

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 481**

51 Int. Cl.:

A23L 2/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2015 PCT/EP2015/075166**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2016 WO16066764**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2015 E 15788002 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 3212008**

54 Título: **Procedimiento para esterilizar bebidas contaminadas con bacterias del ácido acético mediante compuestos complejantes de metales**

30 Prioridad:

30.10.2014 EP 14191150

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

04.06.2019

73 Titular/es:

**LANXESS DEUTSCHLAND GMBH (100.0%)
Kennedyplatz 1
50569 Köln, DE**

72 Inventor/es:

TAUPP, MARCUS

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 715 481 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

Procedimiento para esterilizar bebidas contaminadas con bacterias del ácido acético mediante compuestos complejantes de metales

5 La invención se refiere a un procedimiento y al uso de agentes complejantes de metales y dicarbonato de dimetilo para esterilizar y posteriormente conservar bebidas, las cuales están contaminadas por bacterias del ácido acético.

10 Debido a numerosos nutrientes y diferentes posibilidades de una introducción de microbios durante la producción, las bebidas pueden contaminarse fácilmente mediante microorganismos, lo cual conduce finalmente al deterioro y a la inservibilidad del producto. Además de ello, una contaminación microbiana de bebidas representa un riesgo para la salud para el usuario. Mediante el uso de agentes conservantes químicos se evita una supervivencia o un crecimiento de microorganismos en las bebidas. Debido a un tráfico de mercancías en aumento a nivel mundial se detecta la proliferación de gérmenes en bebidas, los cuales no eran conocidos hasta el momento por los productores de bebidas. En particular en el caso de las bacterias del ácido acético ha podido verse que los agentes conservantes no son lo suficientemente fuertes, y por lo tanto se usan concentraciones muy altas, para evitar que estas bacterias puedan multiplicarse y de esta manera contaminar correspondientemente la bebida (Horsakova, I., et al., *Asaia sp. as a bacterium decaying the packaged still fruit beverages.*, Czech. Journal of Food Science, 27, 362-365, 2009). El uso de altas concentraciones de agentes conservantes es sin embargo indeseado desde el punto de vista económico y está limitado por directrices legales.

Del documento EP 2241200 A1 se conoce un procedimiento para la incorporación de dicarbonatos de dialquilo en bebidas a una temperatura de 0 °C a 35 °C y su templado gradual posterior a de 20 °C a 40 °C.

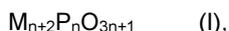
25 En el documento WO 2010/062548 A1 se usaron en bebidas mezclas del ácido trans-cinámico, etil lauroil arginato, dicarbonato de dimetilo (DMDC), ácido etilendiaminotetraacético, también denominado (EDTA) y hexametáfosfato de sodio (SHMP), para esterilizar y conservar bebidas. El documento WO 2010/062548 no contiene sin embargo ninguna indicación sobre el efecto sinérgico de DMDC y un agente complejante de metales del grupo EDTA o SHMP contra bacterias del ácido acético, sin que se añada a esta bebida etil lauroil arginato y/o ácido trans-cinámico o estén contenidos en esta bebida.

Continuaba existiendo por lo tanto la necesidad de un procedimiento para esterilizar bebidas, en cuyo caso las bacterias del ácido acético se eliminan de manera eficiente y se superen las desventajas del estado de la técnica.

35 Se ha descubierto de manera sorprendente que al usarse DMDC y al menos un agente complejante de metales pueden combatirse las bacterias del ácido acético de manera eficiente en bebidas.

40 Es objetivo de la invención por tanto el uso de dicarbonato de dimetilo (DMDC) y de polifosfatos cíclicos para la esterilización de bebidas, las cuales están contaminadas mediante bacterias del ácido acético, preferentemente para su posterior conservación, en ausencia de etil lauroil arginato y/o ácido trans-cinámico.

Los polifosfatos en el sentido de la invención son preferentemente polifosfatos cíclicos con la fórmula general (I)



45 siendo n = 1 hasta 100 y M un catión metálico monovalente o polifosfatos cíclicos con cationes metálicos monovalentes y bivalentes. Los cationes metálicos son preferentemente en el sentido de la invención cationes metálicos alcalinos o alcalinotérreos. Preferentemente n = 5 hasta 20. De manera particularmente preferente n = 15 hasta 20. De manera particularmente preferente los polifosfatos en el sentido de la invención son polifosfatos cíclicos con la fórmula general $M_{n+2}P_nO_{3n+1}$ (I), siendo n = 15 hasta 20 y M = sodio.

