

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 869**

51 Int. Cl.:

A23L 2/44 (2006.01)

C12H 1/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09783221 .6**

96 Fecha de presentación: **21.09.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2330930**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2011**

54 Título: **Procedimiento para la conservación de bebidas**

30 Prioridad:
24.09.2008 DE 102008048714

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.09.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.09.2012

73 Titular/es:
**LANXESS Deutschland GmbH
51369 Leverkusen, DE**

72 Inventor/es:
**HOFFMANN, Manfred;
BRODA, Ingo y
VOGL, Erasmus**

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 386 869 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la conservación de bebidas

La invención se refiere a un procedimiento nuevo para la conservación de bebidas.

5 Actualmente existe la tendencia hacia alimentos naturales, es decir, el consumidor prefiere alimentos sin aditivos artificiales. Para el embotellado de bebidas es necesario, generalmente, el uso de aditivos o procedimientos de conservación. Actualmente existe toda una serie de posibles estabilizantes que, no obstante, aún requieren mejoras en su actividad. Entre los mismos, frecuentemente, se encuentran los aditivos artificiales sujetos a declaración, lo que acarrea al menos una desventaja en la comercialización de dichas bebidas.

10 En la industria de bebidas se usan dicarbonatos de dialquilo para purificar en frío bebidas de zumos de frutas sin alcohol, carbonatadas o no carbonatadas, zumos de frutas, vinos, vinos sin alcohol, sidras, téis helados y otras bebidas. Esta tecnología de estabilización de bebidas tiene una serie de ventajas. A este respecto, una ventaja destacada se basa en el hecho de que no influye sobre el sabor y el color, a diferencia del embotellado en caliente. También representa una ventaja frente a conservantes persistentes tales como benzoato o ácido benzoico, o sorbato o ácido sórbico, particularmente por la ausencia de cualquier clase de influencia negativa sobre el sabor. Frente a un embotellado aséptico en frío, se sabe que el uso de dicarbonatos de dialquilo presenta particularmente la ventaja de unos costes de inversión en tecnología de instalaciones esencialmente más reducidos.

15 La clase de sustancias de los dicarbonatos de dialquilo tiene la propiedad particular, en contacto con las bebidas correspondientes (acuosas), de hidrolizarse a los alcoholes derivados y dióxido de carbono. Por este motivo, una bebida tratada adecuadamente no presenta en el momento del consumo, en sentido estricto, ningún tipo de conservación, es decir, las bebidas son sensibles tras la apertura del envase al ataque microbiológico. Se trata más bien de un coadyuvante técnico, no de un aditivo, por lo que, por otra parte, en muchos países el uso de dicarbonatos de dialquilo no debe indicarse en la etiqueta de la bebida.

20 Ahora, la presente invención se ha basado en el objetivo de mejorar adicionalmente las propiedades de estabilización en el embotellado de bebidas. Sorprendentemente, se ha descubierto ahora un procedimiento con el que es posible mejorar adicionalmente la actividad estabilizante de dicarbonatos de dialquilo.

Se ha descubierto ahora un procedimiento nuevo para estabilizar bebidas, caracterizado porque

- A) se añade a la bebida limoneno o formulaciones que contienen limoneno, y
- B) a continuación se añade a la bebida dicarbonato de dialquilo, en particular dicarbonato de dimetilo.

30 El limoneno puede usarse, por ejemplo, como D-limoneno (R+)-limoneno, como L(-)-limoneno o como mezcla de ambos, por ejemplo como su racemato. El D-limoneno (R+)-limoneno es, por ejemplo, un componente de las cáscaras de los cítricos. Las formulaciones que contienen limoneno se han recomendado ya concretamente para la estabilización microbiológica de bebidas (documento US 7.258.883), sin embargo, solas tienen una eficacia muy limitada frente a muchos microorganismos perjudiciales para las bebidas que se presentan con frecuencia y, por ello, tienen un uso limitado para la conservación en el proceso de embotellado. El procedimiento presenta las siguientes ventajas frente al estado de la técnica:

- Pudo mostrarse un fortalecimiento sinérgico de los efectos de los componentes individuales contra microorganismos importantes.
- El procedimiento produce, en suma, una ampliación del espectro de actividad, es decir, se cubren inesperadamente vacíos de actividad.
- 40 - El procedimiento tiene la ventaja de que la estabilización de las bebidas resultante se comporta temporalmente de forma positiva, es decir, se complementan las actividades a corto y a largo plazo.
- El procedimiento tiene además la ventaja de que la bebida, tras la aplicación del procedimiento, no contiene ningún conservante artificial más.
- Se ha comprobado que la secuencia de adición es importante para lograr la actividad deseada.

