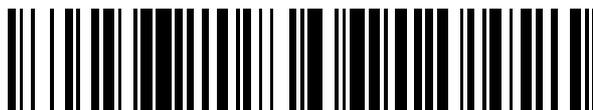


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 961**

51 Int. Cl.:

B01D 39/02 (2006.01)

B01D 41/02 (2006.01)

B01J 20/26 (2006.01)

C12H 1/04 (2006.01)

C12H 1/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2011 E 11738065 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2016 EP 2595723**

54 Título: **Un procedimiento de regeneración de PVPP a partir de una fracción retenida de un filtro de membrana después de clarificación y estabilización de una bebida fermentada con levadura**

30 Prioridad:

22.07.2010 EP 10170417

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

18.04.2016

73 Titular/es:

**HEINEKEN SUPPLY CHAIN B.V. (100.0%)
Burgemeester Smeetsweg 1
2382 PH Zoeterwoude, NL**

72 Inventor/es:

**NOORDMAN, TOM REINOUD;
VAN DER NOORDT, MARCEL y
RICHTER, ANNEKE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 566 961 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

Un procedimiento de regeneración de PVPP a partir de una fracción retenida de un filtro de membrana después de clarificación y estabilización de una bebida fermentada con levadura

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de estabilización de bebidas fermentadas con levadura. Mas particularmente, la presente invención proporciona un procedimiento de estabilización de bebidas fermentadas con levadura combinando un líquido fermentado con levadura con partículas de polivinilpirrolidona (PVPP) para unir al menos una fracción de los polifenoles y/o las proteínas contenidos en el líquido fermentado a dichas partículas de PVPP; eliminando una suspensión acuosa que contiene partículas de PVPP del líquido fermentado; y regenerando las
10 partículas de PVPP.

Antecedentes de la invención

Las bebidas fermentadas con levadura, tales como la cerveza, son estabilizadas para asegurar que las bebidas sepan tan bien y tengan un aspecto tan bueno al final de su vida útil como en el momento en el que se envasaron. Debido a que la primera evaluación del consumidor es visual, la claridad se considera una medida determinante de la calidad de la cerveza. Con unas pocas excepciones notables, los consumidores esperan un producto brillante y llamativo, libre de turbidez.
15

La turbidez coloidal en la cerveza surge de la formación de complejos polifenol-proteína durante el almacenamiento. La cerveza fresca contiene proteínas ácidas y una diversidad de polifenoles. Aunque estos pueden formar complejos mediante un puente de hidrógeno débil, su bajo peso molecular significa que son muy pequeños para ser visibles a simple vista. A medida que estos pequeños polifenoles, denominados flavanoides, se polimerizan y se oxidan, producen polifenoles de cadena corta (condensados) denominados tanoides. Estos tanoides son capaces de extenderse a través de cierto número de proteínas por medio de puentes de hidrógeno para formar una leve turbidez reversible. Tras un almacenamiento adicional, se forman enlaces iónicos y covalentes más fuertes entre los tanoides y las proteínas resultando en una turbidez permanente e irreversible. La velocidad y el grado en que ocurre se ven afectados por los materiales de destilación, los procedimientos y las condiciones de almacenamiento pueden mejorarse (reducirse) en gran medida mediante el uso de auxiliares de estabilización.
20

Debido a que el factor determinante de la velocidad en el desarrollo de la turbidez es el cambio en la fracción de polifenoles, la reducción de los niveles de estos precursores de turbidez es un procedimiento muy eficiente para asegurar la estabilidad coloidal de la cerveza. La polivinilpirrolidona (PVPP) es un polímero reticulado de (poli)vinilpirrolidona que es insoluble en agua. En la industria de la destilación, se usan partículas de PVPP altamente porosas para la absorción de polifenoles precursores de turbidez. La PVPP forma complejos de manera selectiva con los polifenoles precursores de turbidez, predominantemente mediante un puente de hidrógeno fuerte, con múltiples lados de fijación para los polifenoles precursores de turbidez. La estructura molecular del polímero PVPP limita el puente de hidrógeno interno, maximizando el número de sitios reactivos disponibles.
30

Los estabilizadores de PVPP están optimizados para un único uso, en el que son añadidos a la corriente de cerveza y son eliminados en el filtro kieselguhr, o, para grados de regeneración, son añadidos a la cerveza brillante usando unidades de filtración dedicadas y son reciclados para su reutilización. En ambas maneras, muchas de las características de la manipulación son comunes. El polvo de PVPP es suspendido en agua en el tanque dosificador usando agua ablandada desgasificada en una concentración de aproximadamente el 8-12% (peso/vol.). El material debe ser agitado durante al menos 15 minutos para hinchar e hidratar las partículas. A continuación, la solución acuosa debería ser mantenida bajo agitación constante para prevenir que se asiente. En el caso de grados de regeneración, el tanque dosificador de estabilizador se mantiene frecuentemente a 80°C para asegurar la estabilidad microbiana a largo plazo.
40

