



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 347 631**

② Número de solicitud: 200930104

⑤ Int. Cl.:  
**C12F 3/06** (2006.01)

**C12H 1/00** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **28.04.2009**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **02.11.2010**

Fecha de la concesión: **22.09.2011**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:  
**22.07.2011**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **04.10.2011**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**04.10.2011**

⑬ Titular/es: **SAN MIGUEL, FÁBRICAS CERVEZA Y  
MALTA, S.A.**  
**Urgel, 240**  
**08036 Barcelona, ES**

⑰ Inventor/es: **Fité Luis, Benet;**  
**Lluís Tartera, Jaume;**  
**Cruz Freire, José Manuel;**  
**Paseiro Losada, Perfecto y**  
**Barbosa Pereira, Leত্রicia**

⑱ Agente: **Carpintero López Mario**

⑳ Título: **Procedimiento para la recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de cerveza.**

㉑ Resumen:

Procedimiento para la recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de cerveza.

El procedimiento consiste en la recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de cerveza para su aplicación en otros ámbitos industriales, tales como la fabricación de films plásticos para embalaje de alimentos. Para ello, se lleva a cabo el lavado de la polivinilpirrolidona con sosa (NaOH) concentrada a alta temperatura, tras lo que se procede a la extracción de las sustancias antioxidantes, las cuales son lavadas, congeladas y liofilizadas hasta garantizar la eliminación total del agua del extracto restante y su estabilización, que permita su conservación y posterior uso en otros ámbitos.

ES 2 347 631 B1

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

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de cerveza.

### Objeto de la invención

La presente memoria descriptiva se refiere a una solicitud de una patente de invención, correspondiente al proceso de extracción y secado de los principios antioxidantes del líquido de lavado de la polivinilpirrolidona (en adelante PVPP por motivos de simplificación), utilizada en la industria cervecera para, una vez obtenido, posibilitar su uso y valorización en otros ámbitos.

Así pues, la invención tiene su aplicación dentro de la industria dedicada a la fabricación de cerveza al valorizar lo que actualmente sería un producto de desecho y también el posible aprovechamiento de la capacidad antioxidante del extracto obtenido, en otro tipo de industrias (industria alimentaria por ejemplo como aditivo o en industrias auxiliares a la industria alimentaria, por ejemplo como materiales para envases, etc...)

### Antecedentes de la invención

Dentro del ámbito de aplicación práctica de la invención, el de la elaboración de cerveza, en la misma se encuentran presentes varios tipos de polifenoles (taninos, flavonoides,...) y proteínas de alto peso molecular que tienden a combinarse lentamente y formar un turbio coloidal insoluble.

Proteína + Polifenol (Soluble)  $\rightleftharpoons$  Complejo Proteína-Polifenol (Turbio coloidal insoluble)

Estos complejos se forman fundamentalmente durante la guarda fría y se eliminan en la filtración de la cerveza. Sin embargo si quedan suficientes cantidades de proteínas y polifenoles después de la filtración pueden continuar produciéndose complejos en la cerveza filtrada.

El complejo proteína-polifenol presente en la cerveza filtrada se va oxidando a lo largo de la vida de la cerveza y es extremadamente sensible a la acción de la temperatura, de manera que a temperatura ambiente o superiores, puede estar en forma soluble y a medida que descienda la temperatura, inicia su aparición, por pasar a forma insoluble, así, el turbio coloidal es más o menos soluble a temperatura ambiente pero se vuelve insoluble a las temperaturas frías a las que se sirve la cerveza.

Desde la introducción de la filtración y la percepción de que una cerveza debe ser brillante, los cerveceros han adoptado una serie de técnicas para prevenir o reducir la formación de estos turbios en el envase. Estas técnicas son las denominadas de estabilización coloidal. Unas atacan y reducen la fracción de proteínas (ej. uso de enzimas proteolíticas en la guarda,...), otras la fracción de polifenoles (ej. uso de absorbentes,...) y otras consisten en que no se puedan formar los complejos insolubles.

Entre ellas cabe destacar por ser una de las técnicas de más reciente introducción en la industria cervecera y dentro de la categoría de los absorbentes, la polivinilpirrolidona (PVPP) que es una materia sintética que es capaz de eliminar por absorción una gran parte de los polifenoles de la cerveza.

