

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 330**

51 Int. Cl.:

C12P 19/16 (2006.01)

C12P 19/18 (2006.01)

C12P 19/20 (2006.01)

C13K 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2012 PCT/EP2012/004732**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.05.2013 WO13072048**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2012 E 12808250 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2802665**

54 Título: **Proceso para la recuperación de betaína a partir de melaza**

30 Prioridad:

15.11.2011 EP 11009055

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

08.10.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**VAN LOO, JAN y
WACH, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 685 330 T3

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

DESCRIPCIÓN

Proceso para la recuperación de betaína a partir de melaza

5 La invención se refiere a un proceso para la recuperación de betaína a partir de una materia prima que consiste esencialmente en melaza.

Un proceso de este tipo se conoce a partir del documento US-A-5 127 957. En el proceso conocido, se introduce una solución de alimentación de melaza de remolacha en un sistema cromatográfico de lecho móvil simulado. Se utiliza agua como eluyente. La separación cromatográfica conduce a la formación de varias fracciones, entre otras, una fracción con contenido en betaína aumentado y una fracción con contenido en sacarosa aumentado. En el Ejemplo 1 del documento US-A-5 127 957, la fracción con contenido en betaína aumentado tiene un 70,9 % en peso de betaína (sobre la materia seca) y un 11,1 % en peso de sacarosa (sobre la materia seca); la fracción con contenido en sacarosa aumentado tiene un 86,6 % en peso de sacarosa (sobre la materia seca) y un 3,3 % en peso de betaína (sobre la materia seca).

Una desventaja del proceso conocido es que la separación de betaína de las otras fracciones en la melaza no siempre es óptima.

20 Un objetivo de la presente invención es reducir esta desventaja.

El objetivo se consigue por el hecho de que el proceso comprende:

- 25 i. una etapa de desmineralización, en la que la cantidad global de sales en la melaza se reduce hasta como máximo un 0,5 % en peso (sobre la materia seca global);
- ii. una etapa de conversión, en la que la melaza se somete a la acción de una enzima formadora de fructano, para formar melaza con contenido en fructano (fructano-melaza);
- 30 iii. una etapa de separación, en la que la fructano-melaza se somete a una separación cromatográfica, obteniendo de este modo una fracción con contenido en betaína,

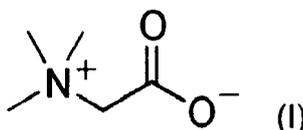
ejecutándose la etapa (i) antes que la etapa (iii), y la etapa (i) pudiendo ejecutarse antes que, durante o posteriormente a la etapa (ii).

35 Una ventaja del proceso de la presente invención es que se puede obtener de manera más eficaz una fracción con contenido en betaína de alta pureza.

Otra ventaja del proceso de la presente invención es que una fracción adicional del proceso, es decir, la fracción con contenido en fructano en comparación con una fracción con contenido en sacarosa del proceso conocido, puede tener un valor superior que la fracción con contenido en sacarosa del proceso conocido.

40 Iraj Ghazi *et al.* divulgan en J. Agric. Food Chem., 2006, 54 (8), págs. 2964-2968 cómo se sometieron a ensayo el sirope de azúcar y la melaza del procesamiento de la remolacha como sustratos disponibles y de bajo coste para la síntesis enzimática de fructooligosacáridos (FOS). Se usó una pectinasa comercial (Pectinex Ultra SP-L, de *Aspergillus aculeatus*) caracterizada por la presencia de una actividad transfructosilante como biocatalizador.

45 El proceso de la invención se refiere a la recuperación de betaína. Según se pretende significar en el presente documento, la betaína se usa en su significado de glicina betaína o N,N,N-trimetilglicina, un ión dipolar que se encuentra, entre otros, en las remolachas azucareras (*Beta vulgaris*) y que tiene la fórmula estructural (I):



50 Como se sabe, la betaína tiene una cantidad de funciones en los mamíferos, tales como el hecho de ser un factor contribuyente de la presión osmótica y de funcionar como donante de metilo. Estas funciones han conducido a la circunstancia de que existe un mercado para la betaína, y por lo tanto, es deseable obtener betaína como un producto de una manera eficaz. Un grupo conocido de fuentes de betaína es el de la melaza con contenido en betaína, tal como, por ejemplo, la melaza de la remolacha azucarera.

55 En el proceso de la presente invención, se usa una materia prima. En una realización principal, la materia prima consiste esencialmente en melaza.

