

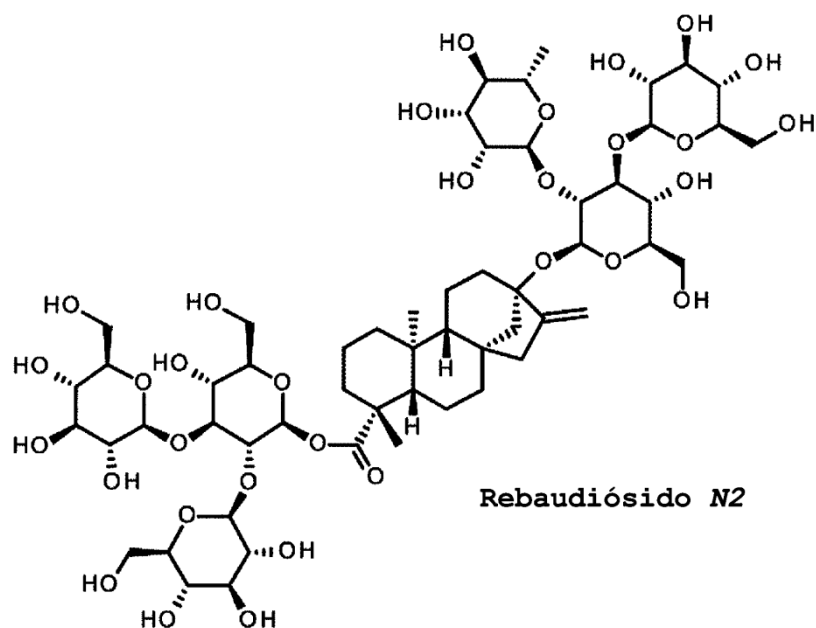
REIVINDICACIONES

Reivindicamos:

1. Rebaudiósido N2 con la fórmula:

5

10

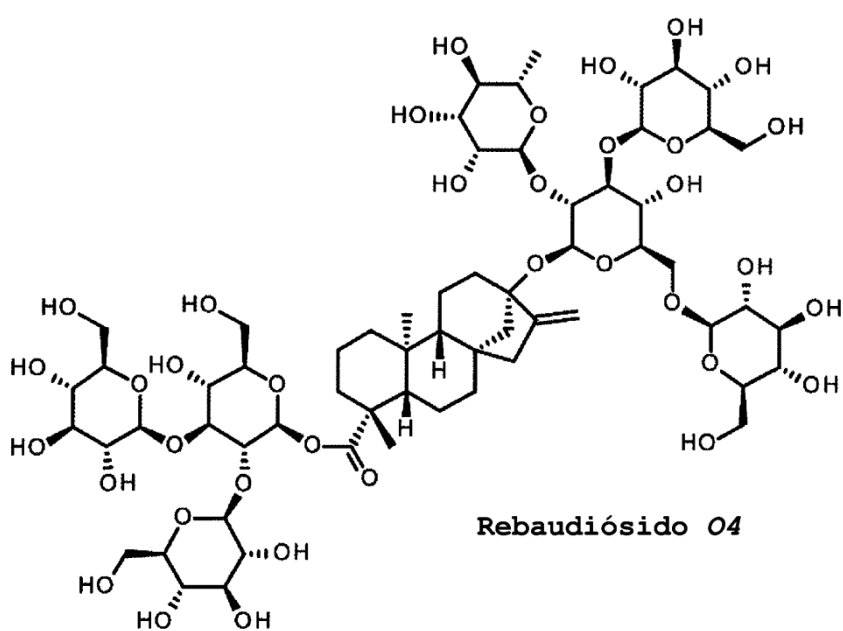


15

2. Rebaudiósido 04 con la fórmula:

20

25



3. Un método para producir un rebaudiósido *N2* altamente purificado de la reivindicación 1, que comprende las etapas de:

- a. proporcionar una composición inicial que comprende un compuesto orgánico con al menos un átomo de carbono;
- b. proporcionar una preparación enzimática o microorganismo que contiene al menos una enzima seleccionada de enzimas de biosíntesis de esteviol, UDP-glucosiltransferasas, UDP-glicosiltransferasas y opcionalmente enzimas de reciclado de UDP-glucosa y UDP-ramnosa.
- c. poner en contacto la preparación enzimática o microorganismo con un medio que contiene la composición inicial para producir un medio que comprende rebaudiósido *N2*.

