

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 916 209**

51 Int. Cl.:

A23L 2/02 (2006.01)
A23L 2/38 (2011.01)
A23L 2/84 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 9/04 (2006.01)
C12M 1/04 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2015** **PCT/DE2015/100071**
87 Fecha y número de publicación internacional: **25.08.2016** **WO16131432**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2015** **E 15714760 (4)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2022** **EP 3258794**

54 Título: **Procedimiento y dispositivo para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.06.2022

73 Titular/es:
LOIBL VERWALTUNGS- GMBH (100.0%)
Am Moosanger 2a
85354 Freising, DE

72 Inventor/es:
LÖTZBEYER, THOMAS;
JÄGER, ASTRID y
WESTERMEIER, ROSINA

74 Agente/Representante:
CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 916 209 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

Procedimiento y dispositivo para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener bebidas de fruta completa o jugos de frutas y/o verduras con disminución en el contenido de azúcar.

Definiciones

- 10 Previendo posibles preguntas de diferenciación, al principio se definen al menos los siguientes conceptos: en el contexto de la presente invención, se denominan con "fruto" (en inglés: "*progeny*") las partes comestibles de las plantas que, de acuerdo con diferentes definiciones, por un lado se asigna a la fruta (en inglés: "*fruit*") y por otro lado a las verduras (en inglés: "*vegetable*");

- Definición alimentaria: la fruta proviene de plantas perennes, las verduras provienen de plantas anuales.

- 15 - Definición botánica: las frutas son frutos que surgen a partir de flores polinizadas, las verduras son otras partes de plantas (por ejemplo hoja, raíz, tubérculos, etc.).

- 20 Por regla general, las frutas provienen de plantas perennes y las verduras de plantas anuales (definición alimentaria). El contenido de azúcares en la fruta es usualmente mayor. Desde el punto de vista botánico, la fruta surge de flores fecundadas (por ejemplo: piña, manzana, albaricoque, banano, pera, fresa, pomelo, frambuesa, grosella, cereza, kiwi, ciruela, ciruela amarilla, naranja, melocotón, ciruela, guinda, uva, limón, ciruela damascena, ...). Las verduras surgen de otras partes de plantas. Pepino, calabaza, pimiento, tomate y zucchini son concretamente frutos y pertenecen de acuerdo con la definición anterior (botánica) a frutas (flores fecundadas), pero son denominadas como verduras, como plantas anuales (definición alimentaria: verduras) y en general debido a la falta de dulzor o acidez. Por el contrario, el ruibarbo es un pecíolo, pero es usado como fruta. Hasta ese punto es comprensible que en la literatura y la práctica la diferencia entre fruta y verdura es poco nítida.

En el contexto de la presente invención se entienden por "materias primas de fruto" aquellos materiales de partida que surgen a partir de frutos desmenuzados. Estos pueden tener en particular forma de puré, producto pasado o licuado. Al respecto, pueden eliminarse también partes de los frutos, como en particular componentes de celdas.

- 30 Además, en el contexto de la presente invención se entienden por "productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar" las bebidas de fruto entero (batidos) o jugos de frutas y/o verduras (igual si es embotellado no diluido como el denominado jugo directo, o si lo es diluido como el denominado jugo de frutos de concentrado de frutos).

Finalmente, en el contexto de la presente invención se entiende por "azúcares" al grupo de todos los carbohidratos que pertenecen a los mono- y disacáridos, pero también carbohidratos de cadena larga que exhiben un sabor dulce. Como ejemplos se mencionan en este caso glucosa, galactosa, manosa, fructosa, sacarosa, lactosa o maltosa.

- 35 Fundamento de la invención

Justo desde el punto de vista del efecto dañino para los dientes y un aumento significativo del sobrepeso y, como consecuencia de ello, también el caso de la diabetes tipo II ya en la infancia, hay muchos intentos para disminuir la exposición a los azúcares por parte de los niños.

- 40 Ante este trasfondo, la industria de los alimentos está constantemente a la búsqueda de innovaciones. En particular los productos de fruto como bebidas de fruto entero (batidos) o jugos de frutas y/o verduras (igual si son embotellados no diluido dos como el denominado jugo directo o diluido de nuevo como el denominado jugo de frutos de concentrado de frutos) o bebidas de fruto comparables que pueden ser caracterizadas como libres de alcohol, contienen muchos ingredientes pertinentes para la salud, pueden conducir sin embargo por consumo regular de grandes cantidades, debido a su usualmente frecuente elevado contenido de azúcares, a su vez en particular para niños a perjuicios indeseados para la salud.

Así, la proporción natural de azúcares en la masa seca representa por ejemplo en una piña 82 %, en una manzana 68 %, en una fresa 55 %, en un pomelo 67 %, en una frambuesa 27 %, en una grosella 37 %, en una naranja 66 %, en una guinda 69 % o en una uva 79 %.

- 50 Los azúcares se componen al respecto en primera línea de la sacarosa, la glucosa y la fructosa, en los que sus proporciones porcentuales de masa total (por consiguiente la masa de los componentes por masa total en %; unidad: [p/p %]), como muestra la siguiente tabla, pueden diferenciarse fuertemente dependiendo del fruto.

Fruto	Contenido de agua [p/p %]	Sacarosa [p/p %]	Glucosa [p/p %]	Fructosa [p/p %]
Piña	85	7,8	2,1	2,4
Manzana	85	2,6	1,7	5,9
Fresa	90	1,0	2,2	2,3
Pomelo	89	2,8	2,3	2,3
Frambuesa	85	0,2	1,8	2,0
Grosella	81	0,7	2,7	3,6
Naranja	86	3,8	2,5	2,9
Guinda	84	0,5	4,8	5,8
Uva	81	0,4	7,3	7,3

El valor calórico de los frutos está determinado con ello casi exclusivamente por los azúcares allí presentes. Por ello, sería deseable, con una eliminación o transformación de los azúcares en las materias primas de frutos obtenidas de frutos, disminuir esencialmente el valor calórico y adicionalmente el efecto cariogénico de productos de fruto.

- 5 En relación con esto, en el estado de la técnica se proponen procedimientos especialmente laboriosos para el aislamiento de azúcares, mediante extracción o fermentación de los azúcares hasta alcohol y CO₂.

De este modo, el documento DE 2 214 442 A (= GB 1 373 562 B) divulga un procedimiento enzimático para la transformación de glucosa en ácido glucónico, mediante oxidación con oxígeno en solución acuosa; en el que se conduce una solución acuosa que contiene glucosa, sobre un catalizador, que contiene unidas glucosa oxidasa y catalasa en vecindad inmediata conjuntamente sobre un soporte adecuado; y en el que durante la conversión el valor de pH es mantenido entre 3,5 y 8,0.

Además, el documento EP 0 554 488 A1 divulga un procedimiento fermentativo para la disminución selectiva del contenido de azúcares en alimentos que tienen azúcares, preservando las propiedades sensoriales originales, y alimentos obtenidos después de ello, en el que el alimento original fue sometido a una fermentación controlada con una especie de microorganismos, y en el que a partir de diferentes especies de microorganismos adecuadas para la degradación de azúcar, se elige la especie mejor adecuada para el respectivo alimento, en virtud de análisis sensorial de acuerdo con la norma ISO 8587. El alimento obtenido con ello exhibe, frente al producto de partida original, una disminución en el contenido de azúcar, con índices para el resto de ingredientes que están en el intervalo de las amplitudes naturales de fluctuación de composición característica del respectivo alimento original.

Además, el documento US 4 675 191 A (= AT 43 630 B) divulga un procedimiento para la fabricación de un vino con bajo contenido de alcohol, en el que primero se trata con una preparación de glucosa oxidasa el jugo de uva no fermentado, con adición de oxígeno al jugo de uva hasta que al menos una pequeña cantidad de la glucosa se transforma en ácido glucónico, con lo cual se fermenta el jugo de uva con bajo contenido de glucosa así tratado para generar el vino con bajo contenido de alcohol, en el que - si se desea - el ácido glucónico es eliminado al menos parcialmente hasta alcanzar propiedades organolépticas adecuadas.

Además, el documento WO 2005/074716 A1 (= EP 1 713 351 B1) divulga un procedimiento para la fabricación de un producto alimenticio mediante tratamiento en caliente de un material alimentario que contienen azúcares reductores, el cual comprende la etapa de blanqueo del material alimentario, en el que la etapa de blanqueo comprende dejar el producto alimenticio en un medio activo de blanqueo bajo condiciones de blanqueo en una sección de blanqueo, para producir medio de blanqueo usado, retirar azúcares reductores y/o asparagina del medio de blanqueo usado para producir medio de blanqueo activo, usando agentes para disminuir el contenido de azúcar y/o que retiran asparagina, y usar de nuevo el medio activo de blanqueo, con la condición de que en caso de que sólo uno del azúcar reductor y

asparagina sea retirado del medio de blanqueo usado y el mencionado producto alimenticio sean rebanadas de patata, los mencionados azúcares reductores o asparagina no sean retirados usando una columna que contiene enzima inmovilizada, en el que el efluente de la columna es devuelto a las rebanadas de patata.

Finalmente, se alude aún al documento US 3,362,836 A que divulga un procedimiento para la fabricación de albúmina (tejido nutritivo, clara de huevo).

M.G. Aziz et al. describen la biotransformación de azúcares de jugo de piña en derivados dietéticos, usando una oxidorreductasa de *Zymomonas mobilis* libre de células junto con invertasa comercial.

El documento CH 668 887 describe el jugo de frutos, por ejemplo jugo de manzana, liberado mediante degradación biológica de una parte por lo menos predominante de sus azúcares nativos, en lo cual el jugo de frutos que contiene azúcares es tratado en cultivo continuo o semicontinuo con una levadura bajo condiciones de cultivo, bajo las cuales la levadura degrada una parte por lo menos predominante del azúcar presente en el jugo de frutos, prácticamente sin formación de etanol, hasta la etapa de dióxido de carbono/agua; mediante la separación de la biomasa se obtiene un jugo de frutos libre de alcohol, con contenido de azúcares reducido a prácticamente cero.

