



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL



Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

CARTA PATENTE N.º PI 0314110-1

Patente de Invenção

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito : PI 0314110-1

(22) Data do Depósito : 11/09/2003

(43) Data da Publicação do Pedido : 25/03/2004

(51) Classificação Internacional : A23L 1/236

(30) Prioridade Unionista : 13/09/2002 US 10/243,283

(54) Título : Processos para preparar adoçantes de baixo índice glicêmico para composições de alimentos e bebidas e para reduzir este índice em tais composições

(73) Titular : CARGILL, INCORPORATED, Sociedade Norte Americana. Endereço: 15407 Mcginty Road West Wayzata, MN 55391-5624, Estados Unidos (US).

(72) Inventor : TING LIU CARLSON. Endereço: 9764 Country Creek Way, Dayton, Ohio 45458, Estados Unidos. Cidadania: Norte Americana.; ANTON WOO. Endereço: 6887 Charlesgate Road, Huber Heights, OH 45424, Estados Unidos.

Prazo de Validade : 10 (dez) anos contados a partir de 18/03/2014, observadas as condições legais.

Expedida em : 18 de Março de 2014.

Assinado digitalmente por
Júlio César Castelo Branco Reis Moreira
Diretor de Patentes

15 de Novembro
REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
de 1889

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"PROCESSOS PARA PREPARAR ADOÇANTES DE BAIXO ÍNDICE GLICÊMICO PARA COMPOSIÇÕES DE ALIMENTOS E BEBIDAS E PARA REDUZIR ESTE ÍNDICE EM TAIS COMPOSIÇÕES"**.

5 Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

Este pedido reivindica a prioridade do Pedido de Patente US Nº de Série 10/243.283, depositado em 13 de setembro de 2002, aqui incorporado em sua integridade a título de referência.

Campo da Invenção

10 A presente invenção refere-se a adoçantes de baixo índice glicêmico, produtos alimentícios contendo adoçantes de baixo índice glicêmico, e métodos de produção desses produtos com sacarose e um aceitador selecionado do grupo que consiste em um açúcar ou álcool de açúcar tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3
15 e 6 (também denominadas posições C-2, C-3 e C-6) que podem aceitar uma unidade de glicose da sacarose, que são reagidos com uma enzima do tipo glicanossucrase. Os produtos resultantes têm baixo índice glicêmico, e são úteis em qualquer aplicação que inclua um produto que tenha doçura e baixo índice glicêmico.

20 Antecedentes da Invenção

Xaropes de milho típicos que são úteis na produção de refrigerantes, bebidas para desportistas e outras aplicações em alimentos já são conhecidos. Seria desejável, no entanto, ter disponível para uso em refrigerantes, bebidas para desportistas e outras aplicações em alimentos, conforme necessário, um produto com doçura semelhante à doçura dos xaropes
25 de milho, de preferência com gustação e funcionalidade semelhantes às dos xaropes de milho típicos, e com índice glicêmico mais baixo.

Sumário da Invenção

30 Constitui por conseguinte um objetivo da presente invenção oferecer um processo para preparar produtos alimentícios novos e melhorados tais como ração para animais, bebidas, produtos de padaria, produtos de confeitaria, condimentos e petiscos, caracterizados por terem doçura e índice glicêmico mais baixo. O índice glicêmico está relacionado com a

liberação de glicose e pode ser testado usando-se o procedimento oferecido no exemplo 5 abaixo.

De acordo com a presente invenção, verificou-se que o objetivo acima e ainda outros objetivos são obtidos utilizando-se como adoçante para um alimento ou uma bebida um produto com baixo índice glicêmico. Os
5 adoçantes com baixo índice glicêmico são preparados por reação de sacarose e um aceitador selecionado do grupo que consiste em um açúcar ou álcool de açúcar tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3 e 6 que podem aceitar uma unidade de glicose da
10 sacarose, com uma enzima do tipo glicanossucrase. Os produtos resultantes da reação contêm frutose e vários oligossacarídeos da glicose.

Também incluídos na presente invenção estão alimentos e bebidas que utilizam como adoçante pelo menos um ou mais produtos preparados pela reação de sacarose e um aceitador selecionado do grupo que
15 consiste em um açúcar ou álcool de açúcar tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3 e 6 (também denominadas posições C-2, C-3 e C-6) que podem aceitar uma unidade de glicose da sacarose, com uma enzima do tipo glicanossucrase. O produto resultante contém frutose e vários oligossacarídeos da glicose, e tem um índice glicêmico
20 baixo.

Um outro aspecto da invenção compreende produtos alimentícios que incluem um adoçante de baixo índice glicêmico que resultam em um produto alimentício que tem um índice glicêmico pelo menos 10%, 20%, 40% ou 50% mais baixo que o índice glicêmico de um produto alimentício de
25 controle que é feito usando-se adoçantes convencionais. Em outras modalidades, o adoçante de baixo índice glicêmico é feito por reação de sacarose e um aceitador, tal como maltose, a uma proporção de pelo menos 4:1 na presença de uma enzima do tipo glicanossucrase, tal como a enzima isolada de *Leuconostoc mesenteroides* (LM) cepa NRRL-B-21297.

30 Estes e outros objetivos e vantagens da presente invenção tornar-se-ão evidentes para os versados na técnica a partir da descrição detalhada e reivindicações a seguir.

Descrição Detalhada da Invenção

De acordo com a presente invenção, verificou-se que os objetivos acima e ainda outros objetivos são obtidos utilizando-se como adoçante de baixo índice glicêmico na confecção de produtos alimentícios. O índice glicêmico está relacionado com a liberação de glicose. A produção e o uso do adoçante de baixo índice glicêmico estão descritos abaixo.

Produção do adoçante de baixo índice glicêmico

O aceitador e a sacarose são reagidos com uma enzima do tipo glicanossucrase que vai transferir as unidades de glicose da sacarose para um carboidrato aceitador e vai liberar oligossacarídeos da frutose e da glicose, de vários comprimentos. O produto resultante pode ter um nível de doçura semelhante ao de um xarope de milho, e gustação e funcionalidade semelhantes às daquelas do xarope de milho. Além disso, e mais significativo para o presente processo, o produto resultante caracteriza-se por ter um índice glicêmico mais baixo comparado com a combinação dos reagentes (sacarose e aceitadores) que não são reagidos com a enzima.

