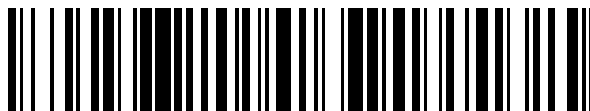


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 580 761**

21 Número de solicitud: 201530241

51 Int. Cl.:

A61K 36/22 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

25.02.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

26.08.2016

Fecha de concesión:

30.06.2017

45 Fecha de publicación de la concesión:

07.07.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA (100.0%)
Vicerrectorado de Investigación, Transferencia e
Innovación. Avda. de Elvas, s/n
06006 Badajoz (Badajoz) ES**

72 Inventor/es:

**CAVA LÓPEZ, Ramón;
CANTERO MENA, Víctor Jesús y
LADERO GARCÍA, Luis**

54 Título: **Procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango, extracto así obtenido y usos dados al mismo**

57 Resumen:

Procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango, extracto así obtenido y usos dados al mismo.

Se describe un procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango mediante un disolvente, al extracto obtenido por dicho procedimiento con características antioxidantes y a los usos dados al mismo en por ejemplo la conservación de alimentos.

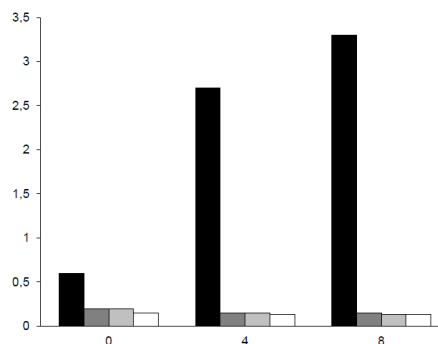


FIG. 1

ES 2 580 761 B1

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango, extracto así obtenido y usos dados al mismo

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango, al extracto obtenido por dicho procedimiento y a los usos dados al mismo.

ESTADO DE LA TÉCNICA

10 Son conocidos varios antioxidantes utilizados como protectores de alimentos. La protección frente al deterioro oxidativo de diversos tipos de alimentos es una preocupación patente en la industria alimentaria.

15 Como antioxidantes se vienen empleando en la industria alimentaria compuestos sintéticos como el butilhidroxitolueno o el butilhidroxianisol. Sin embargo, existe un creciente interés en la sustitución de estos antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturales, que presentan idénticos mecanismos de acción. La demanda a nivel mundial de antioxidantes naturales ha aumentado debido a las dudas sobre la seguridad de la comida. Además sustituir los aditivos sintéticos por aditivos alimentarios naturales puede presentar la ventaja de que estos últimos presentan ciertos beneficios para la salud. La mayor parte de los compuestos naturales con actividad antioxidante se encuentran en plantas y muchos de ellos son de naturaleza polifenólica.

20 Merecen particular atención las materias primas de origen residual de procesos agroindustriales que puedan servir como fuentes de antioxidantes. En este campo, se han considerado como materias primas algunos materiales como residuos de piel de patata, orujo de oliva, alpechines, pepitas de uva y bagazo de vino y pieles de uva.

30 El mango (*Magnifera indica*) es quizás uno de los frutos exóticos más conocidos y apreciados. Fruto carnoso cuyo peso varía de 150g a 2Kg con forma ovalada algo oblonga, obtusa por sus extremos; su piel es lisa y gruesa de color que varía desde el verde, amarillo con tonalidades rosadas, rojas o violetas donde recibe la luz directa del sol. Su pulpa es de color amarillo intenso rozando el anaranjado. Su hueso es fibroso y muchas veces penetra la pulpa. El mango es el tercer fruto tropical en términos de producción e importación a nivel mundial, inmediatamente situado tras el plátano y la piña tropical y el quinto de todos los frutos, siendo su producción mundial en 2011 de casi 39 millones de toneladas. Durante la

transformación del fruto se obtienen una serie de residuos no aprovechados por la industria alimentaria que representan el 40% del peso total del fruto, aproximados a las 24 mil toneladas por año, entre los que se encuentran las cáscaras (8%) y los huesos (32%).