4. Un método para producir un rebaudiósido *O4* altamente purificado de la reivindicación 2, que comprende las etapas de:

- a. proporcionar una composición inicial que comprende un compuesto orgánico con al menos un átomo de carbono;
- b. proporcionar una preparación enzimática o microorganismo que contiene al menos una enzima seleccionada de enzimas de biosíntesis de esteviol, UDP-glucosiltransferasas, UDP-

glicosiltransferasas y opcionalmente enzimas de reciclado de UDP-glucosa y UDP-ramnosa.

- c. poner en contacto la preparación enzimática o microorganismo con un medio que contiene la composición inicial para producir un medio que comprende rebaudiósido 04.

5. Un método para producir un rebaudiósido N2 altamente purificado de la reivindicación 1, que comprende las etapas de:

- a. proporcionar una composición inicial que comprende un compuesto orgánico con al menos un átomo de carbono;
- b. proporcionar un catalizador biológico que comprende al menos una enzima seleccionada de enzimas de biosíntesis de esteviol, UDP-glucosiltransferasas, UDP-glicosiltransferasas y opcionalmente enzimas de reciclado de UDP-glucosa y UDP-ramnosa.
- c. poner en contacto el catalizador biológico con un medio que contiene la composición inicial para producir un medio que comprende rebaudiósido N2.

6. Un método para producir un rebaudiósido 04 altamente purificado de la reivindicación 2, que comprende las etapas de:

- a. proporcionar una composición inicial que comprende un compuesto orgánico con al menos un átomo de carbono;
- b. proporcionar un catalizador biológico que comprende al menos una enzima seleccionada de enzimas de biosíntesis de esteviol, UDP-glucosiltransferasas, UDP-glicosiltransferasas y opcionalmente enzimas de reciclado de UDP-glucosa y UDP-ramnosa.
- c. poner en contacto el catalizador biológico con un medio que contiene la composición inicial para producir un medio que comprende rebaudiósido 04.
7. El método de la reivindicación 3 o 5 que comprende además la etapa de:
- d. separar el rebaudiósido N2 del medio para proporcionar una composición de rebaudiósido N2 altamente purificada.
8. El método de la reivindicación 4 o 6 que comprende además la etapa de:
- d. separar el rebaudiósido 04 del medio para proporcionar una composición de rebaudiósido 04 altamente purificada.
9. El método de la reivindicación 3, 4, 5 o 6, en donde la composición inicial se selecciona del grupo que consiste en esteviol, esteviolmonósido, esteviolmonósido A,

esteviolbiósido A, esteviolbiósido B, esteviolbiósido C,
esteviolbiósido D, esteviolbiósido E, rubusósido, dulcósido
A, dulcósido C, dulcósido D, esteviósido A, esteviósido B,
esteviósido C, esteviósido G, esteviósido H, rebaudiósido
5 B2, rebaudiósido A4, rebaudiósido C, rebaudiósido C3,
rebaudiósido C4, rebaudiósido C5, rebaudiósido C6,
rebaudiósido E3, rebaudiósido E4, rebaudiósido E5,
rebaudiósido E6, rebaudiósido E7, rebaudiósido D5,
rebaudiósido D6, rebaudiósido D7, rebaudiósido D8,
10 rebaudiósido H2, rebaudiósido H3, rebaudiósido H4,
rebaudiósido H5, rebaudiósido H6, rebaudiósido K,
rebaudiósido N2, rebaudiósido N3, rebaudiósido N4,
rebaudiósido N5, rebaudiósido M3, otros glicósidos de
esteviol, polioles, carbohidratos, y combinaciones de
15 estos.

10. El método de la reivindicación 3 o 4, en
donde el microorganismo se selecciona del grupo que
consiste en *E.coli*, *Saccharomyces* sp., *Aspergillus* sp.,
Pichia sp., *Bacillus* sp., y *Yarrowia* sp.

20 11. El método de la reivindicación 5, en donde el
catalizador biológico es una enzima, o una célula que
comprende una o más enzimas, capaces de convertir la
composición inicial en rebaudiósido N2.