Así, se favorece el contacto entre cerveza y este material para que se produzca la absorción de los polifenoles por parte de la PVPP hasta lo que técnicamente se considere eficiente a efectos de la estabilización coloidal de la cerveza. Una vez se ha considerado suficiente se envía a filtración la cerveza y se recupera este material o se tira a fondo perdido.

Para la recuperación de la capacidad de absorción de forma que recupere su función en los siguientes lotes, se realiza un lavado de este material (PVPP) con el fin de liberarlo de las sustancias que ha absorbido y quede a disposición para un nuevo lote.

El líquido de lavado se considera un desecho y como tal es enviado a la estación depuradora de aguas residuales con la total pérdida de valor como subproducto y además ocasionando costes de depuración considerables.

### Descripción de la invención

El procedimiento que la invención propone resuelve de forma plenamente satisfactoria la problemática anteriormente expuesta, permitiendo valorizar dicho líquido de lavado.

Para ello, se realiza el lavado de la polivinilpirrolidona con NaOH concentrada a alta temperatura.

## ES 2 347 631 B1

Posteriormente, para recuperar los compuestos polifenólicos presentes en estos licores de lavado, se lleva a cabo un proceso de extracción con solvente orgánico con posterior evaporación con los siguientes pasos:

- 5 • Adición de ácido clorhídrico hasta conseguir un pH adecuado de entre 1 y 2,5.
- Realización de una mezcla con acetato de etilo u otro disolvente orgánico.
- Extracción con un agitador de palas.
- 10 • Reposo para conseguir la separación de fases.
- Separación de la fase orgánica.
- Evaporación de la fase orgánica a la sequedad en un sistema rotatorio a vacío.
- 15 • Eliminación del agua (Liofilización, atomización,...) del residuo obtenido para garantizar la eliminación total del agua con el fin de eliminar el agua y así estabilizar el extracto y permitir su conservación y posterior uso en otros ámbitos.
- 20 • Recogida del residuo final.

Se obtiene así un extracto caracterizado por el alto contenido en sustancias polifenólicas antioxidantes desglosadas en 15-20 compuestos fenólicos sencillos que llegan a constituir aproximadamente el 60% del extracto como el ácido protocatéuico, el ácido cafeico, el ácido ferúlico, la catequina y el ácido p-cumárico. El 40% restante serían compuestos fenólicos complejos, probablemente oligómeros de polifenoles de difícil identificación. También caracteriza el extracto obtenido por el procedimiento descrito el bajo grado de contenido en agua que es inferior al 1% , siendo su higroscopicidad muy alta.

Aunque la presente descripción se está realizando en base a una aplicación específica en el ámbito cervecero, obviamente el procedimiento es aplicable igualmente en cualquier otro ámbito industrial en el que se den unas circunstancias similares.

### Descripción de los dibujos

35 Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características del invento, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica del mismo, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

40 La figura 1.- Muestra una gráfica en la que se ha representado la concentración de extracto obtenido en el proceso de extracción con acetato de etilo del licor de lavado en el que se encuentran los compuestos polifenólicos a recuperar.

45 La figura 2.- Muestra una gráfica similar a la de la figura anterior, en la que se han representado tres condiciones de extracción diferentes.

La figura 3.- Muestra una gráfica correspondiente al ácido protocatéuico obtenido en la primera extracción en función de la relación licor/acetato de etilo empleada en la primera extracción.

50 La figura 4.- Muestra una gráfica correspondiente al ácido cafeico obtenido en la primera extracción en función de la relación licor/acetato de etilo empleada en la primera extracción.

La figura 5.- Muestra una gráfica correspondiente al ácido ferúlico obtenido en la primera extracción en función de la relación licor/acetato de etilo empleada en la primera extracción.

55 La figura 6.- Muestra una gráfica correspondiente la catequina obtenida en la primera extracción en función de la relación licor/acetato de etilo empleada en la primera extracción.

La figura 7.- Muestra una gráfica correspondiente al ácido p-cumárico obtenido en la primera extracción en función de la relación licor/acetato de etilo empleada en la primera extracción.

60

### Realización preferente de la invención

65 Tal y como se ha comentado con anterioridad, partiendo de la Polivinilpolipirrolidona , se procede a un lavado de la misma con una disolución de NaOH y a una temperatura alta, obteniendo líquido de desecho de la industria de la cerveza. Posteriormente, para recuperar los compuestos polifenólicos presentes en estos licores de lavado, se lleva a cabo un proceso de extracción con acetato de etilo, previa acidificación de los licores de lavado hasta pH adecuado con ácido clorhídrico concentrado.

