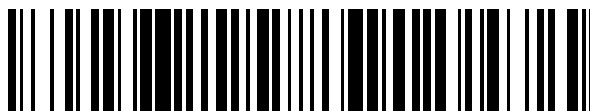


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 031**

51 Int. Cl.:

C07H 15/24	(2006.01)
C07H 15/256	(2006.01)
C07H 1/08	(2006.01)
A23L 2/60	(2006.01)
A23L 27/30	(2006.01)
A61K 8/63	(2006.01)
A61K 8/97	(2007.01)
A61Q 11/00	(2006.01)
A61K 36/28	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.08.2011 PCT/US2011/047498**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2012 WO12166163**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2011 E 11866877 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 2713763**

54 Título: **Composición de Estevia**

30 Prioridad:

31.05.2011 US 201161491441 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.10.2019

73 Titular/es:

**PURECIRCLE USA INC. (100.0%)
915 Harger Road, Suite 250
Oak Brook, IL 60523-1492, US**

72 Inventor/es:

MARKOSYAN, AVETIK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 727 031 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición de Estevia

Antecedentes de la invención**Campo de la invención**

- 5 La invención se refiere a un proceso para la producción de un ingrediente alimenticio altamente purificado a partir del extracto de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. También se describe su uso en diversos productos alimenticios y bebidas.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 Las alternativas al azúcar están recibiendo una atención creciente debido a la concienciación de muchas enfermedades asociadas al consumo de alimentos y bebidas de alto contenido en azúcar. Sin embargo, muchos edulcorantes artificiales tales como la dulcina, ciclamato sódico y sacarina se han prohibido o restringido en algunos países debido a problemas relacionados con su seguridad. Como resultado, los edulcorantes no calóricos de origen natural están siendo cada vez más populares. La hierba dulce *Stevia rebaudiana* Bertoni produce varios glicósidos diterpénicos que presentan una dulzura de alta intensidad y unas propiedades sensoriales superiores a las de otros
15 muchos edulcorantes de alta potencia.

- Los glicósidos dulces mencionados anteriormente tienen un aglicón común, el esteviol, y difieren por el número y el tipo de residuos de carbohidrato en las posiciones C13 y C19. Las hojas de Estevia son capaces de acumular hasta un 10-20% (basado en el peso seco) de glicósidos de esteviol. Los glicósidos principales que se encuentran en las hojas de Estevia son rebaudiósido A (2-10%), esteviósido (2-10%) y rebaudiósido C (1-2%). Otros glicósidos tales como rebaudiósido B, D, E y F, esteviolbiósido y rubusósido se encuentran en niveles mucho menores (aprox. 0-
20 0,2%).

- Los dos principales glicósidos, esteviósido y rebaudiósido A (reb A), se estudiaron y caracterizaron ampliamente con respecto a su idoneidad como edulcorantes comerciales de alta intensidad. Los estudios de estabilidad en bebidas carbonatadas confirmaron su estabilidad térmica y frente al pH (Chang S.S., Cook, J.M. (1983) Stability studies of
25 esteviósido and rebaudiósido A in carbonated beverages. J. Agric. Food Chem. 31: 409-412).

- Los glicósidos de esteviol difieren entre sí no solo en sus estructuras moleculares, sino también en sus propiedades de sabor. Normalmente se considera que el esteviósido es 110-270 veces más dulce que la sacarosa, el rebaudiósido A entre 150 y 320 veces más dulce que la sacarosa, y el rebaudiósido C entre 40-60 veces más dulce que la sacarosa. El glicósido A es 30 veces más dulce que la sacarosa. El rebaudiósido A tiene el regusto menos
30 astringente, menos amargo y menos persistente, por lo que posee los atributos sensoriales más favorables de los principales glicósidos de esteviol (Tanaka O. (1987) Improvement of taste of natural sweeteners. Pure Appl. Chem. 69:675-683; Phillips K.C. (1989) Stevia: steps in developing a new sweeter. En: Grenby T.H. ed. Developments in sweeteners, vol. 3. Elsevier Applied Science, Londres. 1-43). La estructura química del rebaudiósido A se muestra en la Fig. 1.

- 35 Los métodos para la extracción y purificación de glicósidos dulces a partir de la planta de *Stevia rebaudiana* mediante el uso de agua o disolventes orgánicos se describen, por ejemplo, en las Patentes de EE.UU. números 4.361.697; 4.082.858; 4.892.938; 5.972.120; 5.962.678; 7.838.044 y 7.862.845.

- Sin embargo, incluso en un estado altamente purificado, los glicósidos de esteviol aún poseen unos atributos de sabor indeseables tales como amargor, regusto dulce, sabor de regaliz, etc. Uno de los principales obstáculos para la comercialización con éxito de los edulcorantes de estevia son estos indeseables atributos de sabor. Se demostró que estas notas de sabor se vuelven más prominentes a medida que se incrementa la concentración de glicósidos de esteviol (Prakash I., DuBois G.E., Clos J.F., Wilkens K.L., Fosdick L.E. (2008) Development of rebiana, a natural, noncaloric sweeter. Food Chem. Toxicol., 46, S75-S82.).
40

- El rebaudiósido B (nº de CAS: 58543-17-2), o reb B, también conocido como esteviósido A₄ (Kennelly E.J. (2002) Constituents of *Stevia rebaudiana* In *Stevia: The genus Stevia*, Kinghorn A.D. (Ed), Taylor & Francis, Londres, pág. 71), es uno de los glicósidos dulces que se encuentran en *Stevia rebaudiana*. Las evaluaciones sensoriales muestran que reb B fue aproximadamente 300-350 veces más dulce que la sacarosa, mientras que para reb A este valor fue de aproximadamente 350-450 (Crammer, B. e Ikan, R. (1986) Sweet glycosides from the *Stevia* plant. Chemistry in Britain 22, 915-916 y 918). La estructura química de rebaudiósido B se muestra en la Fig. 2.
45