45 A este respecto, el limoneno puede usarse en distintas formas. Son adecuados tanto extractos naturales como también limoneno obtenido sintéticamente. El uso de limoneno procedente de cáscaras de cítricos presenta la ventaja de que los componentes secundarios adicionales que contienen terpenos también pueden contribuir en la actividad. No obstante, el limoneno se usa adecuadamente como limoneno emulsionado acuoso. Como codisolventes o emulsionantes se pueden usar preferentemente todos los emulsionantes permitidos en alimentos como por ejemplo carragenano, polisorbato 80, agar, pectina, lecitina, lecitina de soja, Tween® 80, Tween® 60 o Tween® 20, así como agua, alcoholes monohidroxílicos alifáticos, en particular alcoholes C₁-C₆, como por ejemplo etanol, n-propanol o isopropanol, glicoles, en particular etilenglicol o dietilenglicol, así como dimetilsulfóxido (DMSO). También pueden usarse ventajosamente mezclas de estos emulsionantes o disolventes.

Se usa preferentemente limoneno como extracto natural con un contenido en limoneno superior al 85 % en peso, preferentemente superior al 90 %. Este extracto tiene una proporción de decanal y octanal en conjunto preferentemente inferior al 5 % en peso, en particular inferior al 1 % en peso.

5 También puede usarse el L(-)-limoneno, usándose en este caso preferentemente extractos de abeto blanco o aceites de menta. También puede usarse limoneno racémico natural o sintético.

La emulsión de limoneno que se usa con preferencia es preferentemente acuosa y posee preferentemente un contenido en limoneno del 2 al 30 % en peso, de modo particularmente preferente del 5 al 25 % en peso.

10 Los emulsionantes o disolventes que también se usan con preferencia, se usan preferentemente en una cantidad del 0,05 al 15 % en peso, en particular del 0,5 al 10 % en peso, con relación a la emulsión. Se usan como emulsionantes, preferentemente, lecitina de soja, carragenano, polisorbato 80, agar o pectina, en particular lecitina de soja.

15 Como aditivos adicionales que, dado el caso, también se usan, se consideran por ejemplo cera de abejas e hidróxidos alcalinos o alcalinotérreos tales como KOH, NaOH y CaOH. Preferentemente, los aditivos adicionales se usan en cantidades inferiores al 2 % en peso con relación a la formulación, en particular con relación a la emulsión acuosa. La cera de abejas se añade, preferentemente, en una cantidad del 0,01 al 1 % en peso.

El dicarbonato de dialquilo que se usa es preferentemente dicarbonato de dimetilo y posee, preferentemente, una pureza superior al 99,8 %.

20 Como bebidas se pueden mencionar también, además de té verde, té negro y otros tipos de té y bebidas basadas en té, refrescos sin alcohol carbonatados y no carbonatados, zumos de frutas, néctares de frutas, vinos, bebidas sin alcohol, sidra, té helado, bebidas mixtas con alcohol, agua aromatizada o bebidas deportivas. Preferentemente, las bebidas pueden estar también conservadas adicionalmente con ácido sórbico o sorbato. Las bebidas preferentes contienen ácido sórbico o sorbato.

25 La adición de limoneno o formulaciones de limoneno a las bebidas se realiza preferentemente en tanques de mezcla durante el mezclado final de la bebida preparada, pero también puede añadirse ya al concentrado de bebida para diluir. En general, se añade el limoneno en cantidades de 10 a 5.000 ppm, preferentemente de 50 a 2.000 ppm, en particular de 50 a 1.000 ppm, en particular preferentemente de 50 a 500 ppm. A este respecto, las temperaturas son de 0 a 30 °C. También es posible la adición mediante bombas de dosificación como las que se usan también para la adición de aromas.

30 La adición de dicarbonato de dialquilo, en particular de dicarbonato de dimetilo (DMDC) a la bebida se realiza preferentemente a temperaturas de 0 a 25 °C, dosificándose preferentemente cantidades de 1 a 250 ppm, con relación a la bebida, en particular de 40 a 250 ppm, directamente a la corriente de bebida y en particular usando una bomba dosificadora. A este respecto, puede asegurarse una dosificación proporcional a la bebida mediante un aparato medidor de flujo instalado en la corriente de bebida. A este respecto, la adición del dicarbonato de dialquilo se realiza particularmente dentro de un intervalo de 100 horas, preferentemente de 10 horas, en particular dentro de un intervalo de 1 hora, después de la adición de limoneno.