## ES 2 347 631 B1

Seguidamente se procede a la optimización de las relaciones fase acuosa:fase orgánica, así como el número de etapas del proceso extracción.

5 Experimentalmente se probaron varias relaciones de extracción y se comprobó el rendimiento y la actividad antioxidante obtenida en cada una de las condiciones de extracción evaluadas. El proceso de extracción propuesto permite obtener un rendimiento de extracción entre 0.4 - 1.8 g de extracto/L de licor de lavado, y la actividad antioxidante de los extractos obtenidos permite presenta una EC50 entre 0.23 - 0.45 g/L, siendo por tanto entre 5 y 10 veces más activo que el BHT.

10 También se detallaron la cantidad obtenida de los diferentes polifenoles para las diferentes condiciones de extracción estudiadas.

15 Con posterioridad se procedió a la realización de análisis tanto de los extractos como de los licores para caracterizar los polifenoles.

Los compuestos antioxidantes presentes en mayor cantidad en el extracto son el ácido protocatéquico, la catequina, el ácido caféico, el ácido p-cumárico y el ácido ferulico.

20 El ácido ferúlico no presenta grandes variaciones con las diferentes relaciones de licor/acetato de etilo utilizadas en la extracción.

En la primera extracción se obtienen todos estos compuestos fenólicos, pero en la segunda y tercera extracción muchos de ellos ya no están presentes.

25 A partir de estos estudios se comprueba que el potencial antioxidante es muy fuerte, se caracterizan los compuestos responsables de este poder antioxidante, se decide realizar la extracción en una sola fase y establecer óptima la relación fase orgánica:fase acuosa 1:2.

30 En el procedimiento descrito se realizó asimismo un estudio preliminar para determinar la capacidad antimicrobiana del principio activo del PVPP mediante el método de halo con el fin de ver la efectividad antimicrobiana a los microorganismos de interés propuestos por los usuarios finales para la matriz cárnica de vacuno y porcino: El método del halo es una modificación del "Antibacterial Activity Assessment of Textile materials: Parallel Streak Method AATTCC 147-1998" Se trata de un método rápido y cualitativo que permite determinar la efectividad del compuesto a distintos microorganismos de interés.

35 Se ha estudiado con concentración alta y baja de bacterias ( $10^3$  y  $10^6$ ) y con distintas concentraciones de principio activo (0,5; 1; 3 y 5%). Los microorganismos estudiados son: *Escherichia coli* (*E. Coli*); *Listeria monocytogenes*; *Salmonella spp*; *Escherichia coli* 0157:H; Aerobios.

40 Se observa que para una concentración más baja de microorganismos  $10^3$  (concentración más habitual en este tipo de situación cuando empieza la contaminación, por ejemplo, en un producto cárnico) el principio activo desarrollado es efectivo en una concentración del 3% a todos los microorganismos de interés para los usuarios finales. En el caso de *Aerobios* y *Salmonella* la efectividad antimicrobiana se hace patente a partir de una concentración del 1%, dado que se observa que no hay crecimiento de los microorganismos ensayados bajo la superficie de la muestra. Así pues, en este estudio preliminar queda demostrada la acción antimicrobiana.

45 La utilización del proceso descrito llevaría a valorizar un subproducto que actualmente se desecha en las industrias cerveceras con el consiguiente coste de tratamiento y depuración y dadas las condiciones de estabilidad, poder antioxidante y antimicrobiano del extracto obtenido, podría ser utilizado en otros ámbitos industriales, como por ejemplo en la fabricación de films plásticos para embalaje de alimentos u otros afines.

55

60

65

## REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para la recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de cerveza **caracterizado** por que en el mismo se lleva a cabo el lavado de la polivinilpirrolidona con una disolución de sosa del 0,5% al 4% y a una temperatura entre 60 y 100°C, tras lo que se procede a la extracción con solvente orgánico o por otra tecnología de extracción de las sustancias antioxidantes.

10 2. Procedimiento según la reivindicación anterior **caracterizado** por que en el proceso de extracción con solvente orgánico con posterior evaporación, se llevan a cabo los siguientes pasos:

- Adición de ácido clorhídrico hasta conseguir un pH de entre 1 y 2,5,
- 15 - Realización de una mezcla con acetato de etilo con una relación de fase acuosa:fase orgánica del orden de 1:0,25 a 1:20,
- Extracción con un agitador de palas a temperatura ambiente y con una remoción suave,
- 20 - Reposo para conseguir la separación de fases,
- Recogida de la fase orgánica,
- 25 - Evaporación de la fase orgánica a la sequedad en un sistema rotatorio a vacío, sin aumentar la temperatura por encima de los 60°C.