O aceitador pode ser selecionado do grupo que consiste em um açúcar ou álcool de açúcar tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3 e 6 que podem aceitar uma unidade de glicose da sacarose. O aceitador pode estar na forma de xarope ou de sólidos de xarope. Exemplos dos xaropes ou sólidos de xarope adequados para uso nesta invenção são maltose, maltotriose, panose, xarope de milho com alto teor de maltose (mais de 40%), xarope de milho com médio a baixo DE (equivalente de dextrose), rafinose, celobiose, maltitol, maltotriose, maltotetrose, glicose, isomaltose, isomaltitol, xarope e sólidos de xarope de cevada, xarope e sólidos de xarope de arroz, lactose, permeado de soro de leite, xarope e sólidos de xarope de amido de tapioca, nigerose, kojibiose, isomaltoligossacarídeo, xarope de amido hidrogenado, xarope e sólidos de xarope de amido de batata, xarope e sólidos de xarope de milho e similares. Exemplos dos xaropes que são adequados para uso nas misturas são, porém sem limitação, SATINSWEET®, disponível na Cargill, Incorporated, que contém oligômeros contendo no mínimo 55 a 70% em peso de maltose e 45 a

30% de glicose e outros oligômeros contendo glicose. Em uma modalidade preferida, o xarope ou os sólidos de xarope usados nesta invenção compreendem uma quantidade de cerca de 2 a cerca de 99% em peso de maltose.

As enzimas do tipo glicanossucrase que podem ser usadas na
5 reação para produzir o adoçante de baixo índice glicêmico incluem, porém sem limitação, as cepas NRRL-B 1121, 1143, 1149, 1254, 1297, 1298, 1355, 1374, 1375, 1377, 1399, 1402, 1433, 23185, 23186, 23188, 23311, 742, 523, 21297 de LM e outras enzimas fornecidas por esta invenção. Estas cepas podem ser cultivadas e as enzimas podem ser isoladas usando-se
10 qualquer método conhecido na técnica, tal como o método oferecido abaixo. Por exemplo, um processo para produzir o adoçante de baixo índice glicêmico adequado para uso nesta invenção compreende reagir, ou incubar, misturas de sacarose e xarope ou sólidos de xarope de sacarose, como um carboidrato aceitador, em proporções variáveis dos componentes, a uma
15 concentração total de açúcar de cerca de 2 a cerca de 40%, com uma quantidade de glicanossucrase de LM e outras bactérias de ácido láctico suficiente para proporcionar um produto de baixo índice glicêmico. A reação, ou incubação, é realizada a uma temperatura de cerca de 30 a cerca de 45°C, por um período de cerca de 1 a cerca de 48 horas.

20 As características do adoçante de baixo índice glicêmico podem ser alteradas controlando-se a proporção de sacarose para aceitador. Geralmente, o índice glicêmico do produto produzido diminui à medida em que a proporção de sacarose para aceitador aumenta. Por exemplo, espera-se que um produto feito usando-se uma proporção de 1:1 (sacarose para acei-
25 tador) tenha um índice glicêmico mais alto que aquele de um produto criado usando-se uma proporção de 4:1 (sacarose para aceitador). Portanto, a invenção oferece métodos para produzir adoçantes de baixo índice glicêmico usando-se proporções de sacarose para aceitador de pelo menos 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1 e 10:1. Por conseguinte, a invenção também oferece pro-
30 dutos alimentícios feitos por tais métodos.

Os adoçantes de baixo índice glicêmico também podem ser caracterizados pelas ligações entre as moléculas de glicose no oligossacari-

deo da glicose. Em algumas modalidades, o oligossacarídeo da glicose tem ligações alfa 1,3 e alfa 1,6, e o produto de oligossacarídeo da glicose também pode conter, porém sem limitação, outras ligações tal como alfa 1,4. Em algumas modalidades, o adoçante de baixo índice glicêmico terá pelo menos 20% de ligações alfa 1,3 e em outras modalidades o adoçante de baixo índice glicêmico terá pelo menos 20% de ligações alfa 1,3 e pelo menos 20% de ligações alfa 1,6.

O adoçante de baixo índice glicêmico também pode ser subsequentemente processado para remover parte da frutose, ou toda ela, dando assim um adoçante de baixo índice glicêmico que é exaurido em frutose. A frutose pode ser removida do adoçante de baixo índice glicêmico usando-se qualquer método conhecido na técnica, por exemplo usando-se cromatografia de coluna. Geralmente, o adoçante de baixo índice glicêmico contém menos de 50% de frutose.

Mais especificamente, o adoçante de baixo índice glicêmico pode ser feito de xaropes que contenham um ou mais aceitadores. Quando o aceitador usado está na forma de xarope, ele pode ser misturado usando-se qualquer técnica conhecida na literatura. Por exemplo, as misturas podem ser produzidas por misturação física da sacarose e do xarope ou sólidos de xarope. Conforme usado nos exemplos desta invenção, as misturas de sacarose e xarope ou sólidos de xarope foram preparadas por combinação. Em vários dos exemplos desta invenção, encontram-se exemplificadas misturas de sacarose e xarope de milho compreendendo cerca de 65 por cento em peso de maltose (SATIN-SWEET® 65) compreendendo sacarose para o xarope de milho SATIN-SWEET® 65 em proporções de 3:2, 2:1 e 5:2 em termos de peso seco. No entanto, conforme aqui mencionado, pode-se usar qualquer proporção de sacarose para xarope ou sólidos de xarope, tal como de cerca de 20:1 a cerca de 1:20 de sacarose para xarope ou sólidos de xarope, que permita a obtenção de um produto de baixo índice glicêmico. Mais precisamente, em vários dos exemplos, foi utilizado o xarope de milho SATIN-SWEET® 65, um produto de marca registrada disponível na Cargill, Incorporated, que contém oligômeros com no mínimo 65% em peso de mal-

tose e 35% em peso de glicose e outros oligômeros contendo glicose.

Usos do adoçante de baixo índice glicêmico

Espera-se que os adoçantes de baixo índice glicêmico descritos nesta invenção, e exemplificados nos exemplos, sejam úteis na preparação de composições de comidas e bebidas caracterizadas por terem um índice glicêmico mais baixo que os produtos alimentícios feitos usando-se adoçantes convencionais. Espera-se que os adoçantes de baixo índice glicêmico aqui descritos possam ser incorporados com sucesso como adoçantes em qualquer produto alimentício onde são usados adoçantes convencionais, que incluem ração para animais, bebidas, produtos de confeitiro, condimentos, bebidas energéticas, goma de mascar, sorvete sobremesas, ração para animais domésticos e similares, quando se deseja produzir comidas ou bebidas de baixo índice glicêmico. Os adoçantes de baixo índice glicêmico podem ser incorporados nas composições de comidas ou bebidas em qualquer quantidade desejada, dependendo da aplicação específica. Por exemplo, o adoçante de baixo índice glicêmico pode ser incorporado em um quantidade que varia de cerca de 0,1 a cerca de 99,9% em peso da composição de comida ou bebida.