- Se creyó que reb B se forma a partir de la hidrólisis parcial de rebaudiósido A durante el proceso de extracción (Kobayashi, M., Horikawa, S., Degrandi, I.H., Ueno, J. y Mitsuhashi, H. (1977) Dulcosides A and B, new diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. Phytochemistry 16, 1405-1408). Sin embargo, la investigación posterior ha mostrado que reb B se da de manera natural en las hojas de *Stevia rebaudiana*, y actualmente es uno de los nueve glicósidos de esteviol reconocidos por la FAO/JECFA (United Nations' Food and Agriculture Organization/Joint Expert Committee on Food Additives) para el cálculo del contenido total de glicósidos de esteviol en las
50
55

preparaciones comerciales de glicósido de esteviol (FAO JECFA (2010) Steviol Glycosides, Compendium of Food Additive Specifications, FAO JECFA Monographs 10, 17-21).

En la bibliografía solo se describen unos cuantos métodos para la preparación de reb *B*.

5 Kohda et al., (1976) preparó reb *B* mediante la hidrólisis de reb *A* con hesperidinas. El reb *B* también se preparó mediante una saponificación alcalina de reb *A*. Dicha saponificación se llevó a cabo en un 10% de hidróxido de potasio-etanol. La disolución se acidificó con ácido acético y se extrajo con n-butanol. La capa de butanol se lavó con agua y se concentró a baja temperatura a vacío. El residuo se cristalizó en metanol para proporcionar reb *B*. (Kohda, H., Kasai, R., Yamasaki, K., Murakami, K. y Tanaka, O. (1976) New sweet diterpene glucosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry* 15, 981-983). Los procesos descritos podrían ser adecuados para la preparación a escala de laboratorio de reb *B*, pero no son adecuados para ninguna preparación a gran escala o comercial de reb *B*.

15 Ahmed et al., usó una hidrólisis alcalina suave de reb *A* para preparar reb *B*. De acuerdo con el procedimiento descrito, se hidrolizó reb *A* hasta reb *B* calentando a reflujo con KOH acuoso al 10% a 100 °C durante 1 h. Después de la neutralización con ácido acético glacial, la sustancia precipitada se recrystalizó dos veces en metanol (Ahmed M.S., Dobberstein R.H. y Farnsworth N.R. (1980) *Stevia rebaudiana*: I. Use of p-bromophenacyl bromide to enhance ultraviolet detection of water-soluble organic acids (steviolbioside and rebaudioside B) in highperformance liquid chromatographic analysis, *J. Chromatogr.*, 192, 387-393).

20 El uso de metanol como medio de recrystalización como se describe en la bibliografía requerirá su posterior eliminación del producto. Se observa que la manipulación de sustancias tóxicas tales como metanol requiere instalaciones de fabricación especializadas, y cuando se aplica al procesamiento de alimentos, medidas sofisticadas de seguridad alimentaria.

25 También se observa que no se ha realizado ningún trabajo significativo para determinar el potencial de reb *B* como edulcorante o ingrediente alimentario. Además, el reb *B* a menudo se considera un artefacto del proceso y una impureza innecesaria en las preparaciones comerciales de glicósidos de esteviol. No se ha realizado ninguna evaluación significativa de la influencia de reb *B* sobre el perfil de sabor global de las preparaciones de glicósido de esteviol.

30 Se ha informado que la solubilidad en agua de reb *B* es de aproximadamente un 0,1% (Kinghorn A.D. (2002) *Constituents of Stevia rebaudiana* In *Stevia: The genus Stevia*, Kinghorn A.D. (Ed), Taylor & Francis, Londres, pág. 8). En muchos procesos alimentarios en los que se usan ingredientes altamente concentrados, será necesaria una forma altamente soluble de reb *B*.

Considerando los hechos mencionados anteriormente, existe la necesidad de evaluar reb *B* como edulcorante e ingrediente alimentario, y de desarrollar un proceso simple y eficaz para las preparaciones de reb *B* de grado alimentario adecuadas para aplicaciones alimentarias y de otro tipo.

35 Se observa adicionalmente que al tener un grupo carboxilo en la molécula se hace posible que reb *B* exista en forma de varias sales de carboxilato. Antes de esta invención, no se cree que se haya preparado una forma de sal de carboxilato diferente de reb *B*, o que se haya evaluado con respecto a su impacto en los perfiles de sabor.

Dentro de la descripción de esta invención, se demostrará que, cuando se aplican de manera específica, las sales de carboxilato de reb *B* pueden tener impacto sobre el perfil de sabor y ofrecer ventajas significativas para el uso de edulcorantes de estevia en varias aplicaciones.

40 **Sumario de la invención**

La presente invención se dirige a superar las desventajas de los edulcorantes de estevia existentes. La invención describe un proceso para la producción de un ingrediente alimenticio de alta pureza a partir del extracto de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni y el uso del mismo en diversos productos alimenticios y bebidas como edulcorante y modificador del sabor.

45 En la presente memoria se describe un ingrediente que comprende glicósidos de esteviol de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni. Los glicósidos de esteviol se seleccionan del grupo que consiste en esteviósido, rebaudiósido *A* (FIG. 1), rebaudiósido *B* (FIG. 2), rebaudiósido *C*, rebaudiósido *D*, rebaudiósido *E*, rebaudiósido *F*, dulcósido *A*, esteviolbiósido, rubusósido, así como otros glicósidos de esteviol hallados en la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, y mezclas de los mismos.

