo el cultivo y las células de la solución de fermentación se recogieron por centrifugación, se suspendieron en una solución de alginato sódico al 2% y se inmovilizaron añadiendo la suspensión gota a gota a una solución de cloruro de calcio al 2%. Las perlas de inmovilizado resultantes se lavaron con agua. Este biocatalizador se puede conservar varias semanas a + 4°C.

C. Preparación de vitalose

Las células inmovilizadas obtenidas en A) se mezclan en una relación ponderal 1:1 con las células inmovilizadas obtenidas en B) y se empaquetan juntas en un reactor de columna termostatizable que se mantiene entre 25 y 30°C, y se hace pasar continuamente a través de la columna una solución de sacarosa con un contenido de MS (materia seca) del 35 al 45%. En este caso se ajusta el caudal de manera que al menos el 97% de la sacarosa empleada se convierta en la composición deseada que contiene trehalulosa, es decir vitalose.

El análisis por HPLC de la composición que lleva trehalulosa, a la salida del reactor de columna, reveló la siguiente composición:

Fructosa	1,0% de MS
Glucosa	1,0% de MS
Sacarosa	1,0% de MS
Isomaltulosa	22,9% de MS
Trehalulosa	73,3% de MS
Isomaltosa	0,5% de MS
Isomelezitosa	0,1% de MS
Oligómeros (GP > 3)	0,2% de MS.

D. Eliminación opcional de la sacarosa restante

La sacarosa restante, opcionalmente, se eliminó de la composición que contenía trehalulosa, es decir vitalose, así obtenida, por tratamiento en un intercambiador de cationes fuertemente ácido cargado con iones H⁺ o con enzimas adecuados en un reactor de columna de la siguiente manera:

i) Eliminación de la sacarosa restante en intercambiadores de cationes fuertemente ácidos

Se empaquetaron 100 cm³ de un intercambiador de cationes fuertemente ácido (por ejemplo, Lewatit® OC 1052) en una columna de vidrio adecuada termostatizada a 60 ° C y cargada con iones H⁺ por regeneración con HCl mediante un método conocido.

La composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, obtenida en el ejemplo 1 C se bombeó a un caudal de 100 cm³·h⁻¹ a través de la columna intercambiadora de cationes preparada de esta manera. El producto obtenido a la salida de la columna tenía la siguiente composición (HPLC):

Fructosa	1,5% de MS
Glucosa	1,5% de MS
Sacarosa	0,0% de MS
Isomaltulosa	22,9% de MS
Trehalulosa	73,3% de MS
Isomaltosa	0,5% de MS
Isomelezitosa	0,1% de MS
Oligómeros (GP > 3)	0,2% de MS.

ii) Alternativamente, la eliminación de la sacarosa restante se llevó a cabo usando una invertasa inmovilizada (como por ejemplo, SP 362 de NOVO NORDISK A/S Copenhague). Se empaquetaron 11 g de dicho enzima inmovilizado correspondientes a un volumen de lecho de 33 cm³ en una columna de vidrio adecuada, termostatizada a 60°C.

La composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, obtenida en el ejemplo 1 C, se bombeó continuamente a un caudal de $210 \text{ cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ a través de esta columna.

5 El análisis por HPLC del producto saliente de la “columna de invertasa” reveló una composición como la indicada en la sección 1 D i) anterior.

10 En ambos casos la sacarosa restante se escindió completamente en glucosa y fructosa. El contenido de estos monosacáridos fue relativamente mayor, mientras que los demás componentes de la composición que contenía trehalulosa, es decir vitalose, no se alteraron.

También es posible eliminar la glucosa y la fructosa para obtener un edulcorante completamente no cariígeno.

Ejemplo 2: conversión de sacarosa con distintas relaciones de Pseudomonas y Protaminobacter

15 En este ejemplo se analizó la influencia de distintas relaciones entre Pseudomonas mesoacidophila MX-45 (FERM BP 3619) y Protaminobacter rubrum CBS 574.77 en la composición del producto.

20 Para obtener la composición que lleva sacarosa, en forma de una solución en medio acuoso, se preparó una primera solución acuosa A de 1,58 g/l de acetato cálcico (ajustada a un pH de 5,5 con ácido acético). Luego se preparó la solución B añadiendo solución A hasta 1 l a 1,4602 mol/l de sacarosa, correspondientes a 500 g de sacarosa.

25 Ambas cepas del microorganismo, es decir P. mesoacidophila MX-45 y P. rubrum CBS 574.77, se cultivaron por separado de la manera indicada en los ejemplos 1 A y 1 B. Cuando el recuento de cada organismo alcanzó más de 5×10^9 organismos/ml, se detuvo el cultivo de ambos microorganismos, las células se recogieron por centrifugación y se agruparon en una solución de alginato sódico al 2% y se inmovilizaron conjuntamente añadiendo la suspensión gota a gota a una solución de cloruro cálcico al 2%. La relación en peso empleada para combinar las dos cepas de microorganismos en las perlas de alginato así preparadas resulta evidente a partir de lo siguiente, concretamente las relaciones 1:2, 1: 1 y 2:1 de Pseudomonas a Protaminobacter.

30 5 g del biocatalizador preparado del modo indicado se mezclaron con 50 ml de la solución A y se mantuvieron a la temperatura ambiente durante tres horas.

35 La conversión de la sacarosa se inició mezclando a 20°C en un reactor agitado la suspensión del biocatalizador, preparada anteriormente, con 200 ml de la solución B que contenía sacarosa, preparada anteriormente.

40 En la primera serie de ensayos se utilizó un biocatalizador, cuya carga total de microorganismos en los vehículos fue del 33% de P. mesoacidophila MX-45 y 67% de P. rubrum (% sobre el peso de la carga total de microorganismos). En una segunda serie de ensayos, el 50% de la carga total de microorganismos fue de MX-45 y el 50% restante de P. rubrum (% sobre el peso de la carga total de microorganismos). En una tercera conjunto de ensayos, el 67% de la carga total de microorganismos fue de MX-45 y el 33% restante de P. rubrum (respecto al peso de la carga total de microorganismos).

45 Se tomaron muestras a los 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 60 minutos, a las 3 horas y 20,5 a las 3 horas. Las muestras extraídas se cocieron, se filtraron, se diluyeron a una concentración de 10° Bx (brix, 10 g en 100 g de solución) y se analizaron por HPLC.

Los resultados están indicados en las figuras 1 hasta 6.

50 De las figuras 1 hasta 6 se puede ver que el proceso de la presente invención conduce a una conversión completa o casi completa de la sacarosa a una composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose.

55 En particular puede verse que, dependiendo de la relación ponderal específica entre las células de las dos cepas de microorganismos diferentes inmovilizados, se pueden obtener relaciones variables entre trehalulosa e isomaltulosa. En concreto, cuanto más P. mesoacidophila se emplea, mayor es el contenido de trehalulosa en la composición del producto, mientras que, cuanto mayor es la proporción de P. rubrum, mayor es el contenido de isomaltulosa en el producto resultante. En particular, los datos demuestran que es posible y muy ventajoso emplear simultáneamente tanto microorganismos como ambos nutrientes enzimáticos para la conversión y que no hubo ningún efecto negativo en la conversión global.

