



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 241 480**

② Número de solicitud: 200400427

⑤ Int. Cl.

A23L 1/025 (2006.01)

A23B 7/148 (2006.01)

A23L 3/3418 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑫ Fecha de presentación: **23.02.2004**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.10.2005**

Fecha de la concesión: **28.02.2006**

⑭ Fecha de anuncio de la concesión: **01.04.2006**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:
01.04.2006

⑰ Titular/es: **Universidad Complutense de Madrid
Rectorado - Avenida de Séneca, 2
28040 Madrid, ES**

⑱ Inventor/es: **González Ureña, Ángel;
Orea Rocha, José María y
Jiménez Sánchez, Jorge B.**

⑳ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante tratamientos anóxicos cortos.**

㉑ Resumen:

Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante tratamientos anóxicos cortos.

La presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de tratamientos anóxicos cortos. El trans-resveratrol es una molécula producida de forma natural por la vid y otras plantas como medio de autodefensa frente a las infecciones fúngicas, diversos tipos de estrés, productos químicos, etc. La aplicación del tratamiento, caracterizado porque se somete a la uva a cortos periodos de tiempo (inferiores a 24 horas) en atmósfera con muy bajo contenido en O₂, permite aumentar de forma importante el contenido endógeno de trans-resveratrol, con la consiguiente mejora de su resistencia natural frente a la putrefacción y el envejecimiento durante el almacenamiento.

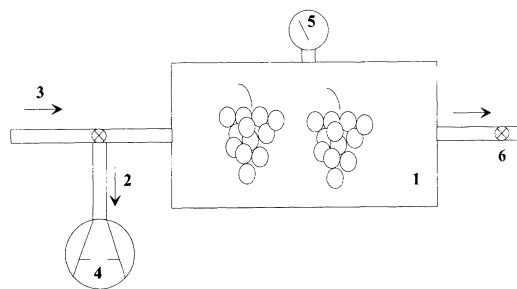


FIGURA 1

ES 2 241 480 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante tratamientos anóxicos cortos.

Objeto de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante la aplicación de tratamientos anóxicos cortos. El trans-resveratrol es una molécula producida de forma natural por la vid y otras plantas como medio de autodefensa frente a las infecciones fúngicas, diversos tipos de estrés, productos químicos, etc. La aplicación del tratamiento, caracterizado porque se somete a la uva a cortos periodos de tiempo (inferiores a 24 horas) en atmósfera con muy bajo contenido en O₂, permite aumentar de forma importante el contenido endógeno de trans-resveratrol, con la consiguiente mejora de su resistencia natural frente a la putrefacción y el envejecimiento durante el almacenamiento.

Antecedentes

Uno de los principales problemas de la agricultura moderna son las pérdidas en frutas y verduras durante el almacenamiento posterior a la cosecha, causadas principalmente por el ataque de agentes patógenos y su propio envejecimiento natural. Aunque existen prácticas agrícolas bien establecidas para la protección de los vegetales durante el almacenamiento, como la utilización de pesticidas químicos o el almacenamiento en atmósfera controlada, las pérdidas después de la cosecha se sitúan en torno al 20% del total mundial, pudiendo llegar en algunos casos a valores mucho más elevados. Además existe en la actualidad una gran preocupación de los consumidores respecto a los riesgos nocivos para la salud y para el medio ambiente que supone la utilización extensiva de pesticidas químicos. Una nueva estrategia para solucionar estos problemas consiste en el desarrollo de métodos para mejorar la resistencia natural de frutas y verduras mediante la utilización de las propias moléculas sintetizadas por las plantas para su defensa, las denominadas "moléculas de defensa", bien mediante la aplicación externa de dichos compuestos o bien mediante tratamientos adecuados que permitan aumentar su contenido endógeno.

En el caso concreto de la uva, su resistencia a las infecciones fúngicas ha sido explicada mediante diversos mecanismos. Entre ellos uno de los más importantes es la producción de metabolitos secundarios que contribuyen de una u otra forma a aumentar la resistencia de las plantas (J.J. Marois *et al. Am. J. Enol. Vitic.* 37 (1986) 293; R. Pezet *et al. Phytopathol. Z.* 11 (1984) 73). Dichos compuestos pueden estar presentes en la planta previamente o bien sintetizarse como respuesta a la infección (en este caso se denominan fitoalexinas). En ambos casos, los compuestos secundarios más importantes sintetizados en la vid son de tipo fenólico, principalmente estilbenos (resveratrol, piceid, pterostilbeno, ϵ -viniferina, etc.) y flavonoides (taninos, catequina, epicatequina, quercetina, antocianinos, etc.). Diversos estudios permiten asegurar que estos compuestos fenólicos en la vid son de gran importancia en el sistema de defensa de la planta frente a las infecciones (véanse por ejemplo, G.H. Dai *et al. Europ. J. Pl. Pathol.* 101 (1995) 541; E. Schlösser *Acta Hort.* 381 (1994) 615; R. U. Matern *et al. Acta Hort.* 381 (1994) 448).