50 La invención, en parte, se refiere a un proceso para la producción de un ingrediente que contiene rebaudiósido *B* y esteviósido, rebaudiósido *A*, rebaudiósido *C*, rebaudiósido *D*, rebaudiósido *E*, rebaudiósido *F*, dulcósido *A*, esteviolbiósido, rubusósido, así como otros glicósidos de esteviol que se hallan en la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, y mezclas de los mismos.

En la invención se puede usar rebaudiósido *A* comercializado por PureCircle Sdn. Bhd. (Malasia), que contiene

rebaudiósido *A* (aproximadamente 95-100%), esteviósido (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *C* (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *F* (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *B* (aproximadamente 0,1-0,8%), rebaudiósido *D* (aproximadamente 0-1%) y otros glicósidos que forman un contenido total de glicósidos de esteviol de al menos un 95%, como material de partida. Alternativamente se pueden usar como materiales de partida extractos de estevia con diferentes proporciones de glicósidos de esteviol.

En una realización, el material de partida se somete a conversión parcial o total en reb *B* mediante el uso de un proceso de conversión alcalina. El reb *B* obtenido se transforma después en una forma de sal de carboxilato al interaccionar con la base respectiva. Estas formas de sal se usan de una manera similar al reb *B* "original" con un grupo carboxilo.

El reb *B* obtenido o sus formas de sal de carboxilato, y las mezclas de los mismos, se pueden someter a un tratamiento térmico adicional para incrementar la solubilidad.

Los productos obtenidos se pueden aplicar en varios alimentos y bebidas como edulcorantes, potenciadores de edulcorantes y modificadores de sabor, que incluyen refrescos, helados, galletas, pan, zumos de frutas, productos lácteos, alimentos horneados y productos de confitería.

Se debe entender que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada siguiente son ejemplares y explicativas, y pretenden proporcionar una explicación adicional de la invención según se reivindica.

Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos se incluyen para proporcionar una comprensión adicional de la invención. Los dibujos ilustran realizaciones de la invención y, junto con la descripción, sirven para explicar los principios de las realizaciones de la invención.

La FIG. 1 muestra la estructura química de rebaudiósido *A*.

La FIG. 2 muestra la estructura química de rebaudiósido *B*.

La FIG. 3 muestra un cromatograma de HPLC de una composición de estevia que comprende rebaudiósido *A* y rebaudiósido *B*.

Descripción detallada de la invención

Las ventajas de la presente invención serán más evidentes a partir de la descripción detallada proporcionada a continuación. Sin embargo, se debería entender que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones preferidas de la invención, se proporcionan a modo de ilustración solamente, ya que serán evidentes para las personas expertas en la técnica varios cambios y modificaciones dentro del alcance de la invención tal como se define mediante las reivindicaciones adjuntas a partir de esta descripción detallada.

Se puede usar como material de partida el rebaudiósido *A* comercializado por PureCircle Sdn. Bhd. (Malasia), que contiene rebaudiósido *A* (aproximadamente 95-100%), esteviósido (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *C* (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *D* (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *F* (aproximadamente 0-1%), rebaudiósido *B* (aproximadamente 0,1-0,8%) y otros glicósidos que forman un contenido total de glicósidos de esteviol de al menos aproximadamente el 95%. Alternativamente, se pueden usar como materiales de partida extractos de estevia con diferentes proporciones de glicósidos de esteviol.

El análisis mediante HPLC de los materiales de partida y los productos se puede llevar a cabo con un cromatógrafo de líquidos Agilent Technologies 1200 Series (EE.UU.) equipado con una columna Phenomenex Prodigy ODS3, 5 µm (4,6 x 250 mm) a 40 °C. La fase móvil fue una mezcla 32:68 de acetonitrilo y 10 mmol/l de tampón de fosfato de sodio (aproximadamente a pH 2,6) a 1 ml/min. Como detector se puede usar un detector de matriz de diodos ajustado a 210 nm. En la FIG. 3 se muestra un ejemplo de un cromatograma de HPLC así obtenido.

Tal como se usa en la presente memoria, a menos que se especifique de otra manera, "reb *B*" y "composición de reb *B*" se deben usar de manera intercambiable para referirse a rebaudiósido *B* o a rebaudiósido *B* purificado, en combinación con cualquier otra entidad química.

Preparación de reb *B*

1. Conversión Alcalina

Una manera de obtener reb *B* partiendo de reb *A* se describe como sigue. Se dispersa reb *A* en una solución alcalina acuosa. La concentración de reb *A* es de aproximadamente 0-50% (p/v), preferentemente de aproximadamente 10-25%. Los agentes alcalinos preferidos incluyen hidróxido de potasio e hidróxido de sodio, sin embargo se pueden usar también o alternativamente otros agentes capaces de incrementar el pH del medio por encima de aproximadamente pH 7. La concentración de los agentes alcalinos es de aproximadamente 0,05-2,0 M, preferentemente de aproximadamente 0,1-1,0 M. La mezcla se incubó aproximadamente a 10-150 °C,

preferentemente aproximadamente a 30-100 °C, durante un periodo de aproximadamente 0,5-48 hrs, preferentemente de aproximadamente 1-24 hrs. Como resultado, el reb A se hidroliza hasta reb B. El rendimiento molar de la conversión del reb B es de aproximadamente un 5-100%, preferentemente de aproximadamente un 10-90%.