60 Tal como se usa en el presente documento, los términos "esencialmente", "que consiste(n) esencialmente en", "esencialmente todo" y sus equivalentes tienen, a menos que se indique lo contrario, en relación con una

composición o una etapa de proceso, el significado normal de que pueden producirse desviaciones en la etapa de composición o de proceso, pero solo hasta un punto en el que las características y efectos esenciales de la etapa de composición o de proceso no se ven afectados materialmente por dichas desviaciones.

5 El término melaza, según se usa en el presente documento, tiene su significado común de ser un subproducto formado en un proceso para la preparación de sacarosa, en particular, en las etapas de cristalización; además, la melaza según se usa en el proceso de acuerdo con la invención debería contener betaína. Tal como se usa en el presente documento, el término melaza se refiere a la melaza según se obtiene en el proceso para la preparación de sacarosa, o a una forma diluida de la misma, realizándose la dilución preferentemente con una fase acuosa. El término melaza, según se pretende significar en el presente documento, comprende también la melaza que se ha sometido a uno o más pretratamientos mientras sigue conteniendo cantidades significativas de sacarosa, betaína y sales. Un ejemplo de un pretratamiento de este tipo es la reducción de la cantidad de sacarosa entre un 10, 20 o 30 y 50, 60, o incluso 70 %; otro ejemplo de un pretratamiento de este tipo es una etapa denominada de reblandecimiento, dirigida a reducir la cantidad de calcio entre un 10, 20, 30, o 40 y 50, 60, o incluso 70 %. En una realización, la melaza se diluye con agua; en otra realización, la melaza se diluye con vinaza. En una realización, la melaza se sustituye totalmente por vinaza parcialmente fermentada, pudiendo tener la vinaza una cantidad suficiente de sacarosa para que tenga lugar la etapa de conversión. Preferentemente, la melaza es melaza de remolacha azucarera. Como se sabe, la melaza de remolacha azucarera puede contener normalmente, basándose en el peso total de la forma sin diluir y sin pretratar: entre un 45 y 65 % en peso de sacarosa; normalmente entre un 3 y 8 % en peso de betaína; normalmente entre un 6 y 10 % en peso de aminoácidos, péptidos o proteínas; cantidades inferiores de aproximadamente 1 % en peso de hidratos de carbono distintos de la sacarosa de tipo fructosa y glucosa; y una cantidad significativa de otros compuestos tales como sales orgánicas y sales inorgánicas.

El proceso de acuerdo con la invención comprende una etapa de desmineralización (i), en la que la cantidad total de sales, tanto orgánicas como inorgánicas, en la melaza se lleva a un nivel por debajo del 0,5 % en peso (sobre la materia seca total). Las etapas de desmineralización se conocen como tales; una manera de ejecutar esta etapa es mediante cromatografía, usando, por ejemplo, resinas tales como resinas de intercambio iónico. La etapa de desmineralización puede ejecutarse en la forma de dos etapas posteriores, una primera etapa "principal" y una segunda etapa "de pulido". Como sabe la persona experta en la materia, las resinas de intercambio iónico tales como las resinas de intercambio catiónico con fuerte acidez pueden usarse en las etapas de desmineralización; se indica en este caso que normalmente los cationes en la resina no están presentes principalmente con la finalidad de ser intercambiados, sino que más bien sirven para ayudar a conseguir una separación de compuestos iónicos tales como las sales de compuestos no iónicos tales como los hidratos de carbono. Se prefiere que si se usan las resinas catiónicas en la etapa de desmineralización (i), la forma catiónica de la resina sea principalmente una reflexión del catión o cationes principal(es) tal como está(n) presente(s) en la melaza; a menudo en la práctica, esto significará que las resinas en forma de potasio y/o de sodio pueden usarse de manera favorable. Se descubrió que en la etapa de desmineralización, la betaína normalmente va en la fracción de los compuestos no iónicos, incluso es un ión dipolar.