Además, los procedimientos existentes para obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar se limitan usualmente a la dilución de los azúcares con agua. Con ello, sin embargo se disminuye también la concentración de los ingredientes secundarios fisiológicamente importantes presentes de modo natural en los frutos o las materias primas de frutos obtenidas a partir de ellos (en particular polifenoles, vitaminas, etc.). Las notas de sabor que desplazan así mismo con ello son compensadas de manera creciente en productos de fruto desarrollados hasta ahora, mediante el uso de colorantes y sustancias odoríferas indeseados, que no pueden ser adecuados de manera natural al deseo siempre creciente del consumidor por alimentos con ingredientes naturales.

Como problema esencial se muestra para el uso del estado de la técnica anterior, el desarrollo de productos de fruto con disminución en el contenido de azúcares que, debido a su relación desbalanceada por el azúcar faltante, de los ácidos y azúcares presentes en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, denominada en el contexto de la presente invención brevemente como "relación azúcar-ácido", hasta ahora no conduce a productos de fruto con disminución en el contenido de azúcares, aceptables desde el punto de vista sensorial del sabor.

El objetivo subyacente de la invención

Partiendo de esto, el objetivo de la presente invención se basa en suministrar un procedimiento para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, que mantenga los ingredientes secundarios fisiológicamente importantes presentes en las materias primas de frutos, y también simultáneamente disminuya fuertemente el alto contenido de azúcar frecuentemente indeseado y preserve notas de sabor balanceadas, sin el uso de colorantes y sustancias aromatizantes indeseados. Para evitar la descomposición o deterioro de los ingredientes naturales importantes (en particular polifenoles, vitaminas, ácidos) desde el punto de vista de la salud, en las materias primas de frutos, en particular para la mencionada disminución en el contenido de azúcares en materias primas de frutos deberían usarse además sólo procedimientos que puedan transcurrir a temperaturas indulgentes con el producto y que además no requieran valores extremos de pH (en particular no mayores a 6 pH y no menores a 3 pH) o la adición de solventes orgánicos o la adición de edulcorantes.

Solución de acuerdo con la invención

Este objetivo es logrado mediante un procedimiento junto con un dispositivo para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, con los rasgos de las reivindicaciones de patente independientes.

El procedimiento de acuerdo con la invención para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, se distingue por procesos de reacción enzimática. Se caracteriza por un proceso regular con el cual se ajusta el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, a un valor más alto preestablecido comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, de modo que

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 30 % en peso a menos de 40 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,6 y 1,0 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 40 % en peso a menos de 50 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,7 y 1,1 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 50 % en peso a menos de 65 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,8 y 1,2 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 65 % en peso a menos de 80 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,9 y 1,3 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 80 % en peso, se eleva el valor de pH entre 1,0 y 1,4 unidades de pH;

en el que los productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar son bebidas de fruto completo o jugos de fruta y/o de verduras,

(a) caracterizado por una

- conversión enzimática de sacarosa en glucosa y fructosa mediante una invertasa; y/o
- conversión enzimática de fructosa en glucosa mediante una glucosa-isomerasa y

(b) caracterizado por una

- degradación enzimática de glucosa con formación de ácido glucónico y peróxido de hidrógeno por medio de una glucosa-oxidasa
- con uso simultáneo de catalasa, para transformar el peróxido de hidrógeno formado, en agua y oxígeno.

El ajuste previsto de acuerdo con la invención a un mayor valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, tiene como ventaja el impedir la aparición de sabor ácido excesivo, e incluso independientemente de si se usaron procesos de reacción enzimáticos y/o fermentativos alternos o acumulativos. Más bien, por primera vez fue obtenible un producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar con relación sensorial de sabor balanceada de azúcar-ácido, por consiguiente una relación balanceada de notas ácidas y dulces, sin que requiriese la adición de otro modo usual de sustancias colorantes y/o aromatizantes indeseadas.

Acondicionamientos preferidos de la invención

Los acondicionamientos y perfeccionamientos ventajosos, que son utilizables individualmente o en combinación conjunta, son objeto de las reivindicaciones dependientes.

Se describe en este documento que para alcoholes de azúcar formados por fermentación, el valor de pH más bajo que surge tiene correlación lineal con la proporción de % en peso de los alcoholes de azúcar, de modo que por ejemplo

- para 1,0 % en peso de alcoholes de azúcar formados por fermentación, el incremento del valor de pH se torna más pequeño en 0,1 unidades de pH, y
- para 2,0 % en peso de alcoholes de azúcar formados por fermentación, el incremento del valor de pH se torna más pequeño en 0,2 unidades de pH, u
- para 3,0 % en peso de alcoholes de azúcar formados por fermentación, el incremento del valor de pH se torna más pequeño en 0,3 unidades de pH

lo cual simplifica de manera ventajosa el acondicionamiento del proceso regular para procesos de reacción combinados.

El procedimiento de acuerdo con la invención se caracteriza por una conversión enzimática de sacarosa en glucosa y fructosa por medio de invertasa y/o por una conversión enzimática de fructosa en glucosa por medio de glucosa-isomerasa.

La sacarosa, también denominada como azúcar de casa o azúcar en cristales, está constituida por una molécula de α -D-glucosa y una de β -D-fructosa, que están unidas mutuamente mediante un enlace α,β -(1-2)-glicosídico. En presencia de agua, que en frutos o materias primas de frutos obtenidas a partir de ellos, representan, aparte de los azúcares, los ingredientes más importantes, la sacarosa puede ser escindida ventajosamente en este acondicionamiento con ayuda de la enzima invertasa (β -D-fructofuranosidasa) en una molécula de fructosa-(azúcar de frutos) y una de glucosa-(azúcar de uva). El esquema de reacción de esta hidrólisis de sacarosa en glucosa y fructosa por medio de la invertasa es representado como sigue:



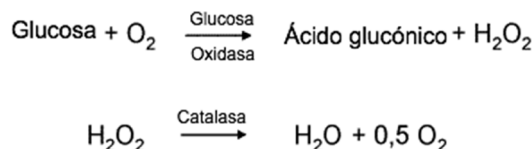
Con ello, mediante el uso de la enzima invertasa puede transformarse la sacarosa presente en la materia prima de frutos, en tanto se desee, también completamente en glucosa y fructosa, y transformarse y/o degradarse de manera ventajosa nuevamente mediante procesos de reacción enzimática y/o fermentativa.

Mediante el uso alterno o acumulativo de la enzima glucosa-isomerasa puede transformarse ventajosamente la fructosa presente en la materia prima de frutos en glucosa, y degradarse y/o transformarse nuevamente mediante procesos de reacción enzimática y/o fermentativa.

Además, el acondicionamiento de acuerdo con la invención del procedimiento se caracteriza por una degradación enzimática de glucosa dado el caso formada por medio de invertasa y/o glucosa-isomerasa y/o ya presente en la materia prima de frutos, por medio de la enzima glucosa-oxidasa con formación de ácido glucónico. Sin embargo, al respecto surge peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como producto secundario indeseado. Debido a su fuerte efecto

oxidativo, este peróxido de hidrógeno puede descomponer los ingredientes vegetales secundarios importantes en la materia prima de frutos.

Para evitar esto, se usa simultáneamente la enzima catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno formado en agua y oxígeno inofensivos. El esquema de reacción del sistema de enzimas glucosa-oxidasa/catalasa es representado como sigue:



Puesto que con el uso de la combinación de enzimas de glucosa-oxidasa y catalasa, con la reacción de una molécula de glucosa se elimina simultáneamente media molécula de oxígeno de la materia prima de frutos, la degradación de glucosa conduce ventajosamente también a una eliminación de oxígeno, y con ello a una protección en particular de vitaminas y polifenoles sensibles a la oxidación en la materia prima de frutos.

Sin embargo, las reacciones de enzimas presentadas de glucosa-oxidasa y catalasa pueden terminar bastante rápidamente por degradación de los azúcares mencionados en la materia prima de frutos, debido a un rápido descenso del pH y la subsiguiente inactivación de la enzima usada. Después la reacción transcurriría adicionalmente de manera lenta e ineficiente, hasta la formación de ácido glucónico por el rápido consumo de las cantidades de oxígeno presentes en el producto de partida.

Por ello, de acuerdo con un perfeccionamiento del procedimiento se prefiere suministrar oxígeno necesario para la degradación de la glucosa, durante las reacciones enzimáticas por medio glucosa-oxidasa y catalasa. En particular se prefiere que durante los procesos de reacción enzimática por medio de glucosa-oxidasa y catalasa, se ajuste el suministro de oxígeno a saturaciones entre 5 % y 60 %, preferiblemente entre 10 % y 40 %, de modo particular preferiblemente entre 30 % y por debajo de 40 %. En particular, por ajustes del contenido de oxígeno a preferiblemente menos de 40 % podría asegurarse una oxidación indeseada de los ingredientes valiosos desde el punto de vista nutricional-fisiológico en la materia prima de frutos. En el cual se suministra sólo el oxígeno necesario para la degradación del azúcar glucosa para la presteza y viabilidad de la enzima para la reacción, se provee ventajosamente un procedimiento ejecutable con eficiente velocidad de proceso para la disminución biotecnológica o incluso eliminación del azúcar glucosa en cualquier nivel o incluso 100 % de su cantidad naturalmente original y, dado el caso, también transformada enzimáticamente, en particular sin embargo una disminución comercialmente interesante de glucosa para correspondiente disminución de calorías de por lo menos 30 % en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar. De manera conveniente se insufla oxígeno homogéneamente en un dispositivo con el que se pretende la ejecución del procedimiento, que tiene como ventaja la preservación constante de valores pretendidos de saturación.