- 5 Con todo ello adquiere un interés especial la obtención de un extracto que englobe todas estas características, que sea natural, que pertenezca a un cultivo industrializado, que se obtenga de una parte no aprovechada dentro de industria del mismo, que presente actividad antioxidante, que pueda ser aplicado en alimentos y que preserve a los alimentos en los que se incluye, de un deterioro oxidativo.

10

DESCRIPCIÓN

Los inventores han desarrollado un procedimiento para preparar un extracto de mango con un alto contenido en polifenoles el cual comprende una etapa de extracción con un disolvente. El extracto obtenido con el procedimiento de la invención presenta una alta actividad como antioxidante.

15

Por lo tanto un aspecto de la invención es el procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango que comprende las etapas de:

20

- a) triturar semillas de mango;
- b) añadir las semillas de mango trituradas obtenidas en la etapa a) en un disolvente seleccionado entre: agua, agua acidificada, un alcohol C₁₋₆ o mezclas de ellos;
- c) agitar la mezcla de semillas de mango trituradas y el disolvente;
- d) separar las dos fases formadas en la etapa c) y recoger el sobrenadante que comprende el extracto.

25

El segundo aspecto de la invención se refiere a un extracto de semillas de mango obtenido por el procedimiento de la invención.

30

Debido al alto contenido de polifenoles que comprende el extracto obtenido por el procedimiento de la invención el mismo es adecuado para su uso como antioxidante. Por tanto un tercer aspecto de la invención es el uso del extracto de la invención como antioxidante.

35

Como el origen es natural, el extracto de la invención con propiedades antioxidante es

especialmente útil para su uso en un producto alimentario cosmético o farmacéutico, para favorecer su conservación. Por ello un cuarto aspecto de la invención es un producto alimentario, cosmético o farmacéutico que comprende el extracto de la invención.

5 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 representa mg de malondialdehído (MDA)/ kg de muestra, frente a días de almacenamiento, del control (columna negra), de la muestra en extractos de semilla de mango siendo el disolvente de extracción (agua (columna gris oscura), etanol (columna gris claro) y agua:etanol 50:50 v/v (columna blanca).

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Como se ha dicho el primer aspecto de la invención es el procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango que comprende las etapas de:

- a) triturar semillas de mango;
- 15 b) añadir las semillas de mango trituradas obtenidas en la etapa a) en un disolvente seleccionado entre: agua, agua acidificada, un alcohol C₁₋₆ y mezclas de ellos;
- c) agitar la mezcla de semillas de mango trituradas y disolvente;
- d) separar las dos fases formadas en la etapa c) y recoger el sobrenadante que comprende el extracto.

20

La primera etapa es el triturado de las semillas de mango hasta la obtención de partículas de un tamaño comprendido en 0,1mm y 10mm. Estas semillas pueden ser el subproducto de una industria dedicada al mango o se puede partir del propio mango en cuyo caso la semilla se obtendrá mediante medios manuales o mecánicos a partir como hemos dicho del fruto del mango, tras su pelado, diferenciación del hueso y la pulpa, extracción de la semilla tras la fragmentación del hueso y retirada de las partes fibrosas.

25

El término "alcohol C₁₋₆" como se utiliza aquí se refiere a un alcohol que puede tener de un carbono a seis carbonos en una cadena lineal o ramificada, con al menos una función hidróxido.

30

El término "polifenoles" se refiere a compuestos aromáticos que comprenden al menos dos grupos hidroxifenólicos en la molécula. Dentro de este grupo de compuestos se incluyen los flavonoides, grupo heterogéneo de polifenoles vegetales que comparten una estructura de benzopirano. Los principales flavonoides con actividad antioxidantes son (+)-catequina, (-)-

35

epicatequina,

(-)-epigallocatequina y los correspondientes ésteres del ácido gálico, galato de (-)-epicatequina y galato de (-)-epigallocatequina.

- 5 El sobrenadante que comprende el extracto de semillas de mango puede presentar alguna impureza y por lo tanto en una realización preferente el sobrenadante obtenido en la etapa d) se filtra, en la etapa e).

10 En una materialización particular el procedimiento comprende una etapa f) de destilación del sobrenadante obtenido en la etapa d) o tras la etapa e) del filtrado.

En una materialización particular el procedimiento comprende una etapa de liofilización del sobrenadante obtenido en la etapa d) o el filtrado de la etapa e) o el destilado de la etapa f).

