



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 10 161 T2** 2007.09.20

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 362 869 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 10 161.5**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 009 859.4**

(96) Europäischer Anmeldetag: **14.05.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **19.11.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **06.12.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **20.09.2007**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **C08B 30/00** (2006.01)

**C08B 30/12** (2006.01)

**C08B 30/20** (2006.01)

(30) Unionspriorität:

**145186 14.05.2002 US**

(73) Patentinhaber:

**National Starch and Chemical Investment Holding Corporation, New Castle, Del., US**

(74) Vertreter:

**Meissner, Bolte & Partner GbR, 81679 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR**

(72) Erfinder:

**Shi, Yong-cheng, Hillborough, New Jersey 08844, US; Cui, Xiaoyuan, Belle Mead, New Jersey 08502, US; Birkett, Anne M., Somerville, New Jersey 08876, US; Thatcher, Michael G., Bridgewater, New Jersey, US**

(54) Bezeichnung: **Herstellung von resistenter Stärke durch Isoamylasespaltung von Stärke mit niedrigem Gehalt an Amylose**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung****HINTERGRUND DER ERFINDUNG**

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft eine resistente Stärke, welche durch Spaltung der Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose in Bezug auf die Verzweigung mittels Isoamylase hergestellt wird, um eine Zusammensetzung mit einer vollständig linearen, kurzen Kette aus  $\alpha$ -Glucan zu bilden, und ihre Verwendung.

**[0002]** Stärke, ein komplexes Kohlenhydrat, ist aus zwei Arten von Polysaccharid-Molekülen zusammengesetzt, Amylose, ein größtenteils lineares und flexibles Polymer aus D-Anhydroglucose-Einheiten, die über  $\alpha$ -1,4-D-glykosidische Bindungen verbunden sind, und Amylopectin, ein verzweigtes Polymer von linearen Ketten, die über  $\alpha$ -1,6-D-glykosidische Bindungen verbunden sind. Stärke wird überwiegend im Dünndarm durch das Enzym  $\alpha$ -Amylase verdaut.

**[0003]** Es ist bekannt, dass bestimmte Stärke-verarbeitende Verfahrensschritte zu einer Umsetzung der Stärke in eine Stärke führen, die gegenüber der enzymatischen Hydrolyse innerhalb des Dünndarms resistent ist, und einfach als resistente Stärke bekannt ist. Resistente Stärke widersteht der Verdauung und der Absorption im Dünndarm und gelangt in den Dickdarm, wo sie durch die mikrobielle Darmflora zu kurzkettigen Fettsäuren, insbesondere Butyrat, und Gasen fermentiert wird.

**[0004]** Die Forschungsliteratur weist darauf hin, dass diese Fermentation der resistenten Stärke durch die mikrobielle Darmflora zahlreiche nützliche Wirkungen aufweist, und dass sie somit sowohl für Nahrungsmittel- als auch für Arzneimittel-Anwendungen nützlich sein würde.

**[0005]** Resistente Stärke kann in Nahrungsmitteln, einschließlich medizinischer Nahrungsmittel und diätetischer Nahrungsergänzungsmittel, verwendet werden, um die Gesundheit der Darmflora und die Unversehrtheit der Schleimhaut zu erhalten. Resistente Stärke ist als ein Präbiotikum bekannt. Da sie darüber hinaus nicht verstoffwechselt wird, bis sie den Dickdarm erreicht hat, wo sie zu kurzkettigen Fettsäuren fermentiert wird, weist resistente Stärke einen reduzierten Kalorienwert auf. Die Reduktion bezüglich der verfügbaren oder glycemischen Kohlenhydrate im Dünndarm wurde mit einer verbesserten Kontrolle der Blutglukose und des Insulins in Zusammenhang gebracht, einhergehend mit Vorteilen für die Kontrolle des Körpergewichts. Die Forschung weist ebenso darauf hin, dass resistente Stärken zu einer Aufrechterhaltung eines gesunden Immunsystems im Menschen beitragen können.

**[0006]** Resistente Stärke kann ebenso als ein Arzneimittel verwendet werden. Es wurde mit einem verminderten Risiko für verschiedene Dünndarmerkrankungen in Zusammenhang gebracht, einschließlich eines verminderten Auftretens von Krebs. Darüber hinaus kann resistente Stärke das Risiko einer Reihe von Stoffwechselstörungen reduzieren, die mit dem Syndrom X einhergehen, einschließlich einer Insulinresistenz, Hyperglykämie, Hyperinsulinämie, Dyslipidämie, Dysfibrinolyse, Diabetes, Bluthochdruck sowie Herz- und Gefäßerkrankungen. Sie kann ebenso nützlich sein für die Behandlung der Fettleibigkeit.

**[0007]** Resistente Stärke (RS) wurde in der Literatur in vier Kategorien eingeteilt, in Abhängigkeit von den Ursachen der Resistenz. RS1 ist eine physikalisch unzugängliche Stärke aufgrund des Einbaus von Körnern in eine Proteinmatrix oder in eine pflanzliche Zellwand. RS2 ist eine kornartige Stärke, die der Verdauung durch  $\alpha$ -Amylase aus der Bauchspeicheldrüse widersteht. RS3 ist eine retrograde, nicht kornartige Stärke oder Stärkenahrung. RS4 ist eine resistente Stärke, welche andere Verknüpfungen aufweist als  $\alpha$ -1,4- und  $\alpha$ -1,6-D-glykosidische Bindungen.

**[0008]** Es wurden zahlreiche Verfahren zur Herstellung der verschiedenen Arten von resistenter Stärke beschrieben. Diese umfassen US 5,593,503, welches Verfahren zur Herstellung einer kornartigen, resistenten Stärke beschreibt; sowie die US-Patente Nr. 5,281,276 und 5,409,542, welche Verfahren zur Herstellung resistenter Stärken des RS3-Typus beschreiben, welche alle von Stärken mit einem hohen Gehalt an Amylose ausgehen. US 5,855,946 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung einer resistenten Stärke vom RS4-Typ durch Vernetzung und Phosphorylierung von Stärke. US 6,043,229 offenbart eine teilweise abgebaute und retrograde resistente Stärke. EP 1 088 832 und US 2003/054,501 offenbaren weitere Verfahren zur Herstellung resistenter Stärken.

**[0009]** Es wurde überraschenderweise entdeckt, dass vollständig lineare, kurzkettige  $\alpha$ -1,4-Glucane, welche hochkristallin sind, zu einer Stärke führen, welche dem Abbau durch Amylase widersteht.

## ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0010]** Dieses Patent erstreckt sich auf eine resistente Stärke, die durch eine in Bezug auf die Verzweigung vollständige Spaltung einer Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose unter Verwendung von Isoamylase hergestellt wird. Solche resistenten Stärken sind nützlich für essbare Produkte, einschließlich Nahrungsmittel-Ergänzungsprodukte.

**[0011]** Unter dem Begriff „Dextrose-Äquivalent“, wie er hier verwendet wird, wird die reduzierende Kraft des Hydrolysats verstanden. Jedes Stärkemolekül besitzt ein reduzierendes Ende; daher steht das Dextrose-Äquivalent in einer umgekehrten Beziehung zum Molekulargewicht. Das Dextrose-Äquivalent von wasserfreier D-Glucose wird als 100 definiert, und das Dextrose-Äquivalent von unhydrolysierter Stärke ist praktisch Null.

**[0012]** Der Ausdruck „in Bezug auf die Verzweigung gänzlich oder vollständig gespaltene Stärke“, wie er hier verwendet wird, bzw. eine gänzlich oder vollständig entzweigte Stärke soll eine Stärke bezeichnen, welche theoretisch 100 Gew.-% einer kurzkettigen Amylose umfasst, und in der Praxis bezeichnet er eine Stärke, die in Bezug auf die Verzweigung so hochgradig gespalten ist, dass eine weitere Enzymaktivität keine messbare Veränderung im Prozentsatz der kurzkettigen Amylose hervorruft.

**[0013]** Der Ausdruck „Präbiotikum“, wie er hier verwendet wird, soll eine resistente Stärke bezeichnen, die den Wirt günstig beeinflusst, indem sie das Wachstum und/oder die Aktivität von einer Anzahl oder einer begrenzten Anzahl von Bakterien im Dünndarm anregt, und somit die Gesundheit des Wirts steigert.

**[0014]** Der Ausdruck „resistente Stärke“, wie er hier verwendet wird, soll die Summe der Stärke und der Produkte des Stärkeabbaus bezeichnen, die im Dünndarm von gesunden Einzelpersonen nicht absorbiert werden.

**[0015]** Der Ausdruck „kurzkettige Amylose“, wie er hier verwendet wird, betrifft lineare Polymere, die etwa 5 bis 65 Anhydroglukose-Einheiten enthalten, welche durch  $\alpha$ -1,4-D-glykosidische Bindungen verknüpft sind.

## GENAUE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0016]** Dieses Patent erstreckt sich auf eine resistente Stärke, die durch eine in Bezug auf die Verzweigung vollständige Spaltung einer Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose unter Verwendung von Isoamylase hergestellt wird. Solche resistenten Stärken sind nützlich in essbaren Produkten, einschließlich von Nahrungsmittel-Ergänzungsprodukten.

**[0017]** Der Ausdruck „Stärke“, wie er hier verwendet wird, soll alle Stärken umfassen, die von einer beliebigen nativen Quelle stammen, von denen jede für die Verwendung im Sinne der Patentschrift geeignet sein kann. Eine native Stärke, wie sie hier verwendet wird, ist eine, wie sie in der Natur gefunden wird. Ebenso geeignet sind Stärken, die von einer Pflanze stammen, welche durch Standard-Zuchtverfahren, einschließlich Rassenkreuzung, Translokation, Inversion, Transformation oder ein beliebiges anderes Verfahren der Gen- oder Chromosomen-Manipulation erhalten wurde, um Variationen derselben zu umfassen. Darüber hinaus ist eine Stärke, die von einer Pflanze stammt, welche ausgehend von künstlichen Mutationen und Variationen der vorstehenden gewöhnlichen Zusammensetzung gezüchtet wurde, welche Zusammensetzung durch bekannte Standardverfahren der Mutationszucht hergestellt werden kann, hier ebenfalls geeignet.

**[0018]** Typische Quellen für Stärken sind Getreide, Knollen, Wurzeln, Gemüse und Obst. Die natürliche Quelle kann eine wachsartige Varietät von Korn (Mais), Erbse, Kartoffel, Süßkartoffel, Banane, Gerste, Weizen, Reis, Hafer, Sago, Amaranth, Maniok (Tapioka), Pfeilwurz, Blumenrohr (Canna) und Hirse, insbesondere Mais, Kartoffel, Maniok (Cassava) und Reis, noch stärker bevorzugt Mais oder Kartoffel, Maniok (Cassava) und Reis sein. Der Ausdruck „wachsartig“ oder „niederer Gehalt an Amylose“, wie er hier verwendet wird, soll eine Stärke umfassen, die nicht mehr als etwa 10 Gew.-% Amylose enthält. Insbesondere geeignet im Sinne der Erfindung sind jene Stärken, welche nicht mehr als etwa 5 Gew.-% Amylose enthalten.

**[0019]** Die Stärke wird durch Isoamylase vollständig hydrolysiert. Die enzymatische Hydrolyse der Stärkenbase wird durch den Einsatz von Verfahren durchgeführt, die im Stand der Technik bekannt sind. Die Menge des verwendeten Enzyms ist abhängig von der Enzymquelle und der Aktivität und von dem verwendeten Basismaterial. Üblicherweise wird das Enzym in einer Menge von etwa 0,05 bis etwa 2% verwendet, insbesondere von etwa 0,1 bis etwa 0,4%, bezogen auf das Gewicht der Stärke.

**[0020]** Die optimalen Parameter für die Enzymaktivität werden in Abhängigkeit von dem verwendeten Enzym

schwanken. Die Geschwindigkeit des Abbaus durch das Enzym hängt von Faktoren ab, die im Stand der Technik bekannt sind, einschließlich der Enzymkonzentration, der Substratkonzentration, dem pH-Wert, der Temperatur, des Vorhandenseins oder des Fehlens von Inhibitoren, und des Ausmaßes und der Art der Modifikation, wenn überhaupt. Diese Parameter können so eingestellt werden, um die Abbaugeschwindigkeit der Stärkebasis zu optimieren.

