

1 La fructosa es un compuesto natural con mayor poder edulcorante que el azúcar natural, y es mejor tolerada por los diabéticos.

5 Existen en la naturaleza diversos polímeros de fructosa, particularmente la inulina y el levano. La inulina está contenida en diversas plantas, principalmente en tubérculos y raíces de plantas pertenecientes a la familia de las compuestas. El levano existe, entre otras, en las gramíneas y en los cereales y como producto de la polimerización bacteriana.

10 La recuperación de fructosa a partir de la inulina por hidrólisis química o enzimática es un procedimiento conocido. La propia inulina se recupera por extracción a partir de partes de las plantas.

15 El objeto de la invención es un procedimiento más sencillo para la preparación de fructosa a partir de plantas que contienen un polímero de fructosa. Según la invención, se obtiene fructosa poniendo materia vegetal triturada que contiene un polímero de fructosa en contacto, en un medio acuoso, con una enzima que hidroliza los polímeros de fructosa, y, después de separar la materia vegetal restante, aislando de modo conocido la fructosa obtenida por conversión enzimática.

25 La ventaja del procedimiento según la invención es que se evita la operación de extracción, y que se obtiene una fructosa pura que puede cristalizarse más fácilmente que la fructosa obtenida por hidrólisis química. Una ventaja es que el procedimiento según la invención puede efectuarse en un medio de muy debilmente ácido a neutro. Como resultado, se suprime casi completamente la formación

1 de subproducto, tal como la formación, catalizada por áci-
dos, de dianhidrido de fructosa y la condensación de aldol
catalizada por bases. En la extracción de inulina y la hi-
drólisis de inulina usuales se forman de hecho cantidades -
5 importantes de subproducto.

La recuperación de fructosa a partir de un -
material que contiene levano se efectúa por medio de la en-
zima levanasa, y su recuperación a partir de materiales que
contienen inulina, por medio de inulasa.

10 El material de partida usado es preferible-
mente uno que contiene inulina, ya que la inulina está con-
tenida en cantidades considerables en los tubérculos o raí-
ces de plantas que son fáciles de cultivar. En muchos ca-
sos el contenido de inulina está comprendido entre 10 y 20%
15 en peso. Algunos materiales vegetales adecuados son los tu-
bérculos de dalia, *Helianthus Tuberosus*, raíces de achico-
ria, escorzonara, émula campana (*Inula Helenium*), raíces de
costus (*Saussurea lappa*) y las batatas de caña.

20 Las partes de las plantas ricas en inulina
se trituran hasta formar una masa pulposa. Pueden usarse
para este fin los métodos conocidos en las industrias del
azúcar y del almidón, tales como ralladores, cuchillas y mo-
linos de bolas.

25 La inulasa es el nombre corriente de la be-
ta(1-2) fructan-fructano-hidrolasa, enzima número EC 3.2.1.7.
Es una enzima bien conocida capaz de romper los enlaces be-
ta(1-2) de la fructosa. La inulasa puede obtenerse a par-
tir de un material vegetal, por ejemplo de batatas de caña,
pero se obtiene en la práctica a partir de cultivos de mi-
croorganismos, tales como, entre otros, Saccharomyces fra-
30

1 gilis, Aspergillus niger, y Helminthosporium oryzae. La en-
zima puede usarse en forma bruta o pura o en forma de una ma-
sa celular con actividad de inulasa. En este caso, la acti-
vidad de las preparaciones se expresará en unidades estándar
5 (UE), siendo una UE la actividad requerida para producir 1
micromol de fructosa por minuto a partir de inulina. La can-
tidad de preparación de enzima usada depende, entre otras co-
sas, del contenido de inulina de la materia vegetal, de la -
actividad de la preparación, y del tiempo disponible para la
10 reacción. En la mayoría de los casos se usará una cantidad
de preparación de enzimas correspondiente a una actividad de
entre 10 y 6.000 UE, y más particularmente entre 100 y 3000
UE, por gramo de inulina contenida en la materia vegetal.

La temperatura y el pH de la reacción son pre-
feriblemente aquéllos a los que la enzima tiene una activi-
dad óptima. Por consiguiente, los valores a elegir dependen
del origen de la preparación de enzima. El pH estará com-
prendido generalmente entre 3,8 y 8,5, y más particularmente
entre 4,5 y 6,5. En este último intervalo la formación de
20 subproducto es despreciable. La temperatura estará general-
mente entre 10 y 90°C, y más particularmente entre 40 y 75°C.
La temperatura puede variarse durante la reacción.

La reacción se efectúa en un medio acuoso mez-
clando la pulpa vegetal y la preparación de enzima, opcional-
mente con adicción de más agua. También pueden añadirse re-
guladores del pH y activadores de la enzima. La concentra-
ción de la mezcla de reacción estará generalmente entre 10 y
25 50% en peso de sólidos. Opcionalmente, la preparación de en-
zima puede añadirse en porciones a medida que transcurre la
30 reacción. La reacción puede efectuarse en un solo reactor

1 agitado o en una serie de reactores agitados. En la mayo-
ría de los casos, el tiempo de permanencia estará entre 1 y
24 horas.

5 Una vez terminada la reacción, la materia ve-
getal restante se separa por filtración o centrifugación.
La disolución acuosa de fructosa puede tratarse después del
modo usual para purificar y recuperar la fructosa. La enzi-
ma residual puede separarse por ultrafiltración o por trata-
10 miento con un cambiador de iones. Se encuentra que la fruc-
tosa obtenida según la invención cristaliza mejor que la -
fructosa sometida a extracción con ácido diluido e hidrólisis.