60 Ejemplo 3: preparación de varias jaleas

A continuación se preparan cuatro recetas de jaleas usando como edulcorantes una mezcla de sacarosa y glucosa y cuatro recetas usando la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención. Se ensayó comparativamente el almacenamiento y el perfil de textura de las jaleas preparadas (análisis TPA).

65 3A: Recetas

Muestra nº	1	2	3	4	5	6	7	8
	Sacarosa/Glucosa (240 g de sustancia seca, 41,5%)	Sacarosa/Glucosa (325 g de sustancia seca, 56%)	Sacarosa/Glucosa (325 g de sustancia seca, 60%)	Sacarosa/Glucosa (210 g de sustancia seca, 24%)	Trehalulosa (240 g materia seca, 41,5%)	Trehalulosa (325 g materia seca, 56%)	Trehalulosa (325 g materia seca, 60%)	Trehalulosa (250 g materia seca, 24%)
Pectina H&F, AF 605	13,2 g				13,2 g			
Ácido cítrico anhidro	5,0 g			6,0 g	5,0 g			7,0 g
Agua	290,0 g	104,8 g	128,8 g	39,3 g	232,5 g	27,0 g	50,9 g	
Azúcar	120,0 g	162,6 g	162,6 g	105,0 g				
Jarabe de glucosa DE 42 (aprox. 80% materia seca)	150,0 g	203,2 g	203,2 g	131,3 g				
Trehalulosa (73,3% materia seca)					327,5 g	443,5 g	443,7 g	
Trehalulosa (73,1% materia seca)								344,7 g
Aroma de limón	0,4 g	0,4 g	0,4 g	0,5 g	0,4 g	0,4 g	0,4 g	0,6 g
Gelatina (Bloom 280)		35,0 g	18,0 g			35,0 g	18,0 g	
Agua para gelatina		60,0 g				60,0 g		
Ácido cítrico, solución 50%		10,0 g	10,0 g			10,0 g	10,0 g	
Almidón Purity Gum 400			18,0 g				18,0 g	
Goma arábiga, solución (52,9%)				600,0 g				720,0 g

3 B. Análisis TPA

En una prueba comparativa se analizaron en detalle las muestras preparadas en el ejemplo 3 A anterior, es decir, se compararon las composiciones de sacarosa/glucosa que contienen distintos espesantes (pectina, gelatina, almidón y/o goma arábica) con las composiciones que llevan trehalulosa, es decir vitalose.

- i) análisis de TPA (dureza, cohesión)
- ii) almacenamiento en bolsas de PE (polietileno) cerradas a 25°C durante 8 semanas

Los intervalos de análisis para los ensayos TPA y el comportamiento durante el almacenamiento fueron de 0 (inicio del almacenamiento), 1, 2, 4 y 8 semanas.

En todas las recetas de jaleas, la combinación edulcorante habitual de sacarosa y glucosa se pudo reemplazar con éxito por la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención. La composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, se preparó exactamente igual que las composiciones de sacarosa/glucosa. Durante la preparación, en concreto al cocer las jaleas, no se observó ninguna degradación de la trehalulosa.

Como puede verse a partir de los resultados indicados en las figuras 7 hasta 14, las mediciones de TPA de dureza y cohesión demuestran que las jaleas preparadas a partir de la composición que lleva trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención, son iguales o muy parecidas a los productos habituales a base de sacarosa/glucosa. El comportamiento de almacenamiento también fue comparable. El almacenamiento a temperaturas de refrigeración, en concreto a 7°C mostró una estabilidad particularmente buena y una dilatada vida útil.

Por consiguiente estos resultados demuestran que tanto en la preparación como en las características del producto, la presente composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, se puede emplear en lugar de los edulcorantes de sacarosa/glucosa utilizados corrientemente en las jalea, y además proporciona las ventajas aquí señaladas, en concreto las ventajas fisiológicas y nutricionales específicas relativas al comportamiento glucémico e insulínico.

Ejemplo 4: preparación de varios productos con la composición que contiene trehalulosa, es decir vitalose, según la presente invención

4.1) Barra de cereales

	Barras de trehalulosa Raftilose®	Cantidad [g]
12%	Jarabe de trehalulosa (73,1% de material seca, véase ejemplo 3) "trehalulosa"*	60,00
4,42%	agua	22,08
16,58%	Agua desalada	82,92
21%	Oligofruktosa P95 (Orafti) (Raftilose®)	105,00
8%	Grasa Toffix P (Sasol)	40,00
1,9%	Emulsionante Dimodan HP (Danisco)	9,50
10%	Lactoproteína, Promiilk 852 A1 (Ingredia)	50,00
0,05%	Ácido ascórbico en polvo de gran pureza (Fluka)	0,25
0,05%	Mezcla de vitaminas (Dohler)	0,25
10%	Coco desecado, Backfee	50,00
8%	Almendras molidas, Backfee	40,00
8%	Harina de avena integral (Kölln)	40,00
100%	Total	500,00

*Aquí "trehalulosa" se refiere a una mezcla 90:10 de trehalulosa/isomaltulosa

4.2) Caramelos duros (unidades en % en peso)

componentes	A*	B*
Composición que contiene trehalulosa (ej. 1D)	92,34	92,34
Reb A#	0,06	0,06
Ácido cítrico	-	1,55
Esencia vegetal	0,78	-
Saborizante	0,04	0,04
Saborizante (vegetal)	0,12	-
Ácido lactobiónico	0,12	0,12
Colorante	0,66	0,01
Agua	5,88	5,88

ej.: ejemplo
 #: Contenido de Reb A > 97% en peso sobre materia seca del edulcorante Reb A total
 * A: pastilla para la garganta
 * B: caramelo de limón

4.3) Helado (unidades en % en peso)

componentes	
Composición que contiene trehalulosa (ej. 1D)	22,17
Reb A [#]	0,04
Ácido lactobiónico	0,90
Leche descremada (contenido de azúcar 53%)	8,07
Mantequilla (grasa láctea 82%)	10,09
Emulsionante	0,30
Estabilizante	0,22
Saborizante	0,20
Colorante	0,02
Grasa láctea	8,25
Sólidos de leche	16,21
Agua	57,99
#: ≥ 95% en peso de Reb A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, dulcósido A, esteviósido, rubusósido y esteviolbiónido respecto a la materia seca del edulcorante Reb A total	

4.4) Naranja enlatada (unidades en % en peso)

5

componentes	
Composición que contiene trehalulosa (ej. 1C)	11,00
Pulpa de naranja	67,80
Ácido cítrico	0,40
Agua	20,80

4.5) Jugo de zanahoria (unidades en % en peso)

componentes	
Composición que contiene trehalulosa (ej. 1D)	10,70
Jugo de zanahoria	30,00
Ácido cítrico	0,05
Saborizante	0,10
Agua	59,15

4.6) Fondant (unidades en % en peso)

10

componentes	
Composición que contiene trehalulosa (ej. 1D)	97,8
Agua	2,2

Ejemplo 5: poder edulcorante

15 Para determinar el poder edulcorante relativo se compararon entre sí las siguientes soluciones en un ensayo triangular con 15 catadores para cada caso:

- 20 a) Dos soluciones de sacarosa al 7% frente a una solución al 15,5% del edulcorante según el ejemplo 1D.
 b) Dos soluciones de sacarosa al 7% frente a una solución al 17,5% del edulcorante según el ejemplo 1D.
 c) Dos soluciones de sacarosa al 7% frente a una solución al 18,5% del edulcorante según el ejemplo 1D.