Preferentemente, la cantidad global de sales en la melaza se lleva hasta un nivel que se encuentra entre un 0,40, 0,30, 0,25, 0,20, 0,15, 0,10, o incluso inferior a 0,08, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, o 0,01 % en peso de materia seca total en la melaza. Al mismo tiempo, cualquier pérdida de betaína a partir de la melaza en la fracción o fracciones que contienen las sales que están separadas de la melaza debería mantenerse en el mínimo. Preferentemente, como máximo un 40, 35, 30, 25, 20, o incluso como máximo un 15 o 10 % en peso de la cantidad total de betaína que se introdujo en la etapa de desmineralización (i) se pierde en la fracción o fracciones que contiene(n) las sales que se separan de la melaza. De manera similar, la pérdida de hidratos de carbono a partir de la melaza en la fracción o fracciones que contiene(n) las sales que están separadas de la melaza debería mantenerse en el mínimo. Preferentemente, como máximo un 40, 35, 30, 25, 20, o incluso como máximo un 15 o 10 % en peso de la cantidad total de los hidratos de carbono que se introdujeron en la etapa de desmineralización (i) se pierden en la fracción o fracciones que contienen las sales que se separan de la melaza.

La limitación de las pérdidas de betaína y/o de hidratos de carbono a partir de la melaza en la etapa de desmineralización (i) se puede conseguir gracias a medios tales como los conocidos, tales como preferentemente por medio de la optimización rutinaria de una separación cromatográfica.

Se descubrió que una reducción de la cantidad de sales en la melaza tiene un efecto beneficioso en la eficacia de la etapa de separación (iii), ejecutada posteriormente en el proceso de la invención. Además, se descubrió que la etapa de desmineralización (i) puede tener la ventaja de que se pueden preparar de manera más eficaz productos de calidad alimentaria, es decir, productos adecuados para el consumo humano.

En el proceso de acuerdo con la invención, la melaza se somete a la acción de una enzima formadora de fructano en la etapa de conversión (ii). Esto se puede conseguir por medios tales como los conocidos. La melaza puede estar presente como tal o en forma diluida; preferentemente, la melaza está presente en forma diluida, habiéndose realizado la dilución preferentemente con agua. Si una cierta dilución, o un aumento de dilución, conduce a una reducción de la eficacia de la enzima usada, entonces la persona experta de forma rutinaria debería equilibrar el beneficio de la dilución contra la reducción de la eficacia para establecer el punto óptimo para las circunstancias

específicas. En una realización, la enzima apropiada está en forma libre y se mezcla completamente con la melaza; la melaza con contenido en enzima se lleva a condiciones de temperatura y de pH tales que la enzima muestra actividad apreciable. Como alternativa, la melaza se lleva en primer lugar a condiciones de temperatura y de pH tales que la enzima puede mostrar actividad apreciable, seguido por la mezcla de la enzima. En otra realización, la enzima está disponible en forma inmovilizada, y la melaza se hace fluir a lo largo de la enzima inmovilizada mientras que se ha llevado también a las condiciones apropiadas de temperatura y de pH.

La enzima usada en el proceso de acuerdo con la invención debería poder catalizar la formación de fructanos a partir de sacarosa. Se puede formar la glucosa libre como un subproducto.

El término fructano como se usa en el presente documento tiene su significado común de ser un término genérico que se refiere a un material de hidrato de carbono que consiste principalmente en fructosil-fructosa con opcionalmente un resto de partida de glucosa. El significado del fructano comprende los compuestos más específicos inulina - en la que los enlaces de la fructosil-fructosa son principalmente del tipo $\beta(2\rightarrow1)$ - y levano - en el que los enlaces de la fructosil-fructosa son principalmente del tipo $\beta(2\rightarrow6)$. Tanto las inulinas como los levanos pueden ser lineales o ramificados, y ambos pueden estar en forma polidispersa, es decir, en la forma de una mezcla de varios grados de polimerización, o en forma homodispersa.

La inulina es normalmente polidispersa, es decir, una mezcla de compuestos de varias longitudes de cadena en las que el grado de polimerización (en inglés DP) de los compuestos individuales puede variar de 2 a 100 o más. Un compuesto de inulina individual que consiste en n restos de fructosa se representa a menudo con la fórmula F_n , mientras que un compuesto de inulina individual que tiene un resto de partida de glucosa y m restos de fructosa se representa a menudo con la fórmula GF_m . El término fructooligosacárido - abreviado como FOS- según se usa en el presente documento indica una forma específica de un material de inulina, monodisperso o bien polidisperso, en el que el DP de los compuestos individuales varía de 2 a 10, en la práctica a menudo de 2 a 9, o de 2 a 8 o de 2 a 7. Los FOS disponibles en el comercio son normalmente un material polidisperso que tienen un grado de polimerización promedio en número (\overline{DP}) de aproximadamente 2 a 5. Los compuestos de FOS que se sintetizaron de la sacarosa consisten normalmente para la mayoría de compuestos que tienen la fórmula GF_m , en la que m es el grado de polimerización del compuesto menos 1.