- 15 Las proporciones utilizadas de semilla:disolvente pueden modificarse a fin de obtener extractos con mayor o menor concentración y por tanto con diferente actividad antioxidante. Preferentemente la relación entre las semillas de mango picadas y el disolvente está comprendida entre 1:50 (peso:volumen) y 1:2 (peso:volumen). En una materialización particular la proporción semilla:disolvente es de 1:10 (peso:volumen).

20 Igualmente la utilización de uno u otro disolvente influye en la cantidad de compuestos extraídos así como en el tipo de compuestos con actividad antioxidante que se obtiene debido a las características de los mismos y su afinidad por el disolvente. Preferentemente el disolvente seleccionado en la etapa c) es una mezcla de agua y un alcohol C₁₋₆. En una
25 materialización particular el disolvente seleccionado en la etapa b) es una mezcla de agua y etanol.

En una materialización preferentemente la relación entre el agua y el alcohol C₁₋₆ está comprendida entre 40:60 v/v y 60:40 v/v.

- 30 Las condiciones de temperatura, tiempo, y exposición de la luz en la etapa c) pueden ajustarse en un rango en el que la obtención de compuestos con actividad antioxidante sea óptima evitando la degradación. Preferentemente la etapa c) se realiza a una temperatura comprendida entre los 20°C y los 28°C y en condiciones de oscuridad y durante un tiempo
35 de 30 min a 210 min. En una materialización particular la temperatura es de 25°C y el

tiempo es de dos horas.

Como se ha dicho un segundo aspecto de la invención se refiere a un extracto de semillas de mango obtenido por el procedimiento de la invención. En una materialización preferente el extracto de la invención presenta un contenido en compuestos fenólicos totales comprendido entre 12 mg Eq ácido gálico/g de muestra y 40 mg Eq ácido gálico/g de muestra. Preferentemente entre 30 y 40 mg Eq ácido gálico/g de muestra. En una materialización preferente el extracto de la invención presenta un contenido en compuestos flavonoides comprendido entre 2 mg Eq catequina/g de muestra y 3,5 mg Eq catequina /g de muestra. Preferentemente entre 2,5 y 3,5 mg Eq catequina /g de muestra.

Como ya se ha dicho el cuarto aspecto de la invención es un producto alimentario, cosmético o farmacéutico que comprende el extracto de la invención. La aplicación del extracto de la invención se realiza por incorporación directa en la formulación o mediante dispersión del extracto sobre el producto alimentario, cosmético o farmacéutico o cualquier otro método que permita la correcta distribución del extracto y su acción antioxidante. La concentración de extracto a utilizar vendrá determinada por factores propios del extracto (capacidad antioxidante) así como los atribuibles al producto tales como tipo de producto, contenido y tipo de grasa, concentración en anti y prooxidantes, etc. Igualmente se deberá tener en cuenta los procesos tecnológicos que puedan llevarse a cabo tras la adición del extracto así como las características del producto.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Obtención del extracto de la semilla de mango (*Magnifera indica*) mediante la utilización de mezcla de disolventes.

Para obtener el extracto se partió de fruto de mango de venta al público adquiridos en una superficie comercial. Con la ayuda de un cuchillo se procedió a la separación del hueso del mango el cual fue fracturado para obtener su semilla. Las semillas obtenidas fueron desmenuzadas mediante triturado en picadora convencional. La extracción de compuestos con propiedades antioxidantes se realizó mediante la utilización de dos disolventes y la mezcla de ambos. Así, se utilizó agua destilada, etanol y una mezcla de agua:etanol en proporción 50:50 (vol:vol), que dieron lugar a tres extractos distintos. La proporción 1:10 (g:mL) de semilla y disolvente presentó los mejores resultados en experiencias previas por

lo que fue la que se utilizó. Las mezclas de disolvente y semilla se mantuvieron en agitación durante dos horas a una temperatura controlada de 25°C en condiciones de luminosidad reducida. Una vez transcurrido el tiempo de agitación se procedió a la separación de las fases mediante centrifugación obteniéndose dos fases perfectamente diferenciadas. La fase sobrenadante fue filtrada a través de filtro de papel Whatman nº 54 y conservada en recipiente opaco a temperatura de refrigeración.