- 5 Después de la reacción, el agente alcalino se neutraliza con un ácido, preferiblemente con ácido sulfúrico o ácido ortofosfórico hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 3,0-5,0, preferiblemente hasta que se alcanza un pH de aproximadamente 3,0-4,0. Tras la neutralización, se forma un precipitado. El precipitado se separa mediante cualquier método conocido en la técnica, tal como filtración o centrifugación, y se lava con agua hasta que el agua alcanza un pH de aproximadamente 4,0-5,0. El material cristalino obtenido se seca a vacío a aproximadamente 60-105 °C para producir una mezcla de reb A y reb B en una proporción de aproximadamente un 5%:95% a aproximadamente un 95%:5% (p/p), preferentemente aproximadamente un 50%:50% a aproximadamente un 90%:10% (p/p).

2. Purificación Opcional tras la Conversión

- 15 Para obtener el reb B purificado, en una realización, el precipitado separado descrito anteriormente se suspende en agua y la mezcla se somete a agitación continua durante aproximadamente 0,5-24 hrs, preferentemente durante aproximadamente 1-3 horas, a aproximadamente 50-100 °C, preferentemente a aproximadamente 60-80 °C. La proporción del precipitado respecto del agua (p/v) es de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 1:20, preferentemente de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:15. Los cristales lavados se separan y se secan a vacío a aproximadamente 60-105 °C para producir reb B con aproximadamente un 99% de pureza.

20 3. Potenciamiento Opcional de la Solubilidad tras la Conversión

- Se puede usar el siguiente procedimiento para incrementar la solubilidad en agua de reb B o cualquier composición de reb B. Las composiciones obtenidas tienen generalmente una solubilidad en agua de menos de aproximadamente un 0,2% (p/v). Para incrementar la solubilidad de estas composiciones, la composición de reb B se combina con el agua en una proporción de aproximadamente 1:1 (p/p), y la mezcla obtenida se somete a un tratamiento térmico en gradiente que da como resultado una disolución de alta estabilidad y alta concentración. Se usa un gradiente de aproximadamente 1 °C por minuto en el calentamiento de la mezcla. La mezcla se calienta a una temperatura de aproximadamente 110-140 °C, preferiblemente a aproximadamente 118-125 °C, y se mantiene a una temperatura máxima durante aproximadamente 0-120 min, preferiblemente aproximadamente 50-70 min. Después del tratamiento térmico, la disolución se enfría a temperatura ambiente en un gradiente de aproximadamente 1 °C por minuto. La disolución se seca mediante pulverización con un secador por pulverización de laboratorio que funciona a temperaturas de aproximadamente 175 °C en la entrada y aproximadamente 100 °C en la salida. Se obtiene una forma amorfa de la composición con más de aproximadamente un 20% de solubilidad en agua a temperatura ambiente.

Preparación de la Sal de reb B

- 35 El reb B obtenido mediante el uso de los procesos descritos anteriormente, o cualquier otro proceso, se puede convertir total o parcialmente en una forma de sal de carboxilato. El reb B, o una composición que contiene reb B, preferiblemente reb B con una pureza mayor del 90% (p/p), se dispersa en agua para producir una dispersión acuosa con un 5-50% (p/v), preferiblemente 5-15% de contenido de sólidos. Se añade base en exceso para lograr un nivel de pH de 6,5-14,0, preferiblemente 8,5-11,0. La mezcla obtenida se incuba durante 0,1 a 24 hrs, preferiblemente 1-3 hrs. Después, los sólidos suspendidos se separan mediante filtración y se lavan con agua hasta que alcanzar un pH neutro del agua de lavado. Alternativamente, se pueden usar otras reacciones capaces de convertir reb B en una forma de sal de carboxilato. Los cationes preferidos son K⁺ y Na⁺, y se usan las bases respectivas, KOH y NaOH. Sin embargo, se pueden preparar otras sales de carboxilato de reb B de una manera similar mediante el uso de la base correspondiente a la sal de carboxilato deseada.

- 45 La sal de carboxilato de reb B obtenida se puede purificar adicionalmente, y su solubilidad se puede potenciar como se describió anteriormente.

Aunque no se pretende limitarse por la teoría, se cree que cualquier glicósido de esteviol que tenga un grupo carboxilo se puede convertir en su forma de sal de carboxilato para mejorar el perfil de sabor y/o dulzura de la molécula. Otro ejemplo de un glicósido de esteviol que contiene un grupo carboxilo es esteviolbiónido.

50 Uso de la Sal de Carboxilato de Reb B

- La sal de carboxilato de reb B descrita anteriormente se puede usar como potenciador de dulzura, un potenciador del sabor y/o un edulcorante en varios productos alimenticios y bebidas. Algunos ejemplos no limitantes de productos alimenticios y bebidas incluyen refrescos carbonatados, bebidas listas para tomar, bebidas energéticas, bebidas isotónicas, bebidas bajas en calorías, bebidas con cero calorías, bebidas deportivas, tés, zumos de frutas y vegetales, bebidas de zumos, bebidas lácteas, bebidas de yogur, bebidas alcohólicas, bebidas en polvo, productos de pastelería, galletas, mezclas para hornear, cereales, pastelería, dulces, caramelos, chicles, productos lácteos, leche de sabores, yogures, yogures de sabores, leche fermentada, salsa de soja y otros productos basados en soja,

aliños para ensaladas, mayonesa, vinagre, postres congelados, productos cárnicos, productos cárnicos de pescado, bebidas embotelladas y enlatadas, edulcorantes de mesa, frutas y vegetales.

Además, las composiciones de sales de carboxilato de reb *B* se pueden usar en preparaciones de fármacos y farmacéuticas y cosméticos, que incluyen, pero sin limitación, pasta dentífrica, colutorio, jarabes para la tos, comprimidos masticables, pastillas, preparaciones de vitaminas, y similares.