El procedimiento más común de adición de PVPP de uso único es mediante dosificación continua a la corriente de cerveza usando una bomba de alimentación. Aunque la PVPP puede ser muy efectiva con tiempos de contacto cortos, se recomienda un tiempo de contacto de 5-10 minutos entre el punto de adición y de eliminación de PVPP usado en el filtro kieselguhr para una mayor eficacia. La PVPP debería ser añadida a cerveza fría, a una temperatura de 0°C o inferior, para prevenir la redisolución de aquellos complejos de polifenol-proteína ya formados.
45

El principio del uso de PVPP regenerable es el de romper los enlaces PVPP-polifenol mediante el lavado del material con una solución de sosa cáustica (NaOH). La regeneración es considerada económica si una fábrica de cerveza estabiliza un gran volumen de producción y/o si la cerveza que está siendo estabilizada tiene un contenido extremadamente alto de polifenol, que requeriría altas velocidades de adición de PVPP para una estabilización coloidal efectiva. Los grados de regeneración de PVPP se fabrican específicamente para producir partículas de mayor tamaño y mayor fuerza mecánica, que todavía proporcionan una reducción de polifenol efectiva. Los filtros de hoja
50

horizontales son los diseños originales para el uso y la regeneración de PVPP, pero en la actualidad están empezando a usarse también filtros de bujía.

La preparación inicial de los grados de regeneración de PVPP es muy similar a la del producto de uso único. Se requiere un tanque de suspensión acuosa dedicado, frecuentemente equipado con una camisa de calentamiento. En primer lugar, el filtro se purga con CO₂ y se deposita una pre-capa de PVPP regenerable, de aproximadamente 1-2 mm de profundidad, sobre las rejillas del filtro. La suspensión acuosa estabilizadora se hace circular de nuevo alrededor del filtro hasta que el agua en la mirilla o el punto de medición sea transparente. La PVPP se dosifica en la corriente de cerveza entrante usando la bomba de alimentación. La operación de estabilización efectiva se completa cuando el espacio entre las placas del filtro está lleno de PVPP. El volumen final de la cerveza estabilizada depende del tamaño del filtro, la carga de PVPP y la velocidad de adición en la cerveza y puede operar varios miles de hl.

Al final de la filtración y la estabilización, la cerveza residual se devuelve al tanque de recuperación de cerveza. La PVPP usada se regenera haciendo circular de nuevo una solución caustica (al 1-2% peso/peso), a 60-80°C a través del lecho del filtro de PVPP durante 15 a 30 minutos. Algunas veces, se usa un segundo enjuague cáustico, usando el primer ciclo para el drenaje y reservando el segundo ciclo para su reutilización como el primer enjuague cáustico en la siguiente regeneración. El color de la solución de sosa cáustica que sale del filtro es muy oscuro, confirmando la ruptura de los complejos PVPP-polifenol fuertes. A continuación, la torta de filtro de PVPP es enjuagada con agua caliente a 80°C para desplazar la solución de sosa cáustica y reducir el pH. Esto es seguido de un ciclo de enjuagado con ácido diluido hasta que la solución que sale del filtro llegue a aproximadamente un pH de 4 durante 20 minutos. Los residuos de la cerveza y el agua son eliminados de manera efectiva y se consiguen los mejores resultados precalentando el ácido diluido a aproximadamente 60°C. A continuación, el filtro se enjuaga con agua fría hasta que se elimine totalmente el ácido y hasta que el pH en la salida sea neutro. Finalmente, se usa CO₂, agua y la fuerza centrífuga debida a la rotación de los elementos del filtro para desplazar la PVPP regenerada desde las rejillas del filtro al recipiente dosificador. Se comprueban los contenidos sólidos (PVPP) en el tanque dosificador y se añade nuevo material para reponer las pérdidas del procedimiento. Típicamente, estas pérdidas son del 0,5-1% por cada regeneración. Sin embargo, el costo del equipo de los filtros de gran capacidad, en lugar del costo del estabilizador de PVPP, es el que tiene una mayor influencia en los costes de la regeneración de PVPP.

De esta manera, aunque la PVPP de uso único tiene la desventaja que genera una considerable corriente de desechos, la PVPP regenerable adolece del inconveniente que requiere una inversión previa en equipo de filtro sofisticado.

El documento US 2009/0291164 describe un procedimiento de regeneración de un coadyuvante de filtración que contiene PVPP, que comprende:

- (i) proporcionar un coadyuvante de filtración que comprende un co-extruido de una PVPP y un polímero termoplástico;
- (ii) tratar el coadyuvante de filtración con álcali acuoso;
- (iii) posteriormente, tratar el coadyuvante de filtración con una enzima; y
- (iv) posteriormente, llevar a cabo un segundo tratamiento con álcali acuoso.