12. El método de la reivindicación 6, en donde el
25 catalizador biológico es una enzima, o una célula que

comprende una o más enzimas capaces de convertir la composición inicial en rebaudiósido 04.

13. El método de la reivindicación 3 o 4, en donde la enzima se selecciona del grupo que consiste en

5 enzima de ruta de mevalonato (MVA), una enzima de ruta de 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP/DOXP), geranylgeranyl difosfato sintasa, copalil difosfato sintasa, kaureno sintasa, kaureno oxidasa, ácido kaurenico 13-hidroxilasa (KAH), esteviol sintetasa, desoxilulosa 5-fosfato sintasa

10 (DXS), D-1-desoxilulosa 5-fosfato reductoisomerasa (DXR), 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol sintasa (CMS), 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol quinasa (CMK), 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato sintasa (MCS), l-hidroxi-2-metil-2(E)-butenil 4-difosfato

15 sintasa (HDS), l-hidroxi-2-metil-2(E)-butenil 4-difosfato reductasa (HDR), acetoacetil-CoA tiolasa, HMG-CoA reductasa truncada, mevalonato quinasa, fosfomevalonato quinasa, mevalonato pirofosfato descarboxilasa, citocromo P450 reductasa, UGT74G1, UGT85C2, UGT91D2, EUGT11, UGTSl2,

20 UGT76G1, UGlyT91C1 o variante mutante de estos que tiene >85 % de identidad de secuencia de aminoácidos, >86 % de identidad de secuencia de aminoácidos, >87 % de identidad de secuencia de aminoácidos, >88 % de identidad de secuencia de aminoácidos, >89 % de identidad de

25 secuencia de aminoácidos, >90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, >91 % de identidad de secuencia de

aminoácidos, >92 % de identidad de secuencia de
aminoácidos, >93 % de identidad de secuencia de
aminoácidos, >94 % de identidad de secuencia de
aminoácidos, >95 % de identidad de secuencia de
5 aminoácidos, >96 % de identidad de secuencia de
aminoácidos, >97 % de identidad de secuencia de
aminoácidos, >98 % de identidad de secuencia de
aminoácidos, >99 % de identidad de secuencia de
aminoácidos.

10 14. El método de la reivindicación 7, en donde el
contenido de rebaudiósido N2 en la composición de
rebaudiósido N2 altamente purificado es mayor que 95 % en
peso sobre una base seca.

15 15. El método de la reivindicación 8, en donde el
contenido de rebaudiósido 04 en la composición de
rebaudiósido 04 es mayor que aproximadamente 95 % en peso
sobre una base seca.

20 16. Un producto consumible que comprende
rebaudiósido N2 de la reivindicación 1 o rebaudiósido 04 de
la reivindicación 2, en donde el producto se selecciona del
grupo que consiste en un alimento, una bebida, una
composición farmacéutica, un producto de tabaco, una
composición nutracéutica, una composición de higiene oral,
y una composición cosmética; o el producto se selecciona
25 del grupo que consiste en bebidas; jugos naturales; bebidas
refrescantes; bebidas carbonatadas; bebidas dietéticas;

bebidas con cero calorías; alimentos y bebidas de bajas calorías; yogur bebible; jugos instantáneos; café instantáneo; tipos de bebidas instantáneos en polvo; productos en lata; jarabes; pasta de frijol de soya fermentada; salsa de soya; vinagre; aderezos; mayonesa; 5 kétchup; curry; sopa; caldo instantáneo; salsa de soya en polvo; vinagre en polvo; tipos de galletas; galletas de arroz; galletas saladas; pan; chocolates; caramelo; dulces; goma de mascar; jalea; pudín; conservas de frutas y 10 verduras; crema fresca; mermelada; mermelada con fruta; pasta de flores; leche en polvo; helado; sorbete; verduras y frutas envasadas en botellas; frijoles en lata y cocidos; carne y alimentos hervidos en salsa edulcorada; productos alimenticios agrícolas vegetales; mariscos; jamón; 15 salchicha; jamón de pescado; salchicha de pescado; pasta de pescado; productos de pescado frito; productos de mariscos secos; productos alimenticios congelados; algas preservadas; conservas de carne; productos de tabaco y medicinales.