En el ensayo a) seis personas calificaron el edulcorante: ninguna diferencia comprobada estadísticamente con las soluciones de sacarosa.

25 En el ensayo b) doce personas calificaron el presente edulcorante como “más dulce”: diferencia comprobada estadísticamente, con $p = 0,99$.

En el ensayo c), igualmente doce personas calificaron el presente edulcorante como “más dulce”: diferencia comprobada estadísticamente, con $p = 0,99$.

30

El poder edulcorante de la composición según la presente invención es aproximadamente la mitad del poder edulcorante de la sacarosa. Para aumentar el poder edulcorante, el edulcorante se puede mezclar, por ejemplo, con Reb A y ácido lactobiónico.

35

Ejemplo 6: helado

5 Para producir helado con el edulcorante del ejemplo 1D se mezclaron 22,1 kg de crema láctea (40% de grasa en materia seca), 58,1 kg de leche entera (3,7% de grasa en MS) y 4,5 kg de leche desnatada en polvo con 15 kg del edulcorante del ejemplo 1D y 0,3 kg de estabilizante, se homogeneizaron y se esterilizaron.

10 Después de esterilizar se añadieron a la composición del helado 53 g de fenilalanilaspártato de metilo finamente molido, se agitó, se batió y se congeló. El producto tiene el mismo dulzor y el mismo sabor que el helado producido con 15 kg de azúcar.

En el caso de los helados de fruta puede ser especialmente conveniente prescindir de edulcorantes adicionales, tales como Reb A, porque el edulcorante resalta mucho mejor el sabor frutal.

15 Ejemplo 7: mermelada de fresa

Para elaborar una mermelada de fresa baja en calorías se hierva durante tres minutos 1 kg de fresas picadas junto con 1 kg del edulcorante del ejemplo 1C y 8 g de una pectina de esterificación media y 7 g de ácido tartárico, y se embotella en botellas preparadas.

20 La comparación con una mermelada elaborada con sacarosa no mostró diferencias de consistencia, el dulzor fue algo menor, pero quedó compensado por el sabor de fresa apreciablemente más fuerte. Después de un período de almacenamiento de seis meses el edulcorante no mostró ninguna tendencia a cristalizar.

25 Ejemplo 8

Se examinó el efecto de trehalulosa sobre la respuesta de glucosa en sangre (índice glucémico, IG) y la respuesta insulínica (índice insulinémico II) en comparación con la isomaltulosa.

30 El análisis se realizó como ensayo cruzado aleatorizado con diez sujetos sanos de ambos sexos.

Se trazaron las curvas de glucosa e insulina en sangre después del consumo de isomaltulosa o trehalulosa (25 g de carbohidrato y 250 ml de agua en cada caso) durante un intervalo de 0 hasta 180 minutos, tomando las muestras a los 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos.

35 Los resultados se pueden ver en las figuras 15 y 16. Tal como muestra el gráfico del nivel de glucosa en sangre, la trehalulosa proporciona un mayor aporte de glucosa (IG), continuo y prolongado, que es más duradero y en suma superior al producido por la isomaltulosa.

40 La respuesta insulínica (II) de la isomaltulosa se desarrolla, como era de esperar, sobre la base de la respuesta de glucosa en sangre de la isomaltulosa y en paralelo a ella. Por el contrario, la trehalulosa produce una respuesta insulínica (II) significativamente menor que la isomaltulosa y un nivel de insulina en sangre significativamente inferior en contraste con lo esperado por la respuesta de glucosa en sangre de la trehalulosa. Por lo tanto, la trehalulosa produce un nivel de glucosa en sangre más prolongado, continuo y mayor que la isomaltulosa, y al mismo tiempo provoca inesperadamente una respuesta insulínica significativamente menor en comparación con la isomaltulosa, que también es menor de lo esperado teniendo en cuenta el perfil de glucosa en sangre propio de la trehalulosa.

45

REIVINDICACIONES

- 5 1. Vitalose (composición de trehalulosa), que contiene un 20 hasta un 78% en peso (respecto a materia seca) de trehalulosa y el resto de la composición hasta 100% consta de isomaltulosa o isomaltulosa más 0,1 a 4% en peso de componentes minoritarios, que son isomaltosa, isomelezitosa, oligómeros de carbohidratos con un GP (grado de polimerización) superior o igual a 3, glucosa, fructosa y/o sacarosa, y que puede obtenerse mediante un proceso en el cual (a) una composición que contiene sacarosa se pone en contacto en condiciones apropiadas con células o con extractos celulares de microorganismos de los géneros Pseudomonas y Protaminobacter y (b) se produce la composición que contiene.
- 10 2. El vitalose de la reivindicación 1, que contiene 65 hasta 78% en peso de trehalulosa (respecto a materia seca).
- 15 3. El vitalose de la reivindicación 1 o 2, que contiene 0,1 hasta 2,0% en peso de fructosa.
4. El vitalose según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en que el producto contiene 0,1 hasta 0,4% en peso de glucosa.
- 20 5. El vitalose según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en que el producto contiene 0,1 hasta 0,4% en peso de fructosa.
- 25 6. El vitalose (composición que contiene trehalulosa) de las reivindicaciones 1 a 5, que incluye un contenido de isomaltulosa del 20 al 50% en peso (respecto a materia seca).
- 30 7. Producto para consumo humano o animal, que comprende el vitalose (composición que contiene trehalulosa) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y al menos un aditivo, de modo que en donde el producto comprende 3 hasta 95% del vitalose (composición que contiene trehalulosa) y 5 hasta 97% en peso (respectivamente sobre materia seca) del al menos un aditivo.
- 35 8. El producto según la reivindicación 7, en el cual el aditivo es al menos uno entre un extracto de estevia y un estevioglicósido.
- 40 9. Producto según la reivindicación 7 u 8, en el cual el aditivo se escoge del grupo formado por aromas ácidos, sabores frutales, sabores dulces, saborizantes, sabores salados, edulcorantes intensivos, alcoholes de azúcar, sucromalt, ribosa, tagatosa, trehalosa, ácidos orgánicos, extractos frutales, edulcorantes masivos, fibras, agentes prebióticos, espesantes, vitaminas, minerales, conservantes, colorantes alimentarios y un agente terapéutico, o en el cual el aditivo se elige del grupo formado por creatina, polifenoles, L-carnitina, ácidos grasos poliinsaturados omega-3, ácidos grasos poliinsaturados omega-6, extracto de té verde, EGCG (epigallocatequina galato), aminoácidos y peptopro.
- 45 10. Producto según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, que es una gelatina, una bebida, un preparado frutal, un zumo de fruta concentrado, un zumo de fruta o un batido.
- 50 11. Proceso para preparar una composición que contiene trehalulosa según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el cual (a) una composición que contiene sacarosa se pone en contacto en condiciones apropiadas con células o extractos celulares de microorganismos de los géneros Pseudomonas y Protaminobacter y (b) se produce la composición que contiene trehalulosa.
- 55 12. El proceso de la reivindicación 11, en el cual la composición que lleva sacarosa se disuelve o se suspende en un medio acuoso.
13. El proceso de la reivindicación 11 o 12, en el cual las células o los extractos celulares se inmovilizan sobre al menos un vehículo.
14. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el cual las células o los extractos celulares de ambos géneros de microorganismos se coinmovilizan sobre el mismo vehículo.