15 La invención se explicará en los ejemplos -
que siguen, pero sin estar limitada a este modo de realiza-
ción.

Ejemplo I

20 Raíces de achicoria se lavaron, trocearon,
se secaron por congelación y se trituraron. El secado por
congelación se efectuó para poder almacenar el material du-
rante varios meses sin degradación, y en la práctica puede
omitirse. 35 gramos del polvo obtenido de este modo se pu-
sieron en suspensión en 300 gramos de agua. Se añadieron
a esta suspensión 50 gramos de una disolución acuosa de inu-
25 lasa, y después el pH de la mezcla se ajustó a 5,0 por me-
dio de ácido acético, y la mezcla se calentó a 50°C durante
24 horas, agitándose al mismo tiempo. La inulasa usada era
una preparación bruta de actividad desconocida.

30 Al cabo de 24 horas la suspensión se centri-
fugó. Esto dejó 5 gramos de materia sólida. La disolución
restante después de la centrifugación se agitó con 25 gra-

1 mos de carbón activado durante 0,5 horas. Una vez separado
el carbón por filtración, la disolución se hizo pasar prime-
ro por un cambiador de iones fuertemente ácido (175 ml de -
Amberlyst-15, de Rohm y Haas) y después a través de un cam-
5 biador de iones débilmente básico (175 ml de Duolite A-7, -
de Dow Chemical). La disolución neutra decolorada se some-
tió después a evaporación. Tras la adición de cristales de
siembra y cristalización, la sustancia sólida resultante se
agitó con 100 cc de etanola 5°C. La masa de cristales se
10 recuperó por filtración, se lavó con etanol frío, y se secó.
De este modo se obtuvieron 24,5 gramos de fructosa. No se
pudo extraer más inulina o fructosa de la materia vegetal -
restante por medio de agua hirviendo o ácido clorhídrico di-
luído. Esto significa que la fructosa se recupera de un mo-
15 do virtualmente cuantitativo, teniendo en cuenta las pérdi-
das durante el tratamiento.

Ejemplo II

Diez gramos de raíces de achicoria trituradas
secadas por congelación, con un contenido de agua de 1,3%
20 en peso, se agitaron con 90 ml de agua y 6 gramos de diso-
lución acuosa de inulasa, durante 20 horas a una temperatu-
ra de 55° y a un pH de 5,0, ajustado por medio de ácido acé-
tico. La disolución de inulasa tenía una actividad de 300
UE por gramo.

25 Se separaron por centrifugación 1,5 gramos
de material residual. El análisis mostró que la disolución
así obtenida contenía 7,15 gramos de fructosa y 0,90 gramos
de glucosa. La cantidad de glucosa es más lata que la que
se calcularía a partir de la hidrólisis de la inulina. Una
30 explicación es que la preparación de enzima tiene también

1 algo de actividad de invertasa, de modo que puede ocurrir la
hidrólisis de la sacarosa contenida también probablemente en
las raíces. Sin embargo, la pequeña cantidad de glucosa que
de separarse fácilmente, ya que queda en las aguas madres de
5 la cristalización.

Podía recuperarse fructosa cristalina pura a
partir de la disolución de azúcar, del modo descrito en el
ejemplo I.

10 Se hizo un experimento en blanco repitiendo
el procedimiento anterior, con la única diferencia de que se
usaron 6 gramos de agua en lugar de la disolución de inulasa.
La fase acuosa obtenida por centrifugación contenía una can-
tidad despreciablemente pequeña de fructosa que no pudo de-
terminarse de modo cuantitativo. Esto muestra que la canti-
15 dad de inulasa que puede estar contenida en las raíces de -
achicoria puede despreciarse, y es esencial la adición de -
inulasa según la invención.

1

REIVINDICACIONES

5

Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10

1ª.- Procedimiento para la preparación de fructosa a partir de materia vegetal, caracterizado por poner en contacto materia vegetal triturada que contiene un polímero de fructosa, en un medio acuoso, con una enzima que hidroliza el polímero de fructosa y, después de separar la materia vegetal que queda, aislar de un modo usual la fructosa obtenida por conversión enzimática.

15

2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado por poner en contacto con inulasa materia vegetal que contiene inulina, en un medio acuoso.

20

3ª.- Procedimiento según las reivindicaciones 1ª y 2ª, caracterizado por efectuar la reacción a un pH de entre 3,0 y 8,5.

25

4ª.- Procedimiento según la reivindicación 3ª, caracterizado por efectuar la reacción a un pH de entre 4,5 y 6,5.

30

5ª.- Procedimiento según las reivindicaciones 1ª a 4ª, caracterizado por efectuar la reacción a una temperatura de entre 40 y 75°C.

6ª.- Procedimiento según las reivindicaciones 2ª a 5ª, caracterizado porque la cantidad de prepara-

1 ción de enzima con actividad de inulasa usada por gramo de
inulina contenida en la materia vegetal, corresponde a una
actividad de inulasa de entre 10 y 6.000 UE.

5 7ª.- Procedimiento según la reivindicación
6ª, caracterizado porque la cantidad de preparación de enzi-
ma usada corresponde a una actividad de entre 100 y 3.000
UE.

8ª.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE -
FRUCTOSA A PARTIR DE MATERIA VEGETAL".

10 Tal y como se ha descrito en la Memoria que
antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de ocho hojas escritas a
máquina por una sólo cara.

MADRID, 11.DIC.1979

P.A.

Fernando de Elizaburu
Por Poder