

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 484 391**

51 Int. Cl.:

**C12P 23/00** (2006.01)

**C12C 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2010 E 10747157 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 2456880**

54 Título: **Aditivo de fermentación a base de lúpulo así como procedimiento de fermentación**

30 Prioridad:

**22.07.2009 DE 102009034465**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**11.08.2014**

73 Titular/es:

**BETATEC HOPFENPRODUKTE GMBH (100.0%)  
Bahnhofstrasse 20  
91126 Schwabach, DE**

72 Inventor/es:

**BACZYNSKI, LILITH;  
BEDDIE, DAVID y  
SMALLMAN, MATTHEW**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 484 391 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

Aditivo de fermentación a base de lúpulo así como procedimiento de fermentación

Campo de aplicación de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de la fermentación industrial, como por ejemplo la producción de biomasa, producción de enzimas, la producción de metabolitos primarios y secundarios microbianos, es decir, producidos por microorganismos, incluyendo las fermentaciones de alimentos.

Estado de la técnica

10 La fermentación se refiere a muchas aplicaciones importantes en la industria. Aunque el término "fermentación" también puede tener significados más estrictos, en general, en relación con la "fermentación industrial" el término significa la conversión de sustancias orgánicas por reorganización en sustancias de otro tipo. Los procedimientos de fermentación tienen una larga tradición. Los procedimientos para la fabricación de pan, vino, cerveza, queso, requesón, etc. existen desde hace más de 6.000 años.

Existen 5 grupos significativos para la fermentación importante desde el punto de vista económico:

15 1. células microbianas o biomasa como producto, por ejemplo proteínas celulares individuales, tal como se emplean por ejemplo en la producción de levadura de panadería;

2. enzimas microbianas: catalasa, amilasa, proteasa, pectinasa, glucosa isomerasa, celulasa, hemicelulasa, lipasa, lactasa, estreptocinasa, etc.;

3. metabolitos microbianos:

20 (a) metabolitos o productos metabólicos primarios, como por ejemplo etanol, ácido cítrico, ácido glutámico, lisina, vitaminas, polisacáridos etc.

(b) metabolitos o productos metabólicos secundarios: todos los productos de fermentación antibióticos;

4. productos de recombinación, como por ejemplo insulina, virus de la hepatitis B VHB, interferón, GCSF, estreptocinasa;

5. productos de biotransformación: fenilacetilcarbinol, productos de biotransformación de esteroides, etc.

25 Los medios de cultivo (sustratos) son necesarios para la fermentación industrial, porque cualquier microbio o microorganismo necesita de agua, oxígeno, una fuente de energía, una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno así como micronutrientes para su crecimiento. El azúcar a partir de almidón, celulosa, caña de azúcar o remolachas azucareras es la fuente de carbono y de energía común más frecuente para la fermentación. Ejemplos típicos de productos de fermentación son etanol, ácido láctico e hidrógeno. No obstante también pueden fabricarse compuestos más exóticos como por ejemplo ácido butírico o acetona mediante fermentación. La levadura, en el contexto de la fabricación de cerveza, vino u otras bebidas alcohólicas fermenta en un proceso de fermentación azúcar para dar etanol, liberándose grandes cantidades de CO<sub>2</sub>. La maltodextrina o lactosa a partir del suero lácteo también pueden servir como fuente de carbono.

35 Algunos microorganismos también pueden metabolizar grasas de aceites vegetales o hidrocarburos de fracciones de petróleo como fuente de energía.

Un procedimiento de fermentación según el preámbulo de la reivindicación 1 se conoce por el documento WO 2004/072291 A2. Este procedimiento da a conocer el uso de ácidos de lúpulo en procedimientos de fermentación como aditivo frente a microorganismos no deseados con el objetivo de aumentar el rendimiento.