Recientemente se ha demostrado que la aplicación externa de trans-resveratrol a diversas frutas y verduras permite mejorar la resistencia de las uvas y de otras frutas y verduras, de forma que mantienen durante un tiempo mayor su calidad durante el almacenamiento, sin alterar sus propiedades bioquímicas ni sensoriales (A. Gonzalez Ureña *et al. J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 82-89; C. Montero *et al. Plant Phys.* 131 (2003) 129-138; solicitudes españolas de patente ES2167179 y ES2169704)

Por otra parte, debido a la normativa cada vez más restrictiva en cuanto a la utilización de productos químicos en frutas y vegetales, se ha estudiado ampliamente la utilización de tratamientos anóxicos cortos como medio de control de insectos y patógenos después de la cosecha. Mantener la fruta durante un tiempo determinado en atmósfera con un contenido muy bajo en O₂ puede tener efectos beneficiosos, tales como reducir la tasa respiratoria, inhibir la producción y la acción del etileno, reducir la incidencia de varios trastornos fisiológicos, etc. (D. Ke *et al. Postharvest News Inf.* (1992) 31-37). Como ya ha sido demostrado, el pretatamiento de frutas y verduras con anoxia puede retardar su maduración (S. Lurie *et al. Postharvest Biol. Technol.* (1992) 317-326; E. Pesis *et al. J. Plant Physiol.* (1993) 717-721; J.N. Burdon *et al. Ann. Appl. Biol.* (1994) 581-587; E. Fallik *et al. Postharvest Biol. Technol.* (2003) 322-236); sin embargo existe una gran variación en cuanto a la tolerancia de cada especie a una atmósfera con muy bajo contenido en O₂, aunque de forma general dicha tolerancia no es muy grande y, por lo tanto, los tratamientos anóxicos no deben exceder las 24-48 horas.

En la presente invención se describe un procedimiento para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol mediante tratamientos anóxicos cortos, preferentemente inferiores a 24 horas. Como se ha indicado anteriormente, este aumento en el contenido endógeno de resveratrol tendrá efectos beneficiosos en cuanto a la mayor conservación y tiempo de durabilidad de la uva. Debe ser bien entendido que la expresión "efectos beneficiosos en cuanto a la mayor conservación y tiempo de durabilidad de la uva", como se utiliza en este texto, se refiere explícitamente a los producidos por el aumento en el contenido endógeno de trans-resveratrol en las uvas inducido por el tratamiento; estos efectos serán adicionales al probable retraso en la maduración producido por el propio tratamiento anóxico, como se ha puesto de manifiesto en otras frutas y verduras.

Por otra parte, un mayor contenido de resveratrol en las uvas tendrá un efecto beneficioso en la salud de los consumidores, ya que se ha demostrado que el trans-resveratrol presenta actividad preventiva de las enfermedades cardiovasculares, así como una importante actividad quimiopreventiva de la carcinogénesis. Una información más detallada sobre los beneficios del trans-resveratrol en la salud humana se puede encontrar en: A. Cassidy *et al. J. Sci. Food Agric.* 80 (2000) 1044-1062; J.B. German *et al. Annu. Rev. Nutr.* 20 (2000) 561-593; G. Soleas *et al. Clinical Biochem.* 30 (1997) 91-113.

Descripción de la invención

Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas mediante tratamientos anóxicos cortos.

Para llevar a cabo la presente invención se han seleccionado varios racimos de uva blanca pertenecien-

tes todos ellos a la misma variedad de uva comprada y no habiendo sufrido ningún tratamiento de conservación posterior hasta el momento de realizar el experimento.