De manera acumulativa con procesos de reacción enzimática, en particular por medio de glucosa-oxidasa y catalasa, un perfeccionamiento preferido de acuerdo con la invención del procedimiento se caracteriza por una degradación fermentativa de fructosa y/o glucosa con formación de alcoholes de azúcar edulcorantes por medio de microorganismos especiales, como *Leuconostoc mesenteroides*, *Monitiella tomentosa*, *Candida magnoliae*. El procedimiento fermentativo puede ser ejecutado bajo condiciones aeróbicas o preferiblemente, pero entonces no simultáneamente con un suministro ajustado de oxígeno, anaeróbicas.

En el marco de la presente invención encuentran uso preferiblemente aquellos microorganismos que - a pesar de un bajo valor de pH y fuentes de nitrógeno escasamente presentes (que normalmente es la base para el crecimiento de microorganismos) - crecen en la materia prima de frutos y en presencia de bacteriocidas propios de los frutos (como por ejemplo polifenoles), en particular hongos, levaduras y/o bacterias.

Respecto de esto, pudieron ganarse experiencias positivas, por ejemplo con la bacteria acidoláctica *Leuconostoc mesenteroides*. Sin embargo ésta forma, como alcohol de azúcar, manitol con efecto laxante.

Por ello, se prefieren de modo particular microorganismos que forman alcoholes de azúcar edulcorantes como en particular eritritol, que no son laxantes, por consiguiente no purgan. Respecto a esto, pudieron ganarse experiencias positivas por ejemplo con el hongo *Monitiella tomentosa* o con la levadura *Candida magnoliae*.

El uso de hongos, levaduras y/o bacterias causa ventajosamente que de cualquier cantidad de azúcar (= 100 %), ya aproximadamente la mitad (= 50 %) son "consumidos" por los microorganismos y el otro 50 % son transformados hasta compuestos edulcorantes que reducen calorías, en la relación de aproximadamente 2:1 lo cual, respecto a la cantidad de azúcar usado (= 100 %), tiene como ventaja una disminución efectiva de azúcar o de calorías del original 100 %, en 75 % a 25 % en el producto de fruto pretendido.

Un procedimiento para la fermentación anaeróbica, en particular como perfeccionamiento del procedimiento de acuerdo con la invención, se distingue porque antes y/o durante un uso de microorganismos anaeróbicos, la

eliminación de oxígeno ocurre completamente de modo enzimático por medio de los procesos de reacción de glucosa-oxidasa y reacciones de catalasa.

5 La eliminación completa del oxígeno por medio de los dichos procesos de reacción enzimática de glucosa-oxidasa y reacciones de catalasa hace posible ventajosamente la generación de condiciones anaeróbicas de reacción, sin elevado esfuerzo en equipos y costes, como es necesario hasta ahora en el estado de la técnica para el crecimiento de los microorganismos que degradan fructosa y/o glucosa y que forman alcoholes de azúcar dulces, no cariogénicos y que reducen calorías.

En un perfeccionamiento de la presente invención, el ajuste a un mayor valor de pH, ocurre preferiblemente de manera automatizada durante los procesos de reacción.

10 El ajuste, preferiblemente automatizado, a un mayor valor de pH ya durante los procesos de reacción tiene como ventaja una aceleración simultánea de los procesos de reacción y con ello mayor eficiencia, puesto que las enzimas y microorganismos usados de acuerdo con la invención reaccionan más rápidamente para valores de pH más bien neutros o poco ácidos, en particular sin embargo para valores de pH mayores que los que se encuentran en la materia prima de frutos.

15 Sin embargo, es importante que el valor de pH en las materias primas o los productos de frutos, antes, durante y después de la reacción biotecnológica no se ajuste por encima de 6,0, puesto que por encima de este valor de pH puede ocurrir descomposición irreversible de ingredientes vegetales secundarios importantes desde el punto de vista nutricional y fisiológico, como polifenoles, antocianos o también de sustancias de aroma naturales.

20 De acuerdo con la invención, preferiblemente el ajuste a un valor de pH más alto ocurre mediante adición de sales y/o suspensiones de sales que tienen sabor neutro, como en particular óxido de magnesio y/o suspensión de óxido de magnesio.

Los mencionados compuestos de magnesio tienen como ventaja que tienen un sabor claramente mejor, comparados con los compuestos así mismo imaginables de potasio, calcio o sodio: los compuestos de sodio tienen sabor salino; los compuestos de potasio y calcio son amargos.

25 Además, en este documento se describe también un dispositivo para la ejecución de un procedimiento como se describió anteriormente, que se caracteriza porque en éste se suministran al menos

- agentes para la entrada homogénea de oxígeno en algún contenido compatible para los ingredientes secundarios sensibles en la materia prima de frutos, y/o

30 - agentes para el ajuste de un valor de pH, mediante dosificación de un regulador de oxígeno a un valor más alto respecto al valor de pH en la materia prima de frutos.

En un acondicionamiento del dispositivo para la ejecución del procedimiento de acuerdo con la invención, preferiblemente éste tiene un diseño cerrado y trabaja preferiblemente a temperatura ambiente.

35 Al respecto, un dispositivo con diseño preferiblemente cerrado para procesos de reacción enzimática tiene como ventaja que evita pérdidas (volatilizaciones) del oxígeno añadido así como de los aromas en la materia prima de frutos, y en procesos de reacción fermentativos (anaeróbicos ubicados cronológicamente después), la garantía de la preservación de condiciones anaeróbicas.

40 Así mismo, un dispositivo para la ejecución del procedimiento de acuerdo con la invención es obtenible de modo comparativamente barato, cuando tanto los procesos de reacción enzimática como también los fermentativos ocurren preferiblemente a temperaturas indulgentes con el producto, en particular a temperatura ambiente.

45 Por medio de la presente invención, son obtenibles productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, como bebidas de frutos completos (batidos) o jugos de frutas y/o verduras (igualmente si son embotellados no diluidos como jugo directo o en forma diluida como jugo de frutos de concentrado de frutos); en el que el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar es ajustado de acuerdo con la invención a un valor más alto preestablecido, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos.

50 La fabricación de productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar mediante el procedimiento biotecnológico presentado en este documento ofrece la posibilidad de establecerse en el mercado con productos innovadores de frutos mediante una característica única. Es decir, en el momento no existen productos de frutos que por un lado preserven los ingredientes naturales saludables presentes en los frutos, que simultáneamente tengan una fuerte disminución en azúcar y que además exhiban una relación ácido-azúcar balanceada sensorialmente en sabor.

Breve descripción de los dibujos

A continuación se describen detalles adicionales y otras ventajas de la invención, mediante ejemplos de realización (abreviados a continuación con AB) preferidos evidenciados mediante ensayos de laboratorio, por los cuales sin embargo no está limitada la presente invención, y en conexión con el dibujo anexo.

Se muestran esquemáticamente:

Fig. 1 En un diagrama de proceso, las etapas esenciales de un procedimiento de acuerdo con la invención para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, mediante procesos de reacción enzimática y/o fermentativa;

5 Fig. 2 un esquema de reacción de procesos enzimáticos de reacción;

Fig. 3 un curso de un valor ajustado de pH a 4,3;

Fig. 4 una saturación de oxígeno regulada en promedio a 30 % de oxígeno O₂;

Fig. 5 un curso cronológico de la degradación de glucosa en un jugo de uva por medio de glucosa-oxidasa;

Fig. 6 una eliminación del azúcar sacarosa en un jugo de naranja mediante la enzima invertasa;

10 Fig. 7 una comparación de los contenidos de azúcares de diferentes jugos de frutas, antes y después de una degradación enzimática de azúcar;

Fig. 8 la dependencia de una relación ácido-azúcar balanceada de diferentes jugos de frutos, después de una disminución enzimática en el contenido de azúcar, frente al valor de pH;

Fig. 9 un esquema de reacción de procesos fermentativos de reacción;

15 Fig. 10 una disminución fermentativa del contenido de azúcares glucosa (izquierda) y fructosa (derecha) por medio del hongo *Moniliella tomentosa* con formación de eritritol;

Fig. 11 un esquema de reacción de procesos de reacción enzimáticos y fermentativos combinados con un énfasis fermentativo;

20 Fig. 12 un esquema de reacción de la combinación de todos los procesos de reacción enzimática y fermentativa descritos anteriormente, con cualquier énfasis elegible;

Fig. 13 una construcción de un aparato de laboratorio;

Fig. 14 una saturación de oxígeno en el curso de una degradación enzimática de los azúcares sacarosa y glucosa en un jugo directo de piña;

25 Fig. 15 un curso de pH durante la degradación enzimáticas de los azúcares sacarosa y glucosa en un jugo directo de piña; y

Fig. 16 el cambio principal de la concentración de los azúcares (sacarosa y glucosa) durante la degradación enzimática y la formación de alcohol de azúcar durante la degradación fermentativa de fructosa en un jugo directo de piña.

Descripción detallada de las figuras

30 Los azúcares forman, aparte del agua, los ingredientes más importantes de los frutos. Los azúcares se componen al respecto en primera línea de la sacarosa, la glucosa y la fructosa, en los que pueden diferenciarse fuertemente sus proporciones porcentuales en masa total, dependiendo del fruto (véase la tabla colocada en la introducción de la Descripción).

35 Estos azúcares se encuentran entonces también de manera predominante en los productos de frutos producidos a partir de materias primas de frutos. Un estudio de diferentes jugos directos obtenibles comercialmente por ejemplo, en el que se reúnen jugos directos de tales jugos de frutas y/o verduras, que son embotellados directamente después de la compresión del jugo sin añadir adicionalmente azúcar y que contienen sólo los azúcares de la respectiva materia prima de frutos, da como resultado los siguientes contenidos típicos de azúcares:

jugo directo	Sacarosa [g/l]	Glucosa [g/l]	Fructosa [g/l]
Jugo de piña	41,7	32,4	35,8
Jugo de uva	14,4	35,4	39,4
Jugo de naranja	31,7	27,8	32,3
Jugo de manzana	n.n.	86,8	87,6

Se muestra que, sobre todo en los jugos de uva, se encuentran elevados contenidos de glucosa y fructosa. Por el contrario, la sacarosa se encuentra en mayor concentración sobre todo en jugos de piña y de naranja.