Ejemplo 2. Caracterización de tres extractos de la semilla de mango (*Magnifera indica*) mediante la cuantificación de su contenido en fenoles totales.

La cuantificación de fenoles totales de los extractos de semilla de mango se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Singleton y cols., (1999). 50µL de cada uno de los extractos fueron depositados en un pocillo de placa microtiter al que se añadieron 20µL del reactivo de Folin-Cicalteau y 50µL de carbonato de sodio al 20% (p/v). La mezcla se incubó durante una hora a temperatura ambiente, tras lo cual se midió la absorbencia a 765nm frente a un blanco donde se sustituyó la muestra por agua destilada. La cuantificación de las medidas se realizó frente a una curva patrón de ácido gálico. Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico y quedan reflejados en la tabla 1.

Tabla 1. Contenido en compuestos fenólicos totales (mg Eq ácido gálico/g de muestra) de extractos (agua, agua:etanol 50:50 v/v, etanol) de semilla de mango.

Solvente de extracción	Compuestos fenólicos totales
Agua	13,6 c ±0,7
Agua:etanol 50:50 v/v	38,6 a ±1,2
Etanol	27,0 b ±1,4

p<0,001; N=8 determinaciones; a, b, c: En la misma columna medias con letras diferentes implican diferencias estadísticamente significativas (Test de Tukey, p<0,05).

Ejemplo 3. Caracterización de tres extractos de la semilla de mango (*Magnifera indica*) mediante la cuantificación de su contenido en flavonoides.

La cuantificación del contenido en flavonoides de los extractos obtenidos de la semilla de mango (*Magnifera indica*) se realizó siguiendo el método propuesto por Zhishen y cols., (1999). Este procedimiento se basa en la formación de quelatos entre AlCl₃ y flavonoides de

la muestra, que presentan una coloración rosada. Así, 400µL de muestra se depositaron en tubo de ensayo a los que se añadieron 60µL de NaNO₂ al 10%, 60µL de AlCl₃ al 20% y 400µL de NaOH 1M. Tras agitación se midió su absorbencia a 510 nm.

- 5 La cuantificación de las medidas realizadas se realizó frente a una curva patrón de catequina. Los resultados se expresaron en mg de catequina equivalente por gramo de muestra y quedan reflejados en la tabla 2.

10 Tabla 2. Contenido en flavonoides (mg Eq. catequina /g de muestra) de extractos (agua, agua:etanol 50:50 v/v, etanol) de semilla de mango.

Solvente de extracción	Compuestos fenólicos
Agua	2,1 c ± 0
Agua:etanol 50:50 v/v	3,0 a ± 0,2
Etanol	2,4 b ± 0,3

p<0,001; N=8 determinaciones; a, b, c: En la misma columna medias con letras diferentes implican diferencias estadísticamente significativas (Test de Tukey, p<0,05)

15 La evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos de semilla de mango se realizaron siguiendo dos metodologías de reducción de radicales sintéticos, método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) y método ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)*), como se muestra en los ejemplos 4 y 5. En estas pruebas se evidencia el poder antioxidante de la muestra mediante cambios en la coloración de una solución que contenga un radical susceptible de ser reducido. En ambos casos, la respuesta obtenida se extrapola a una curva de calibración con Trolox por lo que los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox).

25 Ejemplo 4. Evaluación de la capacidad antioxidante de tres extractos de semilla de mango mediante la utilización del radical ABTS

Se siguió el método propuesto por Re y cols. (1999). Así, se obtuvo el radical ABTS a partir de la mezcla a partes iguales de una solución de ABTS 7nM y persulfato potásico 2,45nM. Esta solución se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas en condiciones de oscuridad para la generación del radical. La solución se diluyó con etanol para obtener una

absorbancia de 0,7 ($\pm 0,1$) a 734nm. 245 μ L de la disolución con el radical ABTS se depositaron en un pocillo de una placa microtiter y se midió su absorbancia a 734nm. A continuación se añadieron 5 μ L del extracto a ensayar y, transcurrido un minuto, se repitió la medida a 734nm. Los resultados obtenidos se enfrentaron a una curva de calibración de Trolox. Los resultados se expresaron como mg TEAC/g muestra y quedan reflejados en la tabla 3.