Las composiciones se pueden usar como tal o en combinación con otros ingredientes edulcorantes, aromatizantes y alimentarios.

Los ejemplos no limitantes de edulcorantes incluyen glicósidos de esteviol, esteviósido, rebaudiósido *A*, rebaudiósido *B*, rebaudiósido *C*, rebaudiósido *D*, rebaudiósido *E*, rebaudiósido *F*, dulcósido *A*, esteviolbiósido, rubusósido, así como otros glicósidos de esteviol hallados en la planta de *Stevia rebaudiana* Bertoni, y mezclas de los mismos, extracto de estevia, extracto de Luo Han Guo, mogrósidos, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, jarabe de maíz, azúcar invertido, fructooligosacáridos, inulina, inulooligosacáridos, azúcar de acoplamiento, maltooligosacáridos, maltodextrinas, sólidos de jarabe de maíz, glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa, aspartamo, sacarina, sucralosa, alcoholes de azúcar.

Los ejemplos no limitantes de sabores incluyen sabores de limón, naranja, frutas, plátano, uva, pera, piña, almendra amarga, cola, canela, azúcar, algodón de azúcar, vainilla.

Los ejemplos no limitantes de otros ingredientes alimentarios incluyen aromatizantes, acidulantes, ácidos orgánicos y aminoácidos, agentes colorantes, agentes de carga, almidones modificados, gomas, texturizantes, conservantes, antioxidantes, emulsionantes, estabilizantes, espesantes, agentes gelificantes.

Los siguientes ejemplos ilustran varias realizaciones de la invención. Se entenderá que la invención no se limita a los materiales, proporciones, condiciones y procedimientos expuestos en los ejemplos, que son solamente ilustrativos.

EJEMPLO 1 Preparación de una composición de estevia

Se dispersaron 100 g de rebaudiósido *A* producido por PureCircle Sdn. Bhd (Malasia), que contiene un 98,1% de rebaudiósido *A*, 0,3% de esteviósido, 0,2 de rebaudiósido *C*, 0,2% de rebaudiósido *F*, 0,4% de rebaudiósido *B* y 0,6% de rebaudiósido *D* en 1000 mL de KOH acuoso (1 M), y se incubó a 50 °C durante 2 horas. La temperatura de la mezcla se disminuyó a 20 °C y el pH se ajustó a pH 4,0 con ácido sulfúrico. La disolución se mantuvo en condiciones de agitación moderada durante 4 horas, y se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó en el filtro con 2000 ml de agua. Los cristales lavados se secaron a vacío para producir 86 g de material que contuvo aproximadamente un 84% de reb *A* y un 16% de reb *B*. La solubilidad en agua (a 25 °C) del material obtenido fue de aproximadamente un 0,2% (p/v).

EJEMPLO 2 Preparación de una composición de estevia

Se dispersaron 100 g de rebaudiósido *A* producido por PureCircle Sdn. Bhd (Malasia), que contiene un 98,1% de rebaudiósido *A*, 0,3% de esteviósido, 0,2 de rebaudiósido *C*, 0,2% de rebaudiósido *F*, 0,4% de rebaudiósido *B* y 0,6% de rebaudiósido *D* en 1000 mL de KOH acuoso (1 M), y se incubó a 80 °C durante 5 horas. La temperatura de la mezcla se disminuyó a 20 °C y el pH se ajustó a aproximadamente pH 4,0 con ácido sulfúrico. La disolución se mantuvo en condiciones de agitación moderada durante 4 horas, y se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó en el filtro con 2000 ml de agua. Los cristales lavados se secaron a vacío para producir aproximadamente 75 g de un material que contuvo aproximadamente un 9% de reb *A* y aproximadamente un 91% de reb *B*. La solubilidad en agua (a 25 °C) del material obtenido fue de aproximadamente un 0,1% (p/v).

EJEMPLO 3 Preparación de una composición de estevia

Se dispersaron 100 g de rebaudiósido *A* producido por PureCircle Sdn. Bhd (Malasia), que contiene un 98,1% de rebaudiósido *A*, 0,3% de esteviósido, 0,2 de rebaudiósido *C*, 0,2% de rebaudiósido *F*, 0,4% de rebaudiósido *B* y 0,6% de rebaudiósido *D* en 1000 mL de KOH acuoso (1 M), y se incubó a 80 °C durante 7 horas. La temperatura de la mezcla se disminuyó a 20 °C y el pH se ajustó a aproximadamente pH 4,0 con ácido sulfúrico. La disolución se mantuvo en condiciones de agitación moderada durante 3-4 horas, y se formó un precipitado. El precipitado se filtró y se lavó en el filtro con 2000 ml de agua. Los cristales lavados se secaron a vacío para producir aproximadamente 71 g de un material que contenía aproximadamente un 99,1% de reb *B*. La solubilidad en agua (a 25 °C) del material obtenido fue de aproximadamente un 0,1% (p/v).

EJEMPLO 4 Preparación de reb *B*

Se suspendieron 75 g del material preparado según el EJEMPLO 2 en 1000 mL de agua. La temperatura de la mezcla se aumentó hasta 70 °C. La suspensión se mantuvo en condiciones de agitación moderada durante 4 horas. Los cristales se filtraron y se secaron a vacío para producir aproximadamente 65 g de un material que contenía aproximadamente un 99,0% de reb *B*. La solubilidad en agua (a 25 °C) del material obtenido fue de aproximadamente un 0,1% (p/v).