La Fig. 1 ilustra en virtud de un diagrama esquemático de proceso, las etapas esenciales de un procedimiento de acuerdo con la invención para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, mediante procesos de reacciones enzimáticas y/o fermentativas. Como se representa en la Fig. 1, el procedimiento de acuerdo con la invención se distingue por un proceso regular, con el cual se ajusta el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar a un valor preestablecido mayor, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos. El ajuste previsto de acuerdo con la invención del valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar a un valor mayor preestablecido, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, tiene como ventaja el impedir la sobreacidificación del sabor en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, y concretamente independientemente de si se usaron procesos de reacción enzimáticos y/o fermentativos de manera alternativa o acumulativa:

AB 1: Establecimiento del procedimiento enzimático para la eliminación de glucosa, sacarosa y/o fructosa

Debido al elevado valor calórico y la acción cariogénica de los azúcares glucosa, sacarosa y/o fructosa, en el marco de la presente invención pueden suministrarse procesos de reacción enzimática, con los cuales se degradan enzimáticamente la sacarosa, fructosa y/o en particular glucosa en los frutos o materias primas de frutos.

La Fig. 2 muestra un esquema de reacción de procesos de reacción enzimáticos. Puede reconocerse cómo con una combinación de las enzimas invertasa, glucosa-oxidasa y catalasa pueden eliminarse tanto el azúcar sacarosa presente en materias primas de frutos, como también el azúcar glucosa formado al respecto. Por medio de la enzima isomerasa puede convertirse incluso también el azúcar fructosa en glucosa y degradarla enzimáticamente.

AB 1.1: Degradación de glucosa por medio de glucosa-oxidasa

Al respecto, procesos de reacción lentos no eficientes, podrían contrarrestarse con un proceso regular para la regulación del valor de pH también durante los procesos de reacción y/o un proceso regular para el suministro de oxígeno necesario, en los que el oxígeno es insuflado preferiblemente de manera homogénea en un dispositivo para la ejecución del procedimiento y al respecto se regula el suministro de oxígeno preferiblemente a saturaciones de oxígeno entre 5 % y 60 %, en particular entre 10 % y 40 %, de modo particular preferiblemente entre 30 % y por debajo de 40 %.

La Fig. 3 muestra el curso del valor de pH de una regulación, preferiblemente automática, durante los procesos de reacción a, por ejemplo pH 4,3. Se reconoce cómo la regulación preferiblemente automática de pH mantiene el valor de pH durante los procesos de reacción de manera confiable en un intervalo de $\pm 0,05$ unidades de pH.

La Fig. 4 muestra la saturación de oxígeno regulada automáticamente en un jugo directo, por ejemplo en promedio 30 % de oxígeno O₂. Debido a la elevada sensibilidad del electrodo de oxígeno y las burbujas de gas en la materia prima de frutos, en este caso pueden observarse incluso cortas fluctuaciones en el contenido de oxígeno de la solución; sin embargo, no pudo establecerse una influencia negativa en la calidad de los productos de fruto con disminución en el contenido de azúcares.

La Fig. 5 muestra el curso cronológico de la degradación de glucosa en un jugo de uva por medio de glucosa-oxidasa. De modo impresionante es claro, cómo con los procesos regulares descritos anteriormente (regulación a pH de 4,3, 30 % de oxígeno) en un periodo de sólo 7 h fue posible degradar completamente la totalidad de la glucosa de un jugo de uva por medio de las enzimas glucosa-oxidasa y catalasa. Ensayos análogos con jugos de frambuesa, cereza, naranja, piña y pomelo condujeron a resultados comparables y muestran la capacidad universal de transferencia y eficiencia del procedimiento desarrollado en la mayoría de las matrices relevantes de frutos.

AB 1.2: Eliminación de sacarosa por medio de invertasa

También el azúcar sacarosa se encuentra, con excepción de la uva, en la mayoría de tipos de fruta con proporción significativa. Por ello, aparte de la degradación de glucosa, se suministra también un procedimiento complementario para la eliminación de este azúcar. En particular se propone escindir por medio de la enzima invertasa (sacarasa) la sacarosa en partes iguales, en glucosa y fructosa. Puesto que la sacarasa (invertasa) obtenible comercialmente usada en diferentes ensayos exhibe una muy elevada actividad enzimática, sorprendentemente se tuvo éxito en la degradación en un jugo de naranja con un contenido de sacarosa de aproximadamente 24 g/l (jugo de naranja) en un periodo de sólo 2 h completamente hasta glucosa y fructosa:

La Fig. 6 muestra la eliminación del azúcar sacarosa en un jugo de naranja por medio de la enzima invertasa, especialmente a temperaturas ambiente, en particular entre 20 °C y 30 °C, y un valor de pH de 4,3 regulado durante los procesos de reacción.

AB 1.3: Degradación de sacarosa y glucosa en la matriz de fruto

En los ensayos representados a continuación pudieron investigarse también las posibilidades e impactos ventajosos de una combinación de las tres reacciones enzimáticas mostradas, en la eliminación completa en particular de los azúcares sacarosa y glucosa de la matriz de materias primas de frutos.

5 Para ello, a diferentes jugos de fruta se añadió una mezcla de las tres enzimas invertasa, glucosa-oxidasa y catalasa y a continuación durante los procesos de reacción con regulación a un valor de pH mayor preestablecido, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, y con regulación del contenido de oxígeno en el reactor construido, se cuantificó el contenido de azúcares antes y después de la terminación de la degradación enzimática (en un periodo de 7 horas).

10 La Fig. 7 muestra una comparación del contenido de azúcares de diferentes jugos directos, antes y después de una degradación enzimática de azúcar. El resultado con diferentes jugos directos es impresionante, de acuerdo con esto la eliminación completa de los azúcares glucosa y sacarosa con enzimas en la matriz de materias primas de frutos en un periodo de 7 horas, es totalmente exitosa incluso en un jugo de uva con un contenido de glucosa superior a 70 g/l.

AB 1.4: Eliminación de fructosa por medio de glucosa-isomerasa

15 Ya los resultados anteriores prueban de modo impresionante la eficacia de los procesos enzimáticos de reacción, desarrollados en un procedimiento para la eliminación completa de los azúcares glucosa y sacarosa, de diferentes matrices de materias primas de frutos. Estos procesos de reacción pueden ser extendidos, de acuerdo con la necesidad, aún a la glucosa-isomerasa mostrada al principio para la conversión de fructosa.

20 Al respecto, se observa que el estado de equilibrio de la glucosa-isomerasa es ajustado usualmente en una relación de 1:1 (contenido de glucosa:contenido de fructosa), por lo cual preferiblemente de acuerdo con la invención justo el uso adicional de la glucosa-oxidasa hace posible una eliminación de la glucosa desde este equilibrio, y con ello una degradación completa de la fructosa mediante glucosa (glucosa isomerasa) hasta ácido glucónico (glucosa-oxidasa).

AB 1.5: Dependencia de las relaciones ácido-azúcar balanceadas

25 Además, se estableció de manera sorprendente que el ajuste de un valor de pH, no sólo durante los procesos de reacción enzimática y/o fermentativa (posteriores) sino en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar en sí mismo, hasta un valor mayor establecido previamente, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, de modo que

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 30 % en peso a menos de 40 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,6 y 1,0 unidades de pH; o

30 - para una disminución de los azúcares de por lo menos 40 % en peso a menos de 50 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,7 y 1,1 unidades de pH; o

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 50 % en peso a menos de 65 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,8 y 1,2 unidades de pH; o

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 65 % en peso a menos de 80 % en peso, el valor de pH se eleva entre 0,9 y 1,3 unidades de pH; o

35 - para una disminución de los azúcares de por lo menos 80 % en peso, se eleva el valor de pH entre 1,0 y 1,4 unidades de pH;

tiene como ventaja que impide la sobreacidificación del sabor, y concretamente de modo independiente de si se usaron procesos de reacción enzimáticos y/o fermentativos (posteriores) alternos o acumulativos,

40 en los que los valores de pH mencionados anteriormente en cada caso pueden caer también en hasta 0,1 o hasta 0,2 unidades de pH por encima o por debajo; y/o

en los que para alcoholes de azúcar formados por fermentación con una proporción de % en peso de hasta 3,0 % en peso, el incremento del valor de pH para la misma disminución en el contenido de azúcares, en comparación con un proceso enzimático puro, puede caer hasta 0,3 unidades de pH más bajo, en el que preferiblemente ambos valores tienen mutuamente correlación particularmente lineal.

45 Con ello, fue obtenible por primera vez un producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar con "relación ácido-azúcar" balanceada sensorialmente, por consiguiente una relación balanceada de notas de sabor ácidas y dulces, sin que se requiriesen las otras adiciones comunes de colorantes y sustancias aromatizantes indeseadas.

50 La Fig. 8 muestra la dependencia media de una relación ácido-azúcar balanceada de diferentes jugos de fruta, después de una disminución enzimática del contenido azúcar, frente al valor de pH. De acuerdo con ello, en reacciones enzimáticas de proceso pudieron alcanzarse buenos resultados tanto en sabor como también en técnica de proceso, cuando para una disminución pretendida de los azúcares de por lo menos 30 % en peso a menos de 40 % en peso, se eleva el valor de pH en aproximadamente 0,8 unidades de pH; cuando para una disminución pretendida de los

azúcares de por lo menos 40 % en peso a menos de 50 % en peso se eleva el valor de pH en aproximadamente 0,9 unidades de pH (no representado); cuando para una disminución pretendida de los azúcares de por lo menos 50 % a menos de 65 % se eleva el valor de pH en aproximadamente 1,0 unidades de pH; cuando para una disminución pretendida de los azúcares de por lo menos 65 % en peso a menos de 80 % en peso (se representan valores para 70 % % en peso) se eleva el valor de pH en aproximadamente 1,1 unidades de pH; y cuando para una disminución pretendida de azúcar de por lo menos 80 % en peso (se representan valores para 85 % % en peso) se eleva el valor de pH en aproximadamente 1,2 unidades de pH; en el que en el caso individual estos valores también caen en 0,1 a 0,2 unidades de pH por encima o por debajo.