Figura 1

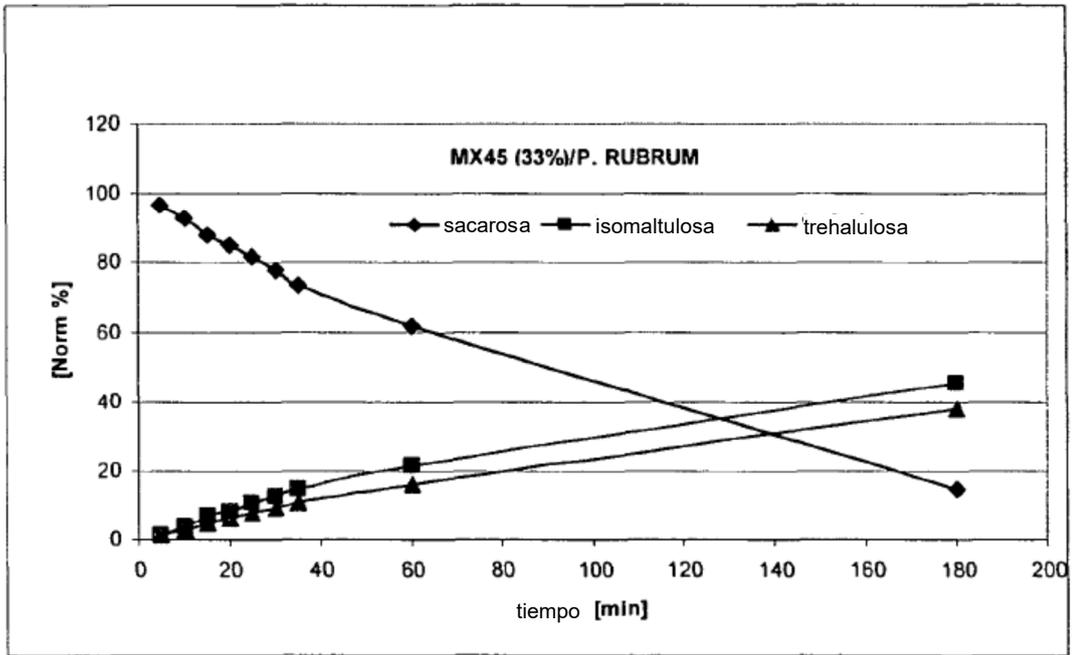


Figura 2

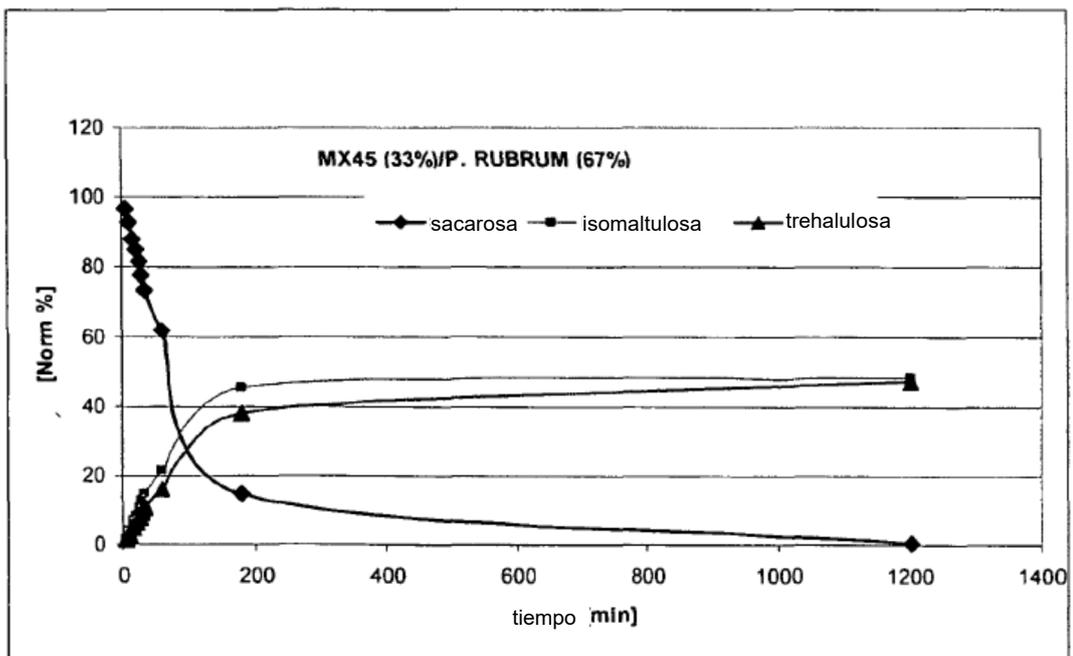


Figura 3

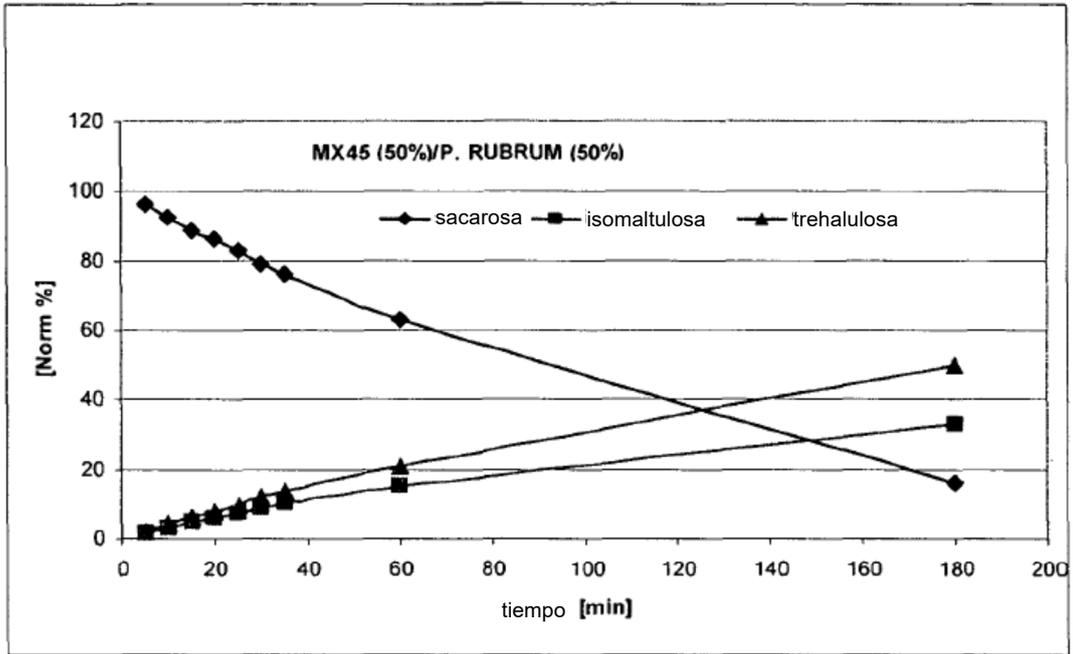