EJEMPLO 5 Preparación de una sal de carboxilato de reb B

Se suspendieron 100 g del reb B preparado de acuerdo con el EJEMPLO 4 en 1000 mL de agua. La suspensión se mantuvo en condiciones de agitación moderada a temperatura ambiente durante 1 hr. El pH de la mezcla se ajustó a pH 11,0 con una disolución de KOH 1 M. La mezcla obtenida se agitó durante 3 hrs. Los cristales se filtraron y se lavaron con agua en el filtro hasta que el agua de lavado alcanzó un pH neutro. El material cristalino obtenido se secó a vacío para producir aproximadamente 95 g de material. La solubilidad en agua (a 25 °C) del material obtenido fue de aproximadamente un 0,1% (p/v).

EJEMPLO 6 Preparación de una composición de estevia soluble

Se mezclaron 50 g del material preparado según el EJEMPLO 1 con 50 g de agua y se incubaron en un baño de aceite termostatzado. La temperatura se incrementó a 1 °C por minuto hasta 121 °C. La mezcla se mantuvo a 121 °C durante 1 hora y después la temperatura se redujo hasta la temperatura ambiente (25 °C) a 1 °C por minuto. La disolución se secó mediante un secador por pulverización de laboratorio YC-015 (Shanghai Pilotech Instrument & Equipment Co. Ltd., China) que funcionaba a una temperatura de 175 °C en la entrada y 100 °C en la salida. Se obtuvieron aproximadamente 47 g de un polvo amorfo con una solubilidad de aproximadamente un 25% (p/v) en agua (a 25 °C).

EJEMPLO 7 Preparación de una composición de estevia soluble

Se mezclaron 42 g del reb A producido por PureCircle Sdn. Bhd. (Malasia) con una pureza del 99,2% (base seca) y 8 g del reb B preparado según el EJEMPLO 4 con 50 g de agua, y se incubó en un baño de aceite termostatzado. La temperatura se incrementó a 1 °C por minuto hasta 121 °C. La mezcla se mantuvo a 121 °C durante 1 hora y después la temperatura se redujo hasta la temperatura ambiente (25 °C) a 1 °C por minuto. La disolución se secó mediante un secador por pulverización de laboratorio YC-015 (Shanghai Pilotech Instrument & Equipment Co. Ltd., China) que funcionaba a una temperatura de 175 °C en la entrada y 100 °C en la salida. Se obtuvieron aproximadamente 48 g de un polvo amorfo con una solubilidad de aproximadamente un 1,5% (p/v) en agua (a 25 °C).

EJEMPLO 8 Preparación de una composición de estevia soluble

Se mezclaron 42 g del reb A producido por PureCircle Sdn. Bhd. (Malasia) con una pureza del 99,2% (base seca) y 8 g de la sal de potasio de reb B preparada según el EJEMPLO 5 con 50 g de agua, y se incubó en un baño de aceite termostatzado. La temperatura se incrementó a 1 °C por minuto hasta 121 °C. La mezcla se mantuvo a 121 °C durante 1 hora y después la temperatura se redujo hasta la temperatura ambiente (25 °C) a 1 °C por minuto. La disolución se secó mediante un secador por pulverización de laboratorio YC-015 (Shanghai Pilotech Instrument & Equipment Co. Ltd., China) que funcionaba a una temperatura de 175 °C en la entrada y 100 °C en la salida. Se obtuvieron aproximadamente 49 g de un polvo amorfo con una solubilidad de aproximadamente un 2,5% (p/v) en agua (a 25 °C).

EJEMPLO 9 Bebida de jugo de naranja baja en calorías

Se mezcló concentrado de naranja (35%), ácido cítrico (0,35%), ácido ascórbico (0,05%), colorante rojo anaranjado (0,01%), aroma de naranja (0,20%) y un 0,05% de la composición de estevia, y se disolvieron completamente en agua (hasta el 100%) y se pasteurizaron. La composición de estevia se seleccionó de un extracto de estevia comercial (que contenía esteviósido al 26%, rebaudiósido A al 55%, y 16% de otros glicósidos), un rebaudiósido A comercial (que contenía un 98,2% de reb A) o un material obtenido de acuerdo con el EJEMPLO 7 y el EJEMPLO 8.

Las evaluaciones sensoriales de las muestras se resumen en la Tabla 1. Los datos muestran que se pueden obtener los mejores resultados mediante el uso de la composición obtenida según el EJEMPLO 8. En particular, las bebidas preparadas con dicha composición mostraron un perfil de sabor y una sensación en la boca redondos y completos.

Tabla 1

Evaluación de las muestras de bebida de zumo de naranja

Muestra	Comentarios		
	Sabor	Regusto	Sensación en la boca
Extracto de estevia	Dulce, notas de regaliz	Amargor y con regusto	No aceptable
Reb A	Dulce, ligeras notas de regaliz	Ligero amargor y con regusto	No aceptable

EJEMPLO 7	Dulzura de alta calidad, sabor agradable casi similar al de la sacarosa, sabor bastante redondo y equilibrado	Limpio, casi sin amargor y ligero regusto	Completa
EJEMPLO 8	Dulzura de alta calidad, un sabor agradable similar al de la sacarosa, sabor redondo y equilibrado	Limpio, sin amargor ni regusto	Completa

Puede usarse el mismo método para la preparación de zumos y de bebidas de zumos a partir de otras frutas, tales como manzanas, limones, albaricoques, cerezas, piñas, mangos, etc.

EJEMPLO 10 Bebida carbonatada con cero calorías

- 5 Se prepararon bebidas carbonatadas hechas de acuerdo con las fórmulas presentadas en la Tabla 2.