El documento US. 6.117.459 describe un procedimiento de regeneración de un adyuvante de filtración que comprende polímero sintético o granos naturales, en el que el adyuvante se carga con impurezas orgánicas que incluyen levaduras y son atrapadas en las cavidades entre los granos de adyuvante después de filtrar un líquido cargado con dichas impurezas, y se depositan en un soporte de filtración de una instalación de filtración, en el que el procedimiento incluye las etapas de:

- lavar el adyuvante de filtración con una solución de sosa a una temperatura de al menos 80°C durante 60-120 minutos;
- llevar a cabo la etapa de lavado in situ con dicha solución de sosa haciendo pasar la solución de sosa a través de la instalación de filtración en la dirección de lavado idéntica a la dirección del líquido a filtrar;
- hacer pasar a través de la instalación de filtración, en la dirección de lavado, una composición enzimática a una temperatura de entre 40 y 60°C durante 100 a 200 minutos, en el que dicha composición enzimática incluye agentes capaces de lisar las levaduras;
- lavar dicho adyuvante de filtración para eliminar del mismo el producto de desecho de impurezas orgánicas, en el que dicha etapa de lavado es un segundo lavado con una solución de sosa para eliminar los productos de desecho producidos por la etapa de paso de la composición enzimática;

- eliminar los granos de adyuvante acumulados en los soportes de filtración para limpiar dicho soporte de filtración y para usar dichos granos de adyuvante para una nueva operación de filtración.

Sumario de la invención

5 Los presentes inventores han desarrollado un procedimiento alternativo de estabilización de bebidas fermentadas con levadura mediante un tratamiento con partículas de PVPP y la regeneración de dichas partículas de PVPP usadas para su reutilización. El procedimiento según la presente invención puede ser realizado con PVPP de uso único así como con PVPP regenerable. Además, el presente procedimiento es muy robusto y no requiere equipos de filtro espaciosos, sofisticados, para regenerar la PVPP.

10 En el procedimiento de la presente invención, las partículas de PVPP se añaden al líquido fermentado con levadura antes de la clarificación. A continuación, el líquido fermentado que contiene las partículas de PVPP se filtra sobre un primer filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo de 0,1-5 μm para producir una primera fracción retenida que contiene partículas de PVPP. Posteriormente, la primera fracción retenida se combina con un líquido de regeneración para la desorción de los polifenoles y/o la proteína de las partículas de PVPP y para degradar los componentes macromoleculares contenidos en la fracción retenida y el líquido resultante se filtra sobre
15 un segundo filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo de 0,1-10 μm para producir una segunda fracción retenida que contiene partículas de PVPP regeneradas. Finalmente, después de una refinación adicional opcional de las partículas de PVPP regeneradas, las partículas regeneradas son reutilizadas en el procedimiento.

20 Más particularmente, la presente invención proporciona un procedimiento de preparación de una bebida fermentada con levadura, en el que dicho procedimiento comprende las etapas de:

- a) fermentar mosto con una levadura biológicamente activa para producir un líquido fermentado;
- b) opcionalmente, eliminar la levadura del líquido fermentado (por ejemplo, mediante centrifugación);
- c) mezclar el líquido fermentado con partículas de polivinilpolipirrolidona (PVPP), en el que al menos el 80% en peso de dichas partículas de PVPP tienen un diámetro comprendido en el intervalo de 5-150 μm ;
- 25 d) filtrar el líquido fermentado que contiene las partículas de PVPP sobre un primer filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo de 0,1-5 μm sin emplear un coadyuvante de filtración para producir un líquido fermentado clarificado y una primera fracción retenida que contiene partículas de PVPP;
- 30 e) combinar la primera fracción retenida con un líquido de regeneración acuoso para la desorción de los polifenoles y/o la proteína desde las partículas de PVPP, en el que dicho líquido de regeneración acuoso tiene un pH de al menos 10,0;
- 35 f) filtrar la combinación de la primera fracción retenida y el líquido de regeneración sobre un segundo filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo de 0,1-10 μm sin emplear un coadyuvante de filtración para producir una segunda fracción retenida que contiene partículas de PVPP regeneradas; y
- g) después de una refinación adicional opcional de partículas de PVPP regeneradas contenidas en la segunda fracción retenida, hacer circular de nuevo las partículas de PVPP regeneradas a la etapa c;

40 en el que los componentes macromoleculares contenidos en la primera fracción retenida de la etapa d y/o retenidos en el segundo filtro de la etapa f, son degradados usando un agente degradante capaz de degradar proteínas y/o polifenoles, en el que dicho agente degradante se selecciona de entre oxidantes, enzimas y sus combinaciones.

El presente procedimiento ofrece la ventaja de que permite una recuperación eficiente de las partículas de PVPP, incluyendo partículas de PVPP de uso único, para su reutilización dentro del mismo procedimiento. En segundo lugar, el presente procedimiento ofrece el beneficio de que el reciclado de las partículas de PVPP puede ser llevado a cabo usando el mismo filtro de membrana usado para clarificar el líquido fermentado, tal como cerveza.