Tabla 3. Capacidad antioxidante medida por el método ABTS (mg TEAC/g de muestra) de extractos (agua, agua:etanol 50:50 v/v, etanol) de semilla de mango.

Solvente de extracción	ABTS
Agua	42,2 c $\pm 2,8$
Agua:etanol 50:50 v/v	56,7 b $\pm 2,5$
Etanol	68,9 a $\pm 3,6$

$p < 0,001$; N=8 determinaciones; a, b, c: En la misma columna medias con letras diferentes implican diferencias estadísticamente significativas (Test de Tukey, $p < 0,05$).

Ejemplo 5. Evaluación de la capacidad antioxidante de tres extractos de semilla de mango mediante el método FRAP

Este método propuesto por Benzie y Strain (1996), determina la capacidad de reducción férrica que tiene una muestra a pH bajo, transformando el complejo de tripiridiltriazina (TPTZ) con hierro (III) a su forma ferrosa. Así, se preparó el reactivo FRAP a partir de 2,5ml de una solución TPTZ 10mM junto con 2,5mL de una solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20mM y 25 mL de tampón acetato 0,3mM y pH 3,6. Se realizó una lectura de absorbancia a 593nm de 200mL del reactivo FRAP a los que se añadieron posteriormente 7 μ L de muestra realizándose medidas de absorbancia transcurridos 4 y 30 minutos. Los resultados obtenidos se enfrentaron a una curva de calibración de Trolox. Los resultados se expresaron como mg TEAC/g muestra y quedan reflejados en la tabla 4.

Tabla 4. Capacidad antioxidante medida por el método FRAP (4min y 30min) (mg TEAC/g de muestra) de extractos (agua, agua:etanol 50:50 v/v, etanol) de semilla de mango.

Solvente de extracción	FRAP 4min	FRAP 30min
Agua	25,1 c $\pm 2,8$	35,2 c $\pm 1,7$
Agua:etanol 50:50 v/v	56,2 a $\pm 1,9$	82,3 a $\pm 3,9$
Etanol	42,5 b $\pm 2,1$	59,0 b $\pm 3,1$

p<0,001; N=8 determinaciones; a, b, c: En la misma columna medias con letras diferentes implican diferencias estadísticamente significativas (Test de Tukey, p<0,05)

5 El extracto obtenido siguiendo lo dispuesto en la presente invención ha mostrado su eficacia como agente antioxidante en la incorporación sobre productos alimentarios.

10 La incorporación de tres extractos de semilla de mango, obtenidos mediante tres disolventes, sobre un producto cárnico de pollo, se mostró eficaz frente a fenómenos oxidativos como la cocción. El ejemplo 6 muestra el estudio comparativo que evaluó la evolución del contenido mediante el método del índice del ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) en un producto de pollo con extracto añadido frente a un producto sin extracto en su formulación.

15 Ejemplo 6. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de semilla de mango incorporados en la formulación de un producto cocido de pollo.

20 Se preparó un producto de pollo a partir de pechugas obtenidas en un establecimiento de venta al público. La formulación utilizada contenía 79% de carne picada, 18% de agua, 1% de sal y 2% de cada uno de los extractos con respecto al peso final. Se utilizaron los extractos de agua, etanol y agua:etanol (50:50 v/v) y un control sin extracto añadido. La mezcla se distribuyó en tubos de plástico con aproximadamente 30g en cada tubo. Los tubos se introdujeron en agua caliente hasta obtener una temperatura en el centro de la mezcla de 72°C y se mantuvieron durante 30min para obtener un producto cocido. Posteriormente, las muestras se enfriaron en hielo y se almacenaron a 4°C durante 8 días.