Figura 4

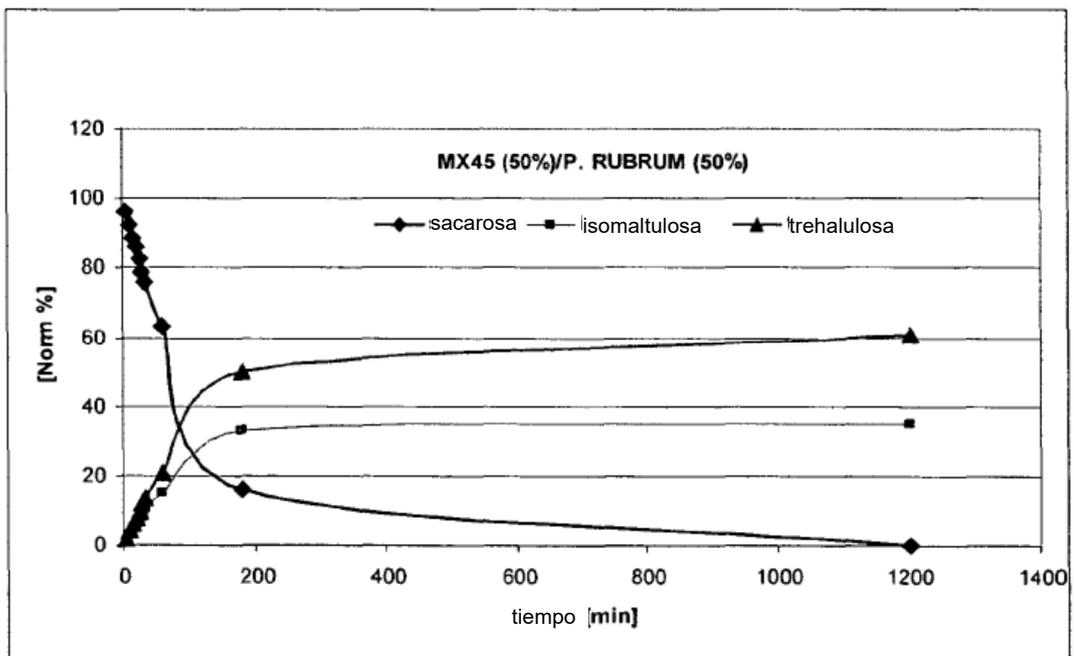


Figura 5

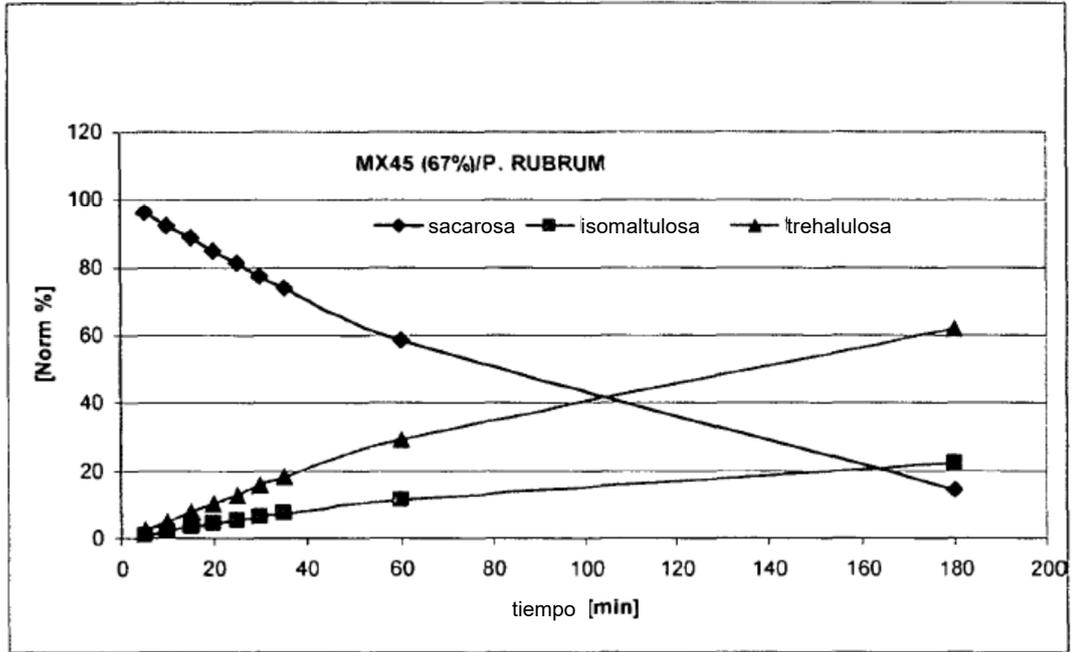


Figura 6

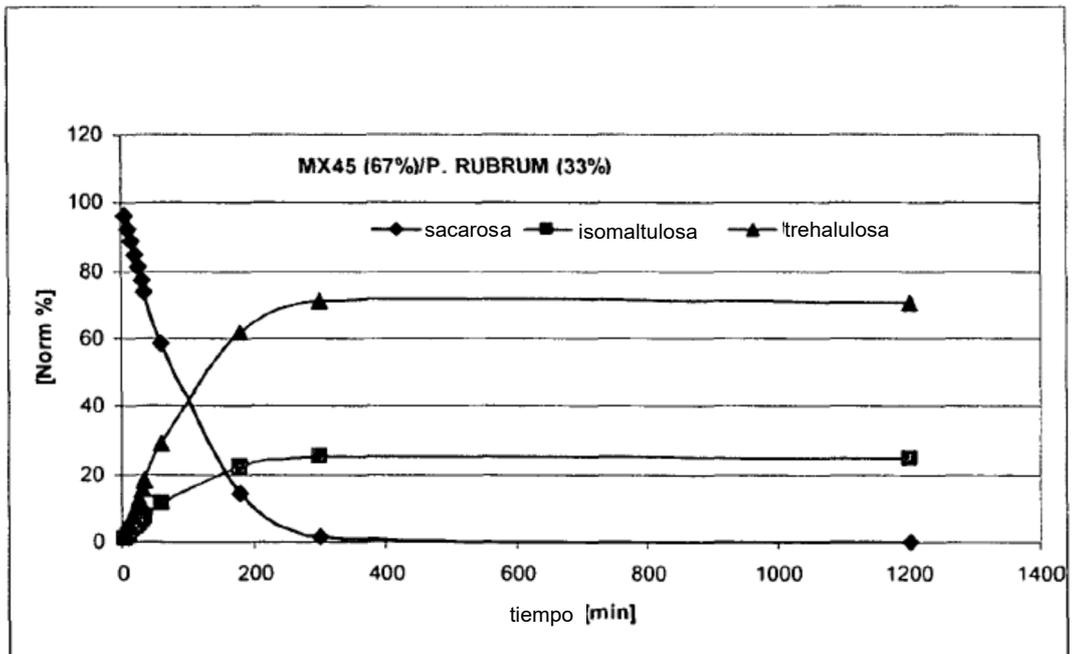


Figura 7