45 Descripción detallada de la invención

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de una bebida fermentada con levadura, en el que dicho procedimiento comprende las etapas de:

- a. fermentar mosto con una levadura biológicamente activa para producir un líquido fermentado que contiene levadura, alcohol, polifenoles y proteína;

- b. opcionalmente, eliminar la levadura del líquido fermentado;
- c. mezclar el líquido fermentado con partículas de polivinilpolipirrolidona (PVPP) para unir al menos una fracción de los polifenoles y/o las proteínas contenidas en el líquido fermentado a dichas partículas de PVPP, en el que al menos el 80% en peso de dichas partículas de PVPP tienen un diámetro comprendido en el intervalo 5-150 μm ;
- d. filtrar el líquido fermentado que contiene las partículas de PVPP sobre un primer filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo 0,1-5 μm sin emplear un coadyuvante de filtración (distinto de las partículas de PVPP) para producir un líquido fermentado clarificado y una primera fracción retenida que contiene partículas de PVPP;
- e. combinar la primera fracción retenida con un líquido acuoso de regeneración para la desorción de los polifenoles y/o las proteínas de las partículas de PVPP, en el que dicho líquido acuoso de regeneración tiene un pH de al menos 10,0; en el que el agente degradante puede añadirse a la primera fracción retenida antes, después o conjuntamente con el líquido de regeneración;
- f. filtrar la combinación de la primera fracción retenida y el líquido de regeneración sobre un segundo filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo 0,1-10 μm sin emplear un coadyuvante de filtración (distinto de las partículas de PVPP) para producir una segunda fracción retenida que contiene partículas de PVPP regeneradas; y
- g. después de una refinación opcional adicional de las partículas de PVPP regeneradas contenidas en la segunda fracción retenida, volver a hacer circular las partículas de PVPP regeneradas a la etapa c;
- en el que los componentes macromoleculares contenidos en la primera fracción retenida de la etapa d y/o retenidos en el segundo filtro en la etapa f, son degradados usando un agente degradante capaz de degradar las proteínas y/o los polifenoles, en el que dicho agente degradante se selecciona de entre oxidantes, enzimas y sus combinaciones.

El término "mosto" tal como se usa en la presente memoria se refiere al líquido extraído del procedimiento de trituración durante la destilación, por ejemplo, de cerveza o whisky. El mosto contiene azúcares, derivados de una fuente de grano, tal como malta, que son fermentados por la destilación de levadura para producir alcohol, sabor, etc.

Las expresiones "líquido fermentado clarificado" se refieren a un líquido del que se han eliminado los componentes formadores de turbidez, incluyendo la levadura.

Cuando en la presente memoria se hace referencia a la unión/liberación de los polifenoles y/o proteínas a/desde las partículas de PVPP, lo que se quiere decir es que esos polifenoles o proteínas se unen a o liberan de las partículas de PVPP como son o como parte de complejos, por ejemplo, de polifenoles (polimerizados) y proteínas.

La terminología "degradación de componentes macromoleculares" se refiere a la ruptura de componentes macromoleculares (es decir componentes que tienen un peso molecular superior a 1 kDa) en moléculas más pequeñas.

La expresión "agente degradante" se usa en la presente memoria para hacer referencia a un agente que es capaz de causar la ruptura de los componentes macromoleculares contenidos en la primera fracción retenida.

En una realización del presente procedimiento, no se elimina ninguna levadura desde el líquido fermentado antes de ser combinado con las partículas de PVPP. Según esta realización, el líquido fermentado que contiene las partículas de PVPP comprende típicamente levadura en una concentración de al menos 5 mg de levadura húmeda por kg de líquido fermentado. Más, preferentemente, dicha concentración de levadura está comprendida en un intervalo de 10-10.000 mg de levadura húmeda por kg de líquido fermentado, más preferentemente en un intervalo de 50-10.000 mg de levadura húmeda por kg de líquido fermentado. Tal como se explicará más detalladamente más adelante, la levadura puede ser separada adecuadamente de las partículas de PVPP mediante un tratamiento aguas abajo tal como sedimentación, flotación y separación por hidrociclón o filtración en un filtro pequeño con un mayor tamaño de poro de 10-80 μm .

En una realización alternativa del presente procedimiento, la levadura se es eliminada del líquido fermentado antes de que dicho líquido sea combinado con las partículas de PVPP. La levadura puede ser eliminada adecuadamente en esta etapa del procedimiento mediante hidrociclones, sedimentación o centrifugación, siendo preferente la centrifugación. Según esta realización, el contenido de levadura del líquido fermentado después de la remoción de levadura no supera los 50 mg de levadura húmeda por kg de líquido fermentado, más preferentemente no excede los 5 mg de levadura húmeda por kg de líquido fermentado. La cantidad de levadura húmeda contenida en un líquido fermentado puede ser determinada adecuadamente mediante una medida de consistencia estándar, es decir,

tomando una cantidad pesada de la muestra del líquido de fermentación, a continuación centrifugándola y decantando el sobrenadante y finalmente midiendo el peso del gránulo centrifugado.

Típicamente, en el presente procedimiento las partículas de PVPP se combinan con el líquido fermentado en una relación en peso de 1:100.000 a 1:100, preferentemente en una relación en peso de 1:30.000 a 1:1000.

5 Tal como ha explicado anteriormente, el presente procedimiento puede ser llevado a cabo usando partículas de PVPP de uso único así como partículas de PVPP regenerables. Típicamente, estas partículas de PVPP tienen un diámetro medio ponderado en masa de 10-300 μm . Según una realización de la presente invención, el procedimiento emplea partículas de PVPP de uso único que tienen un diámetro medio ponderado en masa de 10-60 μm , preferentemente de 12-50 μm . Según otra realización, el presente procedimiento emplea partículas de PVPP regenerables que tienen un diámetro medio ponderado en masa de 30-300 μm , más preferentemente de 40-200 μm .