25 La cuantificación de los procesos oxidativos se realizó mediante el método del índice del ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) descrito por Salih y cols. (1987) que mide el contenido en ciertos productos secundarios derivados de la oxidación lipídica como el malondialdehído (MDA). Así, se tomaron 2g de muestra y se homogenizaron con 7,5mL de ácido perclórico 3,86%. 2mL de homogenizado se mezclaron con 2mL de TBA 0,02M y se calentó la mezcla a 90°C durante 30 minutos. Posteriormente se tomó una alícuota para medir su absorbencia a 532nm frente a un blanco. Los resultados obtenidos se enfrentaron a una curva de calibración de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP). Los resultados se expresaron como mg de MDA/Kg muestra y quedan reflejados en la figura 1.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango que comprende las etapas de:
- 5 a) triturar semillas de mango;
- b) añadir las semillas de mango trituradas obtenidas en la etapa a) en un disolvente seleccionado entre: agua, agua acidificada, un alcohol C₁₋₆ y mezclas de ellos;
- c) agitar la mezcla de semillas de mango trituradas y disolvente;
- 10 d) separar las dos fases formadas en la etapa c) y recoger el sobrenadante que comprende el extracto.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, donde el sobrenadante obtenido en la etapa d) se filtra en una etapa e).
- 15 3. Procedimiento según reivindicaciones 1-2, que comprende una etapa f) de destilación del sobrenadante obtenido en la etapa d) o tras la etapa e) del filtrado.
4. Procedimiento según reivindicaciones 1-3, que comprende una etapa de liofilización g) del sobrenadante obtenido en la etapa d) o el filtrado de la etapa e) o el destilado de la etapa f).
- 20 5. Procedimiento según reivindicaciones 1-4 donde en la etapa a) las semillas de mango se tritura hasta obtener un tamaño de partícula comprendido entre 0,1mm y 10mm.
6. Procedimiento según reivindicaciones 1-5 donde la relación entre las semillas de mango trituradas y el disolvente está comprendida entre 1:50 (peso:volumen) y 1:2 (peso:volumen).
- 25 7. Procedimiento según reivindicaciones 1-6 donde el disolvente seleccionado en la etapa b) es una mezcla de agua y un alcohol C₁₋₆.
- 30 8. Procedimiento según reivindicación 7 donde la relación entre el agua y el alcohol C₁₋₆ está comprendida entre 40:60 v/v y 60:40 v/v.
9. Procedimiento según las reivindicaciones 7-8 donde el disolvente seleccionado en la etapa b) es una mezcla de agua y etanol.
- 35

10. Procedimiento según las reivindicaciones 1-6 donde la etapa c) de agitación se realiza a una temperatura comprendida entre los 20°C y los 28°C, en condiciones de oscuridad y durante un tiempo de 30 min a 210 min.

5 11. Extracto de semillas de mango obtenido por el procedimiento descrito en las reivindicaciones 1-10

12. Extracto de semillas de mango según reivindicación 11, que tiene un contenido en fenoles totales comprendido entre 12 y 40 mg Eq ácido gálico/g de muestra.

10

13. Extracto de semillas de mango según reivindicación 11-12 que tiene un contenido en flavonoides comprendido entre 2 y 3,5 mg Eq catequina /g de muestra.