20 17. El producto consumible de la reivindicación 16, que comprende además al menos un aditivo seleccionado del grupo que consiste en carbohidratos, polioles, aminoácidos y sus sales correspondientes, poliaminoácidos y sus sales correspondientes, ácidos de azúcar y sus 25 sales correspondientes, nucleótidos, ácidos orgánicos, ácidos inorgánicos, sales inorgánicas que incluyen sales

de ácido orgánico y sales de base orgánica, sales inorgánicas, compuestos amargos, cafeína, saborizantes e ingredientes saborizantes, componentes astringentes, proteínas o hidrolizados de proteínas, surfactantes, emulsionantes, flavonoides, alcoholes, polímeros y combinación de estos; o que comprende además al menos un ingrediente funcional seleccionados del grupo que consiste en saponinas, antioxidantes, fuentes de fibra dietética, ácidos grasos, vitaminas, glucosamina, minerales, conservantes, agentes de hidratación, probióticos, prebióticos, agentes de gestión de peso, agentes de gestión de osteoporosis, fitoestrógenos, alcoholes saturados alifáticos primarios de cadena larga, fitoesteroles y combinaciones de estos; o que comprende además un compuesto seleccionado del grupo que consiste en esteviolmonósido, esteviolmonósido A, esteviolbiósido A, esteviolbiósido B, esteviolbiósido C, esteviolbiósido D, esteviolbiósido E, rubusósido, dulcósido A, dulcósido C, dulcósido D, esteviósido A, esteviósido B, esteviósido C, esteviósido G, esteviósido H, rebaudiósido B2, rebaudiósido A4, rebaudiósido C, rebaudiósido C3, rebaudiósido C4, rebaudiósido C5, rebaudiósido C6, rebaudiósido E3, rebaudiósido E4, rebaudiósido E5, rebaudiósido E6, rebaudiósido E7, rebaudiósido D5, rebaudiósido D6, rebaudiósido D7, rebaudiósido D8, rebaudiósido H2, rebaudiósido H3, rebaudiósido H4,

rebaudiósido *H5*, rebaudiósido *H6*, rebaudiósido *K*,
 rebaudiósido *N2*, rebaudiósido *N3*, rebaudiósido *N4*,
 rebaudiósido *N5*, rebaudiósido *M3*, rebaudiósido *A*,
 rebaudiósido *A2*, rebaudiósido *A3*, rebaudiósido *AM*,
 5 rebaudiósido *B*, rebaudiósido *C2*, rebaudiósido *D*,
 rebaudiósido *D2*, rebaudiósido *D3*, rebaudiósido *D4*,
 rebaudiósido *E*, rebaudiósido *E2*, rebaudiósido *F*,
 rebaudiósido *F2*, rebaudiósido *F3*, rebaudiósido *G*,
 rebaudiósido *H*, rebaudiósido *I*, rebaudiósido *I2*,
 10 rebaudiósido *I3*, rebaudiósido *J*, rebaudiósido *K2*,
 rebaudiósido *L*, rebaudiósido *M*, rebaudiósido *M2*,
 rebaudiósido *N*, rebaudiósido *O*, rebaudiósido *O2*,
 rebaudiósido *O3*, rebaudiósido *Q*, rebaudiósido *Q2*,
 rebaudiósido *Q3*, rebaudiósido *R*, rebaudiósido *S*,
 15 rebaudiósido *T*, rebaudiósido *T1*, rebaudiósido *U*,
 rebaudiósido *U2*, rebaudiósido *V*, rebaudiósido *V2*,
 rebaudiósido *W*, rebaudiósido *W2*, rebaudiósido *W3*,
 rebaudiósido *Y*, rebaudiósido *Z1*, rebaudiósido *Z2*,
 esteviolbiósido, esteviósido, esteviósido *D*, esteviósido
 20 *E*, esteviósido *E2*, esteviósido *F*, NSF-02, mogrósido *V*,
 Luo Han Guo, alulosa, D-alosa, D-tagatosa, eritritol,
 brazeína, dihidrochalcona de neoesperidina, ácido
 glicirrízico y sus sales, taumatina, perillartina,
 pernandulcin, mukuroziosidas, baiyunosido, flomisoside-
 25 *I*, ácido dimetil-hexahidrofluoreno-dicarboxílico,
 abrusosidos, periandrina, carnosiflosides,