Las partículas de PVPP usadas en el presente procedimiento preferentemente tienen un área superficial específica de más de 0,1 m^2/g . Típicamente, el área superficial específica de las partículas de PVPP se encuentra dentro del intervalo, de 0,15-5 m^2/g .

15 Según otra realización preferente, las partículas de PVPP empleadas en el presente procedimiento no son un co-extrudido de PVPP y otro polímero, especialmente no un co-extrudido de PVPP y un polímero termoplástico.

La primera fracción retenida que se obtiene filtrando el líquido de fermentación que contiene las partículas de PVPP añadidas, contiene preferentemente al menos 0,1 g/l, mas preferentemente 1-200 g/l de dichas partículas de PVPP.

Es más preferente que al menos el 95% en peso de las partículas de PVPP humedecidas contenidas en la primera fracción retenida tengan una densidad de menos de 1,2 g/ml, preferentemente de 1,0-1,1 g/ml.

20 La combinación de la primera fracción retenida con el líquido acuoso de regeneración puede conseguirse adecuadamente enjuagando la primera fracción retenida con dicho líquido de regeneración mientras la primera fracción retenida está en contacto directo con el primer filtro de membrana, y eliminando el líquido que contiene los componentes liberados y degradados a través del filtro.

25 Según una realización particularmente preferente de la presente invención, el primer filtro de membrana se emplea también como el segundo filtro de membrana en la etapa e. De esta manera, puede evitarse el uso de una unidad de filtración adicional.

La etapa e. de desorción/regeneración y la etapa f. de filtración pueden ser llevadas a cabo de manera concurrente o consecutiva, teniendo cada opción sus propias ventajas y desventajas. En una realización, la etapa e. comprende transferir la primera fracción retenida a un recipiente de mezclado en el que es mezclado con el líquido de regeneración. Esto ofrece la ventaja de que, si el segundo filtro de membrana es el mismo filtro que el primer filtro de membrana, dicho filtro de membrana pueda ser usado para filtrar otro lote de líquido fermentado que contiene partículas de PVPP mientras la primera fracción retenida producida en el lote anterior está siendo regenerada en el recipiente mezclador. De esta manera, el primer filtro de membrana puede ser empleado de una manera muy eficiente. Además, esta realización ofrece la ventaja de que la regeneración de las partículas de PVPP contenidas en la primera fracción retenida puede ser maximizada empleando condiciones de regeneración óptimas en el recipiente de mezclado, es decir, agitando continuamente los contenidos del recipiente y/o calentando dichos contenidos (por ejemplo, a temperaturas mayores de 80°C).

40 El primer filtro de membrana usado en el presente procedimiento, tiene preferentemente un tamaño de poro de al menos 0,2 μm . Preferentemente, el tamaño del poro de dicho filtro de membrana no es mayor de 2 μm , y más preferentemente no es mayor de 1 μm .

En el presente procedimiento la combinación de la primera fracción retenida y el líquido de regeneración filtrado sobre el segundo filtro de membrana tiene preferentemente un contenido de sólidos de hasta 300 g/l, más preferentemente de 1-200 g/l y más preferentemente de 10- 200 g/l.

45 El presente procedimiento ofrece la ventaja de que las partículas de PVPP pueden ser recuperadas en la segunda fracción retenida con rendimientos muy altos. Se consigue fácilmente un rendimiento del 80% en peso, e incluso son factibles rendimientos del 95% en peso o superiores.

Un elemento esencial de la regeneración de las partículas de PVPP es la liberación de los polifenoles y/o las proteínas que están unidos a las partículas de PVPP. Preferentemente, los polifenoles y/o las proteínas son liberados de las partículas de PVPP empleando un líquido de regeneración que tiene un pH de al menos 11,0.

50 Según la presente invención, los componentes macromoleculares contenidos en la primera fracción retenida y/o liberados de las partículas de PVPP, parte de los cuales puede ser retenida por el segundo filtro de membrana, son