14. Uso del extracto según cualquiera de las reivindicaciones 11-13 como antioxidante.

15

15. Producto alimentario, cosmético o farmacéutico que comprende el extracto de las reivindicaciones 11-13.

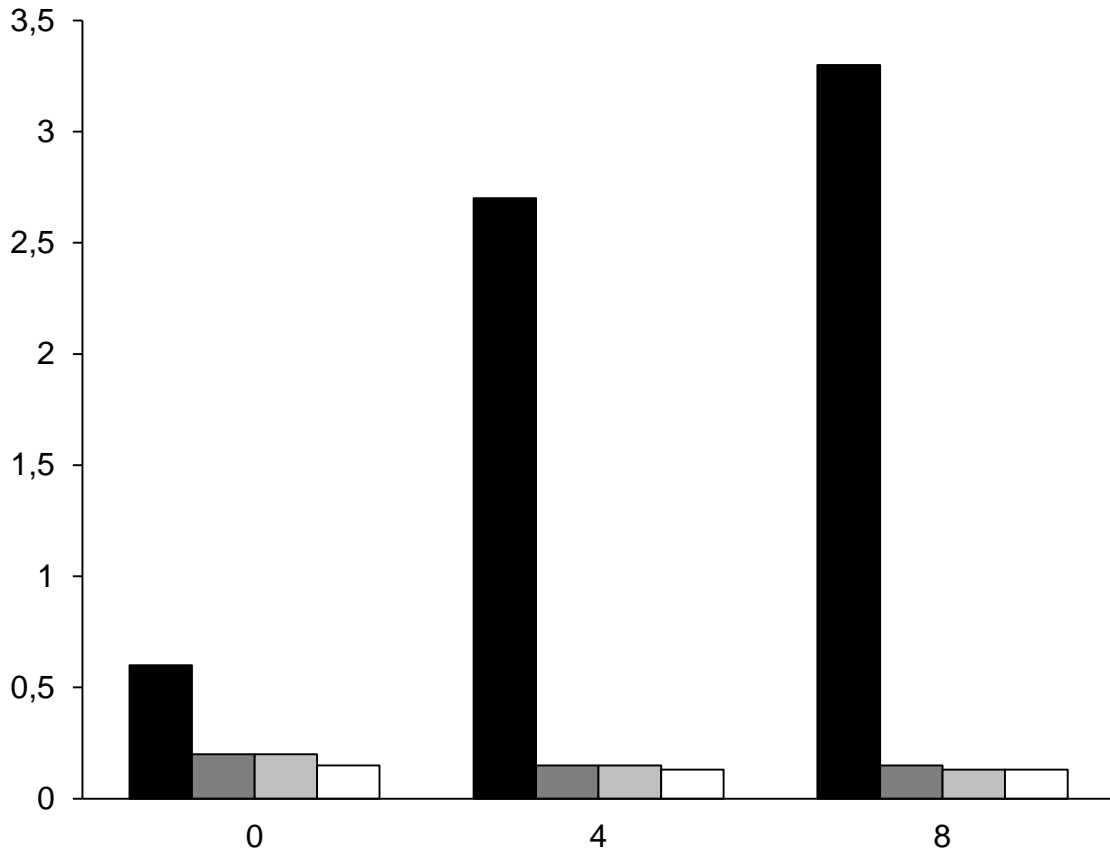


FIG. 1



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②¹ N.º solicitud: 201530241

②² Fecha de presentación de la solicitud: 25.02.2015

③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤¹ Int. Cl.: **A61K36/22** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	NITHITANAKOOL SARUTH et al. Antioxidant and Hepatoprotective Activities of Thai Mango Seed Kernel Extract. <i>Planta Medica</i> . 2009. VOL: 75 No: 10 Págs: 1118-1123, páginas 1118 y 1119.	1-4, 6,9,11,12,14
Y		1,7,8,11,13
Y	DORTA EVA et al. Reutilization of Mango Byproducts: Study of the Effect of Extraction Solvent and Temperature on Their Antioxidant Properties. <i>Journal of Food Science</i> . 2012 VOL: 77 No: 1 Págs: C80-C88, páginas 80 y 84.	1,7,8,11,13
X	ABDALLA et al. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. <i>FOOD CHEMISTRY</i> . 2007. VOL: 103 No: 4 Págs: 1141-1152, páginas 1141 y 1142.	1-3,5,6,10,11,14,15

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
08.06.2015

Examinador
I. Rueda Molíns

Página
1/5

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

A61K

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, BIOSIS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 08.06.2015

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-15	NO

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 se publica.

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	NITHITANAKOOL SARUTH et al. Antioxidant and Hepatoprotective Activities of Thai Mango Seed Kernel Extract. <i>Planta Medica</i> . VOL: 75 No: 10 Págs: 1118-1123, páginas 1118 y 1119.	2009
D02	DORTA EVA et al. Reutilization of Mango Byproducts: Study of the Effect of Extraction Solvent and Temperature on Their Antioxidant Properties. <i>Journal of Food Science</i> . VOL: 77 No: 1 Págs: C80-C88, páginas 80 y 84.	2012
D03	ABDALLA et al. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. <i>FOOD CHEMISTRY</i> . VOL: 103 No: 4 Págs: 1141-1152, páginas 1141 y 1142.	2007

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**NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA (artículos 6 y 8 de la LP11/86)**