Produtos alimentícios contendo o adoçante de baixo índice glicêmico geralmente vão ter um índice glicêmico que é pelo menos 10% menos que o índice glicêmico de um produto substancialmente semelhante feito usando-se adoçantes convencionais. O termo adoçantes convencionais, conforme aqui usado, refere-se a adoçantes à base de sacarose, tal como açúcar granulado, açúcar líquido e açúcar mascavo, adoçantes à base de amido, tais como produtos à base de dextrose incluindo maltodextrina, xarope de milho e sólidos de xarope de milho, e dextrose, e produtos à base de frutose incluindo xarope de milho de alto teor de frutose e frutose cristalina, e outros produtos à base de amido tais como maltose e xarope de malte. Também podem ser usados outros adoçantes peculiares que incluem mel e mel artificial, lactose, xarope de bordo e açúcar de bordo, e adoçantes derivados de frutas.

A invenção pode ser mais facilmente entendida com referência

aos exemplos a seguir. Naturalmente, existem muitas outras formas desta invenção que ficarão óbvias para o versado na técnica depois da descrição completa da invenção, e por conseguinte será percebido que esses exemplos são dados a título ilustrativo apenas, e não devem ser interpretados como limitativos do escopo desta invenção de forma alguma.

Exemplos

Os exemplos 1 e 2, fornecidos abaixo, ensinam como fazer o adoçante de baixo índice glicêmico descrito nesta invenção. Além disso, os exemplos descritos abaixo fornecem resultados que mostram que o adoçante de baixo índice glicêmico aqui descrito tem baixo índice glicêmico. Isto foi demonstrado por experimentação *in vitro* usando ensaios de glicoamilase para estimar o índice glicêmico (exemplo 3, estudos 1-3), e experimentação usando pó de intestino de rato para estimar o índice glicêmico (exemplo 4) e finalmente através de experiências clínicas com seres humanos (exemplo 5). O exemplo 6 mostra os resultados referentes a adoçantes de baixo índice glicêmico feitos com várias enzimas, e o exemplo 7 mostra composições de comidas que foram criadas usando o adoçante de baixo índice glicêmico.

Exemplo 1 - Método de preparação de enzimas

A cepa NRRL-B-523 ou NRRL-B-21297 de LM foi cultivada em um fermentador de 200 litros a 30°C com misturação a 150 revoluções por minuto (rpm) em um meio contendo 0,22% em peso de Hy Pep 1510 (hidrólise enzimática de soja), 0,22% em peso de HY-YEST 412 (extrato secado por aspersão de fermento de padeiro cultivado primário), ambos disponíveis na Quest, International, Hoffman Estates, Illinois, 0,2% em peso de citrato de amônio, 0,5% em peso de citrato de sódio, 0,01% em peso de sulfato de magnésio, 0,005% em peso de sulfato de manganês e 0,2 por cento em peso de fosfato de potássio (dibásico) suplementado com 2 por cento em peso de sacarose e 2 por cento em peso do xarope de milho SATIN-SWEET® compreendendo 65 por cento em peso de maltose por 18 horas. O sobrenadante cultural resultante foi clarificado por filtração do sobrenadante através de filtros de fibra oca Amicon de 0,1 micron, disponível na Millipore, Bedford, Massachusetts, a 4°C. A enzima do sobrenadante clarificado foi purificada e

concentrada de outros componentes do meio por ultrafiltração através de uma membrana de diafiltração de cassete de poliéter sulfona Pellicon-2 com pelo menos de 50.000 kD, disponível na Millipore, Bedford, Massachusetts. Foram obtidos 20 litros de solução de enzima, que é 10 vezes mais concen-

5 trada que o sobrenadante cultural inicial.

Exemplo 2 - Vários aceitadores úteis para produzir adoçantes de baixo índice glicêmico

A enzima da cepa NRRL-B-21297 de LM foi testada para determinar a adequabilidade de vários aceitadores. A enzima foi preparada usando-se os métodos aqui descritos.

10

Para determinar a adequabilidade da preparação dos produtos de sacarose/aceitador, 0,4% em peso de sacarose e 0,4% em peso de aceitador foram misturados com solução de enzima em tampão de gliconato de sódio 0,01 M, pH 6, e a reação prosseguiu por 2 horas a 37°C.

Os perfis de carboidrato dos produtos gerados pelas reações enzimáticas com as misturas de sacarose de xaropes e sólidos de xarope desta invenção foram analisados por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) usando 2 (duas) colunas de carboidrato Bio-Rad Aminex HPX-42A (300 mm x 7,8 mm) disponível na Bio-Rad, Hercules, Califórnia, sucessivas, com água como o eluato a 0,2 ml/min, a uma temperatura de 65°C.

15

20

A velocidade da reação foi estimada com base na quantidade de oligossacarídeos gerados de cada aceitador e normalizada contra a concentração de frutose em cada reação. Os resultados estão mostrados abaixo na Tabela 2.0. Os valores reportados para oligossacarídeos para frutose são para DP3-DP7 menos material de partida.

25

Tabela 2.0

Exemplo Número	Aceitador	Proporção em Peso de Oligossacarídeo para Frutose
1	Maltose	2,02
2	Panose	1,56
3	Isomaltose	0,93
4	Maltotriose	0,53
5	Maltotetrose	0,38
6	Glicose	0,49

Por esses dados observa-se que a maltose é o melhor aceitador para a enzima da cepa NRRL-B-21297 seguida da panose e da isomaltose.

5 Como parte desta avaliação, outros açúcares foram avaliados quanto à adequabilidade como aceitadores. Os açúcares foram xilose, arabinose e mio-inositol. Verificou-se que estes açúcares não são aceitadores tão eficazes quanto os aceitadores ligados na Tabela 2.0 no tempo de reação de 2 (duas) horas.

10 Exemplo 3 - Estudos *in vitro* usando glicoamilase para estimar o índice glicêmico

Os três estudos descritos abaixo fornecem dados referentes aos perfis de carboidrato dos vários adoçantes de baixo índice glicêmico, bem como a estimativa do índice glicêmico (identificado usando-se glicoamilase e HCl) dos vários adoçantes de baixo índice glicêmico.