**[0021]** Die Stärke wird vor der Hydrolyse mittels Isoamylase durch den Einsatz von Verfahren, die im Stand der Technik bekannt sind, geliert. Die Verfahren, welche im Stand der Technik bekannt sind, umfassen ohne eine Begrenzung solche, die zum Beispiel in den US-Patentschriften Nr. 4,465,702, 5,037,929, 5,131,953 und 5,149,799 offenbart sind. Siehe auch Kapitel XXII „Production and Use of Pregelatinized Starch“, Starch: Chemistry and Technology, Vol. III, Industrial Aspects, R. L. Whistler und E. F. Paschall, Editors, Academic Press, New York, 1967. Das Gelierv Verfahren entfaltet die Stärkemoleküle ausgehend von der kornartigen Struktur, und erlaubt es dadurch dem Enzym, die Stärkemoleküle leichter und gleichmäßiger abzubauen.

**[0022]** Im Allgemeinen wird die Enzymbehandlung in einem wässrigen oder gepufferten Brei bei einem Gehalt an fester Stärke von etwa 10 bis etwa 40% durchgeführt, in Abhängigkeit von der zu behandelnden Basisstärke. Ein Gehalt an Feststoffen von etwa 15 bis 35% ist in der vorliegenden Erfindung besonders nützlich, ein Gehalt von etwa 18 bis 30% ist noch mehr nützlich. Als Alternative kann in diesem Verfahren ein Enzym verwendet werden, welches auf einem festen Träger immobilisiert ist.

**[0023]** Üblicherweise wird der Abbau durch das Enzym bei den höchsten Konzentrationen an Feststoffen durchgeführt, bei denen ein Abbau ohne Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeiten möglich ist, um ein beliebiges gewünschtes, nachfolgendes Trocknen der Stärkezusammensetzung zu erleichtern. Die Reaktionsgeschwindigkeiten können durch einen hohen Gehalt an Feststoffen herabgesetzt werden, da das Rühren schwierig und ineffizient wird, und die Stärkedispersion noch schwieriger zu handhaben ist.

**[0024]** Der pH-Wert und die Temperatur des Breis sollten so eingestellt werden, dass sie eine wirksame Hydrolyse durch das Enzym ergeben. Diese Parameter sind von dem zu verwendenden Enzym abhängig, und sie sind im Stand der Technik bekannt. Im Allgemeinen wird eine Temperatur von etwa 25 bis etwa 70°C verwendet, insbesondere von etwa 50 bis etwa 60°C. Im Allgemeinen wird der pH-Wert auf etwa 3,0 bis etwa 6,0 eingestellt, insbesondere auf etwa 3,5 bis etwa 4,5, durch den Einsatz von Verfahren, die im Stand der Technik bekannt sind.

**[0025]** Die Enzymreaktion wird fortgeführt, bis die Stärke in Bezug auf die Verzweigung vollständig gespalten ist. Im Allgemeinen wird die Enzymreaktion von etwa 1 bis etwa 24 Stunden dauern, insbesondere von etwa 4 bis etwa 12 Stunden. Die Reaktionszeit ist abhängig von der Art der verwendeten Stärke, der Menge des verwendeten Enzyms, und den Reaktionsparametern des Feststoffgehalts, des pH-Werts und der Temperatur.

**[0026]** Das Ausmaß der Hydrolyse kann mittels Verfahren, die im Stand der Technik gut bekannt sind, durch Messung der Konzentration der reduzierenden Gruppen, welche durch die Aktivität der  $\alpha$ -1,6-D-Glucanohydrolase freigesetzt werden, beobachtet und bestimmt werden. Andere Verfahren, wie zum Beispiel die Beobachtung der Veränderung bezüglich der Viskosität, die Iod-Reaktion, oder die Veränderung in Bezug auf das Molekulargewicht können herangezogen werden, um den Endpunkt der Reaktion zu bestimmen. Wenn die Stärke in Bezug auf die Verzweigung vollständig gespalten ist, wird sich die beobachtete Messgröße nicht länger verändern. Üblicherweise wird die Stärke in Bezug auf die Verzweigung vollständig gespalten, wenn sie zu mindestens etwa 95 Gew.-%, stärker bevorzugt zu mindestens etwa 98 Gew.-%, am meisten bevorzugt zu mindestens etwa 99 Gew.-% gespalten ist. Die in Bezug auf die Verzweigung gespaltene Stärke wird üblicherweise eine durchschnittliche Kettenlänge von 14 bis 25 Glukoseeinheiten aufweisen, und weniger als etwa 0,2%, insbesondere weniger als etwa 0,1%  $\alpha$ -1,6-D-glykosidische Bindungen (Verknüpfungen) aufweisen.

**[0027]** Gegebenenfalls kann das Enzym durch ein beliebiges Verfahren deaktiviert (denaturiert) werden, das im Stand der Technik bekannt ist, wie zum Beispiel eine Deaktivierung durch Hitze, Säure oder Base. Zum Beispiel kann eine Deaktivierung durch Säure durch Einstellung des pH-Werts auf weniger als 3,0 für mindestens 30 Minuten bewerkstelligt werden, und eine Deaktivierung durch Hitze kann durch Erhöhung der Temperatur auf den Bereich von etwa 80 bis etwa 90°C bewerkstelligt werden, und indem die Reaktionsmischung bei dieser Temperatur für mindestens etwa 20 Minuten gehalten wird, um das Enzym vollständig zu deaktivieren.

**[0028]** Die Stärken können entweder vor oder nach der Spaltung in Bezug auf die Verzweigung durch Isoamylase umgesetzt werden, und es ist vorgesehen, dass sie fluide oder dünn kochende Stärken (thin-boiling starches) umfassen, welche durch Oxidation, Hydrolyse mittels Säure, Hitze und/oder Dextrinisierung mittels

Säure hergestellt werden. Diese Verfahren sind im Stand der Technik gut bekannt.

**[0029]** Darüber hinaus kann die Stärke entweder vor oder nach der enzymatischen Hydrolyse modifiziert werden. Eine solche Modifikation kann physikalischer, enzymatischer oder chemischer Natur sein. Die physikalische Modifikation umfasst eine Belastung durch Scherkräfte oder eine thermische Inhibition, zum Beispiel durch das im US-Patent Nr. 5,725,676 beschriebene Verfahren.

**[0030]** Die Stärke kann chemisch modifiziert werden, einschließlich einer Vernetzung, einer Acetylierung und einer organischen Veresterung, einer Hydroxyethylierung und einer Hydroxypropylierung, einer Phosphorylierung und einer anorganischen Veresterung, ferner umfasst die chemische Modifikation kationische, anionische, nicht ionische und zwitterionische Derivate derselben sowie Succinate und substituierte Succinat-Derivate derselben; die Verfahren und Derivate sind jedoch nicht auf die genannten beschränkt. Solche Modifikationen sind im Stand der Technik bekannt, zum Beispiel in *Modified Starches: Properties and Uses*, Ed. Wurzburg, CRC Press, Inc., Florida, 1986.