El procedimiento según la invención se usa de modo particularmente preferente contra las cepas siguientes: *Saccharomyces* sp., *Lactobacillus* sp., *Acetobacter* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Zygosaccharomyces* sp. y otras.

Ejemplos:

Ejemplo 1

Se analizó la actividad de los ingredientes DMDC y limoneno por separado (en una formulación) y la actividad de la mezcla de DMDC y limoneno (en una formulación) contra *Saccharomyces cerevisiae*.

45 A este respecto, se inyectaron a una bebida de zumo de manzana 375 gérmenes de *Saccharomyces cerevisiae* por ml y se añadieron las concentraciones de principio activo indicadas en la Tabla 1. En la tabla, **DMDC** representa dicarbonato de dimetilo, que se añade como tal. **LF** representa una formulación con un 10 % de limoneno (80,9 % p/p de agua, 10,2 % de R(+)-limoneno procedente de cáscaras de cítricos, 6,7 % de etanol, 2,0 % de lecitina de soja, 0,1 % de hidróxido de potasio, 0,1 % de cera de abejas).

50 Primeramente, se añadió LF y a continuación DMDC. Para concluir, se agitaron concienzudamente las mezclas y se incubaron durante una semana a 26 °C. A continuación se determinó el número de gérmenes presentes. Los resultados se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1

Gérmenes sembrados	375 gérmenes/ml, valoración después de una semana				
	sin LF	1500 mg/l de LF	2000 mg/l de LF	2500 mg/l de LF	5000 mg/l de LF
sin DMDC	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
10 ppm de DMDC	+/+	+/+	+/+	+/+	s.r.
25 ppm de DMDC	+/+	+/+	+/244	+/82	s.r.
50 ppm de DMDC	+/+	-/-	-/-	-/-	s.r.
100 ppm de DMDC	+/+	-/-	-/-	-/-	s.r.
150 ppm de DMDC	152/+	-/-	-/-	-/-	s.r.
Unidades: Unidades formadoras de colonias por 1 ml de muestra de bebida analizada + = > 300 gérmenes, - = ningún germen visible, s.r. = sin realizar Cada uno de los experimentos se realizó por duplicado.					

Puede observarse que la mezcla presenta una eficacia esencialmente mejorada con respecto a los componentes por separado.

- 5 La eficacia, definida como carencia de gérmenes, del DMDC solo se encuentra por encima de 150 ppm. La eficacia de la LF se encuentra por encima de 5.000 ppm. La eficacia de una mezcla adecuada se encuentra por debajo de 50 ppm de DMDC y 1.500 ppm de LF. Con ello se obtiene un "índice de combinación" (véase Ting-Chao Chou, "Theoretical Basis, Experimental Design and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies", Pharmacological Reviews 58 (3) 2006, 621-681) de:

$$10 \quad \text{IC} = [c(\text{DMDC en mezcla}) / c(\text{DMDC solo})] + [c(\text{LF en mezcla}) / c(\text{LF sola})]$$

$$\text{IC} = 50 / 150 + 1.500 / 5.000 = 0,63 \text{ (más exactamente } <0,63)$$

Por lo que la mezcla presenta actividad sinérgica.

Ejemplo 2

- 15 Se comparó la actividad de DMDC contra *Lactobacillus brevis* con la del limoneno. Mientras que la actividad de DMDC es, en general, muy amplia frente a muchos microorganismos, en este caso se complementa el espectro de actividad muy bien con limoneno.

- 20 La Tabla 2 proporciona de nuevo los resultados del recuento microbiológico de colonias. Para ello se inyectaron a una matriz de bebida purificada (zumo de manzana / agua 1:1) diferentes siembras de gérmenes de *L. brevis* y se añadió DMDC o limoneno en las concentraciones indicadas, se agitaron bien las muestras y después de 24 horas se determinó en placas de agar adecuadas en cada caso el número de gérmenes presentes (en cada caso por duplicado).

"Limoneno emulsionado" representa una solución de R(+)-limoneno sintético (10 % en peso) y lecitina de soja (2 % en peso) en agua. Justo antes de su uso, esta mezcla se emulsiona por medio de cizallas mecánicas.