15 A. Estudo 1

20 A cepa NRRL-B-21297 de LM foi cultivada da maneira descrita acima, e as enzimas recuperadas foram ressuspendidas em tampão de gliconato 0,01 M (pH 6), até o volume original do sobrenadante, junto com 8% em peso de açúcares totais, nas proporções de 3:2, 2:1 e 5:2 de sacarose para o xarope de milho SATIN-SWEET® contendo 65% em peso de maltose (doravante 65HM). A reação enzimática foi deixada prosseguir por 16 horas a uma temperatura de 37°C, com agitação moderada.

Ao final da reação, os produtos resultantes foram analisados

pelo método de HPLC aqui descrito.

Os 3 (três) produtos resultantes contêm os perfis de açúcar apresentados na Tabela 3.0.

Tabela 3.0

	Proporção de sac/65HM		
	3:2	2:1	5:2
Superiores	0,97	0,79	0,69
DP8	0	0,82	1,45
DP7	1,56	2,74	3,92
DP6	3,02	5,13	6,76
DP5	12,01	15,1	16,1
DP4	20,49	19,27	16,89
DP3	24,47	16,32	11,21
Maltose	3,87	1,66	0,84
Glicose	2,97	3,87	4,9
Frutose	30,64	34,28	37,24

5 * Tabela 1. Perfis de carboidrato das enzimas de *L. mesenteroides* B-21297 incubadas com sacarose e xarope de milho SATIN-SWEET® 65 em três proporções. Os números representam as percentagens de carboidratos totais no produto final. Abreviações: DP = grau de polimerização; superiores = açúcares com DP > 8.

10 Para obter uma estimativa do índice glicêmico dos produtos, foram realizados ensaios de digestibilidade *in vitro*, usando glicoamilase e hidrólise de ácido para estimular a digestão. Uma quantidade de 0,08% de glicoamilase, (v/v) disponível na Genencor, Rochester, New York, pelo nome Optidex L-400, foi usada a uma temperatura de 37°C, por um período de 1
15 hora, com agitação moderada. As reações foram interrompidas pela adição de ácido clorídrico (HCl) até uma concentração final de 0,24 M (molar), e aquecimento a 90°C por um período de 5 minutos. A quantidade de glicose liberada foi medida por HPLC usando-se uma coluna de exclusão de íons Aminex HPX-87H, disponível na Bio-Rad, com ácido sulfúrico 0,01 N (nor-

mal) como a fase móvel.

Os resultados estão apresentados na Tabela 3.1 abaixo.

Tabela 3.1 (% de glicose liberada)

sac/65HM	Produto de Controle Sem Tratamento Com Glicanossucrase	Adoçante de Baixo Índice Glicêmico Depois de Tratamento com Glicanossucrase
3:2	100,00%	36,10%
2:1	100,00%	28,70%
5:2	100,00%	38,70%

* Tabela 2. Quantidade de oligossacarídeos presentes nos produtos gerados por enzimas de *L. mesenteroides* B-21297 e seus respectivos valores de liberação de glicose determinados pelos ensaios de digestibilidade *in vitro* com glicocamilase.

Pelos dados das Tabelas 3.0 e 3.1, observa-se que os três produtos compreendendo misturas de sacarose e xarope de milho contendo 65% em peso de maltose, em proporções variáveis, são doces, já que o teor de frutose varia de cerca de 30 a cerca de 37%. Além do mais, espera-se que os três produtos tenham baixo índice glicêmico, gustação peculiar e funcionalidade em várias aplicações de alimentos e bebidas.

Estudo 2

O sobrenadante cultural de NRRL-B-21297 de LM foi usado para converter misturas de sacarose e xarope de milho ou sólidos de xarope de milho contendo 65% em peso de maltose (65HM) ou 96% em peso de maltose (96HM) em adoçantes de baixo índice glicêmico. Dessa forma, um total de 20% em peso ou 30% em peso de açúcares em água, de várias proporções de sacarose para aceitador, contendo 65 ou 96 por cento em peso de maltose, foram incubados com 10% em peso de solução de enzima concentrada, a uma temperatura de 37°C por um período de cerca de 16 horas. A atividade da enzima foi inativada por tratamento térmico a uma temperatura de 121°C por um período de 10 minutos. Os xaropes resultantes foram filtrados por um filtro de fibra de vidro de 0,7 micron (Pall Corpora-

tion, Ann Arbor, Michigan), tratados com carvão ativado, e tratados com resinas trocadoras de cátions e ânions para remover cor, proteína e íons. Os produtos foram filtrados através de papel filtro Whatman N° 3 (Whatman International, Ltd. Maidstone, Inglaterra) para remover finos de carbono. Os adoçantes de baixo índice glicêmico resultantes foram então evaporados a uma temperatura de 70°C até 80% de sólidos secos.

O perfil de carboidratos dos adoçantes de baixo índice glicêmico resultantes estão apresentados na Tabela 3.2 a seguir.

Tabela 3.2

	3:2 sac/65HM LGS1	3:1 sac/65HM LGS2	3:2 sac/96HM LGS3	2:1 sac/96HM LGS4	7:2 sac/65HM LGS5
DP7+	5	11	1	0	18
DP6	4	9	3	4	10
DP5	14	17	14	14	10
DP4	23	14	29	24	12
DP3	18	9	15	10	6
Maltose	2	1	3	0	1
Glicose	4	3	2	15	6
Frutose	30	36	33	33	37

Os números representam percentagens de carboidratos totais no produto final. Abreviações: DP = grau de polimerização

Usando o ensaio de digestibilidade *in vitro* descrito acima, a velocidade relativa de liberação de glicose comparada com misturas iniciais de açúcares sem tratamento com enzima está mostrada abaixo para os adoçantes de baixo índice glicêmico (LGS), identificados por LGS1 a LGS5. Os resultados da liberação de glicose estão apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3

Produto	Açúcar p/p	% Liberação de Llicose	
		Controle	LGS
LGS1	3:2 sac:65HM	100	38
LGS2	3:1 sac:65HM	100	19
LGS3	3:2 sac:96HM	100	30
LGS4	2:1 sac:96HM	100	17
LGS5	7:2 sac:65HM	100	23

Pelos dados das Tabelas 3.2 e 3.3, observa-se que os produtos da presente invenção são doces, tendo um teor de frutose variando de 30 a 37% em peso, e que os produtos da presente invenção caracterizam-se por terem velocidade de liberação de glicose reduzida comparados com produtos produzidos na ausência da reação com a enzima. Portanto, espera-se que os produtos da presente invenção tenham um índice glicêmico mais baixo.