40 El documento WO 2007/096673 A1 describe un antiespumante con el objetivo de conseguir así una tasa de fermentación mejorada. Como antiespumante se propone aceite de lúpulo a base de extracto de lúpulo.

Por el documento WO 00/53814 se conoce un procedimiento para el control de microorganismos en un medio de procesamiento acuoso, que contiene azúcar. También en este caso sirve el empleo de ácido de lúpulo para controlar microorganismos no deseados en el proceso de producción de azúcar.

El documento WO 00 52212 describe un procedimiento para controlar microorganismos en un medio de

procesamiento acuoso a partir de melaza diluida en la fabricación de levadura. Para evitar un crecimiento bacteriano no deseado en la melaza o en el sustrato de melaza se añade ácido de lúpulo. El ácido de lúpulo tiene efecto bactericida y con ayuda de un producto vegetal, hace posible suprimir el crecimiento bacteriano en la fermentación de levadura.

- 5 El documento WO 2007/096673 A1 describe un procedimiento en el que durante un proceso de fermentación se utiliza extracto de lúpulo para evitar la formación de espuma.

Por el documento DE OS 1 442 166 se conoce un procedimiento para la fabricación de fructosa mediante fermentación, en el que como acelerador de la fermentación está previsto un medio de sorbitol, que contiene determinados aminoácidos como fuente de nitrógeno y determinados metales pesados.

- 10 Por el documento DE AS 1 952 012 se conoce un procedimiento biotécnico para la fabricación de proteasa alcalina, en el que se añade al medio extracto de levadura, levadura seca y vitaminas como aceleradores de la fermentación.

Una aceleración del proceso de fermentación también puede producirse con medidas de la técnica de procedimiento, como por ejemplo, el empleo de una aireación particular. Sin embargo, estas medidas aumentan el esfuerzo de la técnica de procedimiento y los costes de inversión considerablemente.

- 15 **Objetivo de la invención**

El objetivo de la presente invención reside en poner a disposición un proceso de fermentación mejorado con aceleración aumentada y/o rendimiento aumentado del proceso de fermentación.

Principio de la invención

- 20 El objetivo anterior se alcanza mediante la parte caracterizadora de la reivindicación 1. Las reivindicaciones dependientes se refieren de manera conveniente a configuraciones de la invención.

- 25 Se ha encontrado sorprendentemente que el principio activo mencionado anteriormente conduce a una mejora importante del proceso de fermentación. En particular puede aumentarse de manera eficaz el rendimiento en el producto final o el producto intermedio que cabe esperar. Ventajosamente, en el caso del principio activo descrito anteriormente se trata de un principio activo de base vegetal, es decir, no se trata de un producto químico. Aunque los principios activos a base de lúpulo y/o de un derivado del mismo habitualmente tienen un sabor amargo, se ha demostrado sorprendentemente, que el producto final o al menos el producto intermedio del mismo no se ve afectado de manera desventajosa. El principio activo según la invención actúa como estimulador del proceso de fermentación.

- 30 Según la invención, en el caso del principio activo se trata de extracto de lúpulo, en particular de ácido de lúpulo, como por ejemplo ácido alfa, ácido beta, ácido iso-alfa, ácido rho-iso-alfa, ácido hexahidro-iso-alfa, ácido tetrahidro-iso-alfa, ácido hexahidro-beta, o un ácido de este tipo o una mezcla de los mismos.

También pueden utilizarse los denominados aceites de lúpulo y/o polifenoles del lúpulo como por ejemplo xantohumol. El aceite de lúpulo es un aceite esencial, que está contenido en el lúpulo en del 0,2% al 0,6%. El aceite de lúpulo está formado por lupulina y le confiere al lúpulo su aroma característico.

- 35 El principio activo se aplicará según la invención independientemente de si existe o no una infección del medio de cultivo (sustrato) con microorganismos o bacterias indeseados (o externos al proceso).

Convenientemente, el aditivo de fermentación está previsto para su aplicación en sustratos que no presentan infección o prácticamente no presentan infección.

