

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 630 764**

51 Int. Cl.:

C08B 37/08 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

C08J 3/12 (2006.01)

C08L 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2015 E 15165315 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016 EP 2940045**

54 Título: **Proceso para la producción de agregados de quitosano solubles**

30 Prioridad:

28.04.2014 IT MI20140778

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

23.08.2017

73 Titular/es:

**BIOENOL S.R.L. (100.0%)
Via Cantarana 25
27043 San Cipriano Po (PV), IT**

72 Inventor/es:

**MAINI, MICHELE y
BENEVENTO, GIANPAOLO**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 630 764 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

Proceso para la producción de agregados de quitosano solubles

5 La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de agregados de quitosano mediante granulación en lecho fluido. Dichos agregados se caracterizan por que son solubles instantáneamente en agua, incluso cuando el agua está fría, sin la ayuda de agitación o más tratamientos físicos y/o mecánicos.

Antecedentes en la técnica

10 El quitosano es un polisacárido lineal compuesto de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, unido a través de enlaces $\beta(1-4)$.

15 El quitosano se utiliza en varios campos de la técnica, y se puede obtener mediante el tratamiento de la quitina con una solución acuosa básica a altas temperaturas. En términos generales, el quitosano se clasifica como de origen animal, generalmente se obtiene del exoesqueleto de los crustáceos (cangrejos, gambas, etc.), o de origen fúngico, obtenido por ejemplo de la especie *Aspergillus niger* y *Agaricus bisporus*.

20 Uno de los principales usos del quitosano se basa en su capacidad para flocular lípidos y proteínas, debido a que es capaz de actuar como policatión en soluciones ácidas. De esta manera, el quitosano forma complejos con moléculas cargadas negativamente presentes en la solución, o en estado coloidal, e induce la floculación de los mismos.

25 En la industria alimentaria, también se ha estudiado el quitosano y varios derivados del mismo para una serie de actividades que incluyen, entre otras, las antimicrobianas, antioxidantes y nutricionales. Las posibles aplicaciones de la quitina, el quitosano y sus derivados por lo tanto, son muchas, incluyendo la bioconversión para la producción de productos alimenticios de valor añadido, la conservación de alimentos contra el deterioro microbiano, la formación de películas biodegradables, la recuperación de material de desecho de las aguas residuales, la purificación de agua y la aclaración y desacidificación de zumos de fruta, mostos y vinos. También se ha sugerido una aplicación de este polisacárido en el campo enológico, ya que se ha demostrado que el quitosano tiene una gran afinidad por los compuestos fenólicos implicados en el fenómeno de oscurecimiento de los vinos blancos y que su uso, en términos de perfil de sedimentación, sería compatible con las técnicas y equipos que se utilizan actualmente en las prácticas de vinificación.

30 El uso del quitosano fúngico en la elaboración del vino puede tener una aplicación, sobre todo, como agente antibacteriano y bacteriostático, en particular contra la levadura *Brettanomyces bruxellensis*.

35 Hasta la fecha, la mayoría de composiciones de alimentos antibacterianos a base de quitosano en enología se han caracterizado por su baja solubilidad, por lo que a veces pueden ser necesarios los largos tiempos de contacto entre el quitosano y el vino con el fin de que sea capaz de proporcionar la acción bacteriostática deseada. Por otra parte, una vez más en el campo enológico, de acuerdo con los reglamentos de la UE y la OIV (Organización Internacional de la Viña y el Vino), se permite el uso de quitosano sólo si es de origen fúngico. También hay procesos conocidos para la preparación de quitosano en formas solubles, que comprenden etapas en la fase líquida y los tratamientos de atomización posteriores (véase, por ejemplo el documento WO2009/123713A1 y la patente de Estados Unidos 6255085).

40 Los solicitantes ahora han descubierto un proceso para la preparación de quitosano soluble por agregación con ácidos en un granulador de lecho fluido. De esta manera, el producto obtenido se puede utilizar convenientemente, por ejemplo, en enología como agente bactericida para el tratamiento del vino, evitando los problemas de solubilidad derivados de la utilización de productos similares conocidos en la técnica.

45 Sumario de la invención

50 En un primer aspecto, la invención se refiere a un proceso para la preparación de agregados de quitosano solubles instantáneamente en agua fría por granulación en lecho fluido, dicho proceso que comprende el contacto entre quitosano y un ácido orgánico en presencia de un líquido de granulación acuoso.