AB 2: Establecimiento de proceso fermentativo para la eliminación de los azúcares fructosa y/o glucosa con formación de alcoholes de azúcar

Después de la exitosa degradación de los azúcares sacarosa y glucosa, en la mayoría de materias primas de frutos, un permanece como azúcar relevante todavía la fructosa. Aunque de acuerdo con la invención preferiblemente con la enzima glucosa-isomerasa es posible también una transformación de la fructosa en glucosa, para la degradación de la fructosa puede usarse también un procedimiento no enzimático, sino un procedimiento fermentativo sobre la base de microorganismos, que de manera ventajosa cuida de aspectos de sabor en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, por formación de compuestos edulcorantes deseados.

Al respecto, en el marco de la presente invención preferiblemente se usan aquellos microorganismos, en particular hongos, levaduras y/o bacterias que, a pesar de un bajo valor de pH y fuentes escasamente presentes de nitrógeno (que normalmente es la base para el crecimiento de microorganismos), crecen en la materia prima de frutos y en presencia de bacteriocidas propios del fruto (como por ejemplo polifenoles).

Pudieron ganarse experiencias positivas por ejemplo con la bacteria acidoláctica *Leuconostoc mesenteroides*. Sin embargo, ésta forma manitol como alcohol de azúcar, con efecto laxante. Para las cantidades de manitol formadas de hasta 45 g/l, para cantidades promedio de consumo de 0,5 l de bebida de fruto, ya ocurrió un efecto ligeramente laxante para personas sensibles, por la bebida de frutos con disminución en el contenido de azúcar de acuerdo con el procedimiento desarrollado.

Por ello, en lo sucesivo se prefirieron microorganismos que incluso están en capacidad de degradar el azúcar fructosa, en cuya degradación sin embargo no surgen productos posiblemente problemáticos como alcohol o manitol, sino que preferiblemente forman alcoholes de azúcar edulcorantes, que por consiguiente no tienen efecto de purga, son libres de efecto laxante, como en particular eritritol.

La Fig. 9 muestra un esquema de reacción de procesos de reacción fermentativa. Se representa cómo puede ocurrir la degradación de los azúcares fructosa y/o glucosa por medio de microorganismo, con formación simultánea de eritritol.

Respecto a esto pudieron ganarse experiencias positivas por ejemplo con el hongo *Moniliella tomentosa* o con la levadura *Candida magnoliae*.

La Fig. 10 muestra la disminución fermentativa de los azúcares glucosa (izquierda) y fructosa (derecha) por medio del hongo *Moniliella tomentosa* con formación de eritritol. Se reconoce cómo justo después de 24 h comienza la formación del alcohol de azúcar eritritol, pero ya después de 48 horas están completamente degradados los azúcares.

Al respecto, el uso del hongo *Moniliella tomentosa* causa de manera ventajosa que de una cantidad cualquiera de azúcares (= 100 %), ya aproximadamente la mitad (= 50 %) sea "consumida" por los microorganismos, y el otro 50 % sea convertido en compuestos edulcorantes que reducen las calorías, en la relación de aproximadamente 2:1 lo cual, referido a la cantidad usada de azúcares (= 100 %), tiene como ventaja una disminución efectiva de azúcares o de calorías de originalmente 100 % en 75 % a 25 % en el producto pretendido de frutos.

Así mismo, como para procesos de reacción puramente enzimáticos (véase arriba), también en el proceso de reacción fermentativa se ajustó el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar a un valor preestablecido más alto, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, para alcanzar una relación balanceada ácido-azúcar, que representa al requerimiento del consumidor por una aceptación de sabor.

Mediante la formación de compuestos con sabor dulce como eritritol sin embargo, para la misma disminución en el contenido de azúcares, en comparación con procesos de reacción puramente enzimáticos, para alcoholes de azúcar formados por la vía fermentativa con una proporción % en peso de hasta 3,0 % en peso, la elevación de acuerdo con la invención de pH pudo caer en hasta 0,3 unidades de pH más bajo, en la que preferiblemente ambos valores tienen mutuamente correlación particularmente lineal.

La dependencia de una relación ácido-azúcar balanceada frente al valor de pH para la disminución fermentativa de azúcares y la producción de eritritol, por ejemplo en jugo de manzana, es aclarada también en virtud de la siguiente tabla:

Disminución de azúcares en %	Contenido de eritritol en %	Relación ácido-azúcar balanceada en pH
30	0,7	3,9
50	1,4	4,2
70	1,8	4,3
85	2,2	4,5

AB 3: Combinación de procedimientos fermentativo y enzimático

El procedimiento de acuerdo con la invención para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos, con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, se distingue también en la práctica por una combinación de procesos de reacción enzimática y fermentativa. Tales procedimientos de combinación hacen posible un tipo de tecnología de kit o plataforma de construcción, con cuya ayuda en muchos alimentos pueden eliminarse todas las fracciones allí relevantes de azúcares, mediante procedimientos biotecnológicos.

La Fig. 11 muestra a modo de ejemplo un esquema de reacción de procesos de reacción enzimática y fermentativa combinadas, con un énfasis en la fermentativa. Se representa la degradación de los azúcares fructosa y/o glucosa por medio de microorganismos, con formación simultánea de eritritol y opcionalmente degradación del azúcar sacarosa mediante uso de la enzima invertasa.

La Fig. 12 muestra por ejemplo un esquema de reacción de la combinación de todos los procesos de reacción enzimática y fermentativa descritos anteriormente, con cualquier énfasis elegible (enzimático y/o fermentativo). Con estos procedimientos pueden degradarse todos los azúcares presentes en las materias primas de frutos (como en particular sacarosa, fructosa y/o glucosa) en procesos de reacción enzimática y/o fermentativa combinados y sin embargo al mismo tiempo permanecer de manera ventajosa sustancias edulcorantes en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar. Adicionalmente, en una etapa de fermentación pueden formarse compuestos con sabor dulce y disminución de calorías, como en particular eritritol.

AB 4: Construcción de aparatos y controles de proceso

La Fig. 13 muestra a modo de ejemplo en virtud de una construcción de equipo de laboratorio, cómo tanto en los procesos de reacción enzimática como también eventualmente fermentativa, es ventajosa una técnica de medición y regulación ideada pero conveniente en costes, para garantizar un curso de proceso reproducible y seguro, que ocurre preferiblemente en un procedimiento en lote. Se representa cómo se manejan los sensores (electrodos para pH y O₂) usados junto con técnica de reactor y técnica de regulación y control preferiblemente automática, necesarios para un proceso individual, sin recurrir a costosos o laboriosos equipamientos.

De este modo, puede ser suficiente por ejemplo una aireación mediante una frita simple para la entrada del oxígeno necesario para la degradación de la glucosa hasta ácido glucónico, en un dispositivo (reactor) para la ejecución del procedimiento. De modo alterno o acumulativo a ello pueden proveerse también agentes para insuflar oxígeno en el dispositivo, para la ejecución del procedimiento.

Para la regulación del pH se usan como reguladores de acidez preferiblemente óxido de magnesio (MgO) y/o suspensiones de óxido de magnesio, puesto que de manera ventajosa estos no tienen influencia negativa sobre el sabor del producto pretendido de fruto con disminución en el contenido de azúcar.

El dispositivo de laboratorio representado para la ejecución de un procedimiento de acuerdo con la invención comprende por ejemplo un reactor de 3 litros con un electrodo de pH, un electrodo para oxígeno y una frita para la aireación con oxígeno puro. Naturalmente, también puede usarse la proporción de 20 % de oxígeno en el aire, sólo que de modo correspondiente entonces disminuye la velocidad de proceso. Preferiblemente, durante los procesos de reacción, se agitan las materias primas de frutos en el reactor por medio de un agitador de imán o similar, para garantizar una distribución homogénea de oxígeno y MgO. El óxido de magnesio (MgO) es difícilmente soluble y por ello es dosificado preferiblemente como suspensión al 10 %, por ejemplo con ayuda de una bomba de manguera. Mediante un control automático, por ejemplo un sistema de regulación controlado por ordenador, se ajustan automáticamente el valor de pH y la saturación de oxígeno durante los procesos de reacción:

Después de que en el proceso de reacción enzimática por medio de glucosa-oxidasa se consume oxígeno y por el ácido glucónico formado disminuye el valor de pH, se controla por ejemplo mediante una válvula el suministro de oxígeno así como por ejemplo mediante una bomba se ajusta la dosificación del óxido de magnesio como regulador

de oxígeno. El control de oxígeno ocurre preferiblemente por medio de un medidor de O₂, el control de pH ocurre preferiblemente por medio de un medidor de pH.

Esto último es ventajoso también en una etapa de fermentación que sigue al proceso de reacción enzimática, puesto que también en particular para bacterias acidolácticas, con la degradación de fructosa se asocia una disminución del valor de pH, que puede contrarrestarse mediante adición por ejemplo de hidróxido de sodio (NaOH). En tanto la etapa fermentativa transcurre de manera anaeróbica, en este caso (ya) no es necesaria una adición de oxígeno.