En las reivindicaciones 1-10, de la solicitud de patente, se reivindica un procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango que comprende las siguientes etapas: a) triturar las semillas de mango hasta obtener un tamaño de partícula comprendido entre 0,1 mm y 10 mm; b) añadir las semillas de mango trituradas obtenidas en la etapa a) en un disolvente (seleccionado entre: agua, agua acidificada, un alcohol C₁₋₆ y mezcla de ellos); c) agitar la mezcla de semillas de mango trituradas y el disolvente a una temperatura comprendida entre los 20°C y los 28°C en condiciones de oscuridad y durante un tiempo de 30 min a 210 min; d) separar las dos fases formadas en la etapa c) y recoger el sobrenadante que comprende el extracto; e) filtrar el sobrenadante obtenido en la etapa anterior; f) destilar el sobrenadante obtenido en la etapa d) o tras la etapa e) del filtrado; g) liofilizar el sobrenadante obtenido en la etapa d) o el filtrado de la etapa e) o el destilado de la etapa f). La relación entre las semillas de mango trituradas y el disolvente está comprendida entre 1:50 (peso:volumen) y 1:2 (peso:volumen) y la relación entre el agua y el alcohol C₁₋₆ está comprendida entre 40:60 v/v y 60:40 v/v.

En las reivindicaciones 11-13, de la solicitud de patente, se reivindica un extracto de semillas de mango obtenido por el procedimiento anteriormente mencionado que presenta un contenido en fenoles totales comprendido entre 12 y 40 mg Eq ácido gálico/g de muestra y un contenido en flavonoides comprendido entre 2 y 3,5 mg Eq catequina/g de muestra.

En la reivindicación 14, de la solicitud de patente, se reivindica el uso del extracto anteriormente mencionado como antioxidante.

En la reivindicación 15, de la solicitud de patente, se reivindica un producto alimentario, cosmético o farmacéutico que comprende el extracto reivindicado.

El documento D01 refleja (ver figura 1 de la página 1119) un procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango que emplea etanol como disolvente, donde la relación entre las semillas de mango y el disolvente es de 1:2 (peso/volumen). El extracto de semillas de mango presenta propiedades antioxidantes y ácido gálico como uno de sus constituyentes principales (ver resumen de la página 1118 y figura 2 de la página 1119). En el procedimiento de obtención del extracto de semillas de mango (ver figura 1 de la página 1119) después de añadir a las semillas de mango el disolvente se procede a la homogenización de la mezcla, la filtración del sobrenadante, la evaporación del disolvente y finalmente la liofilización del producto. Por ello, teniendo en cuenta la información divulgada en el documento D01, las reivindicaciones 1-4, 6, 9, 11, 12 y 14 presentan novedad pero no actividad inventiva, según lo establecido en los artículos 6 y 8 de la LP11/86.

En el documento D01 no se divulga el uso del etanol mezclado con agua. Este aspecto si está reflejado en el documento D02 (ver resumen de la página 80) que muestra el empleo de etanol y agua en una proporción [1:1] en el procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango y el contenido total de flavonoides (ver la tabla 2 de la página 84) que presenta el extracto obtenido de este modo. Por ello, teniendo en cuenta la información divulgada en los documentos D01 y D02 las reivindicaciones 1, 7, 8, 11 y 13 presentan novedad pero no actividad inventiva, según lo establecido en los artículos 6 y 8 de la LP 11/86.

El documento D03 indica (ver el resumen de la página 1141) como el extracto de semillas de mango puede ser aplicado a alimentos como antioxidante. En el procedimiento de obtención de un extracto de semillas de mango, que se divulga en el documento D03 (ver el apartado de materiales y métodos de la página 1142) las semillas de mango son trituradas, seguidamente se adiciona como disolvente el metanol, en una relación de 1:2 peso de semillas de mango trituradas/metanol. A continuación se agita la mezcla obtenida durante la noche, a una temperatura de 20°C, en condiciones de oscuridad. Finalmente se realiza una etapa de filtrado y evaporación del metanol empleado. Por ello, teniendo en cuenta la información divulgada en el documento D03, las reivindicaciones 1-3, 5, 6, 10, 11, 14 y 15 presentan novedad pero no actividad inventiva, según lo establecido en los artículos 6 y 8 de la LP 11/86.

Por tanto las reivindicaciones 1-15 de la solicitud de patente presentan novedad, pero no actividad inventiva, según lo establecido en los artículos 6 y 8 de la LP11/86.