- degradados para prevenir o solucionar los taponamientos de dicho segundo filtro de membrana y para evitar la acumulación de presión. Para ello, se emplea un agente degradante capaz de degradar los polifenoles y/o las proteínas, en el que dicho agente degradante se selecciona de entre oxidantes, enzimas y sus combinaciones. En una realización de la invención, el líquido de regeneración contiene el agente degradante. En una realización alternativa, el agente degradante puede estar contenido en una composición separada, típicamente un líquido acuoso, que puede añadirse a la primera fracción de retención, antes, después o al mismo tiempo que el líquido de regeneración. En todavía otra realización, un líquido acuoso que contiene el agente degradante se usa para enjuagar el segundo filtro después de la etapa f.
- Según una realización preferente, el agente degradante comprende un oxidante. Típicamente, el oxidante se emplea en un líquido acuoso, preferentemente el líquido de regeneración, a una concentración de al menos 0,1 g/l, más preferentemente de al menos 0,5 g/l y más preferentemente de al menos 1 g/l. Los oxidantes preferentes incluyen persulfatos, hipohalitos, peróxidos y sus combinaciones.
- Según una realización alternativa, el agente degradante es una enzima, preferentemente una enzima seleccionada de entre proteinasas, enzimas degradantes de carbohidratos (por ejemplo, glucanasas), polifenol oxidasas y sus combinaciones. La filtración del líquido fermentado y la subsiguiente regeneración de las partículas de PVPP se completan adecuadamente en 2 horas. Más preferentemente, estos procedimientos se completan en 0,2-1 horas.
- En una realización que es particularmente ventajosa, el primer filtro de membrana de la etapa d. se emplea como segundo filtro de membrana en la etapa f. y el líquido de regeneración empleado en la etapa e. comprende el agente degradante.
- De manera ventajosa, la segunda fracción retenida es enjuagada con un líquido acuoso ácido, seguido de un enjuague con agua, antes de volver a hacer circular las partículas de PVPP regenerada a la etapa b. De manera ventajosa, estas acciones de enjuague se realizan haciendo pasar los líquidos de enjuague a través de la segunda fracción retenida mientras está en contacto con el segundo filtro de membrana, y eliminando los líquidos de enjuague a través del filtro.
- Con el fin de eliminar los residuos de levadura contenidos en la primera fracción retenida, especialmente si no se elimina levadura antes de la combinación del líquido fermentado con las partículas de PVPP, es ventajoso reducir el contenido de levadura de la primera fracción retenida antes o después de combinar la primera fracción retenida con el líquido acuoso de regeneración sometiendo dicha primera fracción retenida o a la combinación de la primera fracción retenida y el líquido acuoso de regeneración a separación por sedimentación.
- En una realización alternativa que es particularmente ventajosa en el caso en el que el primer filtro de membrana y el segundo filtro de membrana son los mismos, la levadura residual se elimina de la segunda fracción retenida antes de la recirculación. Por consiguiente, es preferente que la segunda fracción retenida sea refinada adicionalmente antes de la recirculación de las partículas de PVPP regeneradas eliminando la levadura de dicha segunda fracción retenida mediante separación por sedimentación.
- La terminología "separación por sedimentación" tal como se usa en la presente memoria se refiere a una técnica de separación en la que las partículas sólidas que están suspendidas en un líquido son separadas en base a una diferencia de densidad. La sedimentación es la tendencia de las partículas en suspensión a sedimentarse en un fluido en el que están atrapadas en respuesta a la gravedad y/o aceleración centrífuga.
- Los ejemplos de técnicas de separación por sedimentación que pueden ser empleadas para eliminar la levadura incluyen sedimentación, flotación y separación en hidrociclones; siendo preferentes la flotación y la separación por hidrociclones. Más preferentemente, el presente procedimiento emplea la flotación para separar la levadura residual de las partículas de PVPP contenidas en la segunda fracción retenida. El término asentamiento se usa para hacer referencia a una separación en la que solo se usa la fuerza de gravedad para realizar la separación.
- La flotación de partículas está gobernada por los mismos equilibrios de fuerzas que la sedimentación. La flotación puede ser usada para la clasificación de sólidos cuando hay una mezcla de partículas de diferente densidad en suspensión. Los presentes inventores han encontrado que la flotación puede ser usada de manera ventajosa para separar las partículas de PVPP de las células de levadura ya que la velocidad de sedimentación de las células de levadura tiende a ser significativamente más alta que la de las partículas de PVPP.
- Por lo tanto, según una realización particular preferente, la eliminación de la levadura desde la primera fracción retenida o la segunda fracción retenida comprende preferentemente hacer pasar un líquido que comprende dicha fracción retenida a través de un recipiente separador en un flujo laminar hacia arriba y eliminar de manera separada una fracción enriquecida con levadura y una fracción enriquecida con PVPP, en el que dicha fracción enriquecida con PVPP es eliminada aguas abajo (y arriba) del punto en el que se elimina la fracción enriquecida con levadura. Se entenderá que la expresión "recipiente separador" tal como se usa en la presente memoria no debería ser interpretada

estrictamente ya que el recipiente puede adoptar de manera adecuada la forma, por ejemplo, de un tubo vertical.

Con el fin de conseguir una separación efectiva de las partículas de PVPP y las células de levadura, es preferente hacer pasar el líquido que contiene la segunda fracción retenida a través del recipiente separador a un caudal vertical de 0,01-10 mm/s, mas preferente de 0,04-3 mm/s.

5 Los hidrociclones pueden ser usados también de manera adecuada para separar la levadura residual de las partículas de PVPP contenidas en la segunda fracción retenida. Un hidrociclón es un dispositivo para clasificar, separar u ordenar las partículas en una suspensión de un líquido en base a las densidades de las partículas. Los hidrociclones normalmente tienen una sección cilíndrica en la parte superior donde el líquido está siendo suministrado tangencialmente, y una base cónica. Un hidrociclón tiene dos salidas en el eje: la más pequeña en la parte inferior (flujo inferior o rechazo) y la más grande en la parte superior (flujo superior o aceptación). El flujo inferior es generalmente la fracción más densa o espesa, mientras que el, flujo superior es la fracción más ligera o más fluida.