En la práctica, También se denominan los FOS como oligofructosa. Tal como se usa en el presente documento, los términos fructooligosacáridos y oligofructosa se consideran sinónimos.

La formación de fructano a partir de sacarosa se puede conseguir seleccionando una enzima que tiene actividad fructosiltransferasa. Dichas enzimas se conocen como tales, por ejemplo, según se categorizan con el número de categoría enzimática EC 2.4.1.99 o EC 2.4.1.9. Una divulgación anterior de dicha enzima se encuentra en "The Production of Fructooligosaccharides from Inulin or Sucrose Using Inulinase or Fructosyltransferase from *Aspergillus ficuum*", Barrie E. Norman & Birgitte Hojer-Pedersen, Denpun Kagaku vol 36, n.º 2, págs. 103-111 (1989).

Además, se sabe que algunas β -fructofuranosidasas o invertasas, es decir, enzimas categorizadas con EC 3.2.1.26, también tienen actividad fructosiltransferasa y por lo tanto pueden ser adecuadas en el proceso de acuerdo con la invención.

Además, también las enzimas que tienen actividad endoinulinasa - tales como las enzimas clasificadas con EC 3.2.1.7 - pueden dar lugar, en presencia de sacarosa, a la formación de fructanos tales como FOS, en particular, si actúan en una mezcla que tiene un alto contenido en sacarosa del 40 o 50 % en peso de sacarosa o más.

Incluso además, las enzimas que tienen actividad levansacarosa - tales como las enzimas clasificadas con EC 2.4.1.10 - pueden ser adecuadas para su uso en el método de acuerdo con la invención.

Asimismo, las enzimas que tienen actividad inulina sintasa, tales como, por ejemplo, las enzimas divulgadas en el documento EP-A-1298204, pueden ser adecuadas para su uso en el método de acuerdo con la invención.

Un ejemplo de una enzima preferida para su uso en la etapa de conversión de la invención es la endoinulinasa Novozyme 960 (proveedor: Novozymes). Otro ejemplo de una enzima preferida para su uso en la etapa de conversión de la invención es Pectinex Ultra SP-L (proveedor: Novozymes). De acuerdo con la invención, también es posible que la enzima constituya una combinación de dos o más enzimas que tienen actividad fructosiltransferasa y/o endoinulinasa.

En una realización principal de la invención, la melaza se pone en contacto con una enzima capaz de catalizar la formación de fructooligosacárido (FOS) a partir de la sacarosa. Esta realización principal se refiere por lo tanto a un proceso de acuerdo con la invención en el que en la etapa de conversión, la melaza se somete a la acción de una enzima que tiene actividad endoinulinasa y/o fructosiltransferasa para formar melaza con contenido en fructooligosacáridos (FOS-melaza), y en la que la etapa de separación se ejecuta en la FOS-melaza.

La cantidad de enzima necesitada en el proceso de acuerdo con la invención depende de varios factores - según se conocen - tales como la temperatura del proceso, la cantidad de materias primas, pH, duración permisible del proceso e índices de conversión deseados. La persona experta en la materia puede determinar estos y otros factores relevantes para el proceso de la invención según los procedimientos aceptados generalmente en este dominio técnico.

En el proceso de acuerdo con la invención, se permite que la enzima actúe sobre la melaza durante un periodo de tiempo que sea lo suficientemente largo para crear una melaza con contenido en fructano, preferentemente, una melaza con contenido en FOS. La duración de ejecución de esta etapa de acuerdo con la invención se elige principalmente en función de la cantidad de fructano, preferentemente FOS, el cual es deseado. Como sabe la persona experta, esta duración está a menudo en el intervalo entre 0,5 o 1 y 72 horas, preferentemente, entre 1,5 o 2 y 50 horas, más preferentemente, entre 3 o 4 y 36 horas, durante los cuales se forma una melaza con contenido en fructano (fructano-melaza), preferentemente, una melaza con contenido en FOS (FOS-melaza).

Se prefiere que en la etapa de conversión (ii), se convierta entre el 5 % en peso y el 100 % en peso de la sacarosa en la melaza. Más preferentemente, se convierte al menos un 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, o 90 % en peso de la sacarosa. Se prefiere particularmente convertir esencialmente toda la sacarosa. Se descubrió que el porcentaje de sacarosa convertido aumenta, pudiendo ejecutarse más eficazmente la posterior recuperación de la betaína.