Dichas uvas han sido sometidas a diferentes tratamientos de anoxia, en los que se ha variado el periodo de anoxia del tratamiento. Para ello se han introducido las uvas en una cámara estanca (Figura 1) de la que se evacúa el aire, introduciendo posteriormente nitrógeno seco. Las uvas se mantienen en dicha atmósfera con un nivel de oxígeno muy bajo durante un tiempo variable entre 6 y 48 horas. Una vez terminado el tratamiento anóxico, se ventea el sistema y se extraen las uvas.

El efecto del tratamiento anóxico en las uvas ha sido evaluado mediante el análisis del contenido de trans-resveratrol en la piel de las uvas antes y después del tratamiento. La técnica empleada para dicho análisis es la misma que la que se realiza para el análisis de trans-resveratrol en muestras vegetales mediante la combinación de la desorción láser con la ionización multifotónica resonante (generalmente denominada REMPI por sus iniciales en inglés: Resonant Multiphoton Ionization) y posterior detección por espectrometría de masas de tiempo de vuelo (generalmente denominada TOFMS por sus iniciales en inglés: Time-of-Flight Mass Spectrometry).: C. Montero *et al. Appl. Phys. B* (2000) 601-605; J.M. Orea *et al. Anal. Chem.* (2001) 5921-5929.

El análisis del contenido de trans-resveratrol en la piel de la uva después de los distintos periodos de anoxia, permiten concluir (véase figura 2) que en las uvas sometidas a periodos de anoxia de hasta 24 horas se produce un aumento en el contenido de trans-resveratrol como respuesta al estrés; el incremento neto en el contenido de trans-resveratrol en las uvas por el tratamiento anóxico aumenta con la duración del tratamiento, siendo máximo para la muestra sometida a un tratamiento anóxico de 24 horas, con el que se llega a triplicar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la piel de la uva antes del tratamiento. Periodos superiores a 24 horas no solo pueden llegar a producir el deterioro de la uva y el empeoramiento de sus propiedades organolépticas, sino que disminuye el incremento neto en el contenido endógeno de trans-resveratrol en las uvas.

Breve descripción de las figuras

La invención se acompaña de una serie de figuras que con carácter ilustrativo representan lo siguiente:

La Figura 1 muestra un esquema del sistema experimental desarrollado para la realización de los tratamientos anóxicos para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en uvas. El sistema consta esencialmente de una cámara estanca (1) con las conexiones y válvulas adecuadas tanto para la extracción del aire (2) como para la introducción de un gas inerte (3). La extracción del aire se realiza mediante una bomba rotatoria de vacío (4). El sistema está provisto igualmente de un sistema de medida (5) de la presión en el interior de la cámara para controlar tanto el vacío obtenido mediante la bomba como la sobrepresión de gas introducida en la cámara. Por último, se dispone de una válvula de venteo (6) para la evacuación de los gases del interior de la cámara.

La Figura 2 muestra los resultados obtenidos en los análisis del contenido de trans-resveratrol en la piel de la uva después de diferentes tiempos de anoxia. Los análisis han sido realizados mediante la combinación de la desorción por láser con REMPI y posterior detección por TOFMS.

Modo de realización de la invención

La presente invención se ilustra mediante el siguiente ejemplo operativo que no pretende ser en ningún caso limitativo de su alcance, el cual viene definido exclusivamente por las reivindicaciones adjuntas.

La uva se introduce en un recipiente estanco que puede ser similar al mostrado en la Figura 1, o cualquier otro recipiente de volumen adecuado a la cantidad de uva que se quiera tratar y provisto de las conexiones adecuadas para extracción del aire e introducción de nitrógeno.

Una vez introducidas las uvas en el recipiente, se extrae el aire de forma suave, mediante una bomba rotatoria de poca potencia, hasta una presión inferior a 1 mbar. A continuación, sin que entre aire en el recipiente, se rellena dicho recipiente con un gas inerte, por ejemplo: nitrógeno seco, hasta que la presión en el interior del recipiente sea ligeramente superior a la presión atmosférica, por ejemplo 1,1 bares aproximadamente. Las uvas se mantienen en estas condiciones durante un periodo de aproximadamente 24 horas, controlando que durante dicho tiempo se mantenga la sobrepresión de nitrógeno en el interior la cámara. Una vez transcurrido dicho periodo de anoxia, se ventea el sistema y se extraen las uvas.