Estudo 3

Neste exemplo foram fornecidos dois produtos de misturas de sacarose e sólidos de xarope de milho contendo 96% em peso de maltose na proporção de 3:2 de sacarose para sólidos de xarope de milho.

As enzimas foram obtidas das cepas NRRL-B-523 e NRRL-B-742 de LM usando-se os procedimentos descritos acima. A reação com enzima foi feita usando-se o mesmo procedimento que aquele descrito no estudo 1, exceto que as enzimas e a mistura de sacarose e aceitador são diferentes daquelas usadas no exemplo 1.

O perfil de carboidrato dos 2 (dois) adoçantes de baixo índice glicêmico resultantes está apresentado na Tabela 3.4.

Tabela 3.4

	B-523	B-742
DP5	1	1
DP4	5	5
DP3	24	30
Maltose	23	18
Glicose	19	15
Frutose	29	29

Os números representam percentagens de carboidratos totais no produto final. Abreviações: DP = grau de polimerização

Com relação aos 2 (dois) adoçantes de baixo índice glicêmico do exemplo 3, os ensaios de digestibilidade *in vitro* descritos acima foram realizados para comparar a percentagem de glicose que foi liberada no adoçante de baixo índice glicêmico tratado com enzima com a percentagem de glicose liberada na mistura inicial de sacarose e sólidos de xarope milho contendo 96 por cento em peso de maltose que não foi reagida com a enzima. Foi determinado que a digestibilidade *in vitro* mostrou uma velocidade de liberação de glicose de 41% para o produto preparado usando a enzima da cepa NRRL-B-523 de LM, e 40% para o produto preparado usando a enzima da cepa NRRL-B-742 de LM, comparado com a mistura de sólidos de xarope de controle sem tratamento com enzima, onde a liberação de glicose é 100%.

Portanto, é evidente que se estima que os produtos do exemplo 3 tenham um índice glicêmico mais baixo que aquele da mistura inicial de sacarose e sólidos de xarope de milho. Espera-se que os produtos do exemplo 3 sejam úteis na preparação de composições de comidas e bebidas tendo baixo índice glicêmico.

Exemplo 4 - Estudos *in vitro* usando pó de intestino de rato

Os resultados fornecidos neste exemplo derivam de ensaios de digestibilidade *in vitro* usando pó de intestino de rato disponível na Sigma/Aldrich, Saint Louis, Missouri, Catálogo N° I-1630). Em cada reação, 2%

em peso de carboidratos totais foram misturados com 1,25% em peso de pó de intestino de rato em tampão fosfato 0,025 M, pH 6,5, e incubados a 37°C por até 12 horas. A concentração de glicose livre na mistura reacional foi analisada com o passar do tempo pelo método de HPLC descrito acima.

5 A adoçantes de baixo índice glicêmico foram feitos usando-se preparações de enzima de NRRL-B-21297 de LM, da maneira descrita acima. Os produtos reacionais resultantes têm proporções em peso de sacarose para maltose de 1:1, 1,5:1, 2,33:1, 4:1, 9:1 e 19:1. Os produtos reacionais foram testados no ensaio de digestibilidade *in vivo* descrito acima, que usou
10 pó de intestino de rato. Os resultados da avaliação estão mostrados abaixo na Tabela 4.0.

Tabela 4.0

Exemplo N°	Sacarose/ Maltose	% Teórica de Glicose 0 h	% Teórica de Glicose 4 h	% Teórica de Glicose 8 h	% Teórica de Glicose 12 h
1	1:1	1,32	65,20	82,20	88,00
2	1,5:1	1,73	66,25	86,00	90,75
3	2,33:1	1,80	45,27	58,89	65,59
4	4:1	2,15	33,50	46,00	50,75
5	9:1	2,73	23,22	30,60	29,78
6	19:1	4,00	24,00	28,57	24,86

Como comparação, 88% da maltose são digeridos em 4 horas usando este método de ensaio.

15 Na Tabela 4.0, a concentração de glicose livre na mistura reacional foi analisada com o passar do tempo pelo método de HPLC aqui descrito. Os resultados na Tabela 7 mostram que quanto maior a proporção em peso de sacarose para maltose, menor é a digestibilidade. Pelos dados, parece que o valor de digestibilidade atinge um patamar quanto a proporção
20 em peso de sacarose para maltose é de 9:1 ou maior. É ainda razoável presumir, pelos dados na Tabela 7, que os produtos da reação de sacarose/maltose são adoçantes de baixo índice glicêmico.

Exemplo 5 - Estudos *in vivo* da resposta glicêmica a adoçantes de baixo índice glicêmico em humanos

As amostras foram inicialmente testadas para determinar seu perfil de carboidrato antes de determinar seu efeito glicêmico *in vivo*. O controle da experiência com humanos era 42 xarope de milho com alto teor de frutose (HFCS). Os adoçantes de baixo índice glicêmico usados foram produzidos com o uso de enzimas isoladas de NRRL-B-21297 de LM em reações com sacarose e maltose em proporções de 9:1 e 4:1 (LGS 9:1 e LGS 4:1).

10 Estudo 1 - Perfil de carboidrato

Os perfis de carboidrato foram gerados usando-se os métodos descritos acima. Os resultados estão mostrados na Tabela 5.0.

Tabela 5.0

	Composição de Adoçante para Estudo <i>In Vivo</i>		
	42 HFCS	LGS 4:1	LGS 9:1
DP12+		4,1	6,9
DP12		1,7	3,9
DP11		4	7,9
DP10		4,7	5,5
DP9		6,3	9,8
DP8		5,22	4,9
DP7		6,5	5,9
DP6		4,3	2,9
DP5		4,7	1,4
DP4	1 (DP4+)	4,2	0,7
DP3	1	6,4	1,1
DP2	2,9	5,2	1,9
DP1	51,5	6,2	9,5
Frutose	43,6	36,5	37,8

15 Os números representam percentagens de carboidratos totais no produto final. Abreviações: DP = grau de polimerização

Estudo 2 - Ensaio *in vivo*

O método de teste do índice glicêmico apresentado por Wolever et al., Nutrition Research 23:621-629, 2003, aqui incorporado a título de referência, foi usado no estudo a seguir. Mais especificamente, foram preparadas três amostras diferentes para serem avaliadas por 10 pessoas saudáveis diferentes. A primeira amostra é uma bebida compreendendo 50 gramas, em termos de peso seco, do adoçante de baixo índice glicêmico tendo uma proporção em peso de sacarose para maltose de 9:1, e 200 gramas de água.