Independientemente de, desde aspectos que en particular acelerar el proceso, qué tanto encuentre uso en la materia prima de frutos un control de valor de pH también durante los procesos de reacción enzimática y/o fermentativa, ocurre el proceso de regulación de acuerdo con la invención para el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, preferiblemente con ayuda de un agente para el ajuste de un valor preestablecido de pH en el producto de fruto, mediante dosificación de un regulador ácido, a un valor elevado respecto al valor de pH en la materia prima de frutos. Preferiblemente, mediante el medidor de pH por ejemplo, se determina para ello primero el valor de pH en la materia prima de frutos, y a continuación se vigila la dosificación de un regulador ácido en tanto transcurre el proceso de reacción enzimática y/o fermentativa, de modo que también después de terminar el proceso de reacción enzimática y/o fermentativa, se asegura que,

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 30 % en peso a menos de 40 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,6 y 1,0 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 40 % en peso a menos de 50 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,7 y 1,1 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 50 % en peso a menos de 65 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,8 y 1,2 unidades de pH; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 65 % en peso a menos de 80 % en peso se eleva el valor de pH entre 0,9 y 1,3 pH unidades; o
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 80 % en peso, se eleva el valor de pH entre 1,0 y 1,4 unidades de pH;

en el que los valores de pH mencionados anteriormente, en cada caso pueden caer también en hasta 0,1 o hasta 0,2 unidades de pH por encima o por debajo; y/o

en el que para los alcoholes de azúcar formados por fermentación con una proporción % en peso de hasta 3,0 % en peso, el incremento del valor de pH para la misma disminución en el contenido de azúcares, en comparación con un proceso puramente enzimático, puede caer en hasta 0,3 unidades de pH menos, en el que preferiblemente ambos valores tienen en particular correlación lineal mutua.

AP5: Ejemplo de productos de fruto

El estudio de la totalidad del proceso fue ejecutado a continuación en el ejemplo de un jugo directo de piña. A éste se añadió en una primera etapa en un reactor, las enzimas glucosa oxidasa, catalasa e invertasa y mediante ajuste y regulación de un contenido de oxígeno de 30 % mediante válvula magnética y control con ordenador, se inició el proceso de reacción enzimática.

La Fig. 14 muestra la saturación de oxígeno en el curso de la degradación enzimática de los azúcares sacarosa y glucosa en el jugo directo de piña. Se reconoce que la regulación en las primeras 3 horas funciona muy bien. Sólo entonces el contenido de oxígeno sube, a medida que se degrada completamente la totalidad de la glucosa en el jugo de piña.

También se reguló el valor de pH durante la etapa enzimática de proceso de manera deseada, en un mayor valor de pH comparado con el presente en la materia prima de frutos. Después de este ajuste a por ejemplo pH 4,3 al comienzo del proceso, con el proceso de regulación se mantuvo exitosamente éste dentro de una ventana de sólo 0,5 unidades de pH:

La Fig. 15 muestra el curso del pH durante la degradación enzimática de los azúcares sacarosa y glucosa en el jugo directo de piña.

La Fig. 16 muestra finalmente el cambio principal de la concentración de los azúcares (sacarosa y glucosa) durante la degradación enzimática, y la formación de alcohol de azúcar durante la degradación fermentativa de fructosa en un jugo directo de piña.

Esta regulación descrita hizo posible de manera confiable la rápida degradación enzimática de los azúcares sacarosa y glucosa, en un periodo de sólo 4 horas en el jugo de piña usado.

Mediante el uso de microorganismos adecuados ocurrido desde la quinta hora, ocurrió dentro de otras 40 horas también una degradación casi completa del azúcar fructosa, con formación de una sustancia de intercambio de azúcar.

Con ello, también es realizable un procedimiento de combinación de acuerdo con la invención, y en capacidad de degradar, bajo condiciones indulgentes de temperatura (entre por ejemplo sólo 20 a 30 °C) en un periodo de 45 horas, más de 95 % todos los azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) esenciales presentes en un jugo directo.

- 5 La fabricación de productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar mediante el procedimiento biotecnológico presentado en este documento, ofrece con ello una posibilidad de establecer en el mercado productos de fruto innovadores mediante una característica única. Es decir, actualmente no existe producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, que por un lado preserve los ingredientes naturales saludables presentes en los frutos desmenuzados como materias primas de frutos, que simultáneamente tenga fuerte disminución en el contenido de azúcares y que además exhiba una relación ácido-azúcar sensorialmente balanceada.
- 10 Sin embargo, por medio de la presente invención son obtenibles en particular productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, como purés de fruto o preparaciones de fruto o polvos de fruto o bebidas de fruto completo (batidos) o jugos de frutas y/o verduras (bien sea embotellados no diluidos como jugo directo o diluidos de nuevo como jugo de fruto a partir de concentrado de fruto) o de modo comparable como bebidas de fruto que pueden reconocerse como libres de alcohol; en los que el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar es
- 15 regulado de acuerdo con la invención a un valor más alto preestablecido, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la disminución biotecnológica de azúcares en materias primas de frutos con el propósito de obtener productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar, mediante

- procesos de reacción enzimática

5 caracterizado por

- un proceso de regulación con el cual se ajusta el valor de pH en el producto de fruto con disminución en el contenido de azúcar, a un valor mayor preestablecido, comparado con el valor de pH en la materia prima de frutos, de modo que
- para una disminución de los azúcares de por lo menos 30 % en peso a menos de 40 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,6 y 1,0 unidades de pH; o

10 - para una disminución de los azúcares de por lo menos 40 % en peso a menos de 50 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,7 y 1, 1 unidades de pH; o

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 50 % en peso a menos de 65 % en peso, se eleva el valor de pH entre 0,8 y 1,2 unidades de pH; o

15 - para una disminución de los azúcares de por lo menos 65 % en peso a menos de 80 % en peso se eleva el valor de pH entre 0,9 y 1,3 unidades de pH; o

- para una disminución de los azúcares de por lo menos 80 % en peso, se eleva el valor de pH entre 1,0 y 1,4 unidades de pH;

20 en el que los productos de fruto con disminución en el contenido de azúcar son bebidas de fruto completo o jugos de fruta y/o de verduras,

(a) caracterizado por una

- conversión enzimática de sacarosa en glucosa y fructosa por medio de invertasa; y/o

- conversión enzimática de fructosa en glucosa por medio de glucosa- isomerasa y

25 (b) caracterizado por una

- degradación enzimática de glucosa, con formación de ácido glucónico y peróxido de hidrógeno por medio de glucosa-oxidasa

- con uso simultáneo de catalasa, para convertir el peróxido de hidrógeno formado en agua y oxígeno.

30 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque durante los procesos de reacción enzimática por medio de glucosa-oxidasa y catalasa se suministra el oxígeno necesario, en el que se regula el suministro de oxígeno preferiblemente a saturaciones entre 5 % y 60 %, en particular entre 10 % y 40 %, de modo particular preferiblemente entre 30 % y menos de 40 %.

3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque el oxígeno es insuflado de manera homogénea en un dispositivo para la ejecución del procedimiento.

35 4. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el ajuste a un mayor valor de pH ocurre mediante adición de sales y/o suspensiones de sales con sabor neutro, como en particular óxido de magnesio y/o suspensión de óxido de magnesio.