Después de completarse la formación de la fructano-melaza, preferentemente la FOS-melaza, y en el caso de que se usara una enzima libre, no inmovilizada y se mezclara en la melaza, puede ser deseable asegurarse de que la enzima esté desactivada. Si este es el caso, entonces se puede implementar una etapa de desactivación de la enzima. La desactivación de la enzima puede conseguirse mediante métodos que son tales como los conocidos y pueden diferir para cada tipo de enzima específico. Un ejemplo de un método de desactivación de este tipo es un aumento en la temperatura - hasta un nivel de por ejemplo aproximadamente 80, 85 o 90 °C - seguido por un tiempo de permanencia de entre 5 y 30 minutos a esta temperatura aumentada. Otro beneficio adicional de la exposición a esta temperatura es que se reducen las cantidades de cualquier bacteria que pueda estar presente. Un ejemplo adicional de un método de desactivación de la enzima es un tratamiento de UHT (ultrapasteurización).

Se descubrió que el proceso de la invención puede funcionar cuando se realiza primero la etapa de desmineralización (i), seguida a continuación por la etapa de conversión (ii). Sin embargo, se descubrió que el proceso de la invención también puede funcionar cuando se realiza primero la etapa de conversión (ii), seguida a continuación por la etapa de desmineralización (i). Se contempla que las etapas (i) y (ii) se pueden ejecutar simultáneamente.

En el proceso de la invención, una etapa de separación (iii) se realiza en la fructano-melaza. La etapa de separación se ejecuta o bien durante la etapa de conversión o bien posteriormente a la etapa de conversión. Preferentemente, la etapa de separación se ejecuta posteriormente a la etapa de conversión. En la etapa de separación, la fructano-melaza se somete a una separación cromatográfica. Como se sabe, el sometimiento de un material a una separación cromatográfica puede conducir a la división del material en varias fracciones. La separación de acuerdo con la invención debería realizarse de modo que se forme dicha fracción con contenido en betaína. Una persona experta en la materia sabrá que la elección particular de la fase estacionaria en la separación cromatográfica puede influir en el rendimiento de la separación. La separación cromatográfica se puede ejecutar gracias a medios que son tales como los conocidos, tal como el paso de la fructano-melaza por una resina.

En una realización principal de la invención, la etapa de separación se realiza mediante el uso de resinas que son típicas para la cromatografía de intercambio iónico. Como se sabe, para este fin está disponible una variedad de resinas. En una realización preferente del proceso de la invención, se elige una resina de intercambio catiónico con acidez elevada. Un ejemplo de dichas resinas son las resinas estireno-DVB, es decir, las resinas que tienen estructuras basadas en estireno copolimerizadas con divinilbenceno DVB, tales como las resinas Dowex™.

Como ya fue el caso en la etapa de desmineralización (i), también en la etapa de separación (iii) el fin de usar resinas de intercambio iónico no es principalmente el de intercambiar iones - de hecho, la fructano-melaza tendrá una cantidad muy pequeña de iones. Más bien, se descubrió que las resinas de intercambio iónico pueden influir favorablemente en la eficacia de separación respecto de la obtención de una fracción con contenido en betaína y opcionalmente otras fracciones útiles. Se descubrió también que si se elige una resina de intercambio catiónico (con fuerte acidez), la elección del catión puede influir en la eficacia de la separación. En una realización de la invención, se prefieren las resinas de intercambio catiónico esencialmente en forma de sodio. En una realización adicional de la invención, se prefieren las resinas de intercambio catiónico esencialmente en forma de potasio. En aún otra realización adicional de la invención, se prefieren las resinas de intercambio catiónico esencialmente en forma de calcio. Las realizaciones preferidas adicionales incluyen las resinas en forma de magnesio o hierro.

En una realización principal de la invención, se usan las resinas de intercambio catiónico en forma mixta; esto significa que la etapa de separación se realiza usando un sistema de resina que consiste en una mezcla de resinas en distintas formas, es decir, variando al menos en la forma catiónica en la que se encuentran. Las elecciones preferidas de cationes en esta realización principal son magnesio, hierro, sodio, potasio y calcio. Más

preferentemente, se usan sodio, potasio y calcio.

