

EXTRACTO DE PLANTA IMPREGNADO DE ALULOSA Y MÉTODO
DE PREPARACIÓN PARA EL MISMO

CAMPO TÉCNICO

5

La presente solicitud se refiere a una solución impregnada de planta que contiene alulosa y a un método para prepararla.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10

"Solución impregnada" es un alimento que se prepara mezclando una materia prima para impregnarla con un sacárido y manteniéndola en impregnación durante un cierto período de tiempo para extraer un componente presente en la materia prima en el sacárido. La solución impregnada se ingiere tal como está, o se diluye y se bebe como bebida, o se usa para un adobo o una salsa.

15

Convencionalmente, el sacárido usado para la preparación de la solución impregnada es sacarosa. Dado que la sacarosa está presente en un sólido, la disolución lleva mucho tiempo. Además, la mano de obra de los consumidores es necesaria para mezclar la sacarosa y la materia prima, lo que es un inconveniente. Además, hubo una desventaja porque la solución impregnada preparada usando sacarosa contiene grandes cantidades de monosacáridos (como la glucosa y la fructosa) que

20

se producen al descomponerse la sacarosa y, por lo tanto, cuando se ingiere, la glucosa en la sangre aumenta rápidamente y se producen calorías.

La alulosa (D-psicosa), es decir, un epímero C-3 de D-fructosa, es un componente de sacárido natural presente en cantidades
5 traza en uvas secas, higos y trigo, etc., y tiene un 70% de dulzura, en comparación con la sacarosa, pero tiene de 0 a 0.2 kcal por gramo, que es solo de 0 a 5% de las calorías de la sacarosa (4 kcal/g). Por esta razón, la alulosa ha llamado la atención como materia prima para un edulcorante
10 capaz de reemplazar la sacarosa. Sin embargo, no se ha informado si una solución impregnada de planta se puede preparar con alulosa, en lugar de sacarosa.

En estas circunstancias, los inventores intentaron llevar a cabo estudios para desarrollar un material que pueda ser un sustituto de
15 la sacarosa en la preparación de una solución impregnada de planta. Como resultado, los inventores confirmaron que una solución impregnada de planta se prepara extrayendo un componente útil a un nivel similar al de la solución impregnada de planta convencional preparada usando sacarosa cuando la solución impregnada de planta se prepara usando
20 alulosa. Además, los inventores también encontraron que, cuando se usa alulosa en la preparación de la solución impregnada de planta, la velocidad de disolución de la alulosa es más alta que la sacarosa, y por lo tanto, el trabajo que acompaña a la mezcla con la materia prima

disminuye y, a diferencia de la sacarosa, no se descompone en glucosa o fructosa, de modo que la funcionalidad de la propia alulosa y las bajas calorías se pueden mantener, completando así la presente solicitud.

5

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Problema técnico

10

La presente solicitud está dirigida a proporcionar una solución impregnada de planta que incluye un sacárido que contiene alulosa.

La presente solicitud también está dirigida a proporcionar un método para preparar una solución impregnada de planta, que incluye agregar un sacárido que contiene alulosa a una planta.

15

En lo sucesivo, la presente solicitud se describe con más detalle. Los contenidos no descritos en esta memoria descriptiva pueden ser suficientemente reconocidos e inferidos por los expertos en la técnica o campos similares de la presente solicitud, y por lo tanto, se omitirá su descripción.

20

Solución técnica

Un aspecto de la presente solicitud proporciona una solución impregnada de planta que incluye un sacárido que contiene alulosa.

El término "solución impregnada" usado aquí se refiere a un alimento líquido preparado mezclando una materia prima para impregnarse con un sacárido y manteniendo la impregnación durante un cierto período de tiempo para extraer un componente presente en la materia prima.

De acuerdo con una modalidad ejemplar de la presente solicitud, el sacárido que contiene alulosa de la presente solicitud puede incluirse de 33 a 67 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de la solución impregnada de planta de la presente solicitud.

Específicamente, el sacárido que contiene alulosa de la presente solicitud puede incluirse de 33.3 a 66.7 partes en peso, 44 a 55 partes en peso, 44.4 a 54.5 partes en peso, 48 a 52 partes en peso o 50 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de la solución impregnada de planta de la presente solicitud.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, la alulosa de la presente solicitud puede estar contenida en 1 a 100 partes en peso con respecto a 100 partes en peso del sacárido que contenga alulosa de la presente solicitud con base en un contenido en seco. Específicamente, la alulosa de la presente solicitud puede incluirse de 10 a 100 partes en peso, 15 a 100 partes en peso, 30 a 100 partes en peso, 50 a 100 partes en peso, 70 a 100 partes en peso, 90 a 100 partes en peso, 95 a 100 partes en peso, 99 a 100 partes en peso, o 99.5 a 100 partes en peso con respecto a 100 partes en peso del sacárido que

contiene alulosa de la presente solicitud, con base en un contenido en seco. La alulosa de la presente solicitud puede extraerse directamente de un producto natural, o puede prepararse mediante síntesis química o un método biológico, pero la presente solicitud no se limita a esto.

5 De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, el sacárido que contiene alulosa de la presente solicitud puede incluir además uno o más sacáridos seleccionados del grupo que consiste en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar, edulcorantes de alta intensidad y sacáridos líquidos, además de alulosa.