Fig. 1

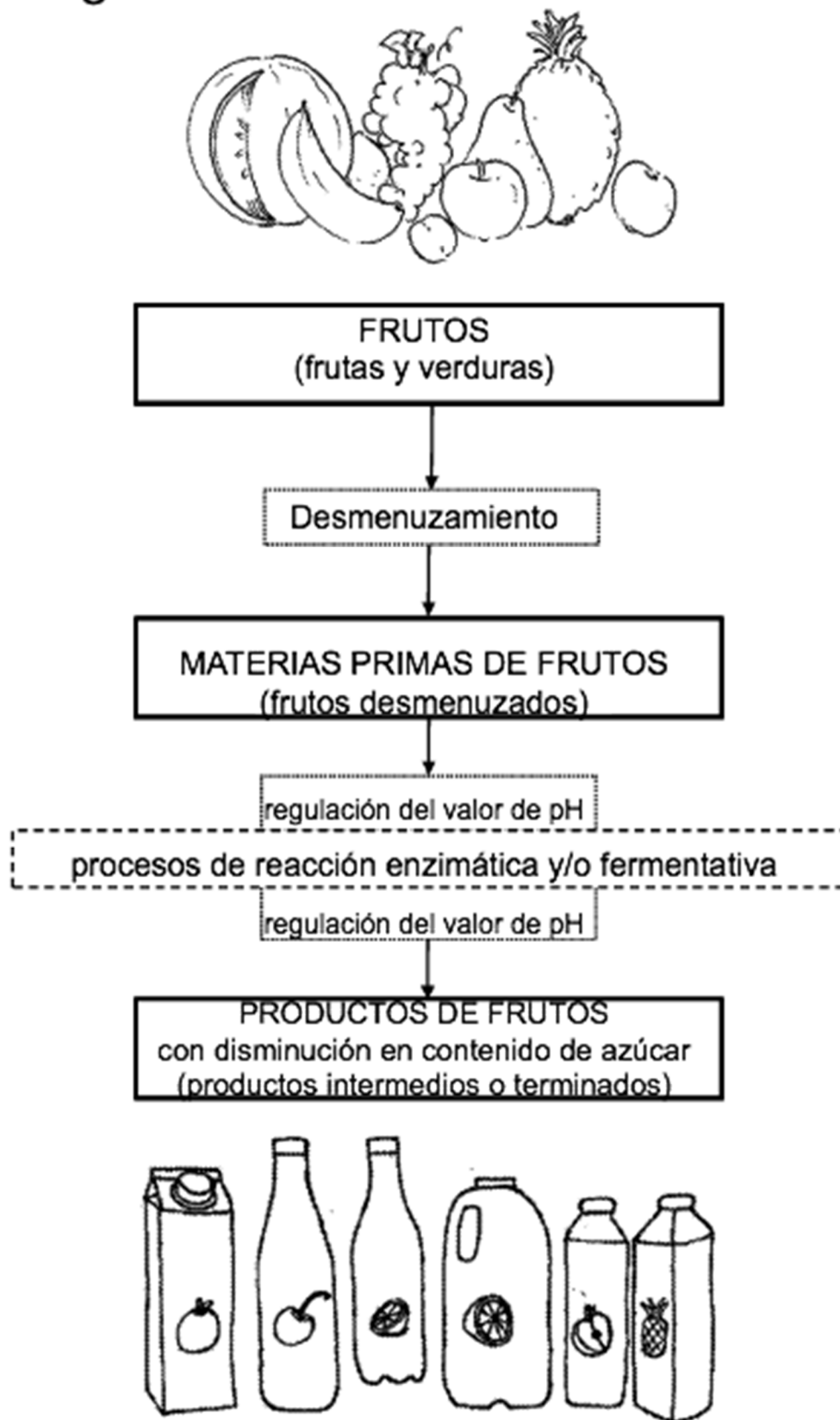


Fig. 2

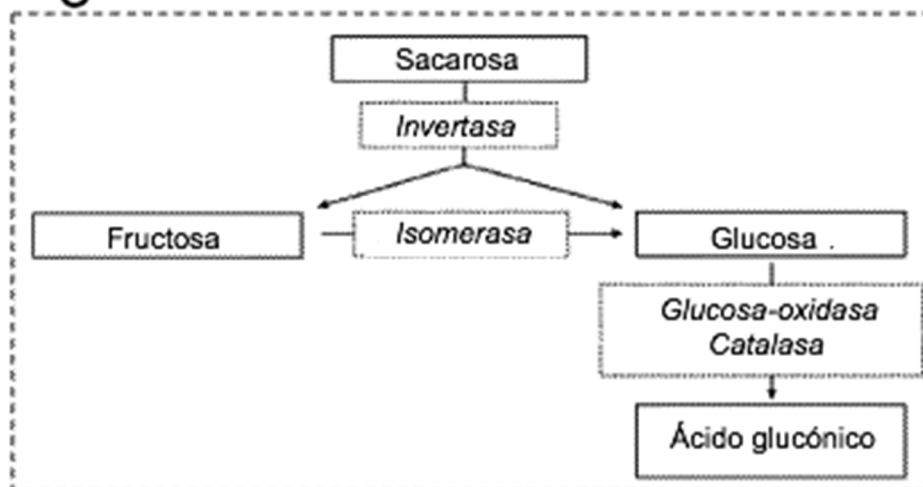


Fig. 3

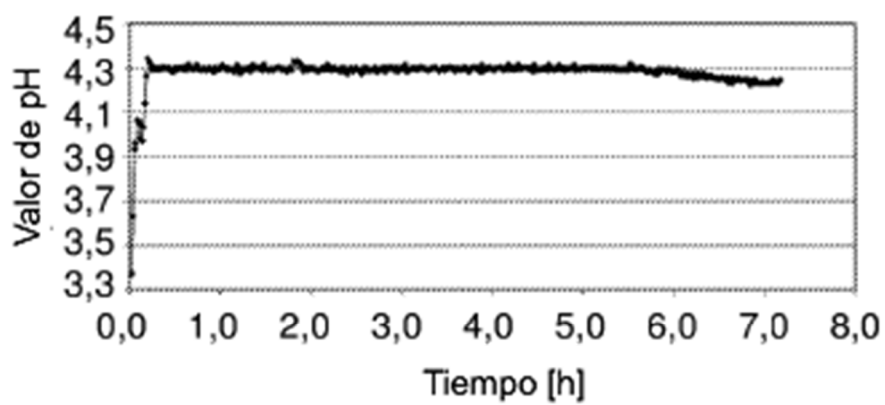


Fig. 4

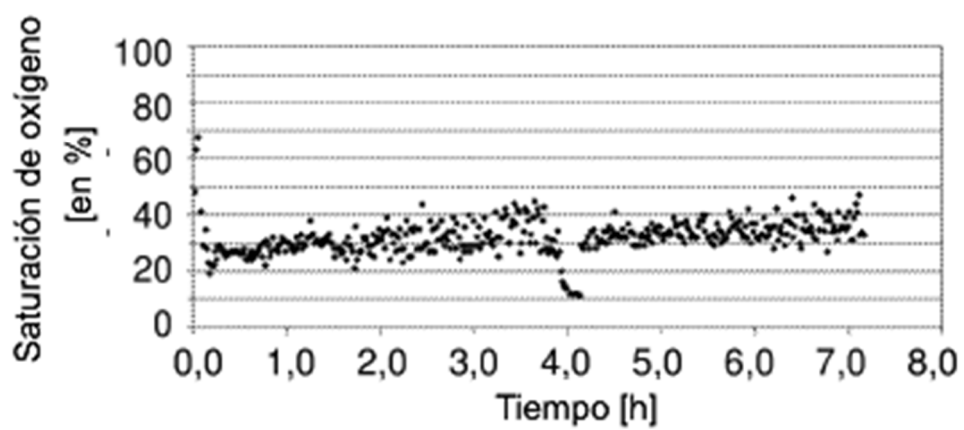


Fig. 5

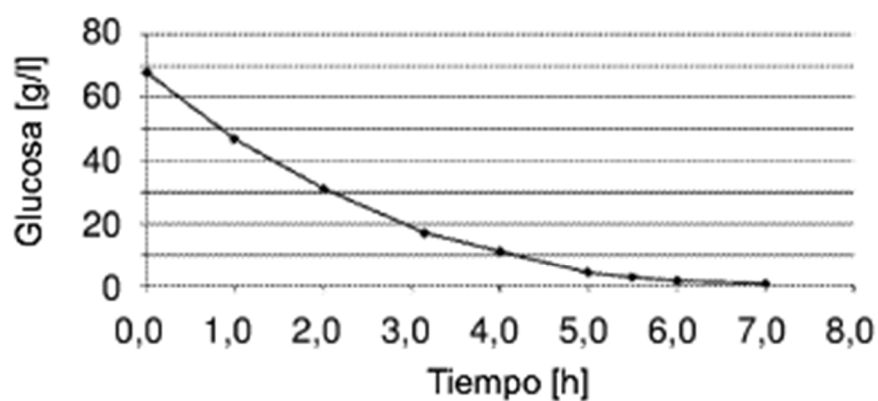


Fig. 6

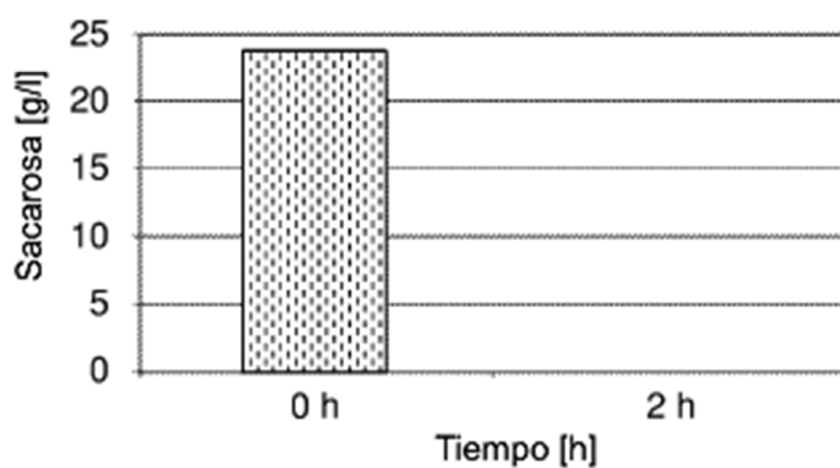


Fig. 7

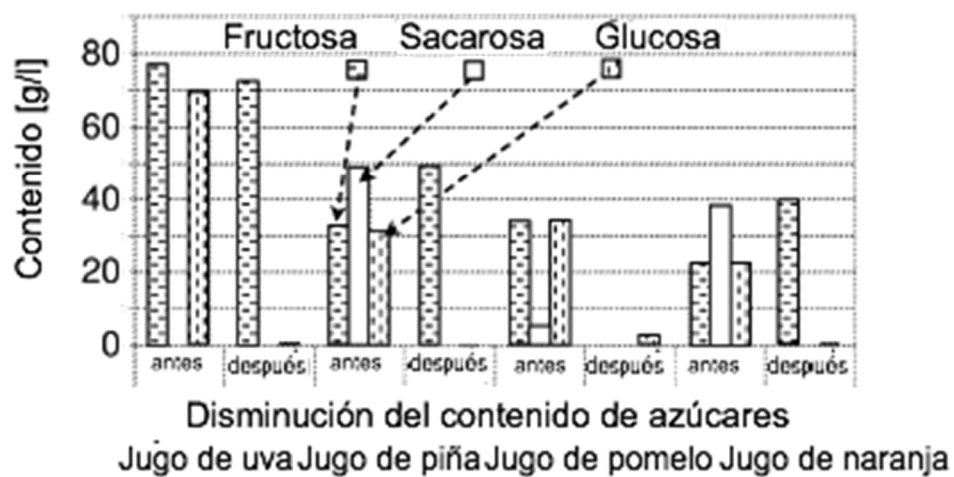


Fig. 8

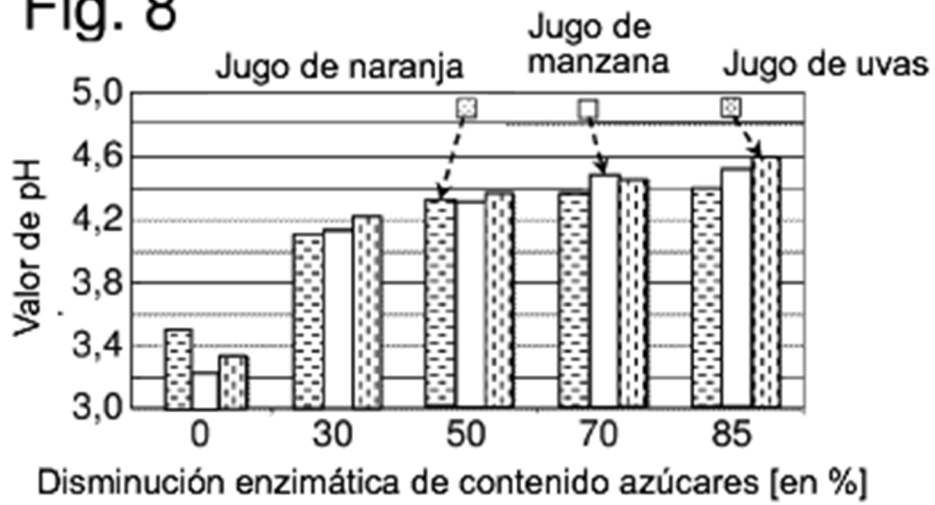