10 En el presente procedimiento, la fracción enriquecida con PVPP que se produce mediante separación por sedimentación de la primera fracción retenida es subsiguientemente filtrada sobre el segundo filtro de membrana. La fracción enriquecida con PVPP que se obtiene mediante separación por sedimentación de la segunda fracción retenida se hace circular de nuevo en la etapa b.

15 La separación por sedimentación empleada en el presente procedimiento proporciona preferentemente una fracción enriquecida con PVPP en la que la relación en peso de las partículas de PVPP a levadura es substancialmente más alta que la misma relación en peso en la fracción enriquecida con levadura. Por consiguiente, en una realización preferente, la relación en peso de las partículas de PVPP a levadura de la fracción enriquecida con PVPP es de al menos 3 veces, más preferentemente al menos 5 veces más alta que la misma relación en peso de la fracción enriquecida con levadura.

20 Asimismo, la concentración de levadura de la fracción enriquecida con levadura es de al menos 3 veces, preferentemente al menos 5 veces más alta que la misma concentración en la fracción enriquecida con PVPP.

25 El presente procedimiento puede ser llevado a cabo como un proceso por lotes, un proceso semi-continuo o un proceso continuo. Preferentemente, el proceso se lleva a cabo como un proceso por lotes.

La invención se ilustra adicionalmente por medio de los ejemplos no limitativos siguientes.

Ejemplos

30 Una suspensión acuosa recién preparada de partículas de PVPP de uso único (Polyclar® 10, tal como es suministrada por ISP) se dosificó en una cerveza Heineken® no estabilizada antes de la filtración por membrana (tamaño de poro 0,5 µm). Después de 3 horas de filtración a 8 hl/h en el filtro de membrana (con un área de filtro de 10 m2), la suspensión acuosa en la fracción retenida se enjuagó eón agua para eliminar la cerveza.

35 Posteriormente, la fracción retenida se enjuagó con una solución de NaOH al 21%, combinada con 0,2% de hipoclorito de sodio como un agente oxidante, a una temperatura de 40°C durante 20 minutos, para regenerar la PVPP. Cuando la fracción de filtración se aclaró, la fracción retenida que contenía PVPP se enjuagó con agua, ácido y etapas de agua. A continuación, se reanudó la filtración de cerveza y se siguió con la acumulación de presión en el tiempo. El ensayo se repitió con 0,5% de persulfato de sodio en lugar de hipoclorito de sodio como un agente oxidante y PVPP regenerable (Divergan® RS, tal como es suministrado por BASF) en lugar de un único grado (Polyclar® 10).

40 La tabla 1 muestra las presiones de inicio (ΔP) y la acumulación de presión en el tiempo ($d\Delta P/dt$) durante la filtración de cerveza antes y después de que tenga lugar la regeneración de PVPP en el filtro de membrana. Los resultados muestran que cuando la PVPP se regenera con solo sosa cáustica, la acumulación de presión con el tiempo y la presión de inicio de la siguiente filtración es mucho más alta que cuando se usan oxidantes (hipoclorito en combinación con Polyclar® 10, persulfato en combinación con Divergan®: RS). Esto puede explicarse por el hecho de que los desechos que se liberaron de la PVPP bloquean el filtro de membrana. Usando los agentes oxidantes junto con la regeneración con sosa cáustica minimiza dicha obstrucción de los filtros de membrana.

45

Tabla 1. Acumulación de presión durante la filtración de cerveza en un filtro de membrana antes y después de una etapa de regeneración en PVPP ejecutada en el mismo filtro					
Ensayo de regeneración de Polyclar® 10 con solo sosa cáustica al 2%					
	Tiempo de Inicio	ΔP_{inicio} (bar)	Tiempo final	ΔP_{fin} (bar)	$d\Delta P/dt$

ES 2 566 961 T3

	(hr:min)		(hr:min)		(bar/hr)
Antes de regeneración	0:00	0,290	3:13	0,82	0,16
Después de regeneración	0:00	0,737	0:40	1,02	0,42
Ensayo de regeneración de Polyclar® 10 con sosa cáustica al 2% e hipoclorito de sodio al 0,2%					
	Tiempo de Inicio (hr:min)	ΔP (bar)	Tiempo final (hr:min)	ΔP (bar)	d ΔP /dt (bar/hr)
Antes de regeneración	0:00	0,229	3:19	0,423	0,06
Después de regeneración	0:00	0,269	1:29	0,504	0,16
Ensayo de regeneración de Divergan® RS con sosa cáustica al 2% y persulfato de sodio al 0,5%					
	Tiempo de Inicio (hr:min)	ΔP (bar)	Tiempo final (hr:min)	ΔP (bar)	d ΔP /dt (bar/hr)
Antes de regeneración	0:00	0,310	2:42	0,420	0,04
Después de regeneración	0:00	0,369	0:59	0,456	0,09

5 Se tomaron muestras de la suspensión acuosa de PVPP no usada, fresca, y la fracción retenida que contiene PVPP después de la regeneración para medir la capacidad de absorción. La PVPP (Polyclar® 10) de uso único, fresca, no usada, tenía una capacidad de absorción del 63,8%, tal como se mide mediante un análisis estándar en el que una solución de catequina se pone en contacto con una cantidad definida de PVPP y la reducción de catequina en esta solución se toma como una medida de la capacidad de absorción. La PVPP, regenerada mediante el procedimiento descrito anteriormente con hipoclorito de sodio, tenía una capacidad de absorción del 58,9%. La capacidad de absorción de la PVPP usada era de aproximadamente 5-8%.