10 A segunda amostra é uma bebida compreendendo 50 gramas, em termos de peso seco, do adoçante de baixo índice glicêmico tendo uma proporção em peso de sacarose para maltose de 4:1, e 200 gramas de água.

15 A terceira amostra é uma bebida compreendendo 50 gramas, em termos de peso seco, de 42 xarope de milho com alto teor de frutose que contém 42% de frutose e 200 gramas de água.

Cada uma das 3 (três) bebidas foi consumida por 10 pessoas, em 3 (três) épocas diferentes.

20 Verificou-se que as bebidas contendo o adoçante de baixo índice glicêmico produzia um aumento menor na resposta da glicose sangüínea quando comparadas com as bebidas contendo 42 xarope de milho com alto teor de frutose como adoçante. Mais particularmente, supondo um aumento no valor da glicose sangüínea (área sob a curva) de 100% para a bebida contendo o 42 xarope de milho com alto teor de frutose usado como controle, o valor resultante da bebida contendo o adoçante de baixo índice glicêmico tendo uma proporção em peso de sacarose para maltose de 4:1 é 89%
25 do controle, e o valor resultante da bebida contendo o adoçante de baixo índice glicêmico tendo uma proporção em peso de sacarose para maltose de 9:1 é 55% do controle. Estes resultados indicam que o adoçante de baixo
30 índice glicêmico descrito nesta invenção, com proporções em peso de 4:1 e 9:1, são produtos de baixo índice glicêmico. Além disso, os dados indicam que o adoçante de baixo índice glicêmico com uma proporção em peso de

9:1 é mais eficaz para baixar o índice glicêmico de um produto alimentício do que o adoçante de baixo índice glicêmico com uma proporção em peso de 4:1.

Exemplo 6 - Adoçantes de baixo índice glicêmico produzidos de outras cepas de LM

5 As seguintes cepas de LM foram obtidas no Agricultural Research Service Culture Collection (USDA) NRRL-B: 1121, 1143, 1149, 1254, 1297, 1298, 1374, 1375, 1377, 1399, 1402, 1433, 23185, 23186, 23188 e 23311. Culturas de cinquenta mililitros foram cultivadas usando meio LM
10 (que é o meio descrito no exemplo 1, com a diferença que HyPep e Hy-yeast são substituídos por 0,15% polipeptona, 0,15% de extrato de carne e 0,15% de extrato de levedura) suplementado com sacarose e maltose (40% de açúcar total) a uma proporção de 2 para 1. As culturas foram cultivadas a 32°C com agitação por 20 h. Os perfis de açúcar foram identificados por
15 HPLC, da maneira anteriormente descrita. Cepas específicas foram ainda cultivadas como culturas de 1 l usando o mesmo meio e as células foram recolhidas por centrifugação. Os sobrenadantes remanescentes foram passados por uma unidade de filtração de corte de peso molecular 50 K para gerar uma preparação concentrada de enzima (concentrado 7-10X). As pre-
20 parações de enzima foram usadas para produzir adoçantes de baixo índice glicêmico (5% de açúcares totais a 9:1 de sacarose para maltose) e ensaios de digestibilidade *in vitro* foram realizados da maneira anteriormente descrita.

25 As enzimas foram preparadas usando-se os métodos descritos acima e proporções de 9:1 de sacarose para aceitador, exceto para a cepa 1254.

Tabela 6.0

	21297	1121	1254	1254-5:1*	1298	1374	1375
Polímero	5,68	3,27	0	0	0,97	0	0
DP14+	0	1,07	0	0	4,54	0	0
DP13	0	0,01	0	0	0,08	0	0
DP12	0	0	0	0	0	0	0
DP11	6,41	0,01	0	0	0	0	0,07
DP10	3,06	0,08	0	0	0	0,80	0,14
DP9	8,44	0,54	0,13	0,1	0,01	0,73	0,24
DP8	6,59	0	0,23	0,18	0,1	1,1	0,64
DP7	9,94	1,83	0,75	0,68	0,5	1,95	2,50
DP6	7,51	7,21	2,49	2,56	2,16	4,41	0,00
DP5	5,97	11,44	7,38	8,44	4,91	8,26	7,92
DP4	2,33	9,88	10,93	14,79	6,15	8,99	13,85
DP3	2,37	6,61	8,47	12,36	6,72	3,49	5,60
DP2	0,09	2,78	1,07	0,83	4,36	0,95	0,58
DP1	2,87	16,33	14,49	10,12	21,8	3,32	11,1
FRU	38,22	38,86	39,49	39,85	47,61	37,3	33,38

	1377	1402	23185	23186	23188	23311
Polímero	0	12,27	14,97	40,85	30,78	22,26
DP14+	0	2,80	9,30	0	8,05	9,73
DP13	0	0	2,03	0,35	0	0
DP12	0,33	6,44	0	0,62	0	3,25
DP11	0	5,01	0,58	0,09	1,08	2,51
DP10	0,27	2,79	0,71	0,43	1,19	3,00
DP9	0,39	2,76	0,83	0	2,11	0
DP8	0,83	0	0	0,67	2,93	3,31
DP7	1,85	3,28	1,23	1,27	3,18	3,65
DP6	4,21	4,93	2,50	1,87	4,48	3,22
DP5	6,46	7,55	4,92	4,08	4,48	4,25
DP4	7,78	6,18	6,17	4,58	4,23	3,24
DP3	3,63	3,00	2,53	4,22	2,91	3,00
DP2	1,96	2,15	0,04	0,57	0,87	0,38
DP1	18,75	0,91	5,34	2,53	1,50	2,18
FRU	37,61	39,89	47,92	36,99	36,66	35,68

Tabela 1. Resumo dos perfis de açúcar de xaropes gerados por extratos concentrados livres de células de *Leuconostoc* com 5% de sacarose e maltose a uma proporção de 9:1.

Os valores são a % de açúcares totais nos xaropes. Os cabeçalhos em negrito são os números das cepas. DP = grau de polimerização (unidades de glicose). FRU = frutose.

* = usados 5:1 de sacarose para maltose.

Para obter uma estimativa dos valores de índice glicêmico dos xaropes gerados recentemente, os valores de digestibilidade *in vivo* de xaropes selecionados foram determinados usando-se o ensaio de pó de intestino de rato descrito acima.