10 El término "monosacárido" usado aquí se refiere a la unidad básica de un carbohidrato que tiene la estructura más simple que no puede ser hidrolizada más por ácidos, bases o enzimas. Específicamente, el monosacárido de la presente solicitud puede ser arabinosa, xilosa, fructosa, tagatosa, alosa, glucosa o galactosa.

15 El término "disacárido" usado aquí se refiere a un carbohidrato en el que se combinan dos monosacáridos. Específicamente, el "disacárido" de la presente solicitud puede ser sacarosa, lactosa, maltosa, trehalosa, turanosa o celobiosa.

20 El término "oligosacárido" usado aquí se refiere a un carbohidrato en el que se combinan de 3 a 15 monosacáridos. Específicamente, los oligosacáridos de la presente solicitud pueden ser fructooligosacáridos, isomaltooligosacáridos, xilooligosacáridos, gentiooligosacáridos, maltooligosacáridos o galactooligosacáridos.

El término "alcohol de azúcar" usado aquí se refiere a un compuesto en el que se reduce el grupo carbonilo de un sacárido. Específicamente, el alcohol de azúcar de la presente solicitud puede ser eritritol, xilitol, arabitol, manitol, sorbitol, maltitol o lactitol.

5 El término "edulcorante de alta intensidad" usado aquí significa un edulcorante que es al menos 10 veces más dulce que la sacarosa. Específicamente, el edulcorante de alta intensidad de la presente solicitud puede ser aspartame, acesulfame K, rebaudiósido A o sucralosa.

10 El término "sacárido líquido" usado aquí se refiere a un sacárido en forma de un líquido. Por ejemplo, el sacárido líquido de la presente solicitud puede incluir, entre otros, jarabe de almidón, miel, jarabe de arce, jarabe de agave y similares.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar más de la presente
15 solicitud, el sacárido de la presente solicitud puede no incluir sacarosa.

El término "planta" usado aquí se refiere a una planta verde fotosintética que tiene una pared celular y usa clorofila para autotrofarse. La planta de la presente solicitud puede incluir partes de la planta (por ejemplo, frutos, hojas, tallos y raíces de la planta).

20 De acuerdo con otra modalidad más de la presente solicitud, la planta de la presente solicitud puede ser una fruta, verdura o hierba silvestre.

El término "fruto" usado aquí se refiere a un fruto de una planta leñosa, que puede ser consumido por un humano. Específicamente, el fruto de la presente solicitud puede ser una o más frutas seleccionadas del grupo que consiste en ciruela china (*Prunus mume*), cítricos, limón, cidra, toronja, lima, membrillo, Schisandra, bokbunja, zarzamora coreana (*Rubus coreanus*), pera, manzana, uva, mora, arándano, mango, durazno, ciruela (*Prunus salicina*), albaricoque, caqui dulce, plátano y azufaifa. Más específicamente, el fruto de la presente solicitud puede ser *Prunus mume* o limón.

El término "vegetal" usado aquí se refiere a una planta herbácea cultivada que puede ser consumida por un humano. Específicamente, el vegetal de la presente solicitud puede ser uno o más vegetales seleccionados del grupo que consiste en jengibre, cebolla, pimienta roja, ajo, hojas de rábano, raíces de flores de globo, tomate, fresa, melón oriental, melón, sandía y pepino.

El término "pasto silvestre" usado aquí se refiere a una planta herbácea no cultivada que se cultiva en una montaña o en un campo y puede ser consumida por un humano. Específicamente, el pasto silvestre de la presente solicitud puede ser uno o más pastos silvestres seleccionados del grupo que consiste en artemisa, diente de león, plátano, compota y arrurruz.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, la solución impregnada de *Prunus mume* de la presente solicitud puede incluir además un polifenol.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente
5 solicitud, la solución impregnada de *Prunus mume* de la presente solicitud puede ser un alimento de salud funcional para la antioxidación.

La solución impregnada de planta de la presente solicitud puede incluir además ingredientes alimentarios, por ejemplo, vitaminas, electrolitos, sabores, colorantes, ácido péctico y sales de los mismos,
10 ácido algínico y sales de los mismos, ácidos orgánicos, espesantes coloides protectores, ajustadores de pH, estabilizadores, conservadores, glicerina, agentes carbonatantes, etc., además de alulosa.

Otro aspecto de la presente solicitud proporciona un método para preparar una solución impregnada de planta, que incluye añadir un
15 sacárido que contiene alulosa a una planta.

De acuerdo con una modalidad ejemplar de la presente solicitud, el sacárido que contiene alulosa de la presente solicitud se puede añadir de 50 a 200 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de la planta de la presente solicitud. Específicamente, el sacárido
20 que contiene alulosa de la presente solicitud puede añadirse de 80 a 120 partes en peso, de 90 a 110 partes en peso, de 95 a 105 partes en peso o de 100 partes en peso con respecto a 100 partes en peso de la planta de la presente solicitud.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, el sacárido que contiene alulosa de la presente solicitud o la alulosa se puede preparar en un estado cristalizado.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar más de la presente
5 solicitud, el método de preparación de la presente solicitud puede incluir además almacenar un producto resultante de la etapa de agregar el sacárido que contiene alulosa a una planta de la presente solicitud a una temperatura de 0 a 25°C. . Específicamente, la temperatura puede ser de 0 a 20°C, 0 a 15°C, 0 a 10°C, 0 a 5°C, 3 a 25°C, 3 a 20°C, 3 a 15°C, 3 a
10 10°C, 3 a 5°C, o 4°C. Además, de acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, el período de almacenamiento de la presente solicitud puede ser de 15 días a 6 meses, de 15 días a 4 meses, de 1 a 6 meses, de 1 a 4 meses o de 1 a 3 meses. .