**[0031]** Jede Stärkebasis mit geeigneten Eigenschaften für die vorliegende Verwendung kann durch ein beliebiges, im Stand der Technik bekanntes Verfahren gereinigt werden, um Fremdaromen und Farbstoffe der Stärke zu entfernen, welche natürlicherweise in dem Polysaccharid vorkommen oder während des Verfahrens entstehen. Geeignete Reinigungsverfahren zur Behandlung von Stärken sind in der durch EP 554 818 (Kasica et al.) dargestellten Patentfamilie offenbart. Verfahren einer alkalischen Wäsche sind ebenso nützlich und sind in den durch US 4,477,480 (Seidel) und 5,187,272 (Bertalan et al.) dargestellten Patentfamilien beschrieben. Die in Bezug auf die Verzweigung gespaltene Stärke kann ebenso durch solche Verfahren gereinigt werden.

**[0032]** Die erhaltene Lösung wird üblicherweise auf den gewünschten pH-Wert entsprechend der vorgesehenen Endanwendung eingestellt. Im Allgemeinen wird der pH-Wert auf einen Bereich von etwa 5,0 bis etwa 7,5, insbesondere von etwa 6,0 bis etwa 7,0 eingestellt, wobei Verfahren verwendet werden, die im Stand der Technik bekannt sind. Darüber hinaus kann eine beliebige kurzkettige Amylose, welche aus der Stärkedispersion ausgefallen ist, redispersiert werden. Falls eine Reinigung der in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärkezusammensetzung gewünscht wird, können die Verunreinigungen aufgrund der Reaktion sowie die Nebenprodukte durch Dialyse, Filtration, Zentrifugation, sowie ein beliebiges anderes, im Stand der Technik bekanntes Verfahren für die Isolierung und Konzentrierung von Stärkezusammensetzungen entfernt werden. Zum Beispiel kann die abgebaute Stärke unter Verwendung von Verfahren gewaschen werden, die im Stand der Technik bekannt sind, um lösliche Fraktionen mit einem niedrigen Molekulargewicht, wie zum Beispiel Oligosaccharide, zu entfernen, so dass sich eine höher kristalline Stärke ergibt.

**[0033]** Die in Bezug auf die Verzweigung gespaltene Stärke lässt man durch Verfahren kristallisieren, die im Stand der Technik bekannt sind, zum Beispiel indem man die Stärke stehen lässt und sich zurückbilden lässt. Die Stärke wird anschließend unter Verwendung von im Stand der Technik bekannten Verfahren zurückgewonnen, insbesondere durch Filtration oder durch Trocknung, einschließlich der Sprühtrocknung, der Gefriertrocknung, der Flockentrocknung oder der Lufttrocknung, insbesondere bevorzugt durch Filtration oder Flockentrocknung. Es ist wichtig, die Kristallisation zu kontrollieren, üblicherweise durch Kontrolle der Retrogradation und der Trocknung, um einen hohen Grad an Kristallinität zu erhalten, der für die vorliegende Erfindung wesentlich ist. Es ist darüber hinaus wichtig, dass das Verfahren der Trocknung und der anderen, sich an die Kristallisation anschließenden Verfahren die Kristalle nicht wesentlich zerstören.

**[0034]** Die erhaltene, in Bezug auf die Verzweigung gespaltene Stärke liegt in Form hochgradig kristalliner, kurzkettiger Amylose aus in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärke vor, und ist in einzigartiger Weise funktionell als eine resistente Stärke. Die Stärke wird durch einen Gehalt an resistenter Stärke von mindestens etwa 70 Gew.-%, insbesondere von mindestens etwa 75 Gew.-% gekennzeichnet, wobei die nachfolgend beschriebenen Verfahren eingesetzt werden.

**[0035]** Die Stärke wird ebenso durch einen Scheitelwert der Schmelzpunkttemperatur ( $T_p$ ), wie er durch DSC durch den Einsatz des nachfolgend beschriebenen Verfahrens gemessen wird, von mindestens etwa 90°C, stärker bevorzugt von mindestens etwa 100°C, am meisten bevorzugt von mindestens etwa 110°C gekennzeichnet. Die Stärke wird ebenso durch eine Enthalpie ( $\Delta H$ ), wie sie durch DSC durch den Einsatz des nachfolgend beschriebenen Verfahrens gemessen wird, von mindestens etwa 25 J/g, insbesondere von mindestens etwa 30 J/g gekennzeichnet. Solche DSC-Werte sind ein Hinweis auf eine hochgradig kristalline Natur des Produkts.

**[0036]** Die in Bezug auf die Verzweigung gespaltene Stärke wird darüber hinaus durch ein Dextrose-Äquiva-

lent (DE) von mindestens etwa 5,0, stärker bevorzugt von mindestens etwa 6,0, am meisten bevorzugt von mindestens etwa 7,0 gekennzeichnet. Jedoch kann ein geringeres Dextrose-Äquivalent (zum Beispiel ein DE von mindestens etwa 4,0) durch Veränderungen der Verfahrensbedingungen erreicht werden, insbesondere durch Entfernung der Hydrolyseprodukte mit niedrigem Molekulargewicht.

**[0037]** Die Stärke ist bezüglich des Verfahrens tolerant in dem Sinn, dass der Grad der Resistenz während der Verarbeitung, einschließlich einer Verarbeitung durch Hitze, nicht erheblich abnimmt.

**[0038]** Die Stärke ist in einzigartiger Weise funktionell als eine resistente Stärke, und kann in einer Vielzahl essbarer Produkte verwendet werden. Unter dem Begriff „essbare Produkte“ sollen verstanden werden, ohne eine Begrenzung vorzunehmen: Getreideprodukte, Riegel, Pizza, Pasta, Dressing, einschließlich der gießbaren Dressings und der mit dem Löffel zu verteilenden Dressings; Füllungen für Pasteten, einschließlich Frucht- und Cremefüllung; Soßen, einschließlich heller Soßen und Soßen auf der Grundlage von Milchprodukten, wie zum Beispiel Käsesoßen; Bratensoßen; des kalorienreduzierten Sirups; Puddings; der Eiercrème; des Joghurts; Schmands; Getränke, einschließlich der Getränke auf der Grundlage von Milchprodukten; Glasuren, Backwaren, einschließlich Kracker, Brote, Muffins, Bagels, Biskuits, Kekse, Pasteten ohne Füllung, und Kuchen; Würzmittel, Süßwaren und Gummis, sowie Suppen.