Fig. 9

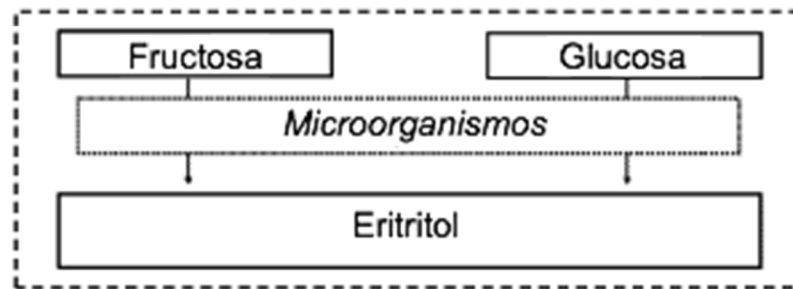


Fig. 10

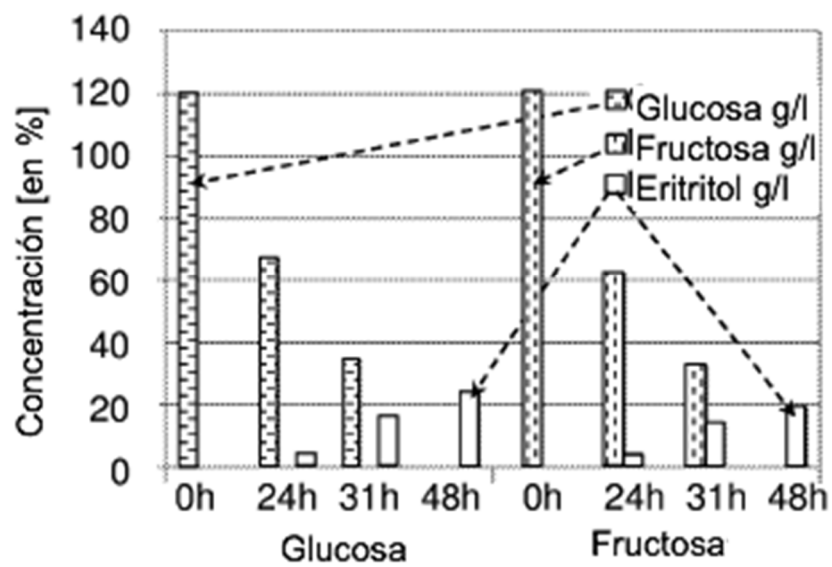


Fig. 11

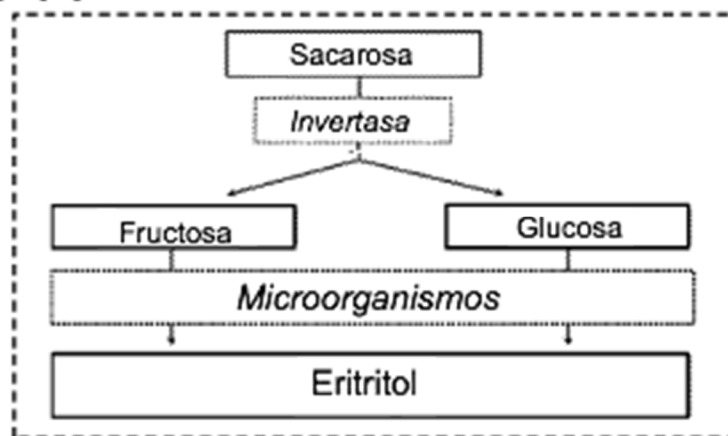


Fig. 12

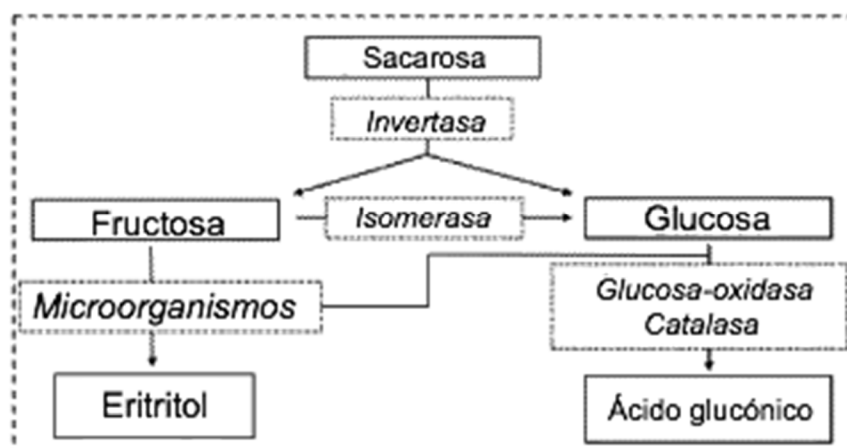


Fig. 13

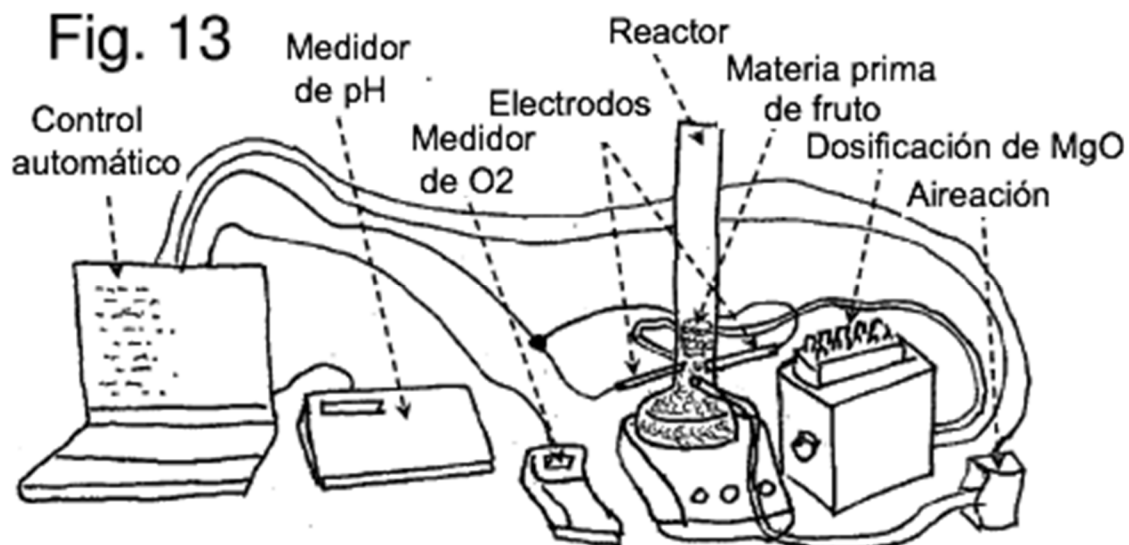


Fig. 14

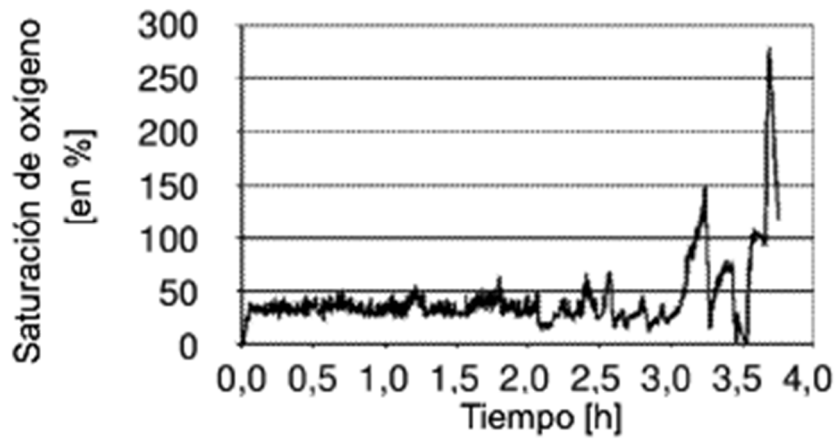


Fig. 15

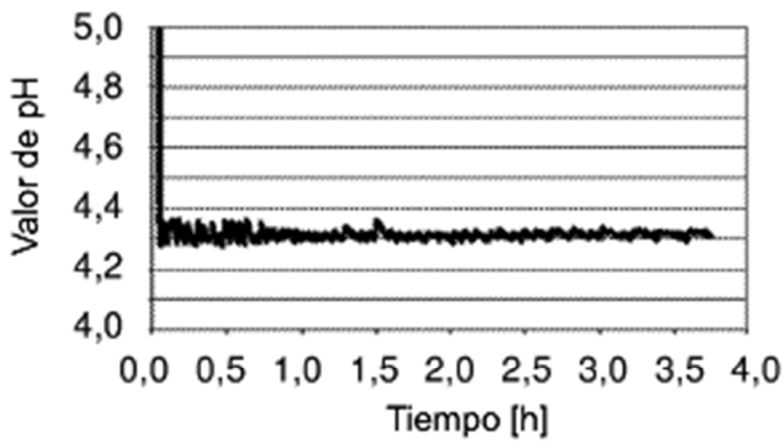


Fig.16