REIVINDICACIONES

1. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uvas por la aplicación de un tratamiento anóxico **caracterizado** porque se realiza en las siguientes etapas:

- i. Introducción de las uvas en un recipiente estanco, provisto de las conexiones adecuadas para la extracción de aire e introducción del gas inerte adecuado.
- ii. Extracción del aire del recipiente mediante una bomba rotatoria de poca potencia, hasta una presión inferior a 1 mbar.
- iii. Insuflación de un gas inerte en el interior del recipiente estanco, hasta que la presión en su interior sea ligeramente superior a la atmosférica.
- iv. Mantenimiento de las uvas en el interior del recipiente durante un tiempo, asegurándose de que se mantiene la sobrepresión de gas inerte en el interior de dicho recipiente.
- v. Venteo del recipiente y extracción las uvas.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

2. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva por la aplicación de un tratamiento anóxico, según reivindicación 1, **caracterizado** porque el gas inerte puede ser N₂, gases nobles o cualquier gas no reactivo.

3. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva, según la reivindicación anterior, **caracterizado** porque el gas inerte utilizado para mantener una atmósfera de contenido muy bajo en oxígeno es nitrógeno seco.

4. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva, según las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque la presión del gas inerte en el interior de la cámara durante el tiempo de anoxia es de 1,1 bares.

5. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva, según reivindicación 1, **caracterizado** porque el tiempo de anoxia está comprendido entre 6 y 48 horas.

6. Método para aumentar el contenido endógeno de trans-resveratrol en la uva, según reivindicación anterior, **caracterizado** porque el periodo de anoxia es de 24 horas.