**[0039]** Der Ausdruck „essbare Produkte“ soll auch Ernährungs- und medizinische Nahrungsmittel und Getränke, einschließlich diätetischer Produkte oder Produkte zur Gewichtsabnahme, diabetische Produkte, Produkte für eine nachhaltige Energiefreisetzung, wie zum Beispiel Sportgetränke und Kraftriegel, Ersatzstoffe für das Essen, und Nahrungsmittel-Ergänzungsprodukte umfassen. Der Ausdruck „Nahrungsmittelprodukte“ soll diätetische Produkte, diabetische Produkte und Präbiotika umfassen.

**[0040]** Die vorhandene Stärke kann in einer beliebigen Menge zugegeben werden, die gewünscht oder notwendig ist, um die Funktionalität der Zusammensetzung zu erreichen. Im Allgemeinen kann die Stärke in einer Menge von etwa 0,01 Gew.-% bis etwa 100 Gew.-%, insbesondere von etwa 1 bis etwa 50 Gew.-%, bezogen auf die Zusammensetzung, zugegeben werden. Die Stärke kann zu dem Nahrungsmittel oder Getränk in derselben Weise wie eine beliebige andere Stärke zugegeben werden, üblicherweise durch direktes Vermischen in das Produkt oder durch Zugabe in Form eines Sols.

**[0041]** Die folgenden Ausführungsformen werden vorgestellt, um die vorliegende Erfindung durch weitere Beispiele zu erläutern, und sie sollten nicht so angesehen werden, als begrenzen sie die Erfindung in irgendeiner Hinsicht.

**[0042]** Ausführungsform 1. Eine Zusammensetzung aus resistenter Stärke, die durch eine in Bezug auf die Verzweigung vollständige Spaltung einer Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose hergestellt wurde, welche hochgradig kristalline, in Bezug auf die Verzweigung vollständig gespaltene, lineare  $\alpha$ -Glucane umfasst, wobei die Zusammensetzung gekennzeichnet wird durch:

- a) einen Gehalt an resistenter Stärke von mindestens etwa 70 Gew.-%;
- b) ein Dextrose-Äquivalent von mehr als etwa 4,0;
- c) einen Scheitelpunkt der Schmelzpunktemperatur ( $T_p$ ), wie er durch DSC gemessen wird, von mindestens etwa 90°C; und
- d) eine Enthalpie ( $\Delta H$ ), wie sie durch DSC gemessen wird, von mindestens etwa 25 J/g.

**[0043]** Ausführungsform 2. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose nicht mehr als etwa 5 Gew.-% Amylose umfasst.

**[0044]** Ausführungsform 3. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei das Dextrose-Äquivalent der Zusammensetzung mehr als etwa 5,0 beträgt.

**[0045]** Ausführungsform 4. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei das Dextrose-Äquivalent der Zusammensetzung mehr als etwa 6,0 beträgt.

**[0046]** Ausführungsform 5. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei der Gehalt der Zusammensetzung an resistenter Stärke mindestens etwa 75 Gew.-% beträgt.

**[0047]** Ausführungsform 6. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei der Scheitelpunkt der Schmelzpunktemperatur der Zusammensetzung mindestens etwa 100°C beträgt.

**[0048]** Ausführungsform 7. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei der Scheitelpunkt der Schmelzpunktemperatur der Zusammensetzung mindestens etwa 110°C beträgt.

**[0049]** Ausführungsform 8. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei die Enthalpie mindestens etwa 30 J/g beträgt.

**[0050]** Ausführungsform 9. Die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus Mais, Kartoffel, Maniok (Cassava) und Reis besteht.

**[0051]** Ausführungsform 10. Ein Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung nach Ausführungsform 1, umfassend:

- a) eine in Bezug auf die Verzweigung vollständige Spaltung einer Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose unter Verwendung von Isoamylase;
- b) kristallisieren lassen der in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärke; und
- c) Trocknen der hochgradig kristallinen, in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärke.

**[0052]** Ausführungsform 11. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose mindestens 95 Gew.-% Amylopektin umfasst.

**[0053]** Ausführungsform 12. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei das Dextrose-Äquivalent der Zusammensetzung mehr als etwa 5,0 beträgt.

**[0054]** Ausführungsform 13. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei das Dextrose-Äquivalent der Zusammensetzung mehr als etwa 6,0 beträgt.

**[0055]** Ausführungsform 14. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei die Zusammensetzung mindestens etwa 75 Gew.-% resistente Stärke enthält.

**[0056]** Ausführungsform 15. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei der Scheitelpunkt der Schmelzpunktemperatur der Zusammensetzung mindestens etwa 100°C beträgt.

**[0057]** Ausführungsform 16. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei der Scheitelpunkt der Schmelzpunktemperatur der Zusammensetzung mindestens etwa 110°C beträgt.

**[0058]** Ausführungsform 17. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei die Enthalpie der Zusammensetzung mindestens etwa 30 J/g beträgt.

**[0059]** Ausführungsform 18. Das Verfahren nach Ausführungsform 10, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose aus Mais, Kartoffel, Maniok (Cassava) oder Reis stammt.

**[0060]** Ausführungsform 19. Ein essbares Produkt, welches die Zusammensetzung nach Ausführungsform 1 umfasst.

**[0061]** Ausführungsform 20. Das essbare Produkt nach Ausführungsform 19, wobei das Produkt ein präbiotisches Nahrungsergänzungsmittel darstellt.

## BEISPIELE

**[0062]** Die folgenden Beispiele werden vorgestellt, um die vorliegende Erfindung weiter zu erläutern und zu erklären, und sie sollten nicht so aufgefasst werden, als begrenzen sie die Erfindung in irgendeiner Hinsicht. Alle Prozentangaben werden auf der Grundlage Gewicht/Gewicht verwendet.

**[0063]** Die folgenden Testverfahren werden in den gesamten Beispielen verwendet:

Differential-Scanning-Kalorimetrie – Die Messungen für die Differential-Scanning-Kalorimetrie wurden in einem Perkin Elmer DSC-7 (Norwalk, CT, USA) durchgeführt. Das Instrument wurde mit Indium geeicht. Proben von annähernd 10 mg Stärke bei einem Stärke : Wasser-Verhältnis von 1 : 3 werden hergestellt und bei 10°C/Min. von 5°C auf 160°C erhitzt. Ein leerer Tiegel aus rostfreiem Stahl wird als Bezugsgröße verwendet.