3. Procedimiento según la reivindicación anterior **caracterizado** por que el solvente orgánico utilizado en el proceso de extracción es preferentemente acetato de etilo.

30 4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** por que el residuo obtenido es lavado, congelado y liofilizado hasta garantizar la eliminación total del agua del extracto restante y su estabilización, que permita su conservación y posterior uso en otros ámbitos.

EC<sub>50</sub> DE LA 1ª EXTRACCION

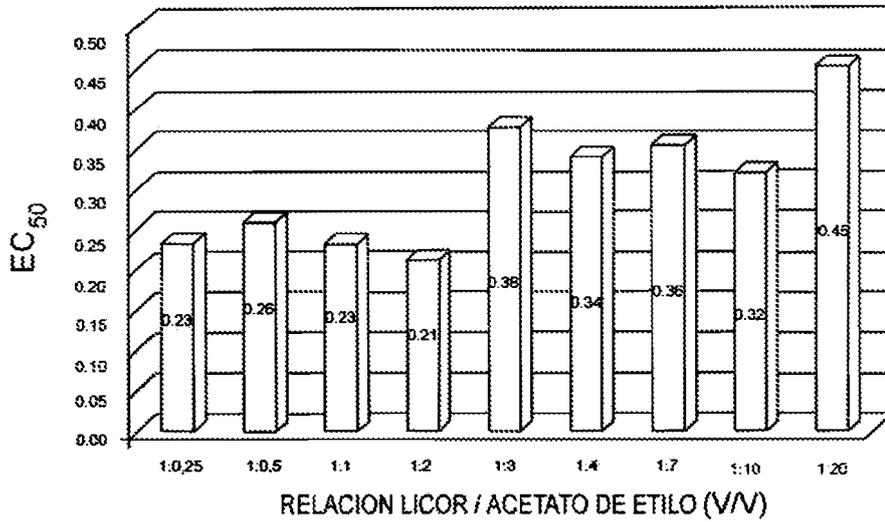


FIG. 1

EC<sub>50</sub>

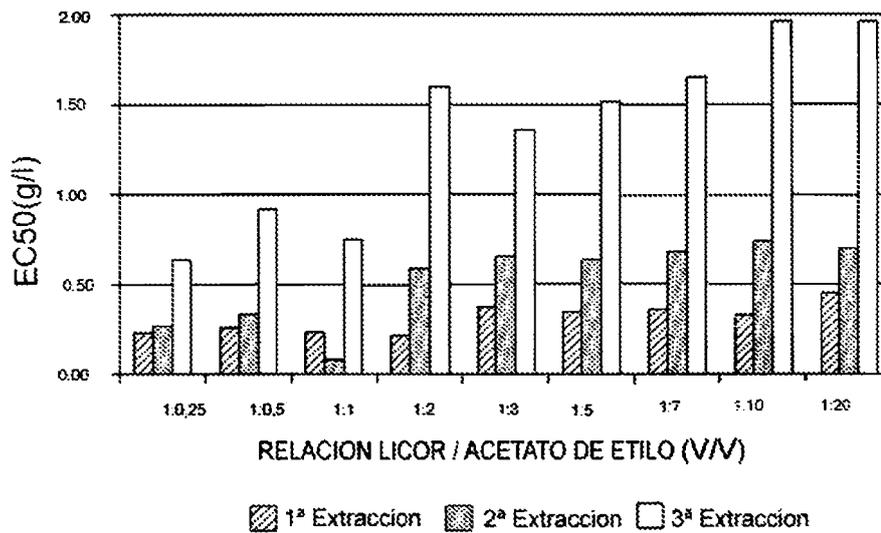
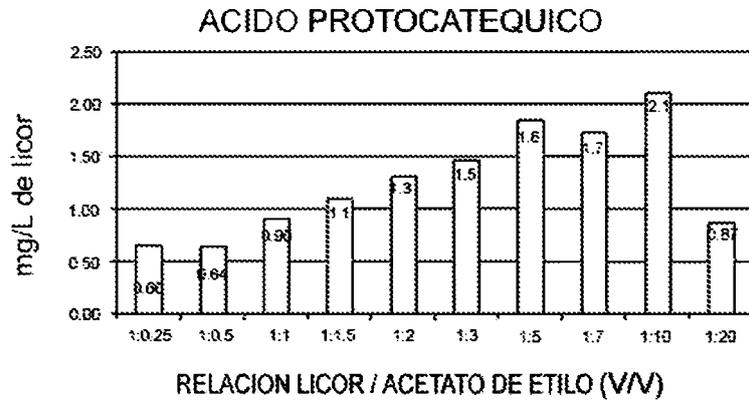
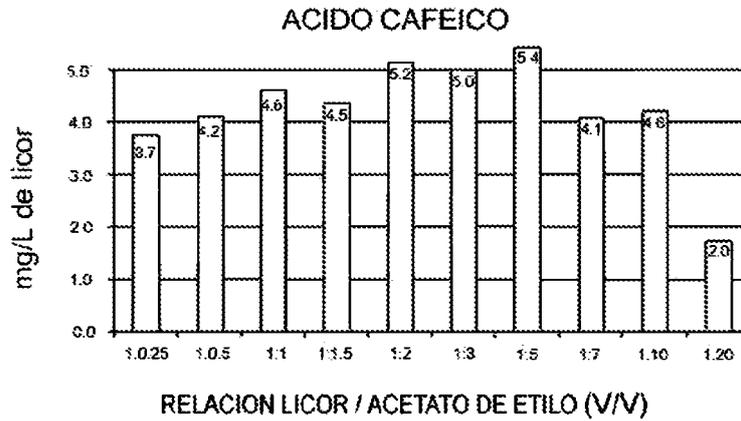