- 25 "Limoneno formulado" representa una mezcla de un 80,9 % p/p de agua, 10,2 % de R(+)-limoneno procedente de cáscaras de cítricos, 6,7 % de etanol, 2,0 % de lecitina de soja, 0,1 % de hidróxido de potasio, 0,1 % de cera de abejas, que se emulsionó por medio de fuerzas de cizallamiento adecuadas.

Tabla 2

Germen de ensayo	<i>Lactobacillus brevis</i> , determinación del número de gérmenes después de 24 horas.		
Gérmenes sembrados, aproximadamente	100 gérmenes /ml	1.000 gérmenes /ml	10.000 gérmenes /ml
Principio activo			
Concentraciones			
Ningún principio activo	88/91	+/+	+/+
DMDC	54/75	+/+	+/+
Limoneno emulsionado 500 ppm	-/1	1/5	33/44
Limoneno formulado 500 ppm	3/1	8/13	106/111
Unidades: Unidades formadoras de colonias por 1 ml de muestra de bebida analizada, + = >300 gérmenes, - = ningún germen visible			

Ejemplo 3

5 A una bebida de zumo de naranja (aproximadamente un 20 % de zumo de naranja, aproximadamente 8 °Brix) sin adición de sorbato, se añadieron primeramente 500 ppm de una mezcla emulsionada de un 80,9 % p/p de agua, 10,2 % de R(+)-limoneno procedente de cáscaras de cítricos, 6,7 % de etanol y 2,0 % de lecitina de soja y, a continuación (dentro de un intervalo de 5 horas), se añadieron 200 ppm de DMDC. A continuación, la bebida se embotelló directamente en una línea de embotellado de bebidas (10.000 l/h) en botellas PET de 0,5 l.

10 A este respecto, se añadió la mezcla que contiene limoneno durante el mezclado de la bebida, mientras que se usó para la dosificación de DMDC una bomba dosificadora electromagnética incorporada a la embotelladora.

Como experimento comparativo se embotelló la misma bebida no conservada o tratada sólo con DMDC o sólo con limoneno.

Las muestras se evaluaron regularmente a continuación óptica y organolépticamente.

Resultados: Se enumera la durabilidad microbiológica de las muestras.

- 15 (a) Conservada con DMDC y limoneno: > 100 días
 (b) No conservada: aproximadamente 2 días
 (c) Conservada con DMDC: aproximadamente 20 días
 (d) Conservada con limoneno: aproximadamente 2 días

Ejemplo 4

20 A una bebida de zumo de naranja (aproximadamente un 20 % de zumo de naranja, aproximadamente 8 °Brix) que contenía ácido sórbico en forma de sorbato de potasio (correspondiente a 100 ppm de ácido sórbico), se añadieron primeramente 500 ppm de una mezcla emulsionada de un 80,9 % p/p de agua, 10,2 % de R(+)-limoneno procedente de cáscaras de cítricos, 6,7 % de etanol, 2,0 % de lecitina de soja, 0,1 % de hidróxido de potasio y 0,1 % de cera de abejas y, a continuación (dentro de un intervalo de 5 horas), se añadieron 200 ppm de DMDC. A continuación, la
 25 bebida se embotelló directamente en una línea de embotellado de bebidas (10.000 l/h) en botellas PET de 0,5 l.

A este respecto, se añadió la mezcla que contiene limoneno durante el mezclado de la bebida, mientras que se usó para la dosificación de DMDC una bomba dosificadora electromagnética incorporada a la embotelladora.

Como experimento comparativo se embotelló la misma bebida no conservada o tratada sólo con DMDC o sólo con limoneno.

30 Las muestras se evaluaron después regularmente óptica y organolépticamente.

Resultados: Se enumera la durabilidad microbiológica de las muestras.

- (e) Conservada con ácido sórbico, DMDC y limoneno: > 100 días

ES 2 386 869 T3

- (f) Sólo con ácido sórbico: aproximadamente 6 días
- (g) Conservada con ácido sórbico y DMDC: > 100 días
- (h) Conservada con ácido sórbico y limoneno: aproximadamente 5 días

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la estabilización de bebidas, **caracterizado porque**
 - A) se añade a la bebida limoneno o formulaciones que contienen limoneno, y
 - B) a continuación se añade a la bebida dicarbonato de dialquilo, en particular dicarbonato de dimetilo.
- 5 2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** la formulación que contiene limoneno contiene adicionalmente cera de abejas.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 y 2, **caracterizado porque** las bebidas que contienen ácido sórbico se estabilizan antes de la infección por microorganismos.
- 10 4. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** se añade limoneno en una cantidad de 10 a 5.000 ppm.