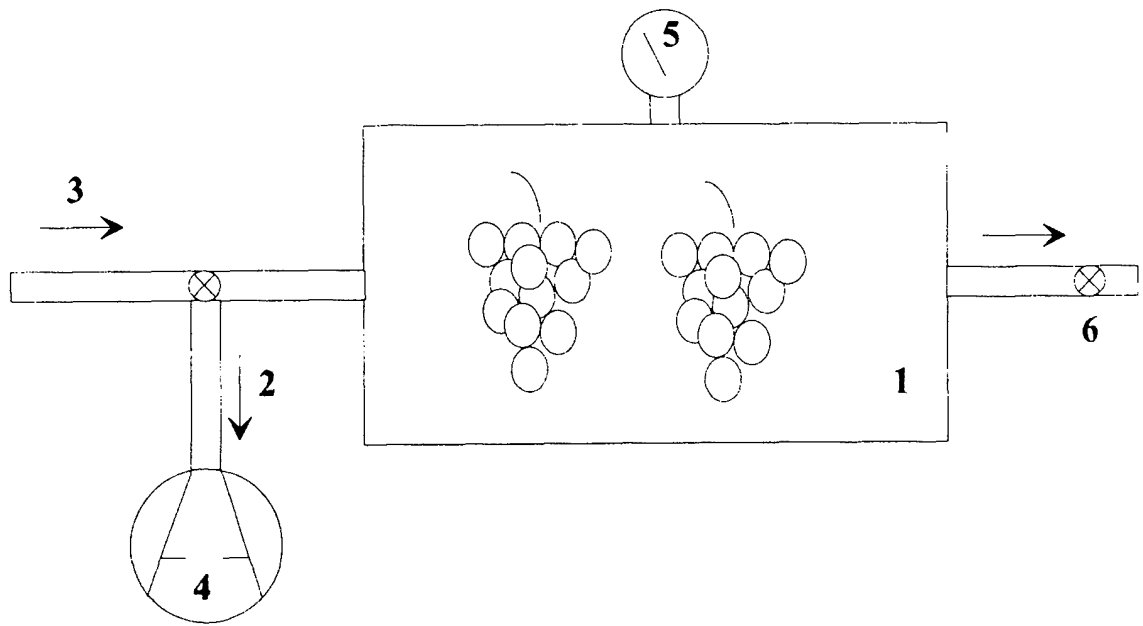


FIGURA 1

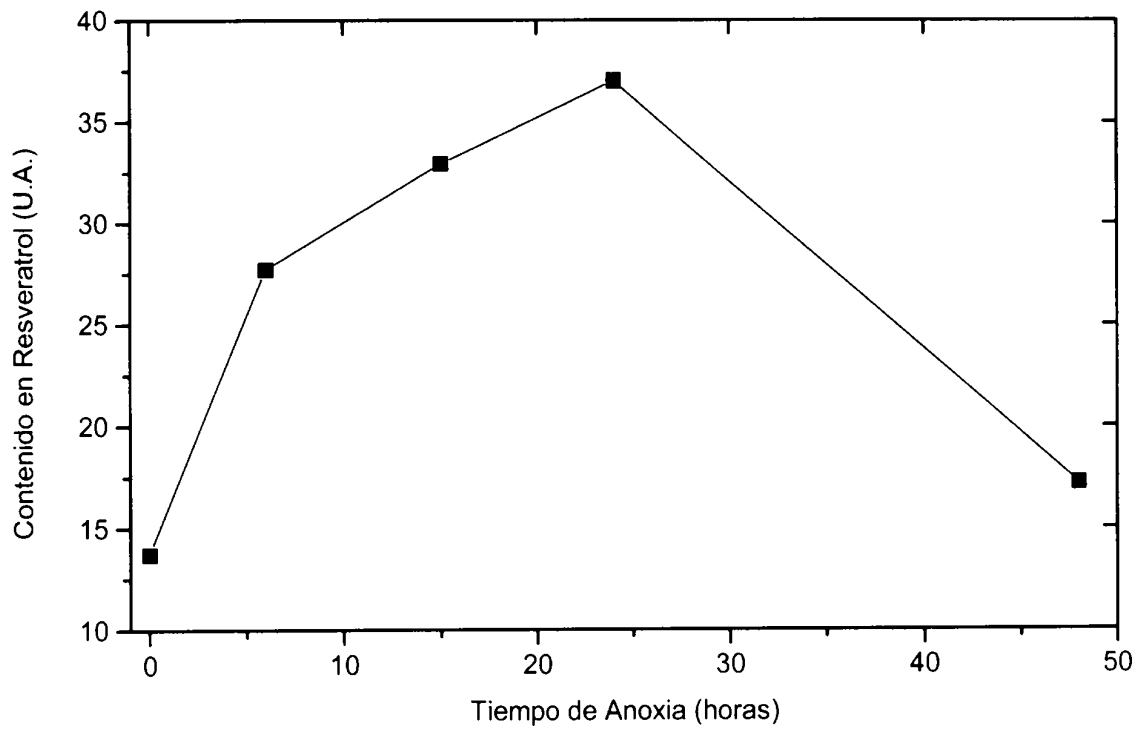


FIGURA 2



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 241 480

② Nº de solicitud: 200400427

③ Fecha de presentación de la solicitud: **23.02.2004**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.7:** A23L 1/025, A23B 7/148, A23L 3/3418

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ARTES-HERNÁNDEZ, F.; ARTES, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Quality and enhancement of bioactive phenolics in cv.Napoleon table grapes exposed to different postharvest gaseous treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry.2003. Vol. 51, Nº 18, páginas 5290-5295. ISSN 0021-8561, todo el documento.	1-6
A	ES 2177465 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS) 01.12.2002, columnas 1-3; reivindicación 2.	1
A	SARIG, P.; ZAHAVI, T. et al. Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by Rhizopus stolonifer. Physiologic and Molecular Plant Pathology. 1996. Vol. 48, Nº 6, páginas 403-415. ISSN 0885-5765, resumen.	1
A	VERSARI, A.; PARPINELLO, G.P. et al. Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv.Corvina. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001. Vol. 49, Nº 11, páginas 5531-5536. ISSN 0021-8561, resumen.	1
A	PIERMATTEI, B.; PIVA, A. et al. The phenolic composition of red grapes and wines as influenced by Oidium tuckeri development. Vitis. 1999. Vol. 38, Nº 2, páginas 85-86. ISSN 0042-7500, resumen.	1
A	MONTERO, C.; CRISTESCU, S.M. et al. trans-Resveratrol and Grape Disease Resistance. A Dynamical study by High-Resolution Laser-Based Techniques. Plant Physiology. Enero, 2003. Vol. 131, Nº 1, páginas 129-138. ISSN 0032-0889, resumen.	1
A	FALLIK, E.; POLEVAYA, Y. et al. A 24-h anoxia treatment reduces decay development while maintaining tomato fruit quality. Postharvest Biology and Technology.2003. Vol. 29, páginas 233-236, todo el documento.	1-6
Categoría de los documentos citados X: de particular relevancia Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría A: refleja el estado de la técnica O: referido a divulgación no escrita P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud		
El presente informe ha sido realizado <input checked="" type="checkbox"/> para todas las reivindicaciones <input type="checkbox"/> para las reivindicaciones nº:		
Fecha de realización del informe 29.09.2005	Examinador E. Ulloa Calvo	Página 1/1