Tabela 6.1

T8 - % de glicose liberada

Maltose	92,35
21297	14,90
1402	25,26
23185	19,83
23186	17,72
23188	17,40
23311	17,58

Fazendo a correlação direta da percentagem de glicose liberada nos ensaios de digestibilidade com o índice glicêmico, espera-se que os xaropes gerados por algumas das outras cepas tenham valores de índice glicêmico (GI) (para uma dada proporção de sacarose:aceitador) semelhantes aos dos xaropes gerados pela cepa NRRL-B-21297.

Exemplo 7 - Vários produtos alimentícios feitos usando adoçantes de baixo índice glicêmico

A seguir encontram-se exemplos específicos de produtos alimentícios ou composições de comidas que podem ser preparados utilizando os adoçantes de baixo índice glicêmico descritos nesta invenção.

1. Barra substituta de refeição

A barra de controle continha 18,7% de isolado de proteína de soja, 33,6% de xarope de milho com alto teor de frutose (55 HFCS, 77% de sólidos secos), 26,7% de xarope de milho com alto teor de maltose (65% de maltose, 80% de sólidos secos), 5,4% de maltodextrina, 1,4% de novagel, 5% de mistura de vitaminas/minerais, 0,6% de sal, 7,9% de mel e 0,7% de sabor "key lime". A barra de baixo índice glicêmico continha 18,7% de isolado de proteína de soja, 64,5% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos), 1,2% de água, 1,4% de novagel, 5% de mistura de vitaminas/minerais, 0,6% de sal, 7,9% de mel e 0,7% de sabor "key lime". O índice glicêmico desta barra de baixo índice glicêmico foi calculado como sendo 49% mais baixo que o da barra de controle. A barra de baixo índice glicêmico foi ainda provada e verificou-se que ela tinha um sabor semelhante ao do controle.

2. Bebida substituta de refeição

A bebida de controle contém 54,9% de leite desnatado, 10% de água fria, 0,4% de celulose, 0,01% de carragenina, 1% de concentrado de proteína de soja, 1% de maltodextrina, 0,49% de pó de cacau, 0,18% de citrato trissódico, 0,06% de sal, 6% de xarope de milho de alto teor de frutose (42HFCS, 71% de sólidos secos), 2% de xarope de milho de alto teor de frutose (55HFCS, 77% de sólidos secos), 2% de xarope de milho de alto teor de maltose (65% de maltose, 80% de sólidos secos), 1% de sólidos de xarope de milho, 0,1% de óleo de canola, 0,1% de canela, 0,1% de sabor chocolate, 0,1% de baunilha, 0,05% de sabor leite cozido. A bebida de baixo índice glicêmico tem 12% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos), 54,9% de leite desnatado, 10% de água fria, 0,4% de celulose, 0,01% de carragenina, 1% de concentrado de proteína de soja, 0,49% de pó de cacau, 0,18% de citrato trissódico, 0,06% de sal, 0,1% de óleo de canola, 0,1% de canela, 0,1% de sabor chocolate, 0,1% de baunilha, 0,05% de sabor leite cozido. A bebida de baixo índice glicêmico tem uma redução de 36% no índice glicêmico calculado comparado com a bebida de controle.

3. Geléia de framboesa

A geléia de controle tinha 39,1% de fruta, 32,1% de xarope de milho (43DE, 80% e sólidos secos), 13% de açúcar, 0,5% de pectina, 2,6% de água, 11,7% de xarope de milho de alto teor de frutose (42HFCS, 71% de sólidos secos), 0,2% de sorbato de potássio, 0,2% de benzoato de sódio, 0,6% de solução de ácido cítrico (50%). A geléia de baixo índice glicêmico continha 28,1% de fruta, 57,9% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos), 0,5% de pectina, 2,5% de água, 0,2% de sorbato de potássio, 0,2% de benzoato de sódio, 0,6% de solução de ácido cítrico. A geléia de baixo índice glicêmico tem uma redução de 60% no índice glicêmico calculado comparado com o da geléia de controle.

4. Sorvete

O sorvete de controle contém 12% de gorduras, 10% de sólidos de leite, 13% de sacarose, 5% de xarope de milho (36DE, 80% de sólidos secos) e 0,35% de estabilizante. O sorvete de baixo índice glicêmico tem 12% de gorduras, 10% de sólidos de leite, 5% de sacarose, 13% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos) e 0,35% de estabilizante. O sorvete de baixo índice glicêmico tem uma redução de 35% no índice glicêmico calculado comparado com o controle.

5. Goma de mascar

A bala de goma de controle tem 21,6% de água, 5,4% de gelatina, 49% de xarope de milho (63DE, 80% de sólidos secos), 24% de açúcar. A bala de goma de baixo índice glicêmico tem 21,6% de água, 5,4% de gelatina e 58% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos). A bala de baixo índice glicêmico tem uma redução de 59% no índice glicêmico calculado comparado com o controle.

6. Caramelos

O caramelo de controle tem 37% de leite integral condensado adoçado, 21% de açúcar, 14,1% de manteiga, 26,9% de xarope de milho

(62DE, 80% de sólidos secos), 0,76% de emulsificante, 0,1% de sal, 0,1% de bicarbonato de sódio, 0,04% baunilha. O caramelo de baixo índice glicêmico tem 35,5% de leite integral condensado adoçado, 51% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos), 13,5% de manteiga, 0,76% de GMS, 0,1% de sal, 0,1% de bicarbonato de sódio, 0,04% de baunilha. O caramelo de baixo índice glicêmico tem uma redução de 42% no índice glicêmico calculado comparado com o controle.

7. Iogurte de baixo teor de gordura

10 O iogurte de controle tem 91% de leite (2%), 5% de açúcar, 2% de amido, 1% de concentrado de proteínas de soro de leite e 1% de sólidos de leite (não gordurosos). O iogurte de baixo índice glicêmico contém 89,5% de leite (2%), 8,5% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos) 1% de
15 concentrado de proteínas de soro de leite e 1% de sólidos de leite (não gordurosos). O iogurte de baixo índice glicêmico tem uma redução de 37% no índice glicêmico calculado comparado com o controle.

8. Xarope sabor bordo

O xarope de bordo de controle contém 59,2% de xarope de milho com alto teor de frutose (42HFCS, 71% de sólidos secos), 34,7% de xarope de milho (43DE, 81% de sólidos secos, 5,2% de água, 0,85% de sabor bordo e 0,05% de sorbato de potássio. O adoçante de bordo de baixo índice glicêmico tem 87,5% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos),
25 11,15% de água, 0,85% de sabor bordo e 0,05% de sorbato de potássio. O xarope de bordo de baixo índice glicêmico tem uma redução de 54% no índice glicêmico calculado comparado com o controle.