Se descubrió que un aumento en la presencia de resinas en la forma de calcio puede contribuir a una eficacia de separación mejorada de betaína; se descubrió también, sin embargo, que un porcentaje muy alto de resina en la forma de calcio puede conducir a una situación en la que la liberación de betaína a partir de las resinas está siguiendo de muy lejos la liberación de todos los compuestos en la melaza; mientras que esto supone una característica positiva ya que puede permitir una obtención directa de una fracción con contenido en betaína de alta pureza, También en algunas circunstancias, por ejemplo, cuando la pureza deseada de la fracción que contiene betaína no es extremadamente alta, esto puede ser una desventaja en cuanto a que se necesita usar cantidades mayores de eluyente. En una realización preferida, por lo tanto, se usa un sistema de intercambio catiónico en el que entre un 5 y 80 % en peso del sistema de resina consiste en resinas en la forma de calcio; Se prefiere a continuación que entre un 95 y 20 % en peso del sistema de resina consista en resinas en forma de sodio y/o potasio. Preferentemente, entre un 6, 7 u 8 y 78, 76, 74, 72 o 70, o entre un 10 y 65 o 60, o entre un 12 o 14 y 55 o 50, o entre un 15 y 45 o 40, o entre un 18, 20 o 22 y 35 o 30 % en peso del sistema de resina esté en forma de calcio. De forma correspondiente, se prefiere a continuación que entre un 22, 24, 26, 28, o 30 y 94, 93 o 92, entre un 35 y 40 y 90, entre un 45 o 50 y 88 u 86, entre un 55 o 60 y 85, o entre un 65 o 70 y 82, 80 o 78 % en peso de las resinas en el sistema de resina estén a continuación en la forma de sodio y/o de potasio.

En vista de la preferencia de tener y mantener una cierta composición de cationes deseada en la realización principal mencionada anteriormente de la etapa de separación (iii) de la invención, se deduce que la etapa de desmineralización (i) debería ejecutarse preferentemente de una manera, según se describe en las realizaciones principales y preferidas de la etapa de desmineralización (i) anterior, en la que los cationes en la melaza se eliminen hasta el punto en el que los cationes restantes no afecten de manera significativa a la composición de cationes del sistema de resina en la etapa de separación (iii). Preferentemente, la etapa de desmineralización (i) se ejecuta de tal manera que la fracción o fracciones obtenidas en la etapa de separación (iii) tenga o tengan, cuando se ponen en agua al 28 % en peso, una conductividad como máximo de 2 mS/cm, preferentemente, como máximo 1,5, 1 o 0,5 mS/cm. Más preferentemente, la conductividad es incluso inferior con un valor de como máximo 400, 300, 200 o incluso 100 µS/cm.

Según se sabe, en el caso de que se use una resina en la etapa de separación, se necesitará una cierta optimización rutinaria de manera que se elija el tipo óptimo de resina, por ejemplo, variando el grado de reticulación en la resina.

Preferentemente, la separación cromatográfica se realiza en un sistema de lecho móvil simulado (SMB por sus siglas en inglés), o desarrollos adicionales de los sistemas SMB tales como un lecho móvil simulado secuencial (SSMB por sus siglas en inglés) o un lecho móvil simulado mejorado (ISMB por sus siglas en inglés). Esto tiene la ventaja de que la etapa de separación y/o la recuperación de una fracción con contenido en betaína puede realizarse en una base continua. En una realización, se elige un sistema que permite la producción simultánea de fracciones múltiples, tales como el sistema NMCI.

Se descubrió, sorprendentemente, que una fracción con contenido en betaína de alta pureza puede recuperarse a partir de una fructano-melaza. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se contempla que el comportamiento de los fructanos, en particular FOS, y posiblemente también la glucosa en una separación cromatográfica podría ser tal como sale en un pico nítido, menos difuso, que el de la sacarosa, posiblemente influenciando también de este modo el comportamiento de la elución de ciertos otros compuestos en aras de obtener una betaína de alta pureza.

En el proceso de la invención, se obtiene una fracción con contenido en betaína. Según se pretende significar en el presente documento, una fracción con contenido en betaína significa una fracción en la que la relación de betaína a los otros constituyentes de materia seca ha aumentado en comparación con la fructano-melaza que se introduce en la etapa de separación. Preferentemente, la relación de betaína a los otros constituyentes de materia seca ha aumentado al menos hasta 25:75, más preferentemente, hasta 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, o incluso al menos hasta 90:10 o 95:5.

La fracción o las fracciones con contenido en betaína según se obtienen en el proceso de la invención pueden, si así se desea, procesarse adicionalmente gracias a medios que son tales como los conocidos, tales como, por ejemplo, mediante una etapa de concentración en la que la cantidad de eluyente se reduce o incluso se lleva a esencialmente cero a través de medios tales como las técnicas de evaporación de membrana, posiblemente seguido de una etapa de cristalización.