Tabla 2

Fórmulas de las bebidas carbonatadas

Ingredientes	Cantidad, %			
	Extracto de estevia	Reb A	EJEMPLO 7	EJEMPLO 8
Aroma de cola	0,340	0,340	0,340	0,340
Ácido ortofosfórico	0,100	0,100	0,100	0,100
Citrato de sodio	0,310	0,310	0,310	0,310
Benzoato de sodio	0,018	0,018	0,018	0,018
Ácido cítrico	0,018	0,018	0,018	0,018
Composición de estevia	0,050	0,050	0,050	0,050
Agua carbonatada	hasta 100	hasta 100	hasta 100	hasta 100

Las propiedades sensoriales las evaluaron 20 panelistas. Los resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3

Evaluación de las muestras de bebida carbonatada con cero calorías

Atributo de sabor	Número de panelistas que detectaron el atributo			
	Extracto de estevia	Reb A	EJEMPLO 7	EJEMPLO 8
Sabor amargo	15	10	2	0
Sabor astringente	16	9	1	0
Regusto	14	12	2	0
Comentarios				
Calidad del sabor dulce	Regusto amargo (15 de 20)	Regusto amargo (10 de 20)	Limpio (17 de 20)	Limpio (20 de 20)
Evaluación global	Satisfactorio (1 de 20)	Satisfactorio (5 de 20)	Satisfactorio (16 de 20)	Satisfactorio (20 de 20)

10

Los resultados anteriores muestran que las bebidas preparadas mediante el uso de la composición obtenida según el EJEMPLO 8 poseyeron las mejores características organolépticas.

EJEMPLO 11 Galletas de dieta

5 Se amasaron bien harina (50,0%), margarina (30,0%) fructosa (10,0%), maltitol (8,0%), leche entera (1,0%), sal (0,2%), levadura en polvo (0,15%), vainillina (0,1%) y diferentes composiciones de estevia (0,03%) en una máquina amasadora. La masa obtenida se moldeó y se horneó en un horno a 200 °C durante 15 minutos. Las composiciones de estevia se seleccionaron de un extracto de estevia comercial (que contenía un 26% de esteviósido, un 55% de rebaudiósido A, y un 16% de otros glicósidos), un rebaudiósido A comercial (que contenía un 98,2% de reb A) y el material obtenido de acuerdo con el EJEMPLO 7 y el EJEMPLO 8.

Las propiedades sensoriales las evaluaron 20 panelistas. Los mejores resultados se obtuvieron con las muestras que contuvieron la composición obtenida según el EJEMPLO 8. Los panelistas apreciaron un perfil de sabor y una sensación en la boca redondos y completos.

10 EJEMPLO 12 Yogur

15 Se disolvieron diferentes composiciones de estevia (0,03%) y sacarosa (4%) en leche baja en grasa. Las composiciones de estevia se seleccionaron de un extracto de estevia comercial (que contenía un 26% de esteviósido, un 55% de rebaudiósido A, y un 16% de otros glicósidos), un rebaudiósido A comercial (que contenía un 98,2% de reb A) y el material obtenido de acuerdo con el EJEMPLO 7 y el EJEMPLO 8. Después de pasteurizar a 82 °C durante 20 minutos, la leche se enfrió a 37 °C. Se añadió un cultivo de partida (3%) y la mezcla se incubó a 37 °C durante 6 horas, después a 5 °C durante 12 horas.

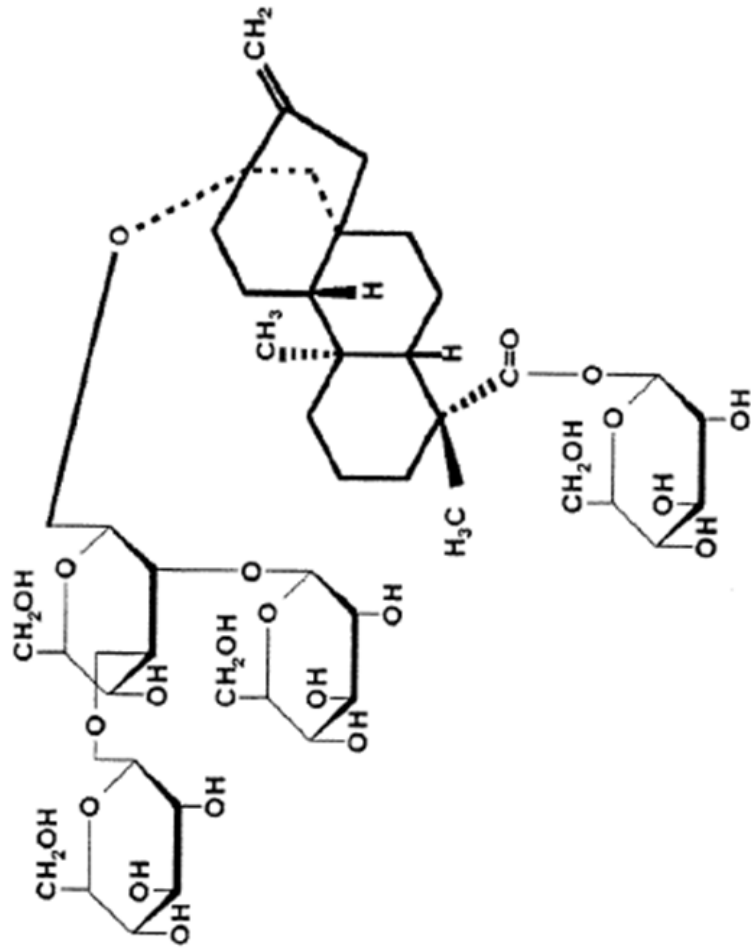
Las propiedades sensoriales las evaluaron 20 panelistas. Los mejores resultados se obtuvieron con las muestras que contenían la composición obtenida según el EJEMPLO 8. Los panelistas apreciaron un perfil de sabor y una sensación en la boca redondos y completos.