- 40 El aditivo de fermentación despliega su acción estimulante para la fermentación independientemente de si en el medio de cultivo se produce o no una formación de espuma.

La aplicación del aditivo de fermentación lleva a un rendimiento aumentado de biomasa, enzimas o metabolitos.

El aditivo de fermentación puede añadirse directamente al sustrato de fermentación, es decir al medio de cultivo.

La adición se produce según una configuración conveniente de manera continua, de modo que debido a esto existe una presencia constante de aditivo de fermentación en el medio de cultivo.

- 45 Alternativamente, según las circunstancias también puede realizarse una adición discontinua, preferiblemente al

inicio del respectivo proceso de fermentación. Así, por ejemplo, se introduce un determinado contenido en aditivo de fermentación en el sustrato de fermentación, influyendo el aditivo de fermentación en la medida introducida en el proceso de fermentación que se llevará a cabo a continuación acelerándolo o aumentando el rendimiento.

5 Se encontró que en el caso de utilizar el aditivo de fermentación según la invención para conseguir la acción de aceleración de la fermentación o el aumento del rendimiento ya son suficientes concentraciones reducidas de modo que el sabor en sí amargo de la sustancia activa a base de lúpulo y/o su derivado no despliega ninguna acción que afecte negativamente al sabor.

10 Convenientemente la concentración, en particular la concentración final que va a ajustarse, del aditivo de fermentación en el sustrato de fermentación se encuentra en un intervalo de 1 - 10000 ppm, en particular de 1 - 1000 ppm, preferiblemente 1 - 500 ppm, de manera especialmente preferida 1 - 100 ppm.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1:

15 El microorganismo o también moho *Xanthophyllomyces dendrohous* produce de manera natural una serie de carotenoides, que presentan una actividad antioxidante eficaz. Investigaciones han mostrado que el crecimiento de *Xanthophyllomyces dendrohous* se aumenta de manera significativa en presencia de ácidos beta (véase la figura 1).

20 El microorganismo o moho *Xanthophyllomyces dendrohous* se cultivó durante la noche en un medio de cultivo a base de melaza de azúcar a una temperatura de 21,5°C/200 rpm. Se mezcló un cultivo fresco con un valor de pH de 5,0 con 0, 5, 10, 50 ó 100 ppm de ácido beta (sustancia activa) y se aplicó (inoculó) a un cultivo durante la noche para obtener una concentración celular final de  $8 \times 10^5$  UFC/ml. Los cultivos se incubaron en condiciones aerobias a una temperatura de 21,5°C/200 rpm durante aproximadamente 24 horas. Se utilizó una capacidad de absorción de cultivo a 600 nm, para determinar la densidad celular.

La investigación dio lugar al siguiente resultado (tal como muestra la figura 1):

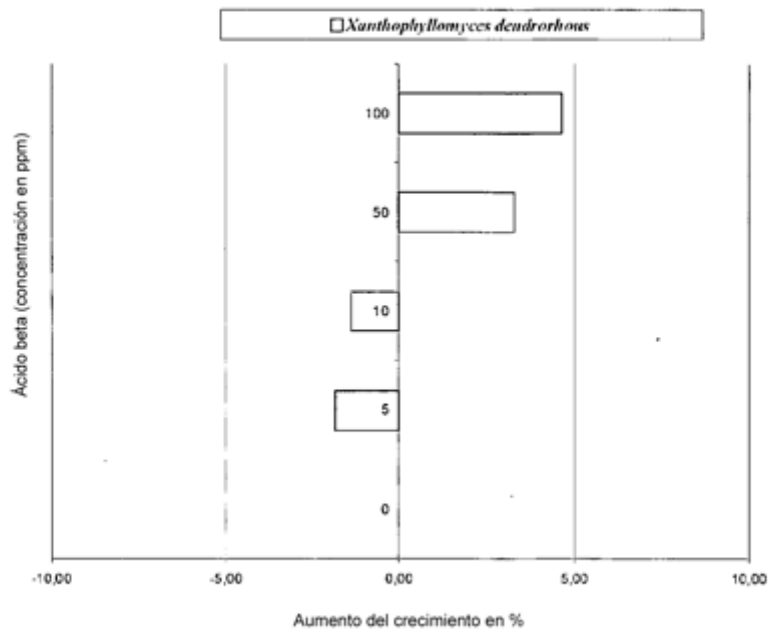
En concentraciones a partir de 50 ppm se produce un aumento del rendimiento de biomasa de *Xanthophyllomyces dendrohous* mediante ácido beta.