Kettenlänge und Linearität – Die Proben einer in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärke wurden unter Verwendung von NMR analysiert, um die durchschnittliche Kettenlänge und die Verhältnisse der α-1,4-Ver-

knüpfung zur  $\alpha$ -1,6-Verknüpfung zu bestimmen. Die NMR-Proben wurden durch Suspendieren von 5–6 mg Stärke in 2,5 ml  $D_2O$ /TSP (Natriumtrimethylsilylpropionat) hergestellt, und die Suspensionen wurden für annähernd 1 Stunde unter Druck gekocht. Die erhaltenen klaren Lösungen wurden in NMR-Röhrchen von 5 mm Durchmesser überführt und auf einem Dampfbad gehalten, bis die NMR-Spektren aufgenommen wurden. Dieses Verfahren für die Handhabung der Proben gewährleistete, dass das kristalline Stärkematerial in Lösung blieb. Die Protonen-NMR-Spektren wurden bei 90°C auf einem Bruker DPX-400 Spektrometer bei 400 MHz aufgenommen.

**[0064]** Die Zuordnungen der chemischen Verschiebung (relativ zu TSP bei 90°C) für die wesentlichen Resonanzen wurden wie folgt durchgeführt. Die  $\alpha$ -1,4-Verknüpfungen von mittlerer Kettenlänge wiesen eine chemische Verschiebung von 5,38 ppm auf, die  $\alpha$ -1,6-Verknüpfungen von mittlerer Kettenlänge (Verzweigungspunkte) von 4,96 ppm, die  $\alpha$ -Form der reduzierenden Endgruppen von 5,23 ppm und die  $\beta$ -Form der reduzierenden Endgruppen von 4,65 ppm.

**[0065]** Die durchschnittliche Kettenlänge für die Stärkeproben wurde aus dem Verhältnis der Resonanz der reduzierenden Endgruppen zu der Resonanz bei der mittleren Kettenlänge berechnet. Der Prozentsatz der  $\alpha$ -1,6-Verknüpfungen (Verzweigungspunkte) wurde aus der Summe der  $\alpha$ -1,6-Verknüpfungen gegenüber den  $\alpha$ -1,4-Verknüpfungen berechnet.

**[0066]** Dextrose-Äquivalent (DE) – Für eine DE-Messung während des laufenden Verfahrens wurde ein volumetrisches Titrationverfahren nach Fehling verwendet. Ein 500 ml Erlenmeyerkolben wurde mit entionisiertem (deionized, D. I.) Wasser gespült. 50 ml entionisiertes Wasser wurden anschließend zugegeben. Die Zugabe von jeweils 5 ml der Fehling-Lösungen A und B und 2 Tropfen Methylenblau mit zwei Siedesteinchen folgte. Nach der Bestimmung der Feststoffe der Reaktion unter Verwendung eines Refraktometers, wurde eine Stärkelösung, die 2–4 Prozent Stärke-Feststoffe enthielt, unter Verwendung von entionisiertem Wasser hergestellt, indem die Reaktionslösung in einem Becher verdünnt wurde. Ehe man zum nächsten Schritt überging, wurden die Feststoffe mit einem Refraktometer überprüft, um sicher zu stellen, dass die Lösung richtig hergestellt worden war. Der Becher mit der Stärkelösung wurde gewogen, und das Gewicht wurde notiert. 15 g der Stärkelösung wurden in den Erlenmeyerkolben mit den vorbereiteten Fehling-Lösungen gegeben. Nachdem sie unter Rühren für 2 Minuten auf einer Heizplatte gekocht wurden, trat normalerweise die Farbe einer blauen Tinte auf. Unter Verwendung einer Pipette wurde die Stärkelösung aus dem Becher schrittweise zugegeben, bis die Farbe einer bläulichen Tinte verschwand, und ein bestimmtes rötliches Kupfer(I)oxid gebildet wurde. Die Stärkelösung wurde fortlaufend mit einer Plastikpipette gerührt, um die Lösung gleichmäßig zu durchmischen. Wenn der rötliche Endpunkt erreicht war, wurde der Becher, welche die Stärkelösung enthielt, erneut gewogen, um das Gewicht der verbrauchten Stärke zu bestimmen. Die Berechnung der Dextrose-Äquivalente kann aus der folgenden Gleichung ersehen werden:

Dextrose-Äquivalent =  $[Fehlingfaktor \times 100] / [(erforderliche \text{ Stärkelösung in g}) \times (Konzentration \text{ der Stärkelösung})]$

**[0067]** Simulierte Verdauung – (Englyst et al., European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46, S33–S50) – Die Nahrungsmittelproben werden gemahlen/zerhackt, als ob sie gekaut worden wären. Die Proben von pulverförmiger Stärke werden auf eine Teilchengröße von 250  $\mu m$  oder weniger gesiebt. Eine Probe von 500–600 mg  $\pm$  0,1 mg wird gewogen und zu dem Probenröhrchen gegeben. 10 ml einer Lösung von Pepsin (0,5%), Guar gummi (0,5%) und HCl (0,05 M) werden in jedes Röhrchen gegeben.

**[0068]** Negativkontrollen und Röhrchen mit standardisierter Glukose werden hergestellt. Die Negativkontrolle besteht aus 20 ml eines Puffers, der 0,25 M Natriumacetat und 0,02% Calciumchlorid enthält. Standardisierte Glukoseproben werden hergestellt, indem 10 ml Natriumacetatpuffer (vorstehend beschrieben) und 10 ml Glukoselösung mit 50 mg/ml gemischt werden. Die Standardproben werden in doppelter Anzahl hergestellt.

**[0069]** Die Enzymmischung wird hergestellt, indem 18 g Pancreatin aus dem Schwein (Sigma P-7545) zu 120 ml entionisiertem Wasser gegeben und gut gemischt werden, und anschließend bei 3.000 g für 10 Minuten zentrifugiert werden. Der Überstand wird gesammelt, und 48 mg trockene Invertase (Sigma I-4504) und 0,5 ml AMG 400 (Novo Nordisk) werden zugegeben.

**[0070]** Die Probenröhrchen werden bei 37°C für 30 Minuten vorinkubiert, und anschließend aus dem Wasserbad entfernt, und 10 ml Natriumacetatpuffer werden zusammen mit Glaskügelchen/Marmorkügelchen zugegeben (um den physikalischen Abbau der Probe während des Schüttelns zu unterstützen).