9. Ketchup

O ketchup de controle tem 39,4% de pasta de tomate, 24,3% de
30 água, 16,6% de xarope de milho com alto teor de frutose (42HFCS, 71% de sólidos secos), 9% de xarope de milho (63 DE, 80% de sólidos secos), 8,7% de vinagre, 1,9% de sal, 0,15% de pó de cebola e 0,03% de pó de alho. O

ketchup de baixo índice glicêmico contém 39,4% de pasta de tomate, 26,1% de água, 23,7% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos), 8,7% de vinagre, 1,9% de sal, 0,15% de pó de cebola e 0,03% de pó de alho. O ketchup de baixo índice glicêmico tem uma redução de 46% no índice glicêmico calculado.

10. "Still beverage" (tipo de bebida para desportistas)

A bebida de controle foi preparada dissolvendo-se e/ou misturando-se 85,30 g/l de xarope de milho com alto teor de frutose 42 IsoClear da Cargill, 2,0 g/l de ácido cítrico, 0,35 g/l de citrato de potássio, 0,58 g/l de cloreto de sódio, 0,05 g/l de fosfato dipotássico, 0,45 ml/l de extrato de repolho roxo (Warner Jankinson, WJ03813), 1,50 ml/l de sabor "Natural Puch" e água para completar o volume. A bebida foi então pasteurizada a 87,8 - 90,6°C (190 - 195°F) por 2 minutos e introduzida ainda quente em garrafas de vidro antes de os recipientes serem vedados. A bebida de baixo índice glicêmico foi feita da mesma maneira que o controle, com a diferença que o HFCS-42 IsoClear da Cargill foi substituído por 76,10 g/l de adoçante de baixo índice glicêmico da Cargill (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos). Todo o resto continuou igual. O índice glicêmico calculado da bebida de baixo índice glicêmico é 45% menor que o da bebida de controle.

11. Cookies com pedaços de chocolate

Os cookies de controle são feitos com 31,6% de farinha, 23,7% de açúcar, 18,9% de gordura para bolos, 2,2% de sólidos de ovo, 5,4% de água, 0,4% de sal, 0,2% de bicarbonato de sódio, 0,3% de sabor e 17,4% de pedaços de chocolate. Os cookies de baixo índice glicêmico contêm 31,4% de farinha, 29,4% de adoçante de baixo índice glicêmico (feito com uma proporção de 9:1 de sacarose para maltose, a 80% de sólidos secos), 18,8% de gordura para bolos, 2,2% de sólidos de ovo, 5,4% de água, 0,4% de sal, 0,2% de bicarbonato de sódio, 0,3% de sabor e 17,3% de pedaços de chocolate. Os cookies de baixo índice glicêmico têm uma redução de 16% no índice glicêmico calculado comparado com o controle.

Esta invenção foi descrita detalhadamente acima com referência particular às suas modalidades preferidas, mas ficará entendido que variações e modificações além daquelas especificamente apresentadas neste relatório podem ser efetuadas dentro do espírito e escopo da invenção. Além disso, todas as patentes, pedidos de patente, pedidos de patente provisórios e referências literárias citadas acima estão aqui incorporadas a título de referência para qualquer descrição pertinente à prática desta invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para preparar um adoçante, caracterizado pelo fato de que compreende combinar sacarose, uma molécula aceitadora, que é um açúcar ou um açúcar de álcool tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3 e 6, que podem aceitar uma unidade de glicose da sacarose, e uma enzima de glicanossucrase, de forma a preparar um adoçante tendo pelo menos 20% de ligações alfa 1,3 e pelo menos 20% de ligações alfa 1,6, em que a proporção de sacarose para molécula aceitadora é de pelo menos 8:1.
2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a proporção de sacarose para molécula aceitadora é de pelo menos 9:1.
3. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que a proporção de sacarose para molécula aceitadora é de 9:1.
4. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que a proporção de sacarose para molécula aceitadora é de pelo menos 10:1.
5. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a molécula aceitadora é maltose.
6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que compreende remover frutose do adoçante.
7. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que o adoçante contém menos de 50% de frutose.
8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a enzima de glicanossucrase é obtida de bactérias do ácido láctico.
9. Processo de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a enzima de glicanossucrase é obtida de *Leuconostoc mesenteroides*.
10. Processo de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que a enzima de glicanossucrase é obtida das cepas NRRL-B

1121, 1143, 1149, 1254, 1297, 1298, 1355, 1374, 1375, 1377, 1399, 1402, 1433, 23185, 23186, 23188, 23311, 742, 523 ou 21297 de *Leuconostoc mesenteroides*.

5 11. Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que a cepa é a NRRL-B-21297 de *Leuconostoc mesenteroides*.

12. Adoçante, caracterizado pelo fato de que é preparado conforme o processo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11.

10 13. Alimento, caracterizado pelo fato de que compreende o adoçante como definido na reivindicação 12.

14. Bebida, caracterizada pelo fato de que compreende o adoçante como definido na reivindicação 12.

15 15. Processo para reduzir o índice glicêmico de uma composição de alimento ou bebida, caracterizado pelo fato de que compreende incorporar na composição de alimento ou bebida um adoçante como definido na reivindicação 12.

RESUMO

Patente de Invenção: **"PROCESSOS PARA PREPARAR ADOÇANTES DE BAIXO ÍNDICE GLICÊMICO PARA COMPOSIÇÕES DE ALIMENTOS E BEBIDAS E PARA REDUZIR ESTE ÍNDICE EM TAIS COMPOSIÇÕES"**.

5 A presente invenção refere-se a um processo para preparar uma composição de alimento ou bebida tendo uma doçura e um índice glicêmico baixo que acarreta a incorporação na composição de um produto de baixo índice glicêmico compreendendo sacarose e um aceitador selecionado do grupo que consiste em um açúcar ou álcool de açúcar tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3 e 6 que podem aceitar uma unidade de glicose da sacarose, a mistura tendo sido reagida com uma enzima do tipo glicanossucrase. Também encontra-se descrito um processo para reduzir o índice glicêmico de uma composição de comida ou bebida que acarreta a introdução na composição de comida ou bebida de um produto de baixo índice glicêmico compreendendo uma mistura de sacarose e um xarope ou sólidos de xarope compreendendo um aceitador selecionado do grupo que consiste em um açúcar ou álcool de açúcar tendo grupos hidroxila livres em uma ou mais posições de carbono de número 2, 3 e 6 que podem aceitar uma unidade de glicose da sacarose, a mistura tendo sido reagida com uma enzima do tipo glicanossucrase.

10

15

20