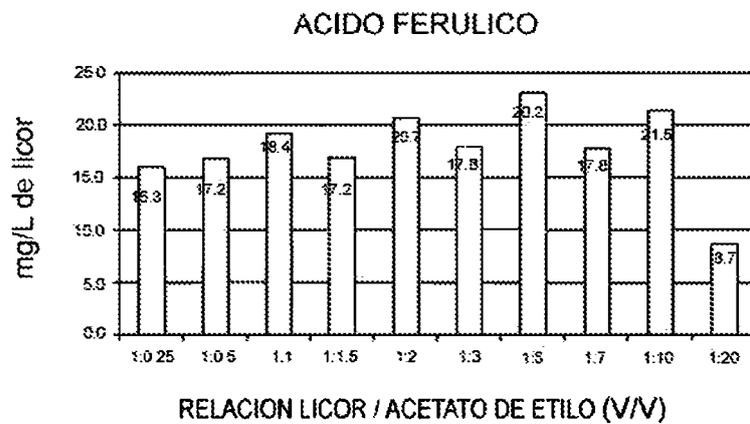
FIG. 2



**FIG. 3**



**FIG. 4**



**FIG. 5**

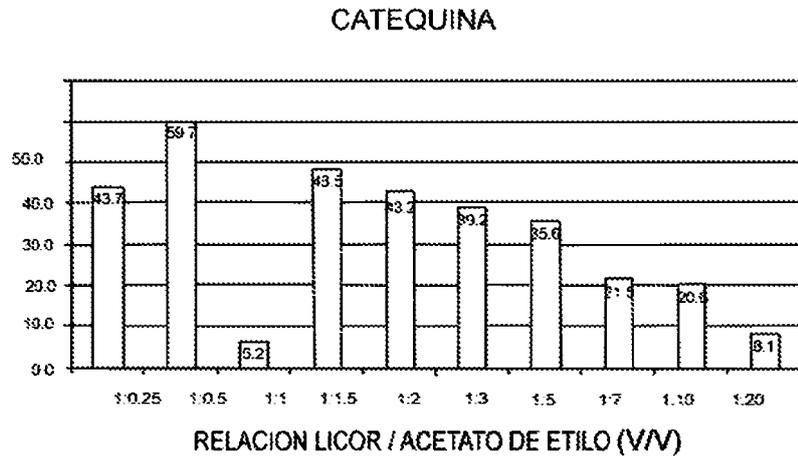


FIG. 6

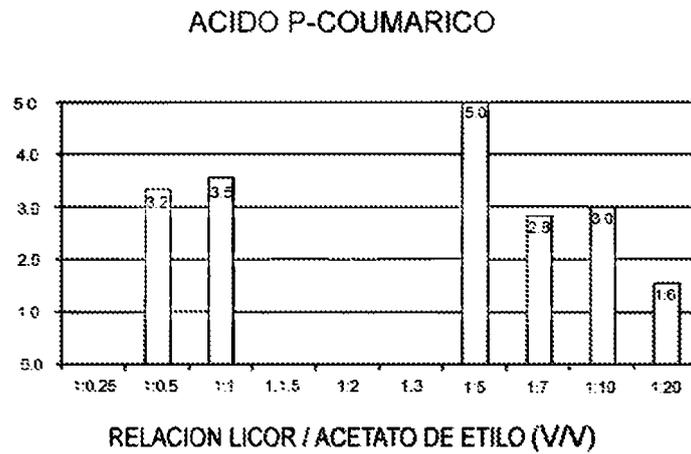


FIG. 7



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 347 631

② Nº de solicitud: 200930104

③ Fecha de presentación de la solicitud: **28.04.2009**

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.:** **C12F 3/06** (2006.01)  
C12H 1/00 (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	CRUZ, J.M. et al. "Antioxidant activity of extracts from a ppvp sludge generated during the brewing process" 19.06.2006, IUFoST, XIII World Congress of Food Science & Technology. [En línea] [recuperado el 07.10.2010]. Recuperado de internet <URL:http://74.125.155.132/scholar?q=cache:1NcXtH1K7HIJ:scholar.google.com/+POLYVINYLPIRROLIDONE+BEER +ANTIOXIDANTS+RECOVERY+OR+REUSE+OR+ RECUPERATION&hl=es&as_sdt=2000>	1-6
A	US 4910182 A (WESTFALIA SEPARATOR AG) 20.03.1990, columna 3, líneas 47-62.	1-3
A	WO 2008068343 A1 (INBEV SA et al.) 12.06.2008, páginas 2-3.	1-3
A	US 2001001676 A1 (ISP INVESTMENTS INC) 24.05.2001, párrafo 20.	1-3
A	GB 2288608 A (ISP INVESTMENTS INC) 25.10.1995, páginas 2,5.	1
A	MITCHELL, A.E. et al. "A Comparison of Polyvinylpyrrolidone (PVPP), Silica Xerogel and a Polyvinylpyrrolidone (PVP) - SilicaCo-Product for Their Ability to Remove Polyphenols from Beer" Journal of the Institute of Brewing, 2005, Vol. 111 Páginas 20-25; apartados "Materials and Methods" y "results and Discussion".	
A	US 4008339 A (ASAHI CHEMICAL IND) 15.02.1977, columna 12, líneas 46-56.	1-3

#### 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

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

**Fecha de realización del informe**  
15.10.2010

**Examinador**  
A. Urrecha Espluga

**Página**  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12F, C12H

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, XPESP, NPL, TXTUS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 15.10.2010