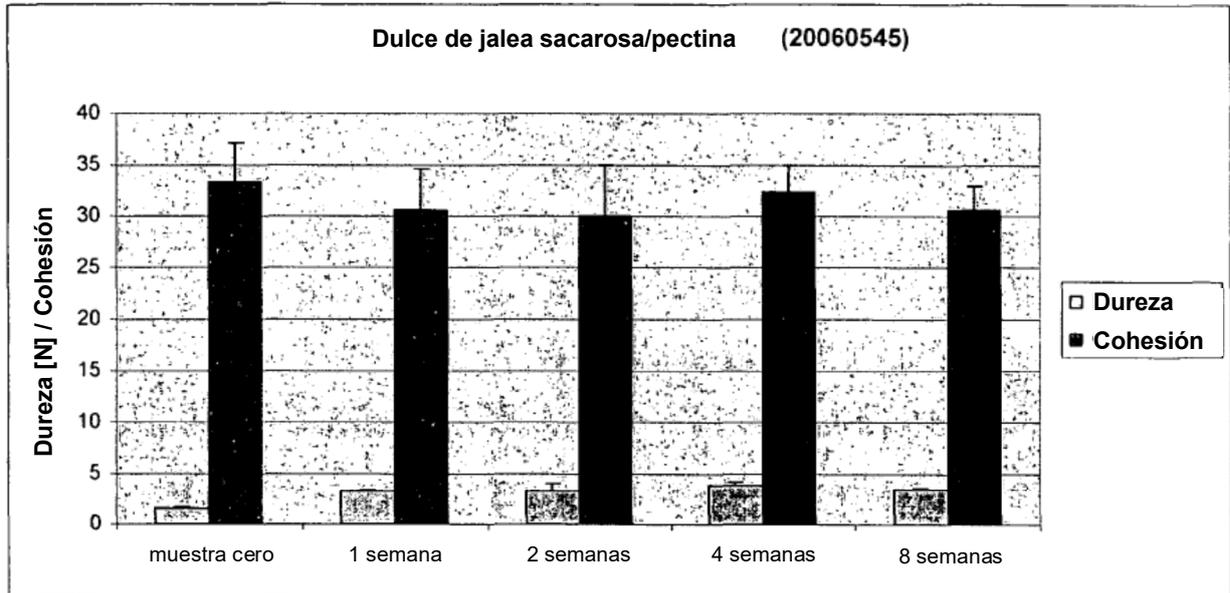


Figura 8

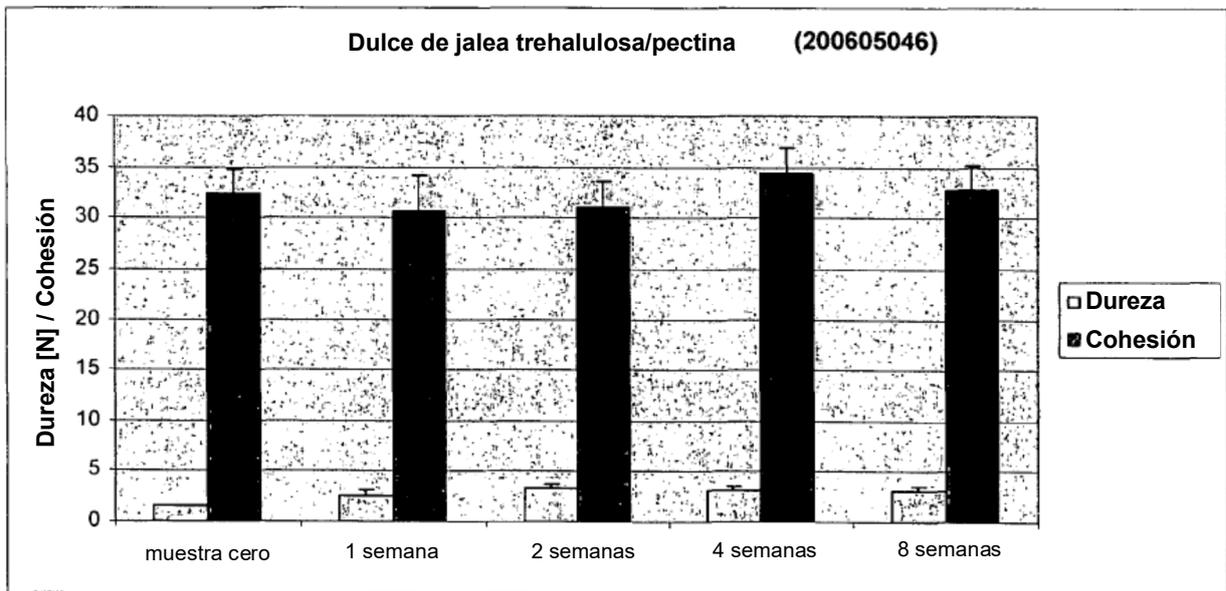


Figura 9

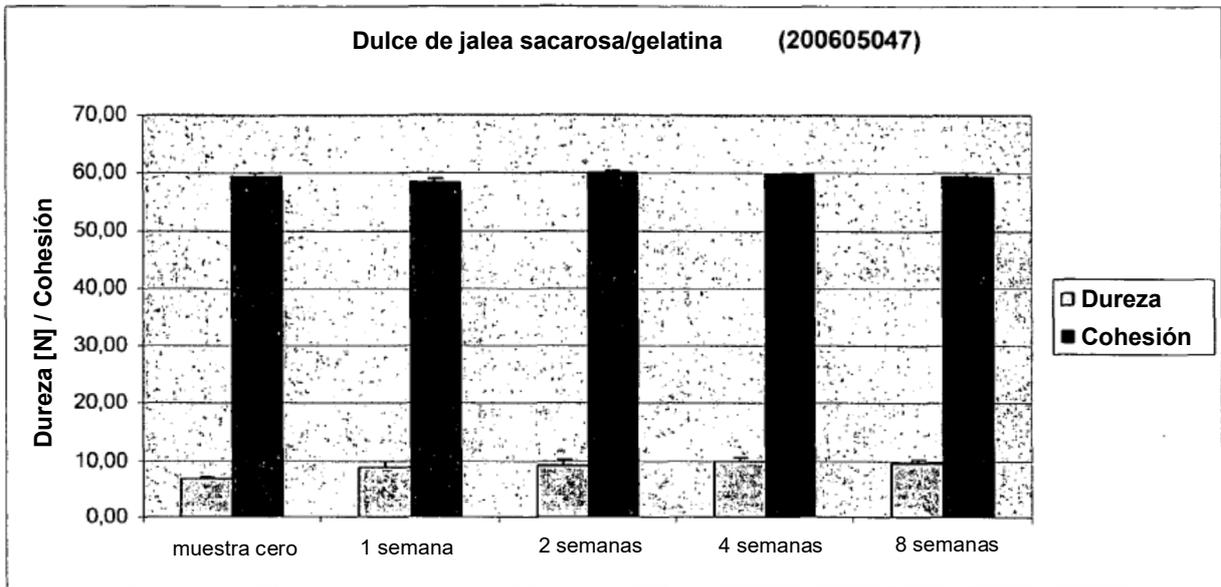


Figura 10