De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente
15 solicitud, la preparación de la presente solicitud puede incluir además, antes o después de la etapa de añadir un sacárido que contenga alulosa a una planta de la presente solicitud, una etapa de agregar uno o más sacáridos seleccionados del grupo que consiste en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos, alcoholes de azúcar, edulcorantes de alta
20 intensidad y sacáridos líquidos, además de la alulosa.

De acuerdo con otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, el método de preparación de la presente solicitud puede incluir además, después de la etapa de agregar un sacárido que contenga alulosa

a una planta de la presente solicitud, una etapa de agregar una nueva planta que sea la misma que la planta de la presente solicitud al producto resultante de la etapa anterior, y luego agregar un nuevo sacárido que sea el mismo que el sacárido que contenga alulosa de la presente solicitud.

5 De acuerdo con aún otra modalidad ejemplar de la presente solicitud, el método de preparación de la presente solicitud puede no incluir una etapa de adición de sacarosa, fructosa, glucosa o una combinación de las mismas.

Las descripciones del sacárido que contiene alulosa, la
10 alulosa, la planta y la solución impregnada, descritas en la solución impregnada de planta, que es un aspecto de la presente solicitud descrita anteriormente, pueden aplicarse igualmente al método de preparación de la solución impregnada de planta de la presente solicitud. Por lo tanto, para evitar la complejidad en la descripción de la presente solicitud, se
15 omite la descripción de las partes superpuestas.

Efectos adecuados

Una solución impregnada de acuerdo con la presente solicitud puede incluir un componente útil al mismo nivel que la solución
20 impregnada convencional preparada usando sacarosa, y como la alulosa no se descompone en glucosa o fructosa, la funcionalidad de la misma y las bajas calorías pueden ser mantenidas. Por lo tanto, la solución

impregnada de la presente solicitud puede reemplazar la solución impregnada convencional preparada usando sacarosa.

Además, cuando la solución impregnada se prepara usando alulosa, la velocidad de disolución de la alulosa es mayor que la de la sacarosa, la mano de obra del consumidor que acompaña la mezcla de la materia prima y el sacárido se puede reducir.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es un conjunto de fotografías de tejidos de *Prunus mume* impregnados; la figura 1A muestra el tejido de *Prunus mume* impregnado de sacarosa durante 3 meses, y la figura 1B muestra el tejido de *Prunus mume* impregnado de alulosa durante 3 meses.

La figura 2 es un mapa de telaraña de evaluación sensorial para el Ejemplo Comparativo 3 y el Ejemplo experimental 3 de modalidades ejemplares de la presente solicitud.

La figura 3 es una gráfica que compara las velocidades de disolución de sacarosa y alulosa durante la impregnación.

La figura 4 es un conjunto de imágenes que comparan las velocidades de disolución de la sacarosa y la alulosa durante la impregnación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Aunque la presente solicitud se describirá en detalle con referencia a los siguientes ejemplos, los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y la presente solicitud no se limita a los mismos.

Ejemplo de preparación 1: Preparación de soluciones impregnadas en *Prunus mume* usando alulosa

La fruta doméstica *Prunus mume* (ciruela verde) se lavó limpiamente con agua destilada y se dejó secar naturalmente por un día. Luego, se retiraron los tallos y la fruta se calentó en agua caliente a una temperatura de 100°C durante 10 minutos, y luego se colocaron 0.95 kg de la fruta resultante en un recipiente secado naturalmente (vidrio, capacidad de 5 kg). Posteriormente, se agregaron secuencialmente una vez más 0.95 kg de alulosa (cristalino, pureza del 99% o más, CJ Cheiljedang), la misma cantidad de *Prunus mume* y la misma cantidad de alulosa. Posteriormente, el producto resultante se mantuvo en condiciones frías y oscuras (4°C, condición de bloqueo de luz, Código de Alimentos de Corea) durante 1, 2 ó 3 meses, y luego se filtró con un tamiz (malla 8). Se recogió el filtrado, preparando así las soluciones impregnadas en *Prunus mume* [Ejemplo experimental 1 (mantenimiento

durante 1 mes), Ejemplo experimental 2 (mantenimiento durante 2 meses) y Ejemplo experimental 3 (mantenimiento durante 3 meses)].

Ejemplo de preparación 2: Preparación de una solución 5 impregnada de limón usando alulosa

El limón se lavó con bicarbonato de sodio, se lavó con agua destilada para eliminar un residuo de pesticida de la superficie del limón y se secó naturalmente por un día. El limón se cortó a un grosor de 0.5 a 2 cm y luego se eliminaron las semillas. Mediante el mismo método
10 descrito en el Ejemplo de preparación 1, se colocaron 400 g de las rodajas de limón en un recipiente (vidrio, capacidad: 1 kg), se agregaron 400 g de alulosa, y luego la misma cantidad de rodajas de limón y la misma cantidad de alulosa se añadieron secuencialmente una vez más. Posteriormente, el producto resultante se mantuvo en condiciones frías y
15 oscuras (4°C, condición de bloqueo de luz, Código de Alimentos de Corea) durante 15 días y luego se filtró con un tamiz (malla 8). Se recogió el filtrado, preparando así una solución impregnada de limón (Ejemplo experimental 4).