**[0071]** 5 ml der Enzymmischung werden zu den Proben, der Negativkontrolle und den Standardproben gegeben. Die Röhrchen werden waagrecht in einem 37°C warmen Wasserbad bei annähernd 180 Auslenkungen/Min. geschüttelt. Der Zeitpunkt „Null“ stellt die erste Zugabe der Enzymmischung zu dem ersten Röhrchen dar.

**[0072]** Nach 20 und 120 Minuten werden Aliquots von 0,5 ml aus den inkubierten Proben entnommen und in ein gesondertes Röhrchen mit 20 ml 66% Ethanol überführt (um die Reaktion zu beenden). Nach 1 Stunde wird ein Aliquot bei 3.000 g für 10 Minuten zentrifugiert.

**[0073]** Die Glukosekonzentration in jedem Röhrchen wird unter Verwendung des Glukoseoxidase/Peroxidase-Verfahrens (Megazyme Glucose Assay Procedure GLC9/96) gemessen. Dies ist ein kolorimetrisches Verfahren. HPLC kann ebenso verwendet werden, um die Glukose wie in der älteren Literatur offenbart unter Verwendung dieses Experiments zu bestimmen.

**[0074]** Das Ausmaß des Stärkeverdaus wird durch Berechnung der Glukosekonzentration gegenüber den Glukose-Standardproben unter Verwendung eines Umsatzfaktors von 0,9 berechnet. Die Ergebnisse sind angegeben als „% verdaute Stärke“ (auf der Grundlage des Trockengewichts) nach 20 und 120 Minuten. RS (resistente Stärke) sind 100%, vermindert um den Wert bei 120 Minuten.

**[0075]** Die Charge für die Analyse einer jeden Probe umfasst eine Referenzprobe von nicht gekochter Maisstärke. Der akzeptable Bereich für die Prozentwerte des Verdaus für Maisstärke lautet:

Probe	S20	S120	RS
Maisstärke <sup>1</sup>	17,5 ± 2,5	80 ± 5	Annähernd 37,5

<sup>1</sup>Melogel®, im Handel erhältlich von National Starch and Chemical Company, Bridgewater, NJ, USA

**[0076]** Gekochte Modelle – Ein Modell wird verwendet, um die kommerzielle Nahrungsmittelverarbeitung bei niedriger Feuchtigkeit nachzuahmen. Das Modell verwendet Stärke in Wasser bei 50% Feststoffanteil und bäckt die Paste in einem Ofen bei 190°C für annähernd 20 Minuten. Die Probe wird anschließend gemahlen und anschließend auf eine Teilchengröße von 250 µm oder weniger gesiebt.

#### Beispiel 1 – Herstellung einer resistenten Maisstärke

A. 10 kg wachsartige Maisstärke werden in 30 l Wasser aufgeschlämmt. Die Aufschlämmlung wurde mit einem Dampfstrahl mit einem Volldampf bei 310–315°F (154,4–157,2°C) und 80 psi ( $5,52 \times 10^5$  Pa) Gegen- druck gekocht. Die gekochte Stärke wurde anschließend in einen Reaktionskessel gegeben und auf 55°C abgekühlt. Der pH-Wert der Lösung wurde auf 4,0 eingestellt, indem Wasser zu HCl im Verhältnis 3 : 1 gegeben wurde. 0,2% Isoamylase, bezogen auf das Gewicht der Stärke, wurden zugegeben, um die Spaltungsreaktion in Bezug auf die Verzweigung zu starten. Nach einer Reaktion über 24 Stunden bei einem pH-Wert von 4,0 und 55°C wurde der pH-Wert auf 6,0 unter Verwendung von 3% NaOH eingestellt, und die Probe wurde auf 85°C für 20 Minuten erhitzt, um die Enzyme zu denaturieren. Anschließend wurde die Heizquelle abgeschaltet, und die Probe wurde auf Raumtemperatur gekühlt und über Nacht (16 Stunden) kristallisiert. Ein Probenkuchen wurde durch die folgende Filtration erhalten und das Produkt wurde an der Luft getrocknet.

B. 4 kg Amioca™ 50 Stärke (mit Säure umgesetzte, wachsartige Maisstärke, die im Handel von National Starch and Chemical Company, Bridgewater, NJ, USA erhältlich ist) wurde in 6 l Wasser aufgeschlämmt. Der pH-Wert der Aufschlämmlung wurde auf 4,0 eingestellt, indem Wasser zu HCl im Verhältnis 3 : 1 gegeben wurde. Die Probe wurde anschließend mit einem Dampfstrahl gekocht und in einen Reaktionsbehälter überführt, und die Temperatur wurde auf 55°C gekühlt. 0,2% Isoamylase wurden zugegeben, und man ließ die Reaktion für 24 Stunden fortschreiten. Der pH-Wert wurde auf 2,0 eingestellt, indem Wasser zu HCl im Verhältnis 3 : 1 gegeben wurde, und er wurde für 30 Minuten beibehalten, um die Enzyme abzutöten. Der pH-Wert wurde auf 6,0 neutralisiert, wobei 3% NaOH verwendet wurde. Die Probe wurde auf Raumtemperatur gekühlt und über Nacht (16 Stunden) kristallisiert. Ein Probenkuchen wurde durch Filtration erhalten, und die Probe wurde an der Luft getrocknet.

C. Das Verfahren von Beispiel 1B wurde wiederholt, mit der Ausnahme, dass es sich bei der Stärke um Flo- Max™ 5 Stärke (mit Säure umgesetzte, wachsartige Maisstärke, die im Handel von National Starch and Chemical Company erhältlich ist) handelte.

D. 1,8 kg wachsartige Maisstärke wurden in 5,4 l Wasser aufgeschlämmt. Die Aufschlämmlung wurde mit

einem Dampfstrahl mit Volldampf bei 310–315°F (154,4–157,2°C) und 80 psi ( $5,52 \times 10^5$  Pa) Gegendruck gekocht. Unter gleichmäßigem Rühren wurde die gekochte Stärkelösung auf einen Feststoffgehalt von 10% verdünnt, und in einen Reaktionsbehälter in einem 55°C warmen Wasserbad gegeben. Der pH-Wert der Probe wurde auf 4,0 eingestellt, indem Wasser zu HCl im Verhältnis 3 : 1 gegeben wurde. 0,2% Isoamylase, bezogen auf das Trockengewicht der Stärke, wurden zugegeben, um die Spaltungsreaktion in Bezug auf die Verzweigung zu starten, wobei die Temperatur der Probe bei 55°C gehalten wurde. Nachdem das Dextrose-Äquivalent der Probe 7,5 erreicht hatte (nach etwa 8 Stunden Reaktion), wurde der pH-Wert auf 2,0 für 30 Minuten abgesenkt, um die Enzyme zu denaturieren, und anschließend unter Verwendung von 3% NaOH auf 6,0 erhöht. Die Probe wurde anschließend auf Raumtemperatur gekühlt und über Nacht (16 Stunden) kristallisiert. Ein Probenkuchen wurde durch Filtration erhalten, und die Probe wurde an der Luft getrocknet.