20 Se debe apreciar que las anteriores descripciones y realizaciones específicas mostradas en la presente memoria son meramente ilustrativas del mejor modo de la invención y de los principios de la misma, y que los expertos en la técnica pueden realizar fácilmente modificaciones y adiciones sin alejarse del alcance de la invención, que por lo tanto se entiende que está limitada únicamente por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

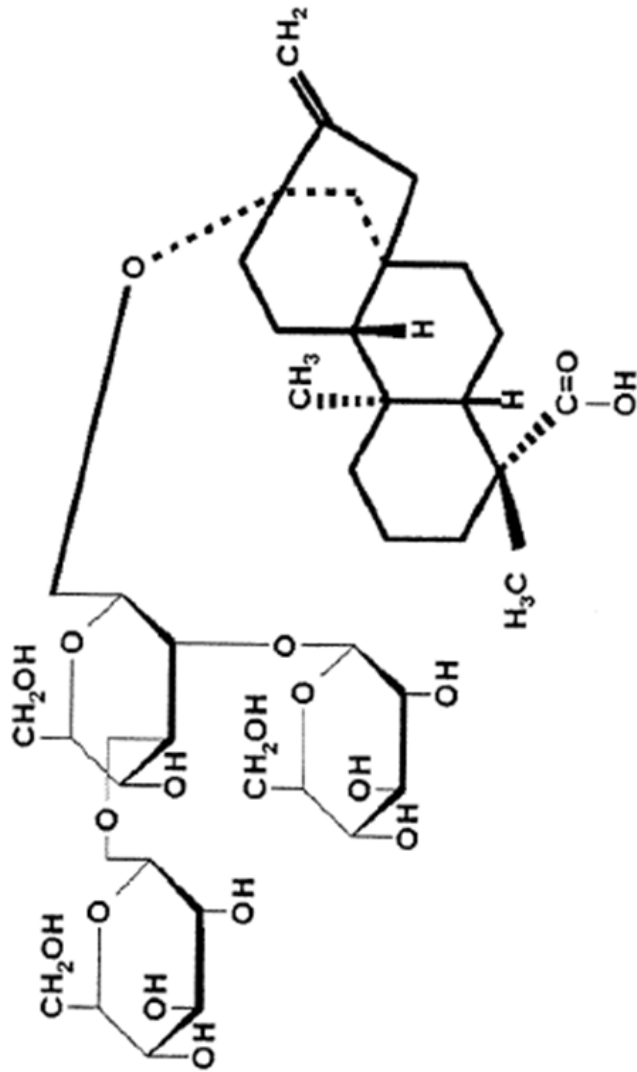
1. Un proceso para la producción de una composición de estevia que comprende rebaudiósido B, que comprende las etapas de:
- proporcionar un edulcorante de estevia, en el que el edulcorante de estevia comprende rebaudiósido A;
- 5 proporcionar una disolución acuosa alcalina;
- dispersar el edulcorante de estevia en la disolución alcalina e incubar durante aproximadamente 12 a 48 horas a aproximadamente 55-75 °C para formar una mezcla;
- enfriar la mezcla hasta aproximadamente 10-30 °C y ajustar el pH con ácido a un pH de aproximadamente 3,0-4,0;
- incubar la mezcla a baja temperatura para obtener un precipitado;
- 10 separar el precipitado y lavarlo con agua; y
- secar el precipitado lavado para obtener la composición de estevia;
- y el método comprende además las etapas de:
- dispersar la composición de estevia en agua para formar una mezcla;
- añadir una base a la mezcla;
- 15 incubar la mezcla para facilitar al menos una conversión parcial de los grupos carboxilo del rebaudiósido B en una sal de carboxilato para producir una sal de carboxilato de rebaudiósido B; y
- separar y secar la composición de estevia que comprende la sal de carboxilato de rebaudiósido B.
2. El proceso de la reivindicación 1, que comprende antes de las etapas de producción de una sal de carboxilato de rebaudiósido B las etapas adicionales de:
- 20 suspender la composición de estevia en agua e incubar a una temperatura elevada durante aproximadamente 1-3 horas, en el que la temperatura elevada es una temperatura de aproximadamente 50 a 100 °C;
- separar la composición de estevia del agua y secar la composición de estevia para obtener una composición de estevia purificada;
- 25 en el que la composición de estevia purificada comprende rebaudiósido B con una pureza mayor de aproximadamente un 99%.
3. El proceso de la reivindicación 1, que comprende antes de las etapas de producción de una sal de carboxilato de rebaudiósido B las etapas adicionales de:
- suspender la composición de estevia en agua para formar una suspensión;
- aumentar la temperatura de la suspensión mediante un método de calentamiento en gradiente;
- 30 mantener la suspensión a una temperatura elevada, en el que la temperatura elevada es una temperatura de aproximadamente 110 a 140 °C;
- disminuir la temperatura de la suspensión a temperatura ambiente mediante un método de enfriamiento en gradiente de 1 °C por minuto para obtener una disolución de composición de estevia de estabilidad elevada y de concentración elevada; y
- 35 secar mediante pulverización la disolución de la composición de estevia de estabilidad elevada y de concentración elevada para proporcionar una composición de estevia muy soluble.

FIG. 1



Rebaudiósido A

FIG. 2



Rebaudiósido B

FIG. 3