10 Con la PVPP de grado regenerable (Divergan® RS), las capacidades de absorción de PVPP fresca y PVPP regenerada con persulfato de sodio eran de 44,4 y 42,4% respectivamente. La capacidad de absorción de la PVPP usada era del 14%.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de una bebida fermentada con levadura, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
 - 5 a. fermentar mosto con una levadura biológicamente activa para producir un líquido fermentado que contiene levadura, alcohol, polifenoles y proteína;
 - b. opcionalmente, eliminar la levadura del líquido fermentado;
 - c. mezclar el líquido fermentado con partículas de polivinilpolipirrolidona (PVPP) para unir al menos una fracción de los polifenoles y/o las proteínas contenidas en el líquido fermentado a dichas partículas de PVPP, teniendo al menos el 80% en peso de dichas partículas de PVPP un diámetro comprendido en el intervalo 5-150 μm ;
 - 10 d. filtrar el líquido fermentado que contiene las partículas de PVPP sobre un primer filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo 0,1-5 μm sin emplear un coadyuvante de filtración para producir un líquido fermentado clarificado y una primera fracción retenida que contiene partículas de PVPP;
 - e. combinar la primera fracción retenida con un líquido acuoso de regeneración para la desorción de los polifenoles y/o las proteínas de las partículas de PVPP, teniendo dicho líquido acuoso de regeneración un pH de al menos 10,0;
 - 15 f. filtrar la combinación de la primera fracción retenida y el líquido de regeneración sobre un segundo filtro de membrana que tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo 0,1-10 μm sin emplear un coadyuvante de filtración para producir una segunda fracción retenida que contiene partículas de PVPP regeneradas; y
 - 20 g. después de una refinación opcional adicional de las partículas de PVPP regeneradas contenidas en la segunda fracción retenida, volver a hacer circular las partículas de PVPP regeneradas a la etapa c;

en el que los componentes macromoleculares contenidos en la primera fracción retenida de la etapa d y/o retenidos en el segundo filtro en la etapa f, son degradados usando un agente degradante capaz de degradar las proteínas y/o los polifenoles, siendo dicho agente degradante seleccionado entre oxidantes, enzimas y sus combinaciones.

 - 25
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el primer filtro de membrana de la etapa d. se emplea como el segundo filtro de membrana en la etapa f.
 3. Procedimiento según la reivindicación 2, en el que las etapas e. y f. se llevan a cabo de manera concurrente.
 4. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que las etapas e. y f. se llevan a cabo de manera consecutiva.
 - 30 5. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que la etapa e. comprende la transferencia de la primera fracción retenida a un recipiente mezclador en el que se mezcla con el líquido de regeneración.
 6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el primer filtro de membrana tiene un tamaño de poro comprendido en el intervalo 0,2-1 μm .
 - 35 7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos el 80% en peso, preferentemente al menos el 95% en peso de las partículas de PVPP empleadas en el procedimiento son recuperadas en la segunda fracción retenida.
 8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que etapa e. comprende la combinación de la primera fracción retenida con el agente degradante.
 9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que el líquido de regeneración comprende el agente degradante.
 - 40 10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que agente degradante comprende un oxidante, preferentemente un oxidante seleccionado entre persulfatos, hipohalitos, peróxidos y sus combinaciones.
 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones, en el que el agente degradante comprende una enzima, preferentemente una enzima seleccionada entre proteinasas, enzimas degradantes de carbohidratos, polifenol oxidasas y sus combinaciones.
 - 45 12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la combinación del líquido fermentado y las partículas de PVPP se consigue mezclando el líquido fermentado con las partículas de PVPP.

13. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las partículas de PVPP se combinan con el líquido fermentado en una relación en peso de 1:100.000 a 1:100, preferentemente de 1:30.000 a 1:1.000.
- 5 14. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la primera fracción retenida contiene al menos 0,5 g/l, preferentemente 1-200 g/l de las partículas de PVPP.
15. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la levadura es eliminada de la primera fracción retenida antes o después de la combinación de la primera fracción retenida con el líquido acuoso de regeneración, sometiendo dicha primera fracción retenida o la combinación de la primera fracción retenida y el líquido acuoso de regeneración a separación por sedimentación.
- 10 16. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la segunda fracción retenida es refinada adicionalmente antes de la recirculación de las partículas de PVPP regeneradas mediante la eliminación de la levadura de dicha segunda fracción retenida por medio de separación por sedimentación.
17. Procedimiento según la reivindicación 13 o 14, en el que la técnica de separación por sedimentación empleada se selecciona entre separación por flotación y separación por medio de un hidrociclón.