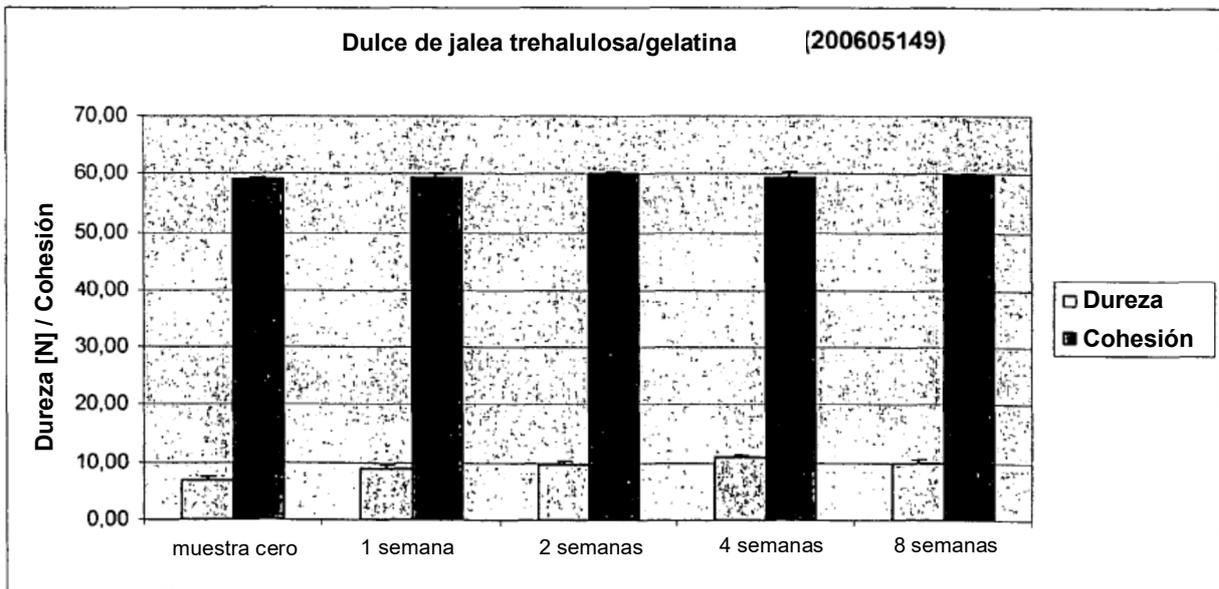


Figura 11

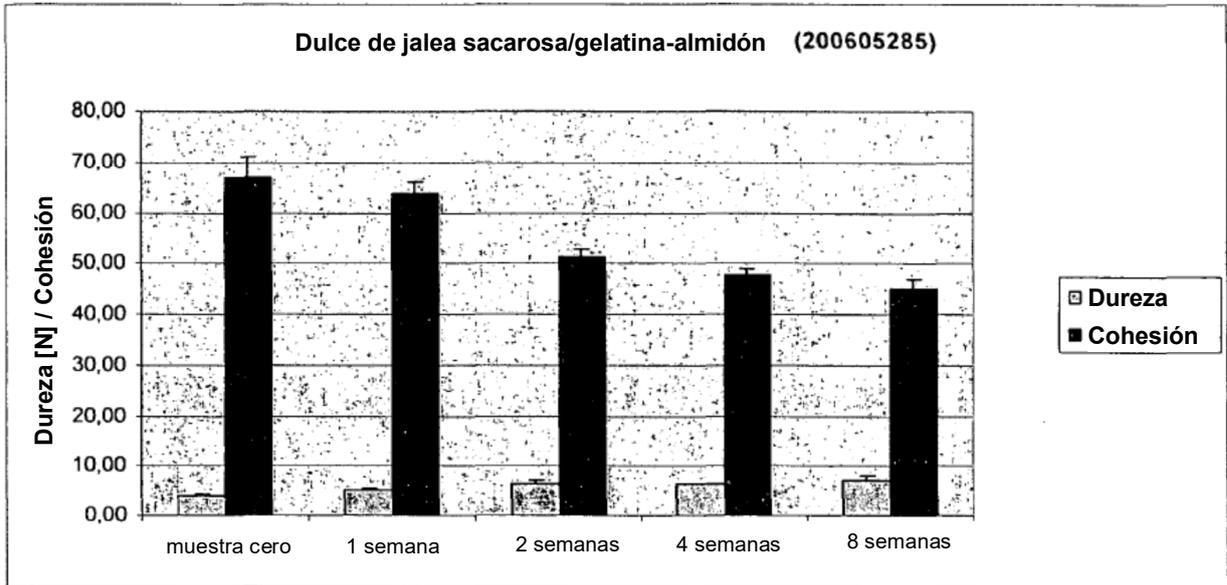


Figura 12

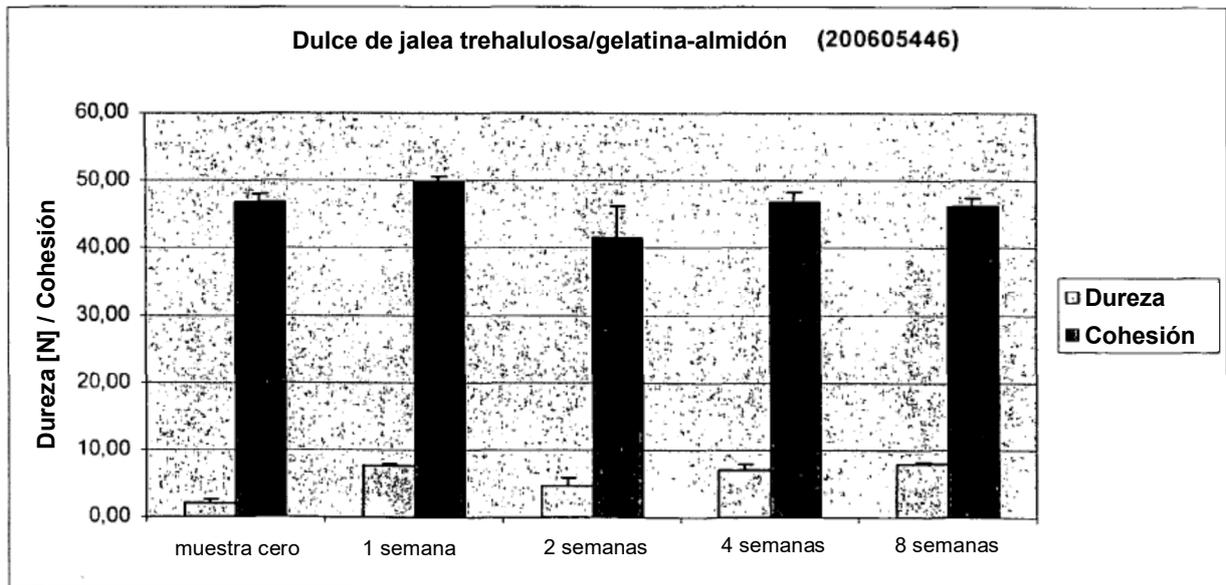


Figura 13