Ejemplo de preparación 3: Preparación de soluciones impregnadas en *Prunus mume* y solución impregnada de limón usando sacarosa

Las soluciones impregnadas en *Prunus mume* [Ejemplo comparativo 1 (mantenimiento durante 1 mes), Ejemplo comparativo 2 (mantenimiento durante 2 meses) y Ejemplo comparativo 3 (mantenimiento durante 3 meses)] y una solución impregnada de limón se prepararon de la misma manera que la descrita en los Ejemplos de Preparación 1 y 2 solo reemplazando la alulosa con sacarosa (sacarosa blanca cristalina, CJ CheilJedang).

Ejemplo 1: Evaluación de soluciones impregnadas en *Prunus mume*

1-1. Evaluación del cambio de tejido

En la producción de la solución impregnada de *Prunus mume*, la humedad en la materia prima de *Prunus mume* se drenó desde el interior del tejido hacia el exterior del mismo debido a la ósmosis, encogiéndose así el tejido. Por lo tanto, generalmente se juzga que cuanto más tejido de *Prunus mume* impregnado se contraiga, más avanzará la impregnación. Por lo tanto, los cambios en los tejidos de *Prunus mume* después de 3 meses desde el inicio de la impregnación en el Ejemplo de preparación 1 y el Ejemplo de preparación 3 se observaron visualmente.

Como resultado, se confirmó que el tejido de la *Prunus mume* impregnada del Ejemplo de preparación 1 (Figura 1B) se contrajo al mismo nivel que la *Prunus mume* impregnada del Ejemplo de preparación 3 (Figura 1A) (Figura 1).

5

1-2. Evaluación de las propiedades físicas (contenido de sólidos, pH y valor de color) de la solución impregnada

Con el fin de verificar si la impregnación se llevó a cabo en la preparación de una solución impregnada de *Prunus mume* usando alulosa al mismo nivel que en la solución impregnada de *Prunus mume* usando sacarosa, las propiedades físicas (contenido de sólidos, pH y valor de color) de los Ejemplos comparativos 1, 2 y 3 y los Ejemplos experimentales 1, 2 y 3 se midieron y compararon.

Específicamente, el contenido de sólidos (contenido en gramos de contenido de sólidos disuelto en 100 g de solución impregnada) se midió con un refractómetro (ATAGO, refractómetro digital automático RX-5000α), y el pH se midió con un medidor de pH digital (METTLER TOLEDO, SEVEN COMPACT con InLab® Viscous Pro pH). Se pusieron 5 g de cada solución impregnada como muestra en un vaso de precipitados, y luego se diluyeron usando la siguiente expresión proporcional de la Expresión 1, preparando así una solución acuosa diluida al 30% Brix (en adelante, una muestra diluida). Después de llenar una celda de 1 cm con la muestra diluida, se midió la

absorbancia a una longitud de onda de 420 nm usando un espectrofotómetro (HITACHI, espectrofotómetro de doble haz U-2900), y el valor de color de cada muestra se calculó de acuerdo con la siguiente Expresión 2.

5

Expresión 1

Expresión proporcional: Brix% de muestra $\times$ peso de muestra
 $=$ Brix% de muestra diluida $\times$ (peso de muestra + peso de agua destilada)

10

Expresión 2

Valor de color (IU) $= A \times B / C \times D$

* A: Absorbancia (nm) a 420 nm, B: Factor de conversión de 1000 a IU, C: Longitud (cm) de la celda de muestra, D: Cantidad de muestra (g/mL) $= (\text{Brix\%/100}) \times \text{gravedad específica}$

15

El análisis estadístico se realizó con el programa SAS 9.1 (SAS Inc., Cary, NC, EE.UU.) y los resultados se analizaron con una prueba t de Student. Todos los análisis se probaron para determinar su importancia a $p < 0.05$.

20

Como resultado, no hubo cambios significativos en el contenido de sólidos y el pH en los Ejemplos experimentales y Ejemplos comparativos, pero los valores de color en los Ejemplos experimentales fueron significativamente más bajos que los de los Ejemplos comparativos (Tabla 1). Por lo tanto, cuando la solución impregnada de

Prunus mume se preparó usando alulosa, la solución tenía los mismos niveles de contenido de sólidos y pH que los de la sacarosa, y tenía un valor de color más bajo que el de la sacarosa, lo que demuestra que la preferencia de color del Ejemplo experimental 3 es mejor que la del

5 Ejemplo comparativo 3

Tabla 1

10	Contenido de sólidos (Brix%)			pH			Valor de color (IU)		
	Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3	Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3	Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3
	57.75	56.15	54.87	3.12	3.21	3.34	130	1579	2331
15	Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3	Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3	Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3
	53.69	53.09	53.04	3.14	3.21	3.28	74	86	163

1-3. Confirmación del contenido de ácido cítrico en solución impregnada

Para verificar si la impregnación se lleva a cabo al mismo nivel que para la solución impregnada de *Prunus mume* usando sacarosa para extraer componentes útiles en la preparación de la solución impregnada de *Prunus mume* usando alulosa, un contenido de ácido cítrico, que es uno de los principales componentes útiles de *Prunus mume*, en la solución impregnada de *Prunus mume* se midió mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Se preparó una solución de prueba introduciendo 1 g de una muestra del Ejemplo experimental 1, 2 y 3, y el Ejemplo Comparativo 1, 2 y 3 en un matraz volumétrico de 50 mL, disolviendo la muestra en agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 50 mL (20 g/L), y luego filtrando la solución resultante a través de un filtro de 0.2 μm . Se preparó una solución estándar introduciendo 0.5 g de ácido cítrico monohidratado (Sigma Aldrich) en un matraz volumétrico de 50 mL, disolviendo el ácido cítrico monohidratado en agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 50 mL (10 g/L), diluyendo la solución a concentraciones de aproximadamente 0.3125 g/L, 0.625 g/L, 1.25 g/L, 2.5 g/L, 5 g/L y 10 g/L, y filtrando la solución diluida a través de un filtro de 0.2 μm .