El proceso de la invención puede conducir también a la obtención de una o más fracciones con contenido en fructano. Un método de obtención de una fracción con contenido en fructano es mediante la ejecución de la etapa de separación en un sistema SMB o en sistemas relacionados diseñados para obtener múltiples fracciones de productos simultáneamente a partir de una alimentación, tales como el sistema NMCI conocido. Debido a la presencia de fructanos tales como preferentemente FOS, estas fracciones pueden tener un valor considerable en varias aplicaciones tales como alimentos para humanos o piensos para animales.

En una realización de la invención, la etapa separada se acciona de tal manera que se obtiene una fracción con contenido en fructano de pureza muy alta, combinada con una cantidad muy baja hasta incluso esencialmente ausente de betaína. En esta realización se prefieren las fracciones con contenido en fructano, preferentemente con contenido en FOS, que tienen una cantidad de fructanos de al menos 70 u 80, o incluso 90, 95, 98, o incluso 99 % en peso (según se mide sobre la sustancia seca total de hidratos de carbono), en la que la cantidad de betaína es como máximo 0,04 % en peso (según se mide sobre la sustancia seca total de la fracción con contenido en fructano), preferentemente, como máximo 0,03, 0,02, o incluso como máximo 0,01 % en peso.

En otra realización de la invención, sin embargo, la etapa de separación se acciona de tal manera que se obtiene una fracción con contenido en fructano que tiene una combinación favorable de fructanos con betaína.

Como se ha indicado anteriormente, la etapa de separación del proceso de la invención puede llevar a la obtención de múltiples fracciones, tales como una fracción con contenido en betaína y una fracción con contenido en fructano. Si la etapa de separación se acciona de esta manera, se formará también una fracción adicional, particularmente, una fracción en la que la glucosa, que se ha formado típicamente en cantidades significativas durante la etapa de conversión, es el factor contribuyente principal de materia seca.

En una realización principal alternativa de la invención, el proceso no usa melaza como tal sino más bien un jugo denso o una mezcla de jugo denso y melaza como materia prima. Tal como se usa en el presente documento, la expresión jugo denso tiene el significado que tiene normalmente en la industria de fabricación de sacarosa de ser una corriente líquida que se obtiene a partir de una etapa de evaporación ejecutada en jugo claro. Como se sabe, la expresión jugo claro se refiere al jugo crudo purificado que se obtiene a partir de una extracción acuosa de remolachas azucareras cortadas en rebanadas.

Si el material crudo para la etapa de desmineralización (i) contiene o incluso consiste en jugo denso, la cantidad de hidratos de carbono, en particular, sacarosa, será típicamente mayor en comparación con la situación en la que la materia prima consiste esencialmente en melaza. De lo contrario, sin embargo, las etapas de la invención se pueden ejecutar según se ha descrito anteriormente. Si se usa como materia prima una mezcla de jugo denso y melaza, la relación entre jugo denso y melaza varía preferentemente entre 5:95 y 95:5, más preferentemente entre 30:70 y 70:30.

El proceso de la invención se ilustrará a continuación mediante el siguiente Ejemplo, en el que el Ejemplo no debe interpretarse como limitativo del alcance de la invención.

Ejemplo 1

Etapa de desmineralización

Se sometió una melaza de remolacha azucarera descalcificada (contenido en sólidos 60 Brix) a una desmineralización mediante cromatografía en un ISMB. La fase sólida en las columnas de cromatografía fue un sistema de resina de intercambio catiónico (Dowex™ 99/320), parcialmente en forma de potasio y parcialmente en forma de sodio. El volumen de resina total fue 9,04 l, el eluato fue agua, la relación eluato/melaza fue 5,5, el caudal de flujo fue 0,5 volúmenes de lecho (en inglés BV) por hora, la temperatura fue 80 °C.

La composición de la melaza según se introduce en el ISMB se da en la Tabla 1. El ISMB se ajustó para obtener dos fracciones: una fracción enriquecida con sales, y una fracción de producto teniendo la menor cantidad posible de sales. La composición de estas dos fracciones se da en la Tabla 2.