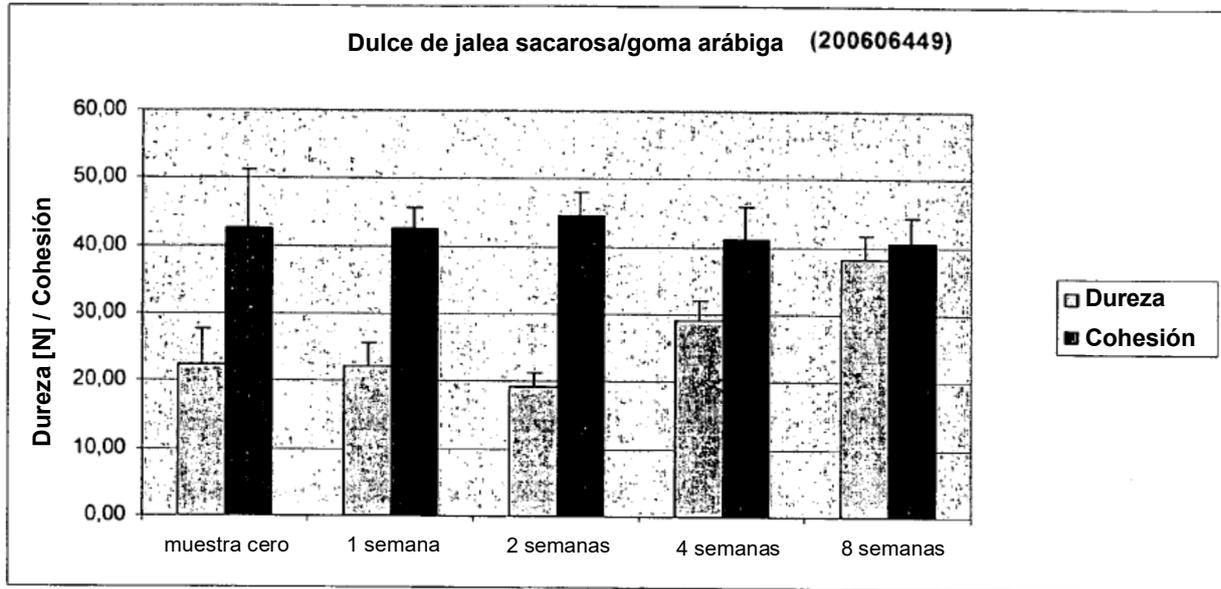


Figura 14

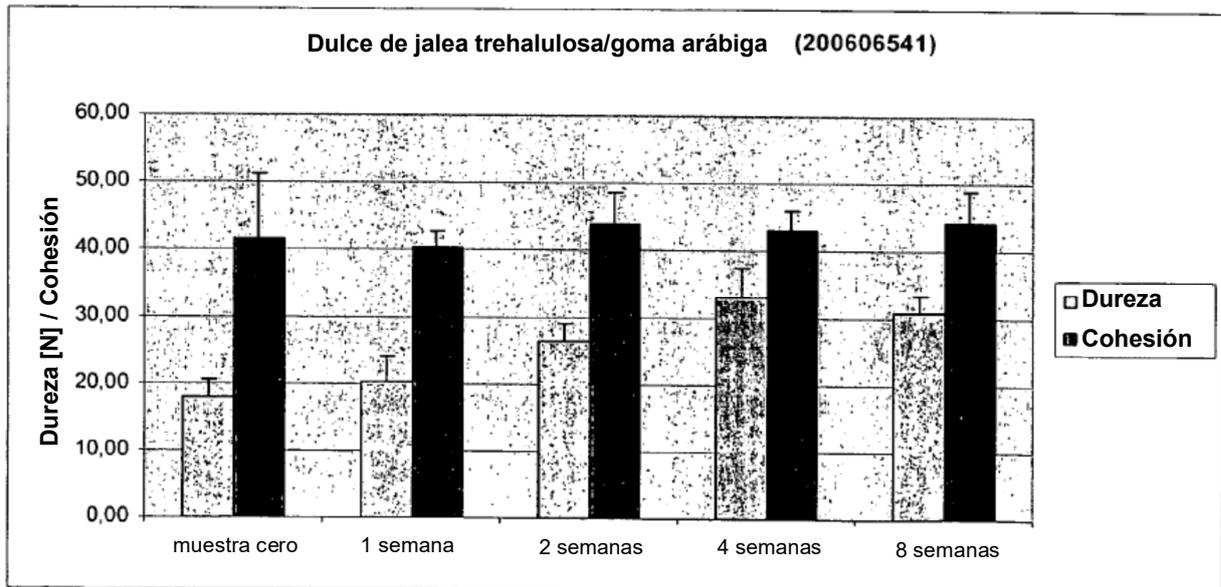


Figura 15

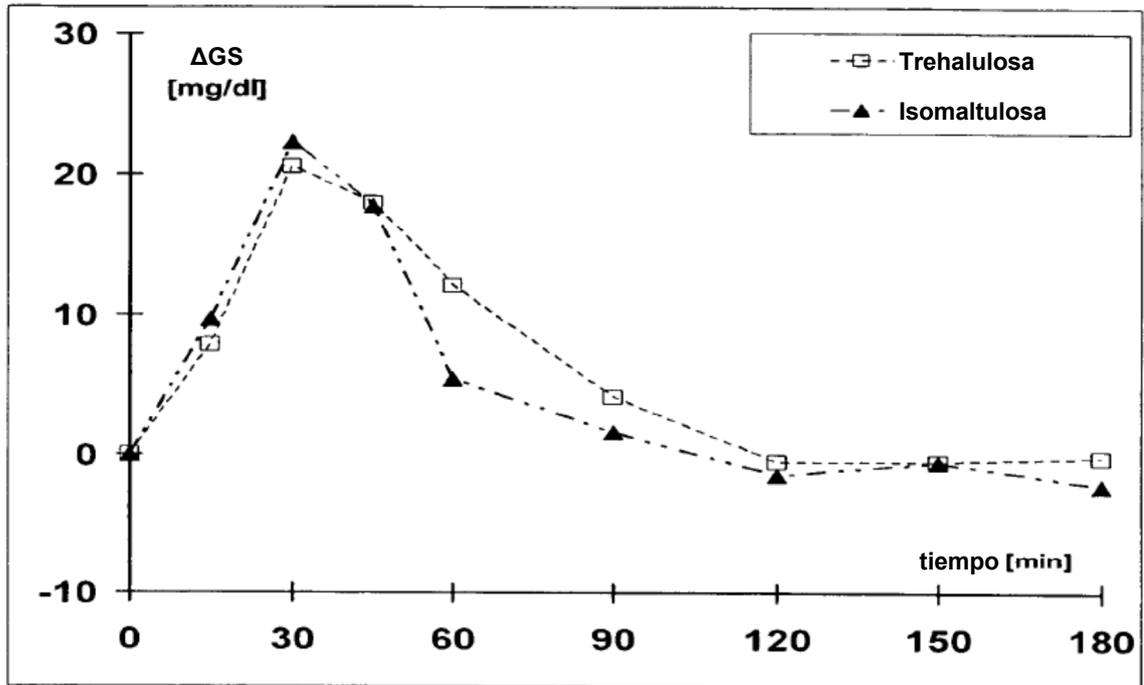


Figura 16