La solución de prueba preparada y la solución estándar se analizaron mediante HPLC (Alliance, Waters, módulos de separación

e2695, USA/módulo calentador de columna Waters/detector RI Water 2414/software Empower™) bajo las condiciones enumeradas en la Tabla 2 a continuación.

5

Tabla 2

10

Fase móvil	5 mM H ₂ SO ₄
Columna	300 mm x 7.8 mm Amninox 87H (Bio Rad)
Velocidad de flujo	0.6 mL/min
Temperatura	35 °C
Volumen de entrada	20 µL
Detector	Detector de disposición de diodos (DAD)

15

Después del análisis de HPLC, se obtuvo una curva de calibración con el contenido de ácido cítrico (g/L) como eje de abscisas y un área del cromatograma como eje de ordenadas, y el área de ácido cítrico de cada uno de los Ejemplos experimentales 1, 2 y 3 y Ejemplos comparativos 1, 2 y 3 fue leída, y luego se calculó el contenido de ácido cítrico a partir de la curva de calibración usando la Expresión 3 a continuación.

20

Expresión 3

Contenido de ácido cítrico (g/100 g de solución impregnada)

=

$$\frac{\text{Concentración obtenida de curva de calibración (g/L)} \times \text{Volumen diluido (mL)} \times 100}{\text{Cantidad de muestreo (g)} \times 1000}$$

5 Como resultado, se confirmó que no hay una diferencia significativa en el contenido de ácido cítrico entre los Ejemplos experimentales 1, 2 y 3 y los Ejemplos comparativos 1, 2 y 3 (Tabla 3). Por lo tanto, se puede confirmar que, cuando la solución impregnada se preparó usando alulosa, se preparó la solución con el mismo nivel del

10 componente útil que cuando se usaba sacarosa.

Tabla 3

	Contenido de ácido cítrico (g/100 g de solución impregnada)		
	Ejemplo comparativo 1	Ejemplo comparativo 2	Ejemplo comparativo 3
15	2.0	2.1	2.9
	Ejemplo experimental 1	Ejemplo experimental 2	Ejemplo experimental 3
	1.9	2.0	2.7

1-4. Evaluación organoléptica

20 Las muestras del Ejemplo experimental 3 y del Ejemplo comparativo 3 se diluyeron en agua tibia en una proporción de 1:3, y cada muestra diluida se sometió a análisis organoléptico por 10

panelistas entrenados para evaluar cuatro atributos de intensidad (sabor/color/sabor agrio/sabor dulce) y atributos de preferencia (sabor/color/sabor agrio/sabor dulce/preferencia general).

5 **Glosario de evaluación organoléptica**

1) Intensidad/preferencia de sabor: la intensidad/preferencia personal de un sabor de la solución impregnada

2) Intensidad/preferencia de color: la intensidad/preferencia personal de la luminosidad y espesor de color de la solución impregnada.

10 3) Intensidad/preferencia de sabor agrio: la intensidad/preferencia personal de un sabor agrio

4) Intensidad/preferencia de sabor dulce: la intensidad/preferencia personal de un sabor dulce del sacárido

5) Preferencia general: preferencia personal general

15 Como resultado, como se muestra en el Ejemplo 1-2, se confirmó que el Ejemplo experimental 3 tiene una intensidad de color significativamente menor que el Ejemplo Comparativo 3, pero tiene una preferencia de color significativamente mayor. Se determina que esto se debe a que el Ejemplo experimental 3 es más claro y más transparente

20 que el Ejemplo Comparativo 3. Se confirmó que el Ejemplo experimental 3 exhibe atributos organolépticos similares, específicamente, atributos de intensidad y preferencia, al Ejemplo Comparativo 3 (Tabla 4 y Figura 2).

Tabla 4

	Escala de 5 puntos	Ejemplo		valor <i>p</i>
		comparativo 3	experimental 3	
5	Intensidad de sabor	3.4	2.9	0.09
	Intensidad de color	3.2	2.2	0.02*
	Intensidad de sabor agrio	3.5	3.5	0.90
	Intensidad de sabor dulce	3.4	2.9	0.14
	Preferencia de sabor	3.2	3.1	0.75
10	Preferencia de color	2.5	3.9	0.00*
	Preferencia de sabor agrio	2.9	2.9	1.00
	Preferencia de sabor dulce	3.1	2.8	0.27
	Preferencia general	3.2	3.1	0.72

*: $p < 0.05$

15

1-5. Confirmación de las velocidades de disolución de azúcar y alulosa usadas en soluciones impregnadas

20

Las velocidades de disolución se observaron midiendo las alturas del sacárido remanente días después de la adición de sacarosa y alulosa a *Prunus mume* en el Ejemplo de preparación 1 y el Ejemplo de preparación 3. La agitación se llevó a cabo 20 veces a intervalos de 3 días inmediatamente después de la adición de cada uno de sacarosa y alulosa. Las soluciones resultantes se dejaron reposar durante 6 horas y luego se

midió la altura del sacárido restante (cm) usando una regla (Figuras 3 y 4).