55 El ácido utilizado en el presente proceso puede ser sólido o líquido. En el primer caso, se mezcla previamente con quitosano y luego se somete al contacto con el líquido de granulación en el interior del granulador de lecho fluido; en el último caso, por el contrario, el ácido en forma líquida se mezclará de forma adecuada con agua (que forma un líquido de granulación acuoso ácido) y luego se pone en contacto con quitosano sólido en el interior del granulador de lecho fluido.

Descripción de la figura

65 Figura 1: pH/tendencia temporal de una solución acuosa que contiene el agregado de quitosano de la invención y de una mezcla de quitosano/ácido preparado por mezcla mecánica de los dos componentes. El pH tiende a aumentar a

medida que se disuelve el quitosano básico. En el caso de la mezcla mecánica de los polvos, el pH alcanza un valor constante no antes de después de 18-21 minutos. En el caso del producto granular de la invención, después de 12 minutos, el pH ya no varía apreciablemente, un signo de la solubilización completa del quitosano.

5 Descripción detallada

10 "soluble instantáneamente en agua fría" significa que el agregado de quitosano obtenido a partir del presente proceso es capaz de disolver sin dejar residuos sustanciales o sedimento en líquidos acuosos, a temperatura ambiente (es decir, en el intervalo de aproximadamente 15 °C a 40 °C) o incluso menor, incluso sin la ayuda de tratamientos de agitación o físicos en general.

15 El presente proceso permite que el quitosano de partida (insoluble) se convierta un derivado granular final, muy soluble en agua, incluso cuando el agua está fría, usando un granulador de lecho fluido que opera en condiciones de humedad y temperatura controladas en presencia de un ácido y un líquido de granulación acuosa.

20 El proceso de la invención se puede llevar a cabo utilizando, por ejemplo, un granulador de lecho fluido del tipo conocido en la técnica. En general, dicho aparato comprende una cámara de granulación, un sistema para pulverizar el líquido de granulación, una bomba para regular el flujo de aire o gas inerte, y un sistema para la recogida del producto granular final obtenido.

25 El presente proceso se puede aplicar tanto al quitosano de origen fúngico como al de origen animal. Preferentemente, el quitosano utilizado en el proceso de la invención es de origen fúngico, por ejemplo, un quitosano disponible en el mercado. Ventajosamente, los solicitantes ahora han descubierto que es posible obtener un derivado de quitosano en forma de agregados que también se pueden utilizar en enología, como agente antibacteriano. En el campo enológico, de hecho, solo se permite el uso de quitosano de origen fúngico, en lugar del de origen animal.

30 El presente proceso se presta a la preparación de agregados de quitosano para su uso, preferentemente, como agente bactericida contra la levadura *Brettanomyces bruxellensis*.

35 En una realización, el ácido usado está en forma sólida. En este caso, el proceso de la invención comprende una premezcla íntima de los polvos de quitosano sólidos y el ácido, seguido por el contacto en el granulador de lecho fluido con un líquido de granulación adecuado, preferentemente agua. Normalmente, el ácido está en forma de polvo o cristales.

40 En una realización adicional, el ácido está en forma líquida. En este caso, el presente proceso comprende la formación del producto agregado poniendo en contacto el quitosano de partida con un líquido de granulación en forma de solución acuosa del ácido seleccionado. Preferentemente, dicha solución acuosa ácida tiene una concentración comprendida entre aproximadamente el 5 y el 50 %, preferentemente entre aproximadamente el 10 y el 25 %.

45 La cantidad de ácido puede variar de aproximadamente 0,5 a 1,5 partes en peso (pep) con relación al quitosano, normalmente en función del tipo de ácido utilizado. En el caso de ácidos sólidos, la cantidad utilizada preferentemente es de 1:1 partes en peso, mientras que en el caso de los ácidos líquidos aproximadamente es de 0,8:1 partes en peso.

50 En cualquier caso, las cantidades de ácido y agua son tales que el gránulo alcanza un pH final inferior a 5, preferentemente inferior a 4. Los ácidos preferidos se seleccionan entre: ácido ascórbico, láctico, tartárico, acético, succínico, fórmico, propiónico, cítrico, málico y ácido butírico y mezclas de los mismos.

Los ácidos en forma sólida o mezclas de sólido/líquido son particularmente preferidos, más preferentemente incluso seleccionados entre: ácido cítrico, ascórbico, láctico, tartárico y mezclas de los mismos.

55 El solicitante de hecho ha descubierto que cuando el proceso de granulación de la invención se lleva a cabo en un granulador de lecho fluido bajo condiciones de humedad controlada usando uno de estos últimos ácidos, es posible utilizar el ácido mientras permanece dentro de los límites establecidos por la normativa vigente, sin alterar significativamente el perfil de ácidos de la bebida a tratar. Además, estos ácidos no son peligrosos ni corrosivos para las personas o el equipo en las condiciones normales de uso descritas.

60 En el lecho fluido, el componente sólido que comprende quitosano y posiblemente un ácido se suspende usando un chorro de aire o gas inerte, de acuerdo con métodos conocidos por la persona experta en la técnica y típico de dicho aparato. En términos generales, el flujo en el interior del granulador es un flujo de aire o un gas inerte. En ambos casos, la presión del flujo preferentemente está comprendida entre aproximadamente 2 y 5 atmósferas (202-506 kPa).

65

El líquido de granulación acuoso preferentemente se selecciona entre: agua desionizada o destilada. En el presente proceso, el líquido seleccionado se utiliza a una temperatura comprendida entre aproximadamente 20 °C y 50 °C, preferentemente entre aproximadamente 20 °C y 30 °C.

5 El líquido se puede pulverizar en forma de microgotas a una velocidad comprendida entre aproximadamente 300 a 1500 cc/min, preferentemente de 300 a 750 cc/min. La cantidad de líquido está compuesta de aproximadamente 15,0 a 35,0 l/50 kg de quitosano, preferentemente compuesta de aproximadamente 20 a 30 cc/50 kg de quitosano.

10 En el interior del granulador de lecho fluido, después de que ha tenido lugar el contacto entre el quitosano y el ácido (tanto si éste se mezcla previamente en forma sólida o se disuelve en agua para formar el líquido de granulación ácido), los gránulos formados se secan por suspensión al aire o flujo de gas inerte, preferentemente a una temperatura comprendida entre aproximadamente 35 °C y 60 °C, a fin de obtener una humedad final del gránulo que comprende desde aproximadamente el 4 % al 10 % en peso con respecto al peso total del gránulo.

15 Debido a las condiciones experimentales anteriores, es posible llevar a cabo el proceso de granulación de la invención de tal manera que las partículas de ácido y el quitosano, en presencia del líquido de granulación acuoso, se vuelvan ligeramente pegajosas y adquieran características físicas tales como la capacidad de formar agregados solubles finales.

20 Además de los componentes especificados anteriormente, en el reactor pueden estar presentes otros aditivos, como por ejemplo: celulosa, derivados de levadura (levadura inactiva, pared celular de levadura, extracto de levadura, manoproteínas), proteínas animales (albúmina, caseína, gelatina), proteínas vegetales (proteínas del guisante o de la patata), goma arábiga, maltodextrina, almidones naturales o modificados, glucomananos (goma Konjak), galactomananos (algarrobo, goma de tara o guar) y similares.

25 En estos casos, el agregado de quitosano final también comprende una cierta cantidad de dicho(s) aditivo(s). Normalmente, los aditivos se utilizan para mejorar y/o acelerar el proceso de dispersión en agua, y también pueden tener efectos sinérgicos con la acción del producto en la bebida.

30 Al final del proceso, el producto de quitosano granular se acumula en la parte inferior del granulador y se puede recuperar fácilmente.

35 Los tamaños de partícula de los agregados obtenidos están comprendidos entre aproximadamente 100 µm (micrómetros) y 500 µm, preferentemente entre aproximadamente 200 y 400 µm, y aún más preferentemente entre aproximadamente 250 y 350 µm.

La distribución del tamaño de partícula de los agregados se mide por medio de una serie específica de tamices dispuestos en una pila, en el que la abertura de la malla disminuye progresivamente de arriba a abajo.

40 La pila de tamices empleada pertenece a la serie ASTM, y cada tamiz tiene una altura de 50 mm. Cada tamiz se pesa previamente en una balanza analítica con una sensibilidad de 0,01 g.

45 La cantidad de cada muestra se ajusta aproximadamente a 25 g y, posteriormente, se pone dentro del tamiz "más alto" (es decir, el que tiene las aberturas más grandes); toda la pila se somete a la acción de un agitador mecánico durante un periodo de 5 minutos, con el fin de obtener una detección completa del material.

Posteriormente, cada tamiz se pesa y se hace una determinación de cada fracción única mantenida dentro de cada tamiz con el fin de calcular el porcentaje de los mismos respecto al peso inicial total.

50 La fracción que pasa a través del último tamiz (con aberturas con un tamaño de 52 µ) se indica como "<52 µ", mientras que cualquier fracción restante en el tamiz superior (con aberturas con un tamaño de 250 µ) se indica como "> 250 µ".

55 Como se ha descrito anteriormente en detalle, el presente proceso es capaz de controlar la granulación de quitosano de tal manera como para obtener un producto final con una solubilidad excelente incluso en una solución fría. En particular, el solicitante ha descubierto que se pueden obtener resultados finales apreciables dependiendo, por ejemplo, de la cantidad de líquido de granulación utilizado, la velocidad y temperatura del aire o el flujo de gas inerte y el pH obtenido durante el procesamiento.

60 El producto granular de quitosano obtenido se caracteriza por una alta solubilidad en agua, incluso cuando el agua está fría, como se demuestra por los ejemplos experimentales siguientes. Debido a la estructura intrínseca del aglomerado de quitosano-ácido que se forma con el presente proceso, de hecho, el producto obtenido también se puede utilizar en enología como agente antibacteriano. Por otra parte, como resultado de su alta velocidad de solubilización, el presente quitosano granular garantiza una alta rapidez de acción antimicrobiana, en particular
65 contra la levadura *Brettanomyces bruxellensis*.

Una ventaja adicional reside en el hecho de que al obtener una solubilización casi completa, no hay necesidad de ningún tratamiento mecánico o físico, por ejemplo agitación, con el fin de aumentar la solubilidad del producto. Esto es especialmente conveniente si se deben tratar grandes cantidades, por ejemplo, de vino, contenidas dentro de los tanques o barriles. La posibilidad de evitar el tratamiento de agitación o tratamiento mecánico puede ser particularmente apreciada por la persona experta en la técnica.

Como puede deducirse de la presente descripción, el proceso de la invención hace que sea posible obtener un quitosano granular soluble al tiempo que evitan reacciones intermedias con otros compuestos químicos (por ejemplo la lipasa) o tratamientos de solubilización y precipitación intermedios, como ocurre, en contraste con procesos similares de la técnica anterior utilizados para la preparación de quitosano soluble funcionalizado.

La invención se ilustrará ahora con los siguientes ejemplos experimentales no limitantes.

Ejemplos experimentales

Ensayos de solubilidad en un producto agregado obtenido con el presente proceso, en comparación con un producto obtenido por mezcla mecánica de quitosano y un ácido sólido.

Materiales:

- Quitosano fúngico KitoZyme, materia seca 94,05 %
- Ácido ascórbico, materia seca 99,55 %
- Quitosano granular solubilizado (50 % de quitosano fúngico/50 % de ácido ascórbico), 96,85 % de materia seca
- Agua destilada
- Vaso de precipitados de 150 cc: Diámetro 6,4 cm; 7,8 cm de altura
- Barra de agitación magnética de 3 cm de longitud
- Agitador magnético.

Ejemplo de 1.1: Ensayo de solubilidad en una preparación de quitosano granular obtenido con el proceso de la invención.

1,00 g de quitosano granular obtenido de acuerdo con la presente invención usando un granulador de lecho fluido se pesó en un vaso de precipitados. El peso se llevó a 100 g con agua destilada. Inmediatamente se introdujo una barra de agitación magnética. El vaso de precipitados se puso en un agitador magnético y se sumergió el electrodo para medir el pH. El agitador se llevó a 200 rpm. La lectura a tiempo 0 se tomó 5" después de encender el agitador y las lecturas subsiguientes a intervalos de 3'.

Ejemplo 1.2 (comparativo): Ensayo de solubilidad en una mezcla en polvo obtenida por mezcla mecánica de quitosano fúngico y ácido ascórbico.

Se pesaron 0,50 g de ácido ascórbico y 0,50 de quitosano fúngico en un vaso de precipitados. Los polvos se mezclan mecánicamente entre sí y se llevaron a 100 g con agua destilada. Inmediatamente se introdujo una barra de agitación magnética. El vaso de precipitados se puso en un agitador magnético y se sumergió el electrodo para medir el pH. El agitador se llevó a 200 rpm. La lectura a tiempo 0 se tomó 5" después de encender el agitador y las lecturas subsiguientes a intervalos de 3'.

Resultados:

Los valores de pH se muestran en la tabla y en la figura 1:

Hora	Mezcla en polvo del Ejemplo 1.2 (comparativo)	Ejemplo 1.1 granular
Minutos	pH	pH
0	4,04	4,27
3	4,33	4,49
6	4,46	4,55
9	4,51	4,57
12	4,55	4,58
15	4,57	4,59
18	4,58	4,59
21	4,59	4,59
24	4,59	4,59
27	4,59	4,59