ciclocariosida, pterocariosidas, polipodosida A,
brasilina, hernandulcina, filodulcina, glicifilina,
floricina, trilobatina, dihidroflavonol,
dihidroquercetina-3-acetato, neoastilibina, *trans*-
5 cinamaldehído, monatina y sus sales, selligueain A,
hematoxilina, monelina, osladin, pterocariosida A,
pterocariosida B, mabinlina, pentadina, miraculina,
curculina, neoculina, ácido clorogénico, cinarina,
siamenósido, sucralosa, acesulfamo de potasio, aspartamo,
10 alitamo, sacarina, ciclamato, neotamo, dulcina, advantame
de suosan, ácido gimnémico, hodulcina, zizifina,
lactisola, glutamato, ácido aspártico, glicina, alanina,
treonina, prolina, serina, lisina, triptófano, maltitol,
manitol, sorbitol, lactitol, xilitol, inositol, isomalt,
15 propilenglicol, glicerol, treitol, galactitol,
isomaltulosa hidrogenada, isomaltooligosacáridos
reducidos, xilooligosacáridos reducidos,
gentiooligosacáridos reducidos, jarabe de maltosa
reducido, jarabe de glucosa reducido, hidrolizados de
20 almidón hidrogenado, poliglicitoles, alcoholes de azúcar,
L-azúcares, L-sorbosa, L-arabinosa, trehalosa, galactosa,
ramnosa, diversas ciclodextrinas, oligosacáridos
cíclicos, varios tipos de maltodextrinas, dextrano,
sacarosa, glucosa, ribulosa, fructosa, treosa, xilosa,
25 lixosa, altrosa, manosa, idosa, lactosa, maltosa, azúcar
invertido, isotrehalosa, neotrehalosa, isomaltulosa,

eritrosa, desoxirribosa, gulosa, talosa, eritrulosa, xilulosa, celobiosa, amilopectina, glucosamina, manosamina, ácido glucurónico, ácido glucónico, gluconolactona, abecosa, galactosamina, oligosacáridos de remolacha, isomalto-oligosacáridos (isomaltose, isomaltotriosa, panosa y lo similar), xilooligosacáridos, (xilotriosa, xilobiosa y lo similar), oligosacáridos terminados en xilo, gentio-oligosacáridos (gentiobiosa, gentiotriosa, gentiotetraosa y lo similar), nigero-oligosacáridos, oligosacáridos de palatinosa, fructooligosacáridos (kestosa, nistosa y lo similar), maltotetraol, maltotriol, maltoloigosacáridos (maltotriosa, maltotetraosa, maltopentaosa, maltohexaosa, maltoheptaosa y lo similar), almidón, inulina, inulooligosacáridos, lactulosa, melibiosa, rafinosa, azúcares líquidos isomerizados tales como jarabes de maíz con alto contenido de fructosa, azúcares de acoplamiento, oligosacáridos de frijol de soya, D-psicosa, D-ribosa, L-glucosa, L-fucosa, D-turanosa, D-leucrosa.

18. Un método para potenciar el dulzor de una bebida o producto alimenticio, que comprende un edulcorante que comprende:

- a. proporcionar una bebida o producto alimenticio que comprende un edulcorante; y
- b. añadir un potenciador de dulzor que comprende (i) rebaudiósido N2 de la reivindicación 1,

en donde el rebaudiósido N2 está presente en una concentración en o por debajo del umbral de reconocimiento de dulzor; o (ii) rebaudiósido 04 de la reivindicación 2,
5 en donde el rebaudiósido 04 está presente en una concentración en o por debajo del umbral de reconocimiento de dulzor.

19. Un método para modificar el sabor de una bebida o producto alimenticio, que comprende
10 proporcionar una bebida o producto alimenticio, y añadir una composición que comprende rebaudiósido N2 de la reivindicación 1 o rebaudiósido 04 de la reivindicación 2.

20. Un método para suprimir la formación de espuma de una bebida o producto alimenticio, que
15 comprende

- a. proporcionar una bebida o un producto alimenticio, y
- b. añadir un supresor de espuma que comprende rebaudiósido N2 de la reivindicación 1 o
20 rebaudiósido 04 de la reivindicación 2.