Tabla 1

	Alimentación (% en peso de materia seca total)
Sacarosa	62,9
Betaína	6,67
Sales	25,3

Tabla 2

	Fracción enriquecida con sales (% en peso de materia seca total)	Fracción de producto (% en peso de materia seca total)
Sacarosa	29,82	88,11
Betaína	0,48	10,51
Sales	59,41	0,0

Etapa de conversión

5 La fracción de producto según se obtuvo a partir de la etapa de desmineralización se sometió a una etapa de conversión. En esta etapa de conversión, la fracción de producto se puso en contacto con Novozymes 960, una endoinulinasa. Esto se realizó a un pH de 6,4, una temperatura de 56 °C, durante un periodo de 24 horas. La composición del producto convertido resultante se proporciona en la Tabla 3.

Tabla 3

Compuesto	Concentración (% en peso de materia seca total)
Sacarosa	5,1
Betaína	6,54
FOS	50,15
Glucosa	32,1
Fructosa	2,63
Otros	3,48

10 *Etapa de separación*

15 La fracción de producto convertido según se obtuvo en la etapa de conversión se sometió a una etapa de separación. Esta etapa se ejecutó en un NMCI (New MCI, desarrollado originalmente por Mitsubishi Chemical Co y Nippon Rensui Co); el sistema de resina usado consistió en Dowex™ 99/320, en el que un 20 % en peso de la resina estaba en la forma de calcio, y un 80 % en peso de la resina estaba en la forma de potasio. El NMCI se ajustó para obtener tres fracciones: una fracción de FOS, una fracción de betaína y una fracción de azúcares. Las condiciones de funcionamiento principales fueron: temperatura de 60 °C, caudal de flujo 0,5 BV/h, relación eluyente (agua)/fracción de producto convertido 7,01. La composición de estas tres fracciones resultantes se da en la Tabla 4.

20

Tabla 4

Compuesto	Concentración (% en peso de materia seca total)		
	Fracción de azúcares	Fracción de betaína	Fracción de FOS
Sacarosa	3,68	0,0	6,86
Betaína	0,15	89,53	1,53
FOS	9,63	9,75	87,51
Glucosa	74,80	0,00	1,85
Fructosa	6,21	0,72	0,0
Otros	5,53	0,0	2,26

Como resulta evidente a partir de la Tabla 4, se obtuvo una fracción de betaína de alta pureza; esta pureza es suficiente para el uso del producto en las aplicaciones de pienso para animales.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Proceso para la recuperación de betaína a partir de una materia prima que consiste esencialmente en melaza, que comprende:
- 10 i. una etapa de desmineralización, en la que la cantidad global de sales en la melaza se reduce hasta como máximo un 0,5 % en peso (sobre la materia seca global);
 - 15 ii. una etapa de conversión, en la que la melaza se somete a la acción de una enzima formadora de fructano, para formar melaza con contenido en fructano (fructano-melaza);
 - 20 iii. una etapa de separación, en la que la fructano-melaza se somete a una separación cromatográfica, obteniendo de este modo una fracción con contenido en betaína,
- 25 ejecutándose la etapa (i) antes que la etapa (iii), y la etapa (i) pudiendo ejecutarse antes que, durante o posteriormente a la etapa (ii).
- 30 2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la enzima formadora de fructano se elige entre el grupo que consiste en: enzimas que tienen actividad endoinulinasa, enzimas que tienen actividad fructosiltransferasa y mezclas de las mismas.
- 35 3. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de desmineralización (i) se ejecuta como una separación cromatográfica, usándose una resina catiónica con fuerte acidez como fase sólida en la separación cromatográfica.
- 40 4. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que en la etapa de separación (iii) se usa una resina de intercambio catiónico con fuerte acidez.
- 45 5. Proceso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la resina de intercambio catiónico fuerte es un sistema que consiste en resinas en las que entre un 20 y 95 % son resinas en la forma de sodio o de potasio, y entre un 5 y 80 % son resinas en la forma de calcio.
- 50 6. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en el que en la etapa de conversión, la melaza se somete a la acción de una enzima que tiene actividad endoinulinasa y/o fructosiltransferasa para formar melaza con contenido en fructooligosacáridos (FOS-melaza), y en la que la etapa de separación se ejecuta en la FOS-melaza.
- 55 7. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6, en el que la etapa de separación se ejecuta en un sistema de cromatografía de lecho móvil simulado (SMB).
- 60 8. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 7, en el que en la etapa de separación además de la fracción con contenido en betaína se obtiene también una fracción con contenido en fructano.
- 65 9. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8, en el que la materia prima contiene o consiste esencialmente en jugo denso.