25

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Procedimiento de fermentación utilizando un aditivo de fermentación, estando previsto este último como acelerador de la fermentación y/o para el aumento del rendimiento y comprendiendo un principio activo de base vegetal, caracterizado porque en el caso del principio activo de base vegetal se trata de un principio activo a base de lúpulo y/o un derivado del mismo en forma de ácido alfa, ácido beta, ácido iso-alfa, ácido rho-iso-alfa, ácido hexahidro-iso-alfa, ácido tetrahidro-iso-alfa, ácido hexahidro-beta o una mezcla de los mismos o de un polifenol a partir del lúpulo y el aditivo de fermentación despliega su acción de aceleración de la fermentación y/o aumento del rendimiento independientemente de la presencia de una infección del sustrato por microorganismos no deseados.
- 10 2. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 1, caracterizado porque el aditivo de fermentación despliega su acción de aceleración de la fermentación y/o aumento del rendimiento independientemente de la presencia de una formación de espuma del sustrato.
- 15 3. Procedimiento de fermentación según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el aditivo de fermentación está previsto para su empleo en sustratos que están libres de microorganismos no deseados.
- 15 4. Procedimiento de fermentación según al menos una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque éste está previsto como acelerador de la fermentación y/o para el aumento del rendimiento en la fabricación de biomasa.
- 20 5. Procedimiento de fermentación según al menos una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque éste está previsto como acelerador de la fermentación y/o para el aumento del rendimiento en la fabricación de enzimas.
- 20 6. Procedimiento de fermentación según al menos una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque éste está previsto como acelerador de la fermentación y/o para el aumento del rendimiento en la fabricación de metabolitos o productos metabólicos.
- 25 7. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 1, caracterizado porque el aditivo de fermentación se proporciona directamente a la fermentación.
- 25 8. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 7, caracterizado porque la adición del aditivo de fermentación a la fermentación se produce de manera continua.
- 25 9. Procedimiento de fermentación según la reivindicación 7, caracterizado porque la adición del aditivo de fermentación a la fermentación se produce de manera discontinua, en particular al inicio del proceso de fermentación.
- 30 10. Procedimiento de fermentación según las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque la concentración, en particular la concentración final que se ajusta, del aditivo de fermentación en el sustrato se encuentra en un intervalo de 1 - 10000 ppm.
- 35 11. Uso de un principio activo a base de lúpulo y/o un derivado del mismo en forma de ácido alfa, ácido beta, ácido iso-alfa, ácido rho-iso-alfa, ácido hexahidro-iso-alfa, ácido tetrahidro-iso-alfa, ácido hexahidro-beta o una mezcla de los mismos o un polifenol a partir del lúpulo como aditivo de fermentación para la aceleración de la fermentación y/o para el aumento del rendimiento, desplegando el aditivo de fermentación su acción de aceleración de la fermentación y/o aumento del rendimiento independientemente de la presencia de una infección del sustrato por microorganismos no deseados.

**Fig. 1.** Aceleración del crecimiento de *Xanthophyllomyces dendrorhous* mediante ácido beta



**Fig. 2.** Aceleración del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* mediante difenolhidroxibenceno