Como resultado, se confirmó que los cristales de sacarosa se disolvieron completamente el día 31 después de la adición, pero los cristales de alulosa se disolvieron completamente el día 24 después de la adición. Se confirmó que, cuando la solución impregnada se preparaba usando alulosa, en comparación con cuando se usaba sacarosa, la conveniencia de uso aumentaba debido a una alta velocidad de disolución de los cristales.

10

1-6. Confirmación de la disolución de alulosa

Con el fin de verificar si el efecto de reducción de calorías y la funcionalidad de la alulosa se mantuvieron en la solución impregnada preparada usando alulosa, se confirmó si la alulosa usada en la preparación de la solución impregnada se descompuso o no.

15

Específicamente, los contenidos de alulosa y sacáridos libres (sacarosa, glucosa y fructosa) en los Ejemplos Experimentales 1, 2 y 3 y los Ejemplos Comparativos 1, 2 y 3 se midieron usando HPLC. Se preparó una solución de prueba introduciendo 1 g de cada muestra del Ejemplo experimental 1, 2 y 3 y el Ejemplo Comparativo 1, 2 y 3 en un matraz volumétrico de 50 mL, disolviendo la muestra en agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 50 mL (20g/L), y filtrando la solución a través de un filtro de 0.2 μ m. Se preparó una solución

20

estándar introduciendo 1 g de un producto estándar de sacarosa (SigmaS7903, CAS No. 57-50-1), glucosa (SigmaG7528, CAS No. 50-99-7), fructosa (SigmaF0127, CAS No. 57-48-7) o alulosa (SigmaP8043, CAS No. 551-68-8) en un matraz volumétrico de 50 mL, disolviéndolos en agua destilada, diluyendo la solución resultante a una concentración de, por ejemplo, aproximadamente 0.625 g/L, 1.25 g/L, 2.5 g/L, 5 g/L, 10 g/L o 20 g/L, y filtrando la solución diluida a través de un filtro de 0.2 μm .

Las soluciones de prueba preparadas y las soluciones estándar se analizaron mediante HPLC (Alliance, Waters, módulos de separación e2695, USA/módulo calentador de columna Waters/detector RI Water 2414/software Empower™) bajo las condiciones enumeradas en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5

Fase móvil	Agua destilada (Grado HPLC)
Columna	7.8 mm x 300 mm Aminex HPX87C (Bio Rad)
Velocidad de flujo	0.6 mL/min
Temperatura	80 °C
Volumen de entrada	20 μL
Detector	detector de índice de refracción (RID)

Después del análisis de HPLC, se obtuvo una curva de calibración con los contenidos (g/L) de alulosa y azúcares libres (sacarosa, glucosa y fructosa) como el eje de abscisa, y el área del cromatograma como el eje de ordenadas, y las áreas de alulosa y azúcar libre de cada uno de los Ejemplos experimentales 1, 2 y 3 y los Ejemplos comparativos 1, 2 y 3 fueron leídas, y los contenidos de alulosa y azúcar libre se calcularon a partir de la curva de calibración usando las Expresiones 4 y 5 a continuación.

10 **Expresión 4**

Contenido de alulosa (g/100 g de solución impregnada) =

$$\frac{\text{Concentración obtenida de curva de calibración (g/L)} \times \text{Volumen diluido (mL)} \times 100}{\text{Cantidad de muestreo (g)} \times 1000}$$

15 **Expresión 5**

Contenido de azúcar libre (g/100 g de solución impregnada)

=

$$\frac{\text{Concentración obtenida de curva de calibración (g/L)} \times \text{Volumen diluido (mL)} \times 100}{\text{Cantidad de muestreo (g)} \times 1000}$$

Como resultado, en el Ejemplo comparativo 3, se confirmó que solo quedan 16.1 g de sacarosa, y aproximadamente el 56% de la sacarosa agregada se descompone en glucosa y fructosa, mientras que en el Ejemplo experimental 3, la alulosa permanece como está sin descomposición (Tabla 6). Por lo tanto, en la solución impregnada

preparada con sacarosa, se generan calorías debido a la sacarosa, la glucosa y la fructosa que se incluyen en ella, y se puede producir un rápido aumento de la glucosa en sangre cuando se ingiera, pero en la solución impregnada con alulosa, la alulosa no se descompone, lo que sugiere que se muestra un efecto de reducción de calorías, en comparación con la solución impregnada convencional.

Tabla 6

Contenido de sacarosa			Contenido de glucosa			Contenido de fructosa			Contenido de alulosa		
Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3	Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3	Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3	Ejemplo compara tivo 1	Ejemplo compara tivo 2	Ejemplo compara tivo 3
42.5	23.7	16.1	8.9	11.8	14.8	4.2	4.7	5.5	-	-	-
Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3	Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3	Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3	Ejemplo experim ental 1	Ejemplo experim ental 2	Ejemplo experim ental 3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	53.7	53.6	53.6

(Unidad: g/100 g de solución impregnada)

1-7. Confirmación del contenido total de polifenoles en solución impregnada

20

Para verificar la funcionalidad de la solución impregnada de *Prunus mume*, se midió el contenido de polifenoles en la solución

impregnada usando un lector de microplacas (Powerwave XS, BioTek, EE.UU.).

Se preparó un reactivo de carbonato de sodio al 2% introduciendo 2 g de carbonato de sodio (Sigma223484, CAS No. 497-19-8) en un matraz volumétrico de 100 mL y agregando agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 100 mL. Se preparó un reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu al 50% mezclando el reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu (SigmaF9252-1L) y agua destilada a 1:1, y luego se cubrió con una hoja de aluminio para evitar la transmisión de luz.

Para preparar una solución de prueba, la solución impregnada del Ejemplo experimental 3 o del Ejemplo comparativo 3 se diluyó con agua destilada a 1:1, se mezclaron 0.1 mL de la solución diluida con 0.1 mL del reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu al 50% y 2 mL del carbonato de sodio al 2%, la mezcla se mantuvo en un cuarto oscuro durante 30 minutos y la absorbancia se midió a 750 nm.

Se preparó una solución estándar introduciendo 0.4 g de ácido gálico (SigmaG7384, CAS No. 149-91-7) en un matraz volumétrico de 100 mL, agregando agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 100 mL y diluyendo la solución resultante a una concentración de 31.25 ppm, 62.5 ppm, 125 ppm, 250 ppm o 500 ppm. Después de mezclar los reactivos como en el método usado para la solución estándar, la solución de prueba se mantuvo en un lugar oscuro durante 30 minutos, y se midió la absorbancia a 750 nm.

Después de medir la absorbancia, se obtuvo una curva de calibración con la absorbancia de la solución estándar como eje de abscisas, y la concentración de la solución estándar como eje de ordenadas, y un contenido total de polifenoles de cada uno del Ejemplo Experimental 3 y Ejemplo Comparativo 3. se calculó usando la Expresión 6 a continuación.

Expresión 6

$$\text{Contenido total de polifenoles (mg/mL)} = (A \times B \times C) / D$$

*A: Volumen total de la solución de prueba (mL), B: Factor de dilución, C: Concentración total de polifenol en la solución de prueba (mg/mL), D: Volumen de muestreo (mL)

Como resultado, se confirmó que, en el Ejemplo experimental 3, el contenido total de polifenoles es significativamente mayor que en el Ejemplo comparativo 3 (Tabla 7). Por lo tanto, se confirmó que cuando la solución impregnada de *Prunus mume* se prepara usando alulosa, se puede preparar la solución con un contenido de polifenol total más alto que cuando se usa sacarosa.

Tabla 7

Clasificación	Ejemplo comparativo 3	Ejemplo experimental 3	valor <i>p</i>
Polifenol total (mg/mL)	7.8	14.3	0.00*

5

*: $p < 0.05$

1-8. Confirmación de la eficacia antioxidante de la solución impregnada

Para verificar la eficacia antioxidante de la solución impregnada de *Prunus mume* preparada usando alulosa, se midió la actividad de eliminación de un radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) usando un lector de microplacas (Powerwave XS, BioTek, EE.UU.).

Se preparó un reactivo DPPH 100 μM midiendo con precisión 3.9432 mg de un reactivo DPPH y ajustando el reactivo a un volumen de 100 mL con etanol (99.5%, Daejung Chemicals and Metals, CAS No. 64-17-5).

Se añadió 1 mL del reactivo DPPH 100 μM a cada uno de 0.2 mL del Ejemplo experimental 3 y 0.2 mL del Ejemplo Comparativo 3, y la solución se mantuvo en un lugar oscuro durante 15 minutos, y luego se midió la absorbancia a 517 nm. La eficiencia antioxidante del Ejemplo

experimental 3 y del Ejemplo Comparativo 3 se calculó usando la Expresión 7 a continuación.

Expresión 7

$$5 \quad \text{DPPH (\%)} = 1 - \left(\frac{\text{Absorbancia de muestra}}{\text{Absorbancia de control}} \right) \times 100$$

Como resultado, se confirmó que el valor de DPPH del Ejemplo experimental 3 es significativamente más alto que el del Ejemplo Comparativo 3 (Tabla 8). Por lo tanto, se puede ver que cuando
 10 la solución impregnada de *Prunus mume* se preparó usando alulosa, la solución tenía una eficacia antioxidante muy alta.

Tabla 8

15 Clasificación	Ejemplo comparativo 3	Ejemplo experimental 3	valor p
DPPH(%)	20.5	85.0	0.00*

*: $p < 0.05$

Ejemplo 2: Evaluación de solución impregnada de limón**2-1. Evaluación de las propiedades físicas de la solución impregnada (contenido de sólidos, pH y valor de color)**

Con el fin de verificar si la impregnación se llevó a cabo en la preparación de una solución impregnada de limón usando alulosa al mismo nivel que en una solución impregnada de limón usando sacarosa, las propiedades físicas (contenido de sólidos, pH y valor de color) de la solución impregnada se midieron y compararon las soluciones del Ejemplo comparativo 4 y el Ejemplo experimental 4. Los métodos para medir un contenido de sólidos, pH y valor de color son los mismos que los descritos en el Ejemplo 1-2.

Como resultado, el contenido de sólidos fue de 50 Brix% o más, que es el mismo que el de la solución impregnada convencional, y no hubo una diferencia significativa en el pH respecto a la solución impregnada de limón preparada con sacarosa. El valor de color fue significativamente más bajo que el de la solución impregnada convencional, lo que muestra que la preferencia de color fue excelente (Tabla 9). Por lo tanto, cuando la solución impregnada de limón se preparó con alulosa, se confirmó que la solución tenía casi los mismos niveles de propiedades físicas que la solución impregnada de limón preparada con sacarosa.

Tabla 9

Clasificación	Contenido de sólidos (Brix%)	pH	Valor de color (IU)
Ejemplo comparativo 4	59.51	3.38	2231
Ejemplo experimental 4	55.64	3.36	1842

2-2. Confirmación de la descomposición de alulosa

Con el fin de verificar si las bajas calorías y la funcionalidad de la alulosa se mantuvieron en la solución impregnada de limón usando alulosa, se confirmó si la alulosa usada en la preparación de la solución impregnada de limón se descompuso o no.

Específicamente, los contenidos de alulosa y sacáridos libres (sacarosa, glucosa y fructosa) en el Ejemplo experimental 4 y el Ejemplo Comparativo 4 se midieron usando HPLC, y los métodos de medición y las condiciones de análisis de HPLC fueron los mismos que los descritos en el Ejemplo 1-6.

Como resultado, se puede confirmar que, en el Ejemplo Comparativo 4, la sacarosa se descompuso en glucosa y fructosa, mientras que la alulosa usada en la preparación del Ejemplo experimental 4 no se descompuso sino que se mantuvo tal como está (Tabla 10). Por lo tanto, se confirmó que la alulosa en la solución impregnada de limón no se descompuso como en la solución impregnada de *Prunus mume* y, por lo

tanto, el efecto de reducción de calorías y la funcionalidad de la alulosa se pueden mantener como están.

Tabla 10

5	Clasificación	Contenido de sacarosa	Contenido de glucosa	Contenido de fructosa	Contenido de alulosa
	Ejemplo comparativo 4	49.4	3.6	3.1	-
10	Ejemplo experimental 4	-	-	-	56.2

(Unidad: g/100 g de solución impregnada)

2-3. Confirmación del contenido de vitamina C en solución impregnada

15 Para verificar si la impregnación se lleva a cabo al mismo nivel que en la solución impregnada de limón usando sacarosa y los componentes útiles se extraen cuando se usa alulosa para la preparación de la solución impregnada de limón, el contenido de vitamina C, que es uno de los principales componentes útiles del limón, se midió en la
20 solución impregnada de limón por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

Se preparó una solución de prueba introduciendo 1 g de cada muestra del Ejemplo experimental 4 y del Ejemplo Comparativo 4 en un matraz volumétrico de 50 mL, disolviendo la muestra en agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 50 mL (20 g/L), y luego
 5 filtrando la solución resultante a través de un filtro de 0.2 µm. Se preparó una solución estándar ingresando 0.001 g de un producto estándar de vitamina C (ácido L-ascórbico, SigmaA5960, CAS No. 50-81-7) en un matraz volumétrico de 10 mL, disolviendo la vitamina C en agua destilada para ajustar la solución a un volumen de 10 mL (0.1 g/L),
 10 diluyendo la solución a una concentración, por ejemplo, aproximadamente 0.00625 g/L, 0.0125 g/L, 0.025 g/L, 0.05 g/L o 0.1 g/L, y filtrando la solución diluida a través de un filtro de 0.2 µm. Las soluciones de prueba preparadas y las soluciones estándar se analizaron por HPLC (Alliance, Waters, módulos de separación e2695, USA/módulo
 15 calentador de columna Waters/detector RI Water 2414/software Empower™) bajo las condiciones de análisis enumeradas en la Tabla 11 a continuación.

Tabla 11

20	Fase móvil	Acetonitrilo 90% + ácido fórmico 10%
	Columna	250 mm x 4.6 mm Intersil® HPLC
	Velocidad de flujo	0.7 mL/min

Temperatura	35 °C
Volumen de entrada	10 µL
Detector	detector de disposición de diodos (DAD)

5 Después del análisis de HPLC, se obtuvo una curva de calibración con el contenido de ácido cítrico (g/L) como eje de abscisas y un área del cromatograma como eje de ordenadas y las áreas de vitamina C en las soluciones de prueba del Ejemplo experimental 4 y Ejemplo comparativo 4 fueron leídas, y luego se calcularon los contenidos de
10 vitamina C a partir de la curva de calibración usando la Expresión 8 a continuación.

Expresión 8

15 Contenido de vitamina C (g/100 g de solución impregnada) =

$$\frac{\text{Concentración obtenida de curva de calibración (g/L)} \times \text{Volumen diluido (mL)} \times 100}{\text{Cantidad de muestreo (g)} \times 1000}$$

Como resultado, se confirmó que no hay una diferencia significativa en el contenido de vitamina C entre el Ejemplo experimental 4 y el Ejemplo Comparativo 4 (Tabla 12). Por lo tanto, se confirmó que,
20 cuando la solución impregnada de limón se preparaba usando alulosa, se preparaba la solución con el mismo nivel del componente útil que cuando se usaba sacarosa.

Tabla 12

Classificación	Vitamina C (mg/100g de solución impregnada)
Ejemplo comparativo 4	30.5
Ejemplo experimental 4	28.3

5

10

15

20