[0077] Ein DSC und der Gehalt an resistenter Stärke wurden für diese Proben erhalten. Tabelle 1 fasst die Ergebnisse zusammen.

Tabelle 1:

Probe	RS (%)	Differential-Scanning-Kalorimetrie			
		T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH (J/g)
1A	84,9	120,5	127,7	134,3	26,6
1B	75,2	76,6	110,9	131,8	39,7
1C	76,6	87,7	111,9	131,8	35,5
1D	81,9	70,8	97,7	112,1	35,0

[0078] Alle Proben zeigten mehr als 70% resistente Stärke. Alle Proben weisen eine Scheiteltemperatur anhand der DSC von mehr als 110°C auf.

#### Beispiel 2 – Herstellung von resistenter Kartoffelstärke

[0079] 3 kg Kartoffelstärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose (im Handel erhältlich von Lyckeby, Deutschland) wurden in 9 l Wasser aufgeschlämmt, und die Probe wurde mit einem Dampfstrahl mit Volldampf gekocht. Die gekochte Stärkelösung wurde auf 55°C gekühlt, und der pH-Wert wurde auf 4,0 eingestellt, indem Wasser zu HCl im Verhältnis 3 : 1 gegeben wurde. 0,2% Isoamylase, bezogen auf das Gewicht der Stärke, wurden zugegeben, um die Spaltungsreaktion in Bezug auf die Verzweigung zu starten. Nach 24 Stunden Reaktionszeit wurde der pH-Wert der Probe auf 5,5 mit 3% NaOH erhöht, und die Probe wurde auf 85°C in einem kochenden Wasserbad für 20 Minuten erhitzt, um die Enzyme zu denaturieren. Die Probe wurde auf Raumtemperatur über Nacht (16 Stunden) gekühlt, um das Produkt zu kristallisieren. Ein Probenkuchen wurde durch Filtration erhalten, und die Probe wurde an der Luft getrocknet. Tabelle 2 fasst den Gehalt an resistenter Stärke und die Ergebnisse der DSC zusammen.

Tabelle 2:

Probe	RS (%)	DP	Differential-Scanning-Kalorimetrie			
			T <sub>o</sub> (°C)	T <sub>p</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	ΔH (J/g)
2	85,6	17	96,6	112,4	126,7	32,7

[0080] Die in Bezug auf die Verzweigung gesplattene und kristallisierte Stärkeprobe aus der Kartoffel mit einem niedrigen Gehalt an Amylose zeigte mehr als 70% resistente Stärke und wies eine Scheiteltemperatur im DSC von mehr als 110°C auf.

#### Beispiel 3 – Verfahrenstoleranz der resistenten Stärke

[0081] Einige der in Bezug auf die Verzweigung gesplatteten, resistenten Stärken wurden unter Verwendung eines Modells mit niedriger Feuchtigkeit verarbeitet, und die resistente Stärke ist jeweils im Vergleich mit der

unverarbeiteten Stärke gezeigt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 nachfolgend gezeigt.

Tabelle 3

Probe	% RS vor der Verarbeitung	% RS nach der Verarbeitung
3A	75,2	81,5
3B	74,2	81,0
3C	76,6	79,7

**[0082]** Wie aus der Tabelle 3 ersehen werden kann, sind die Stärken der vorliegenden Erfindung bezüglich des Verfahrens tolerant in dem Sinn, dass der Gehalt an resistenter Stärke nicht vermindert wird.

### Patentansprüche

1. Zusammensetzung einer resistenten Stärke, die durch eine in Bezug auf die Verzweigung vollständige Spaltung einer Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose hergestellt wurde, welche hochgradig kristalline, in Bezug auf die Verzweigung vollständig gespaltene, lineare  $\alpha$ -Glucane umfasst, wobei die Zusammensetzung gekennzeichnet wird durch:

- a) einen Gehalt an resistenter Stärke von mindestens 70 Gew.-%;
- b) ein Dextrose-Äquivalent von mehr als 4,0;
- c) einen Scheitelpunkt der Schmelzpunktttemperatur ( $T_p$ ), wie sie durch DSC gemessen wird, von mindestens 90°C; und
- d) eine Enthalpie ( $\Delta H$ ), wie sie durch DSC gemessen wird, von mindestens 25 J/g.

2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose nicht mehr als 5 Gew.-% Amylose umfasst.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Dextrose-Äquivalent der Zusammensetzung mehr als 5,0 beträgt.

4. Zusammensetzung nach Anspruch 3, wobei das Dextrose-Äquivalent der Zusammensetzung mehr als 6,0 beträgt.

5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei der Gehalt der Zusammensetzung an resistenter Stärke mindestens 75 Gew.-% beträgt.

6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei der Scheitelpunkt der Schmelzpunktttemperatur der Zusammensetzung mindestens 100°C beträgt.

7. Zusammensetzung nach Anspruch 6, wobei der Scheitelpunkt der Schmelzpunktttemperatur der Zusammensetzung mindestens 110°C beträgt.

8. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Enthalpie mindestens 30 J/g beträgt.

9. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus Mais, Kartoffel, Maniok und Reis besteht.

10. Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, welches umfasst:

- a) eine in Bezug auf die Verzweigung vollständige Spaltung einer Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose unter Verwendung von Isoamylase;
- b) das Kristallisieren lassen der in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärke; und
- c) das Trocknen der hochgradig kristallinen, in Bezug auf die Verzweigung gespaltenen Stärke.

11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die Stärke mit einem niedrigen Gehalt an Amylose mindestens 95 Gew.-% Amylopektin umfasst.

12. Essbares Produkt, welches die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 9 umfasst.

13. Essbares Produkt nach Anspruch 12, wobei das Produkt ein präbiotisches Nahrungsergänzungsmittel darstellt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen