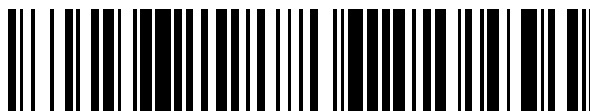


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 725**

51 Int. Cl.:

A23L 2/58 (2006.01)
C09B 61/00 (2006.01)
C09B 67/44 (2006.01)
C11D 3/00 (2006.01)
C11D 3/20 (2006.01)
A23L 5/40 (2006.01)
A23L 5/41 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.01.2016 PCT/EP2016/050355**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.07.2016 WO16113210**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.01.2016 E 16700270 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 3244756**

54 Título: **Estabilizador de color de origen natural**

30 Prioridad:

16.01.2015 EP 15151362

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.05.2019

73 Titular/es:

INTERQUIM, S.A. (100.0%)
Joan Buscallá, 10
08173 Sant Cugat del Vallès, Barcelona, ES

72 Inventor/es:

CANO HERNÁNDEZ, JESÚS;
ORTEU BAENA, YAGO y
D'HOORE, TOM NELLY A.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 711 725 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

Estabilizador de color de origen natural

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la prevención de la inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en una bebida o producto alimenticio coloreado. Se dirige a un estabilizador de color de origen natural, así como a un procedimiento de prevención de la inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en un producto coloreado
10 incluyendo dicho estabilizador en dicho producto.

ANTECEDENTES

El color de un alimento o bebida o cualquier producto de consumo a menudo determina si el consumidor acepta o
15 rechaza el producto. Añadir color a los alimentos puede fomentar la aceptación al compensar la pérdida de color causada por la exposición a la luz, el aire, las temperaturas extremas, la humedad y/o las condiciones de almacenamiento.

Se cree que la oxidación y/o la reducción son principalmente responsables de la inestabilidad del color o el
20 desvanecimiento del color. La oxidación y/o la reducción pueden ser inducidas químicamente, por la luz o biológicamente por microbios o enzimas, aunque la luz suele ser el iniciador predominante. Se sabe que los colores tanto naturales como sintéticos (o artificiales) se degradan o se desvanecen, generalmente al exponerse a la luz UV. En ciertas bebidas pueden estar presentes iniciadores de reducción química secundarios, tales como ácido ascórbico, hidroximetilfurfural (HMF formado en HFCS) y metales. Además, estos iniciadores trabajan con la luz para atenuar los
25 colores. Por lo tanto, la presencia de un antioxidante, tal como el ácido ascórbico, en el producto de bebida puede promover el desvanecimiento de los colores.

Los colores pueden reaccionar con HMF y otros productos de degradación de carbohidratos para formar compuestos de tostado. El mecanismo de la reacción, que es muy notable en los zumos de fruta, es conocido y depende mucho
30 de la temperatura y se acelera por la presencia de oxígeno.

Cuando las bebidas se envasan en recipientes de vidrio o de tereftalato de polietileno (PET), son aún más susceptibles a inestabilidad del color o a desvanecimiento del color problemáticos.

35 Se han descrito varias soluciones para prevenir la degradación del color. El documento WO9714319A1 describe la combinación de una antocianina y un agente que mejora el pigmento seleccionado de entre flavonoides glucurónidos y sulfatos, galacturónidos y derivados del ácido cafeico con el fin de profundizar y mejorar la intensidad de la antocianina y aumentar su estabilidad.

40 El documento JP 6-93199 divulga el uso de ácido clorogénico, ácido cafeico o ácido ferúlico como agente anti-desvanecimiento para el color amarillo gardenia natural. El documento US 5.314.686 divulga que el romero, la salvia y el tomillo tienen propiedades de mantenimiento de color con respecto a los colores naturales tales como annato, bixina, paprika y carotenoides.

45 El documento US 5.336.510 divulga el uso de riboflavina (vitamina B2) como estabilizador del color en bebidas coloreadas con azo enriquecidas con vitamina C. El documento US 6.379.729 divulga el uso de una combinación de ácido sulfúrico y ácido sórbico para obtener un efecto de estabilización del color en alimentos o bebidas coloreadas con una antocianina. El documento WO2013013014 describe el uso de isoquercitrina modificada enzimáticamente (EMIQ), rutina y mirricitrina y ácido fumárico como protectores de colores derivados de fuentes naturales.
50

El documento US 8.420.141 (US 2004/0091589) describe que el desvanecimiento en bebidas coloreadas sintéticamente se previene usando estabilizadores de color de origen botánico que son compuestos carbonil fenilpropenoicos C₆-C₃ que contienen tanto insaturación como oxidación en un átomo de carbono. Como un grupo de estabilizadores de color de origen botánico se mencionan chalconas, siendo la floretina una de las chalconas
55 mencionadas específicamente. Sin embargo, las chalconas son cetonas conjugadas insaturadas, mientras que la floretina es una dihidrochalcona y, por lo tanto, no posee un doble enlace conjugado con el grupo ceto. Por lo tanto, la floretina se menciona por error, incluso más cuando la importancia de dicho doble enlace se enfatiza en las columnas 3 a 6, entre otras cosas, al afirmar que la eliminación de la insaturación de estirilo da como resultado una pérdida de la protección contra el desvanecimiento del color. Lo mismo se aplica al documento US 2010/0075005 en el que los
60 compuestos carbonil fenilpropenoicos C₆-C₃ se usan, además, para reducir la degradación de la monatina, que es un edulcorante de origen natural de alta intensidad.

El documento Food Chemistry 141 (2013) 3451-3458 se refiere al uso de polifenoles como fioletina para aumentar la intensidad de tostado y la capacidad antioxidante del caramelo. Se afirma que la producción de pigmentos marrones en el sistema de azúcar y polifenol debe ser un proceso de reacciones químicas entre los polifenoles (o sus productos de transformación térmica) e intermedios y productos de caramelización del azúcar.

5

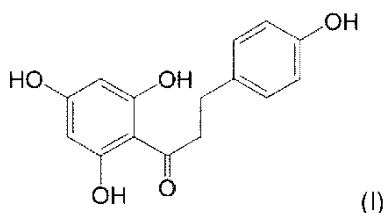
El documento US 2010/0202996 se refiere al uso de compuestos de fenol como la fioletina en composiciones para ondulación capilar que tienen propiedades mejoradas con respecto al rizo, el desgaste y el desvanecimiento del color.

10 Existe una necesidad en la técnica de desarrollar un agente de estabilización del color de origen natural que disminuya o evite de manera eficaz la inestabilidad del color, el desvanecimiento de color o la pérdida de color en una bebida o productos alimenticios coloreados, que han sido coloreados con colorantes naturales o artificiales.

RESUMEN DE LA INVENCION

15 Como se muestra en los ejemplos adjuntos a la presente invención, los autores de la presente invención han descubierto que, cuando se añade un compuesto de fórmula (I) a un producto de consumo tal como, por ejemplo, una bebida, dicho compuesto (I) puede sorprendentemente reducir o prevenir la inestabilidad del color o el desvanecimiento o la pérdida de color impartida por un color de origen sintético o natural a dicho producto.

20 La invención se define por las reivindicaciones. Por tanto, en un aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o un éster del mismo con mono o diácidos alcanóicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo o una sal del mismo



25

para estabilizar el color en una bebida o producto alimenticio coloreado, donde el color es un color de origen natural seleccionado de entre el grupo que consiste en extracto de *Annatto*, astaxantina, remolachas deshidratadas, cantaxantina, beta-apo-8'-carotenal, beta-caroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina sódica de cobre, gluconato ferroso, lactato ferroso, encianina, harina de algas *Haematococcus*, aceite de zanahoria, aceite de endosperma de maíz, paprika, oleoresina de paprika, levadura *Phaffia*, riboflavina, azafrán, dióxido de titanio, oleoresina de cúrcuma, bixina, y combinaciones de los mismos o su equivalente sintético o un color sintético.

35 En el presente documento se describe además el uso de un compuesto de fórmula (I) o un derivado o sal del mismo para estabilizar el color, evitar la inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en una bebida o producto alimenticio coloreado.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

40 La figura 1 representa la absorbancia (465 nm) de una bebida a lo largo del tiempo con fioletina (50 ppm) y sin fioletina. La figura 2 representa la absorbancia (466 nm) de muestras a diferentes concentraciones de β-caroteno variando el volumen de dilución (panel superior) o el peso de Altratene (panel inferior).

La figura 3 representa la absorbancia (466 nm) de bebidas no carbonatadas (muestras A, B, C, D) a lo largo del tiempo. La figura 4 representa la absorbancia (466 nm) de bebidas carbonatadas (muestras A, B, C, D) a lo largo del tiempo.

45

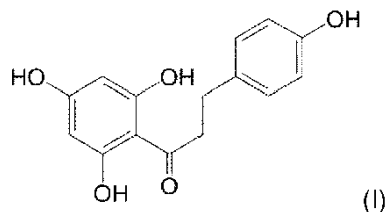
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se ha mencionado anteriormente, los autores de la presente invención han descubierto que un compuesto de fórmula (I) puede, sorprendentemente, disminuir o prevenir la inestabilidad del color o el desvanecimiento o pérdida de color impartido por un color sintético o de origen natural a dicho producto.

50

Por tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o un éster del mismo con mono o diácidos alcanóicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo o una sal del mismo

55

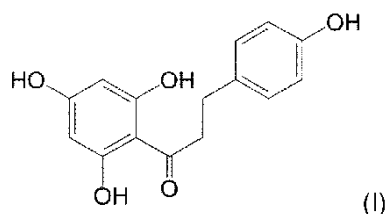


para estabilizar el color en una bebida o producto alimenticio coloreado, donde el color es un color de origen natural
 5 seleccionado de entre el grupo que consiste en extracto de *Annatto*, astaxantina, remolachas deshidratadas, cantaxantina, beta-apo-8'-carotenal, beta-caroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina sódica de cobre, gluconato ferroso, lactato ferroso, encianina, harina de algas *Haematococcus*, aceite de zanahoria, aceite de endosperma de maíz, paprika, oleorresina de paprika, levadura *Phaffia*, riboflavina, azafrán, dióxido de titanio, oleorresina de cúrcuma, bixina, y combinaciones de los mismos o su equivalente sintético o un color sintético.

10

En el presente documento se describe además el uso de un compuesto de fórmula (I) o un derivado o sal del mismo para estabilizar el color, evitar la inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en una bebida o producto alimenticio coloreado.

15 El compuesto de fórmula (I) conocido comúnmente como fioletina



es una dihydrochalcona, un tipo de fenoles naturales. De forma natural, se puede encontrar en las hojas de manzano
 20 y en el albaricoque de Manchuria. La fioletina se puede obtener a partir de manzanas, zumo de manzana y sidra. Además, este compuesto está disponible en el mercado. El compuesto de fórmula (I) se puede sintetizar adicionalmente de acuerdo con procedimientos conocidos por el experto en la materia. Por lo tanto, el compuesto de fórmula (I) como se usa en el presente documento también se refiere a cualquier equivalente sintético. Como se ha mencionado anteriormente, el uso del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la presente invención también incluye
 25 el uso de un éster del mismo con mono o diácidos alcanoicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo o una sal del mismo.

Como se usa en el presente documento, el término "equivalente sintético" se refiere a fioletina producida sintéticamente.

30

Como se usa en el presente documento, el término "derivado" se refiere a los ésteres de fioletina, en particular los ésteres con mono o diácidos alcanoicos de C₂ a C₆, ácidos que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo. Ejemplos de dichos ácidos son ácido acético, ácido málico, ácido láctico o ácido tartárico. 1, 2, 3 o 4 grupos hidroxilo de fioletina pueden esterificarse con los mismos o diferentes ácidos alcanoicos.

35

Se pueden formar sales del compuesto de fórmula (I) con bases inorgánicas tales como hidróxidos de metales alcalinos e hidróxidos de metales alcalinotérreos. Ejemplos de sales son las sales de sodio y de potasio.

Como se usa en el presente documento, el término "desvanecimiento del color" se refiere a la pérdida del tono o
 40 intensidad del color. Como se ha mencionado anteriormente, el compuesto de fórmula (I) no solo puede prevenir el desvanecimiento del color, sino también la inestabilidad o la pérdida de color. Por lo tanto, como se usa en el presente documento, el término "estabilizador de color" se refiere a un compuesto capaz de prevenir o reducir la inestabilidad del color, el desvanecimiento del color o la pérdida de color. Al igual que el término "cantidad estabilizadora de color", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad suficiente para disminuir o prevenir sustancialmente
 45 la inestabilidad del color o el desvanecimiento o pérdida de color impartido por un color sintético o de origen natural a un producto.

Una cantidad efectiva del compuesto (I) de acuerdo con la presente invención se añade a o se combina con bebidas o productos alimenticios u otros productos de consumo de acuerdo con la presente invención. Por consiguiente, una

cantidad efectiva puede variar dependiendo del tipo de producto que se está tratando y del periodo del tiempo en que se desea conservar el color.

En una realización preferida, dicho compuesto estabilizador de color es capaz de estabilizar el color, prevenir la inestabilidad del color o el desvanecimiento o la pérdida de color durante un período de al menos un mes, más preferentemente durante un período de al menos dos meses, aún más preferentemente durante un período de al menos tres meses y aún más preferentemente durante un período de al menos seis meses.

Típicamente, el producto se conserva en condiciones ambientales, que incluyen el intervalo completo de temperaturas experimentadas durante el almacenamiento, transporte y visualización (por ejemplo, de 0 °C a 40 °C, de 10 °C a 30 °C, de 20 °C a 25 °C) sin limitación a la duración de la exposición a cualquier temperatura dada.

Como se usa en el presente documento, el término "bebida" se refiere a una bebida terminada, aunque el estabilizador de color de origen natural se puede añadir en cualquier punto de la fabricación de bebidas, es decir, jarabe, concentrado o bebida terminada, que puede estar contenida en un recipiente de vidrio o plástico (tal como PET). Como se usan en el presente documento, dichas bebidas incluyen, pero sin limitarse a, una bebida carbonatada, una bebida no carbonatada, un refresco, un zumo de fruta, una bebida con sabor a zumo de fruta, una bebida con sabor a fruta, una bebida energética, una bebida hidratante, una bebida deportiva, una bebida para la salud y el bienestar, una bebida de fuente, una bebida congelada lista para tomar, una bebida carbonatada congelada, un concentrado líquido, una bebida de café, una bebida de té, una bebida láctea, una bebida de soja, una bebida vegetal, agua saborizada, agua enriquecida o una bebida alcohólica.

Por tanto, los productos de bebida de acuerdo con la presente invención incluyen tanto bebidas sin gas como bebidas carbonatadas. En el presente documento, el término "bebida carbonatada" incluye cualquier combinación de agua, zumo, sabor y edulcorante que debe consumirse como un líquido sin alcohol y que también posee una concentración de dióxido de carbono de 0,2 volúmenes de CO₂ o mayor. Se entiende que el término "volumen de CO₂" significa una cantidad de dióxido de carbono absorbido en el líquido donde un volumen de CO₂ es igual a 1,96 gramos de dióxido de carbono (CO₂) por litro de producto (0,0455 M) a 25 °C. Entre los ejemplos no limitantes de bebidas carbonatadas se incluyen bebidas de soda saborizadas, zumos, cola, lima-limón, ginger ale y zarzaparrilla que están carbonatadas a la manera de los refrescos, así como las bebidas que proporcionan beneficios para la salud o el bienestar por la presencia de sustancias metabólicamente activas, tales como vitaminas, aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos o polímeros de los mismos. Dichos productos también pueden formularse para contener leche, café o té u otros sólidos botánicos. También es posible formular dichas bebidas para contener uno o más nutracéuticos. En el presente documento, un "nutracéutico" es una sustancia que se ha demostrado que posee, como mínimo, un beneficio para la salud general o específico o una sensación de bienestar como se documenta en revistas o textos profesionales. Sin embargo, los nutracéuticos no necesariamente actúan para curar o prevenir tipos específicos de afecciones médicas.

En el presente documento, el término "bebida sin gas" es cualquier combinación de agua e ingrediente que debe consumirse en la forma de una bebida líquida sin alcohol y que no posee más de 0,2 volúmenes de dióxido de carbono. Entre los ejemplos no inclusivos de bebidas sin gas se incluyen las aguas saborizadas, el té, el café, los néctares, las bebidas minerales, las bebidas deportivas, las vitaminas, las bebidas que contienen zumo, los ponches o las formas concentradas de estas bebidas, así como los concentrados de bebidas que contienen al menos aproximadamente un 45 por ciento en peso de zumo. Dichas bebidas pueden complementarse con vitaminas, aminoácidos, sustancias a base de proteínas, a base de carbohidratos o a base de lípidos. Como se señaló, la invención incluye productos que contienen zumo, ya sean carbonatados o sin gas. Las "bebidas que contienen zumo" o "bebidas de zumo", independientemente de que sean sin gas o carbonatadas, son productos que contienen algunos o todos los componentes de una fruta, verdura o frutos secos o una mezcla de los mismos que pueden suspenderse o hacerse solubles en la fracción líquida natural de la fruta.

A modo de ejemplo, los productos de zumo y las bebidas de zumo se pueden obtener de la fruta de manzana, arándano, pera, melocotón, ciruela, albaricoque, nectarina, uva, cereza, grosella, frambuesa, grosella espinosa, mora, arándano, fresa, limón, naranja, pomelo, maracuyá, mandarina, ciruela mirabel, tomate, lechuga, apio, espinaca, col, berro, diente de león, ruibarbo, zanahoria, remolacha, pepino, piña, chirimoya, coco, granada, guayaba, kiwi, mango, papaya, sandía, fruta del monje, melón, piña, plátano o puré de plátano, limón, mango, papaya, lima, mandarina y sus mezclas.

Se pueden usar diversos ácidos y combinaciones de ácidos con sales de los mismos o diferentes ácidos para administrar el pH o la capacidad amortiguadora de la bebida a un pH o intervalo de pH especificado. En general, el pH se ajusta a un pH en el intervalo de 2,5 a 6. Se puede usar virtualmente cualquier sal de ácido orgánico siempre que sea comestible y no proporcione un sabor desagradable. La elección de sal o mezcla de sal se determinará por la solubilidad y el sabor. El citrato, el malato y el ascorbato producen complejos ingeribles cuyos sabores se consideran bastante aceptables, particularmente en las bebidas de zumo de frutas. El ácido tartárico es aceptable, particularmente

en las bebidas de zumo de uva, al igual que el ácido láctico. Se pueden usar ácidos grasos de cadena más larga, pero pueden afectar al sabor y a la solubilidad en agua.

5 Como se muestra en los ejemplos adjuntos a la presente invención, los autores de la presente invención han descubierto además que cuando se añade floretina en combinación con ácido ascórbico, el efecto de estabilización del color observado aumenta sorprendentemente, es decir, la bebida mantiene un color más estable a lo largo del tiempo que cuando se compara con floretina o ácido ascórbico añadidos solos. Por lo tanto, en una realización particular de la invención, se añade floretina al producto en combinación con otro estabilizador. En una realización preferida, dicho estabilizador es ácido ascórbico.

10 De acuerdo con la invención, dicha bebida o producto alimenticio coloreado comprende un color de origen natural o su equivalente sintético o un color sintético, como se define en las reivindicaciones.

15 Los colores de origen natural de acuerdo con la presente invención son extracto de *Annatto*, astaxantina, remolachas deshidratadas, cantaxantina, beta-apo-8'-carotenal, beta-caroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina sódica de cobre, gluconato ferroso, lacto ferroso, encianina, harina de algas *Haematococcus*, aceite de zanahoria, aceite de endosperma de maíz, paprika, oleoresina de paprika, levadura *Phaffia*, riboflavina, azafrán, dióxido de titanio, oleoresina de cúrcuma, bixina y combinaciones de los mismos.

20 En otra realización, el producto coloreado contiene un producto colorante sintético. Son ejemplos no limitantes de dicho color sintético FD&C Azul No. 1, FD&C Azul No. 2, FD&C Verde No. 3, Naranja B, Rojo cítrico No. 2, FD&C Rojo No. 3, FD&C Rojo No. 40, FD&C Amarillo No. 5, FD&C Amarillo No.6, Rojo cítrico No. 2, D&C Rojo No. 28, D&C Amarillo No. 10, óxido de hierro sintético, gluconato ferroso, azul ultramarino, verde ultramarino, violeta ultramarino, rojo ultramar y combinaciones de los mismos.

25 Dichos colores naturales o sintéticos están disponibles en el mercado; como alternativa, dichos colores pueden sintetizarse de acuerdo con procedimientos conocidos por el experto en la materia. Un experto en esta materia reconocerá que la cantidad óptima de color presente en un producto dado está determinada por factores tales como el color global deseado, la solubilidad, la aprobación reguladora, etc. Un experto en esta materia puede determinar fácilmente la cantidad óptima de color para un producto dado basándose en esos factores.

La bebida coloreada puede colorearse gracias a la presencia de uno o más de los colores mencionados anteriormente.

35 En una realización particular de la invención, dicho compuesto (I) está presente en dicha bebida o producto alimenticio en una cantidad que varía de aproximadamente 0,1 ppm a aproximadamente 500 ppm. En una realización preferida, dicho compuesto (I) está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 1 ppm a aproximadamente 100 ppm. En una realización más preferida de la invención, dicho compuesto (I) está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 10 ppm a aproximadamente 50 ppm.

40 En otra realización particular de la invención, el ácido ascórbico está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 500 ppm. En una realización preferida, el ácido ascórbico está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 300 ppm. En una realización más preferida, el ácido ascórbico está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 200 ppm.

45 El estabilizador de color de origen natural de acuerdo con la presente invención se puede proporcionar al producto de consumo en forma de una composición colorante. Dicha composición colorante puede incluirse en cualquier etapa de la fabricación del producto. Como ejemplo, cuando dicho producto es una bebida, dicha composición colorante se puede añadir a un jarabe, concentrado o a la bebida terminada.

50 La presente invención se describirá ahora con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos, que de ninguna manera deben interpretarse como limitantes del alcance de la presente invención.

EJEMPLOS

55 Materiales y procedimientos

Materiales y reactivos

La floretina (número de lote 03K080) fue suministrada por Interquim, S.A. en Beniel (Murcia - España). El β -caroteno (Altratene 10% WSC número de lote FEX1011004-5) fue suministrado por Allied Biotech Corp. (Taipei - Taiwán - R.O.C.). El ácido L-ascórbico (número de lote 0000224398) y el ácido cítrico (número de lote 0000128079) fueron de Panreac Química S.L.U. (Castellar del Vallès - Barcelona - España). El polvo de color caramelo E150D (Nº de ref.

MDC/2892/15) y el polvo de zumo de remolacha roja (Nº de ref. MDC/2893/15) fueron suministrados por Magnil Dye Chem (Mumbai, India).

Para la preparación de bebidas, se usó agua mineral (sin gas y con gas). Para fines analíticos, el agua se destiló dos veces y se purificó a través de un sistema Millipore (Milli-Q).

Formulación de bebidas en un estudio inicial con β -caroteno

Las bebidas se prepararon acidificando el medio (agua de ósmosis) con ácido cítrico a pH 3,3 y añadiendo β -caroteno a partir de una solución madre. El estudio se realizó a temperatura ambiente y en presencia de luz.

La composición de las muestras se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1

Muestra	Composición
1	5 ppm de β -caroteno
2	5 ppm de β -caroteno + 50 ppm de floretilina

15

Las muestras se analizaron inicialmente y después de 25 y 31 días de almacenamiento.

Formulación de bebidas en el estudio con β -caroteno

20 Las bebidas se prepararon acidificando el medio (agua mineral sin gas para bebidas no carbonatadas y agua con gas para bebidas carbonatadas) con ácido cítrico a pH 3,3 y añadiendo β -caroteno a partir de una solución madre.

La solución madre de floretilina se preparó disolviendo 400 mg de floretilina en 10 ml de propilenglicol. Se diluyeron 87,5 μ l o 25 μ l de esa solución a 100 ml con agua acidificada dependiendo de la concentración de floretilina deseada.

25

La solución madre de Altratene se preparó disolviendo 100 mg de Altratene al 10% de WSC en 20 ml de agua. Se diluyó 1 ml de esa solución a 100 ml con agua acidificada.

El estudio se realizó a temperatura ambiente y en presencia de luz.

30

La composición de las muestras se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2.

Muestra	Composición
A	5 ppm de β -caroteno + 200 ppm de vit C
B	5 ppm de β -caroteno + 10 ppm de floretilina
C	5 ppm de β -caroteno + 35 ppm de floretilina
D	5 ppm de β -caroteno + 200 ppm de vit C + 35 ppm de floretilina

35 Se prepararon muestras (5 botellas no carbonatadas y 5 botellas carbonatadas), se embotellaron, se pasteurizaron y se cerraron. Las muestras no carbonatadas se analizaron inicialmente y después de 7, 28, 47, 60 y 90 días de almacenamiento. Las muestras carbonatadas se analizaron inicialmente y después de 7, 28, 60, 75 y 114 días de almacenamiento.

40 Estudio de formulación de bebidas con colorantes naturales

En una serie de experimentos, las bebidas se prepararon acidificando el medio (agua desionizada) con ácido cítrico a pH 3,3 y añadiendo solamente caramelo a partir de una solución madre.

45 La solución madre de floretilina se preparó disolviendo 400 mg de floretilina en 10 ml de propilenglicol. Se diluyeron 125 o 250 μ l de esa solución a 100 ml con agua acidificada dependiendo de la concentración de floretilina deseada.

La solución madre de caramelo se preparó disolviendo 250 mg de caramelo en 50 ml de agua. Se diluyeron 18 ml de esa solución a 500 ml con agua acidificada. La solución de ensayo fue de 90 ml de la solución anterior más 10 ml de metanol para evitar la contaminación microbiológica (control). Por lo tanto, la concentración de caramelo en la solución de ensayo fue de 162 ppm.

50

En otra serie de experimentos, la solución de polvo de zumo de remolacha roja se preparó disolviendo 1250 mg de polvo de zumo de remolacha roja en 500 ml de agua acidificada. La solución de ensayo se preparó con 90 ml de la

solución anterior más 10 ml de metanol para evitar la contaminación microbiológica (control). Por lo tanto, la concentración de remolacha roja en la solución de ensayo fue de 2250 ppm.

El estudio se realizó a temperatura ambiente y en presencia de luz.

5

La composición de las muestras se puede ver en la siguiente tabla:

Tabla 3.

Muestra	Composición
A	Control (90 ml + 10 ml de MeOH)
B	Control + 50 ppm de floretina
C	Control + 100 ppm de floretina
D	Control + 200 ppm de vit C
E	Control + 200 ppm de vit C + 50 ppm de floretina

10 Las muestras se prepararon sin pasteurización en Interquim S.A. Beniel (Murcia).

Las muestras se analizaron inicialmente y después de 28 días de almacenamiento. En el caso del estudio de la remolacha roja, el análisis se realizó después de 15 días de almacenamiento debido a una evidente degradación del color.

15

Análisis

El espectrofotómetro Shimadzu 1650PC de doble haz con un ancho de banda espectral inferior a 2 nm y conectado a un ordenador cargado con Shimadzu UVProbe 2.21 se usó para todas las mediciones espectrofotométricas.

20

El espectro de la muestra se realizó entre 200 nm y 600 nm para determinar los máximos de absorción a los que se registró la absorbancia. Se usó la absorbancia como parámetro de indicación de color.

Para cada máximo, se realizó un estudio de linealidad de la absorbancia frente a la concentración de β -caroteno (1-10 ppm con cuatro puntos) obtenida mediante diferentes pesos de Altratene o mediante dilución diferente de la solución madre de Altratene.

25

Además, a partir de una solución madre se prepararon cinco muestras y se registró la absorbancia para estudiar la repetibilidad del procedimiento.

30

El cambio de color se estudió midiendo la absorbancia a dos longitudes de onda diferentes. Las muestras carbonatadas se desgasificaron en vasos de precipitados usando un baño de ultrasonidos durante 5 minutos y se analizaron. Las muestras no carbonatadas se analizaron directamente sin tratamiento adicional. Cada muestra se analizó por triplicado.

35

Las mediciones de pH se realizaron usando un medidor de pH GLP21 (Crison).

En el caso de los colorantes naturales, se usó el mismo equipo de medición. Los espectros de la muestra se realizaron entre 200 nm y 600 nm para determinar los máximos de absorción a los que se registró la absorbancia. En el caso de la remolacha roja, el máximo de 532 nm se eligió como longitud de onda para medir. En el caso del caramelo, el máximo (270 nm) fue interferido no solo por el ácido ascórbico sino también por la floretina; por esa razón, y basándose en los datos bibliográficos, se seleccionó 390 nm para fines de medición.

40

Resultados

45

β -caroteno

Estudio inicial

50 La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 465 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

Tabla 4.

tiempo (días)	absorbancia a 465 nm	
	1 (control)	2 (+Floretina)
0	0,583	0,592

25	0	0,492
31	0	0,391

donde 1 es la bebida de control y 2 la bebida estabilizada con 50 ppm de flocina.

Como se puede ver en la tabla 4 y la figura 1, la absorbancia de la bebida sin flocina disminuyó drásticamente después de 25 días de almacenamiento, mientras que la muestra enriquecida con 50 ppm de flocina mostró una reducción en el deterioro de la absorbancia, es decir, el color de la muestra se mantuvo durante un período de tiempo más largo.

Estudio de linealidad

10

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 466 nm para las diferentes concentraciones de β-caroteno variando el volumen de dilución o el peso de Altratene:

Tabla 5.

concentración (ppm)	absorbancia a 466 nm	
	volumen variable	pesos variables
1	0,103	0,104
2	0,207	0,211
5	0,538	0,535
10	1,094	1,054

15

Como se puede ver en la tabla 5 y la figura 2, hay una respuesta lineal con la concentración de β-caroteno en la bebida, obteniendo un parámetro r² de 0,9999.

Estudio de repetibilidad

20

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia a 466 nm de cinco diluciones de la misma muestra:

Tabla 6.

número de muestra	absorbancia
1	0,525
2	0,526
3	0,527
4	0,526
5	0,529
promedio	0,527
STD	0,0015
RSD (%)	0,29
STD: desviación estándar	
RSD: desviación estándar relativa	

25 El bajo valor de la RSD muestra que la repetibilidad del procedimiento ha sido satisfactoria.

Estudio de bebidas no carbonatadas

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 466 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

30

Tabla 7.

tiempo (días)	absorbancia a 466 nm			
	A	B	C	D
0	0,490	0,463	0,467	0,478
7	0,460	0,451	0,472	0,481
28	0,404	0,322	0,375	0,428
47		0,126	0,304	0,432
60		0,092	0,126	
90	0,375			0,407

Como se muestra en la tabla 7, véase las muestras B y C, la bebida que contiene floretina ha estado protegida durante más tiempo que en el caso de la bebida sin nada añadido (datos extrapolados a partir del estudio inicial). Aún más interesante es el caso de las muestras A y D, donde en la muestra D se puede observar que la floretina ha actuado sinérgicamente con el ácido ascórbico proporcionando una mayor absorbancia, es decir, un color más estable a lo largo del tiempo (figura 3).

Estudio de bebidas carbonatadas

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 466 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

Tabla 8.

	466,2 nm			
tiempo (días)	A	B	C	D
0	0,454	0,467	0,474	0,457
7	0,427	0,497	0,482	0,483
28	0,416	0,408	0,410	0,439
60	0,406	0,271	0,337	0,446
75		0,101	0,217	
114	0,372			0,435

En la tabla 8 se muestra que el color en la bebida carbonatada es más estable a lo largo del tiempo que en la no carbonatada debido a la reducción de oxígeno en el medio.

Como en el caso anterior, como se puede ver en las muestras B y C, el color de la bebida ha estado protegido durante más tiempo que en el caso de la bebida sin nada añadido (datos extrapolados a partir del estudio inicial). Aún más interesante es el caso de las muestras A y D, donde en la muestra D la floretina ha actuado sinérgicamente con el ácido ascórbico proporcionando una mayor absorbancia, es decir, un color más estable a lo largo del tiempo (figura 4).

Colorantes naturales

25 Polvo de zumo de remolacha roja

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 532 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

Tabla 9.

tiempo (días)	A	B	C	D	E
0	0,987	0,984	0,985	0,979	0,977
15	0,327	0,349	0,538	0,408	0,412
28	0,118	0,193	0,281	0,156	0,180

En la figura 5 se muestran los valores para las muestras A y C.

Como se ha mencionado anteriormente, en el caso del polvo de zumo de remolacha roja, la absorbancia se midió después de 15 días de almacenamiento porque la degradación del color fue muy evidente y rápida.

Los resultados muestran que la floretina protege contra la degradación del color y depende de la concentración.

Caramelo

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 390 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

Tabla 10.

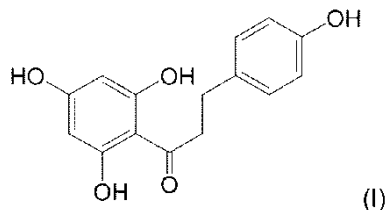
tiempo (días)	A	B	C	D	E
0	0,397	0,405	0,416	0,398	0,406
28	0,298	0,302	0,343	0,272	0,268

Los datos de absorbancia indican que la floretina protege a este colorante natural de la degradación (tabla 10).

REIVINDICACIONES

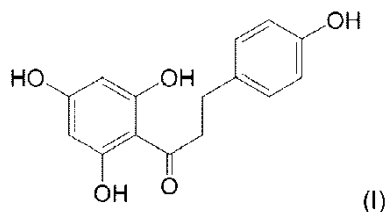
1. Uso de un compuesto de fórmula (I) o un éster del mismo con mono o diácidos alcanoicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo o una sal del mismo

5



10 para estabilizar el color en una bebida o producto alimenticio coloreado, donde el color es un color de origen natural seleccionado de entre el grupo que consiste en extracto de *Annatto*, astaxantina, remolachas deshidratadas, cantaxantina, beta-apo-8'-carotenal, beta-caroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina sódica de cobre, gluconato ferroso, lactato ferroso, enocianina, harina de algas *Haematococcus*, aceite de zanahoria, aceite de endosperma de maíz, paprika, oleorresina de paprika, levadura *Phaffia*, riboflavina, azafrán, dióxido de titanio, oleorresina de cúrcuma, bixina, y combinaciones de los mismos o su equivalente sintético o un color sintético.

15 2. Uso de un compuesto de fórmula (I) o un éster del mismo con mono o diácidos alcanoicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo o una sal del mismo



20 para prevenir la inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en una bebida o producto alimenticio coloreado, donde el color es un color natural seleccionado de entre el grupo que consiste en extracto de *Annatto*, astaxantina, remolachas deshidratadas, cantaxantina, beta-apo-8'-carotenal, beta-caroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina sódica de cobre, gluconato ferroso, lactato ferroso, enocianina, harina de algas *Haematococcus*, aceite de zanahoria, aceite de endosperma de maíz, paprika, oleorresina de paprika, levadura *Phaffia*, riboflavina, azafrán,
25 dióxido de titanio, oleorresina de cúrcuma, bixina, y combinaciones de los mismos o su equivalente sintético o un color sintético.

3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde dicho compuesto (I) se usa en combinación con ácido ascórbico.

30

4. Uso de acuerdo con la reivindicación 3, donde dicho color sintético se selecciona de entre el grupo que consiste en FD&C Azul No. 1, FD&C Azul No. 2, FD&C Verde No. 3, Naranja B, Rojo cítrico No. 2, FD&C Rojo No. 3, FD&C Rojo No. 40, FD&C Amarillo No. 5, FD&C Amarillo No.6, Rojo cítrico No. 2, D&C Rojo No. 28, D&C Amarillo No. 10, óxido de hierro sintético, gluconato ferroso, azul ultramarino, verde ultramarino, violeta ultramarino, rojo ultramar
35 y combinaciones de los mismos.

5. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho compuesto (I) está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 0,1 ppm a aproximadamente 500 ppm.

40 6. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho compuesto (I) está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 1 ppm a aproximadamente 100 ppm.

7. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho compuesto (I) está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 10 ppm a aproximadamente 50 ppm.

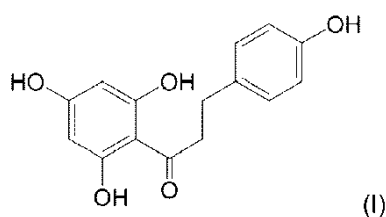
45

8. Uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, donde el ácido ascórbico está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 0,1 ppm a aproximadamente 500 ppm.

9. Uso de acuerdo con la reivindicación anterior, donde el ácido ascórbico está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 1 ppm a aproximadamente 300 ppm.

10. 5 Uso de acuerdo con la reivindicación anterior, donde el ácido ascórbico está presente en una cantidad que varía de aproximadamente 50 ppm a aproximadamente 200 ppm.

11. Un procedimiento de estabilización del color, prevención de la inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en una bebida o producto alimenticio coloreado con un color seleccionado de entre el grupo que consiste en extracto de *Annatto*, astaxantina, remolachas deshidratadas, cantaxantina, beta-apo-8'-carotenal, 10 beta-caroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina sódica de cobre, gluconato ferroso, lactato ferroso, enocianina, harina de algas *Haematococcus*, aceite de zanahoria, aceite de endosperma de maíz, paprika, oleorresina de paprika, levadura *Phaffia*, riboflavina, azafrán, dióxido de titanio, oleorresina de cúrcuma, bixina y sus combinaciones o su equivalente sintético o un color sintético, procedimiento que comprende combinar una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I) o un éster del mismo con mono o diácidos alcanoicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos 15 con uno o más grupos hidroxilo o sal del mismo



20 o una composición colorante que comprende una cantidad efectiva del compuesto de fórmula (I) o un éster del mismo con mono o diácidos alcanoicos C₂-C₆ que pueden estar sustituidos con uno o más grupos hidroxilo o una sal del mismo con el producto terminado o con un precursor del mismo.

FIGURA 1

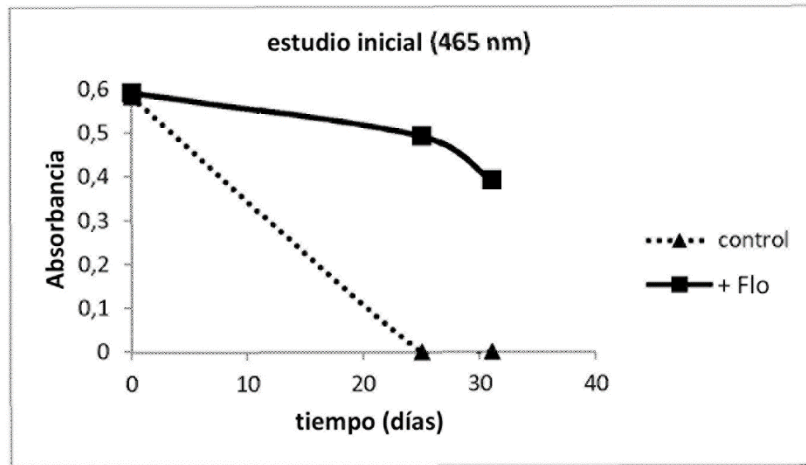


FIGURA 2

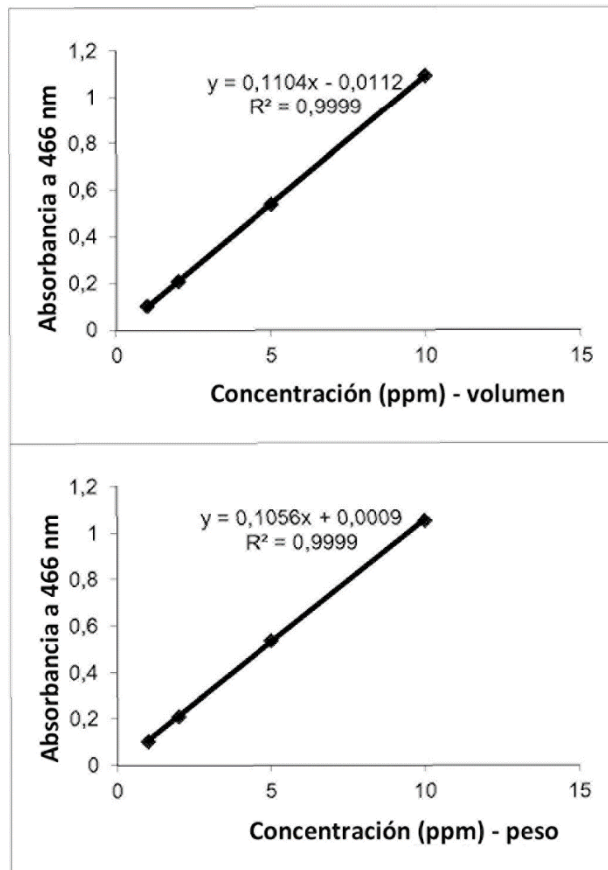


FIGURA 3

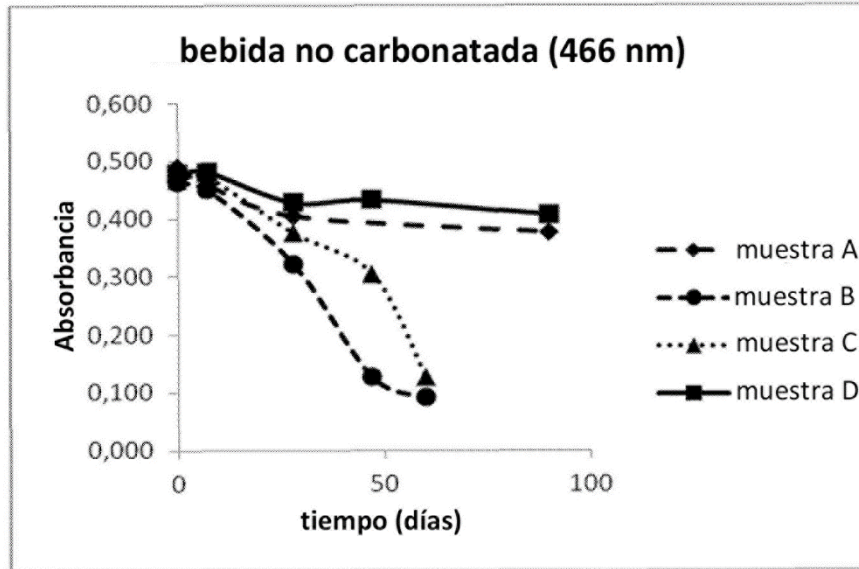


FIGURA 4

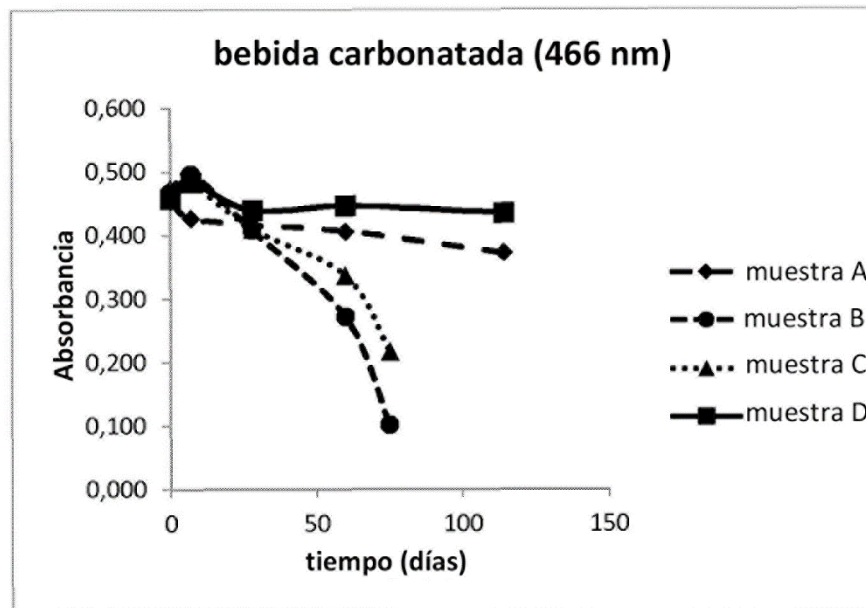


FIGURA 5