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	3	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones	1-2,4-6	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones		<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones	3	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión:**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

**1. Documentos considerados:**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	"Antioxidant activity of extracts from a ppvp sludge generated during the brewing process" IUFOST, XIII World Congress of Food Science & Technology	19-06-2006

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

El objeto de la invención es un procedimiento que consiste en la recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de la cerveza.

El documento D01 divulga un procedimiento de recuperación de sustancias antioxidantes a partir del líquido de desecho procedente del lavado de la polivinilpirrolidona utilizada para el tratamiento de la cerveza. El procedimiento se caracteriza por las siguientes etapas: lavado de la polivinilpirrolidona con sosa y extracción con disolvente orgánico con posterior evaporación. Tras el lavado de la polivinilpirrolidona con sosa, se añade ácido clorhídrico hasta pH 1,5, se realiza una extracción con acetato de etilo y por último se evapora la fase orgánica (apartados 2 y 3).

En consecuencia, el objeto técnico de las reivindicaciones 1-2, 4-6 carece de novedad a la luz de lo divulgado en D01 (Art. 6 de la LP).

Las condiciones de operación recogidas en la reivindicación dependiente 3, corresponden a las habitualmente utilizadas en los procedimientos de regeneración de la polivinilpirrolidona tras su utilización en la estabilización coloidal de la cerveza recogidos en el estado de la técnica (documentos D02 o D03 del IET, en concreto, las partes relevantes de los mismos). En consecuencia, el objeto técnico de la reivindicación 3 carece de actividad inventiva (Art. 8 de la LP).