Como puede verse de la tabla y la Figura 1 adjunta, el pH tiende a aumentar como resultado de la solubilización gradual del quitosano. En el caso de la mezcla de polvo del ejemplo comparativo 1.2, no se llega a un valor de pH constante antes de los 18-21 minutos. En el caso del producto granular del Ejemplo 1.1, por el contrario, después de solo 12 minutos el pH ya no varía apreciablemente, un signo de la solubilización completa del quitosano.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Proceso para la preparación de agregados de quitosano por granulación en lecho fluido, que comprende el contacto entre quitosano y un ácido orgánico en presencia de un líquido de granulación acuoso, caracterizado por que:
- dicho ácido orgánico tiene forma líquida, se mezcla con el líquido de granulación acuoso y se pone en contacto con quitosano en el interior del granulador de lecho fluido; o
 - 10 - dicho ácido tiene forma sólida, se mezcla previamente con el quitosano y se somete al contacto con el líquido de granulación en el interior del granulador de lecho fluido.
- 15 2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho ácido tiene forma sólida o líquida, y se selecciona entre: ácido ascórbico, láctico, tartárico, acético, succínico, fórmico, propiónico, cítrico, ácido málico, ácido butírico y mezclas de los mismos.
- 20 3. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores, en el que dicho ácido se utiliza en cantidades comprendidas entre 0,5 y 1,5 partes en peso con respecto al quitosano.
4. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores en el que dicho quitosano es de origen fúngico.
- 25 5. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores, en el que dicho líquido de granulación se utiliza en el granulador de lecho fluido a una temperatura comprendida entre 20 °C y 50 °C, preferentemente entre 20 °C y 30 °C.
6. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores, en el que dicho líquido de granulación se rocía en forma de micro-gotas, a una velocidad comprendida entre 150 y 1500 cc/minuto, preferentemente entre 300 y 750 cc/minuto.
- 30 7. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores, en el que la cantidad de dicho líquido de granulación está comprendida entre 15,0 y 30,0 l/50 kg de quitosano, preferentemente entre 20 y 35 l/50 kg.
8. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores en el que los gránulos de quitosano formados se secan por suspensión en un flujo de aire o de gas inerte, a una temperatura comprendida entre 35 °C y 65 °C.
- 35 9. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones anteriores, en el que dicho líquido de granulación es agua destilada o desionizada.

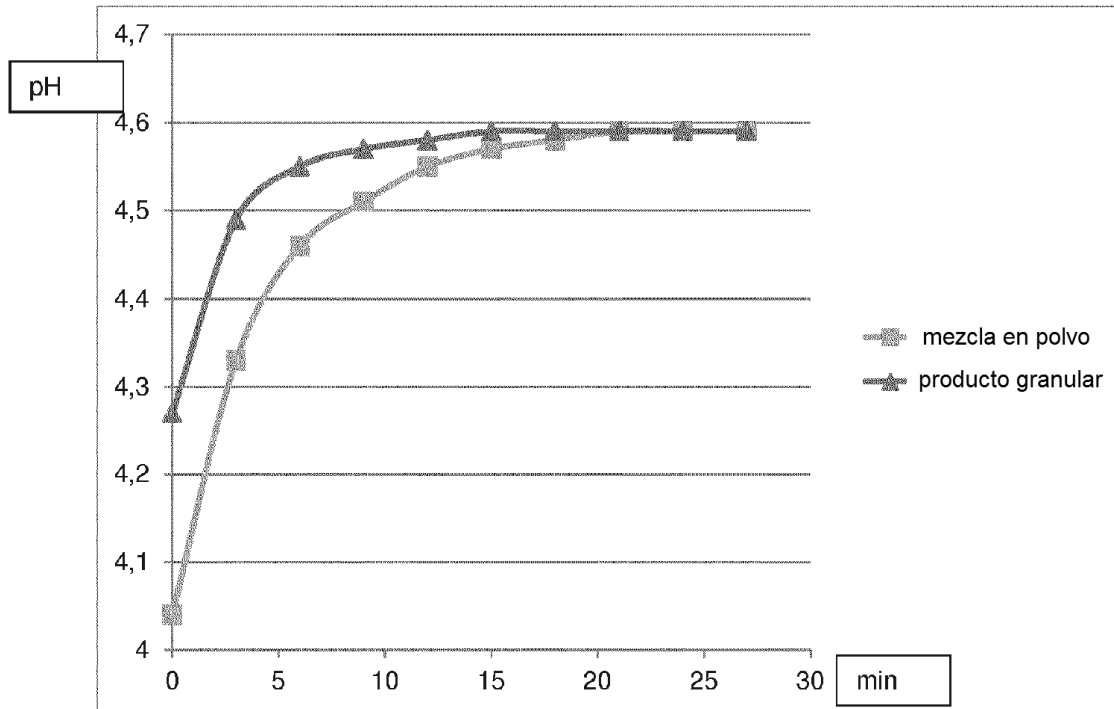


Fig.1