50 De manera particularmente preferente los polifosfatos representan en el sentido de la invención hexametáfosfato de sodio, hexametáfosfato de potasio, hexametáfosfato de sodio y calcio o hexametáfosfato de calcio o mezclas de estos compuestos. Los polifosfatos en el sentido de la invención son de manera particularmente preferente hexametáfosfato de sodio (SHMP).

60 Las bacterias de la familia de las bacterias del ácido acético son en general bacilos aerobios gramnegativos y conocidas por el experto. La cepa tipo de estas bacterias es *Acetobacter aceti* y entretanto se han asociado sobre todo en el ámbito de *Asaia sp.* nuevas bacterias de la familia de las bacterias del ácido acético. Preferentemente se eliminan de la mezcla bacterias del ácido acético seleccionadas del siguiente grupo *Asaia sp.*, *Acetobacter sp.*, *Gluconobacter sp.*, *Gluconacetobacter sp.*, *Saccharibacter sp.*, *Swaminanthia sp.*, *Acidomonas sp.*, *Kozakia sp.*, *Neoasaia sp.*, *Granulibacter sp.*, *Acidocella sp.*, *Acidiphilium sp.*, *Roseococcus sp.*, *Acidosphaera sp.*, *Rhodopila sp.*, de las bebidas. De manera particularmente preferente la mezcla actúa contra *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxidans* y *Gluconacetobacter liquefaciens*.

65 Por bebidas se entienden de manera preferente bebidas refrescantes, tales como por ejemplo y preferentemente

refrescos, zumos de frutas y bebidas que contienen zumos de frutas, bebidas refrescantes aromatizadas, tales como limonadas, tés (bebidas de té denominadas *ready-to-drink*, listas para tomar), tales como por ejemplo, y preferentemente, tés helados, bebidas mixtas de un té/bebida refrescante que contiene zumo de frutas, pero también los concentrados correspondientes, así como refrescos de vino y vinos sin alcohol. Se prefieren particularmente las bebidas de té helado.

El dicarbonato de dimetilo se usa en general en una cantidad de 50 ppm a 1000 ppm, referido a la cantidad de bebida a esterilizar, pero puede usarse también en cantidades menores o mayores. La cantidad de dicarbonato de dimetilo que se usa se encuentra de manera preferente entre 75 ppm a 250 ppm referido a la cantidad de bebida a esterilizar.

Los polifosfatos se usan en general en una cantidad de 100 a 5000 ppm referido a la cantidad de la bebida a esterilizar, pero pueden usarse también en cantidades menores o mayores. La cantidad de polifosfato usado se encuentra de manera preferente entre 250 a 2000 ppm referido a la cantidad de la bebida a esterilizar. De manera muy particularmente preferente la cantidad de polifosfato usado se encuentra entre 100 y 400 ppm referido a la cantidad de la bebida a esterilizar.

Por contaminación por bacterias del ácido acético se entiende según la invención que los métodos de detección conocidos por el experto del estado de la técnica, como por ejemplo, una detección de las bacterias del ácido acético con la ayuda del conocido procedimiento de vertido en placa con ágar de suero de naranja tras incubación a 28 °C durante 3 – 7 días, dan como resultado una detección de bacterias del ácido acético en las bebidas. La detección llevada a cabo según estos métodos, de una bacteria, representa ya una contaminación en el sentido de la invención.

Dado que el uso según la invención se refiere así mismo a la incorporación de los compuestos en las bebidas que van a esterilizarse, la invención se refiere así mismo a un procedimiento para esterilizar bebidas que están contaminadas por bacterias del ácido acético, en el cual se incorporan

a) dicarbonato de dimetilo y

b) polifosfatos cíclicos, en las bebidas, en ausencia de etil lauroil arginato y ácido trans-cinámico.

La incorporación puede producirse por ejemplo mediante la adición separada de los compuestos a) y b) en orden cualquiera o mediante adición de estos compuestos en una mezcla. Esta mezcla puede diluirse mediante agentes disolventes adicionales o también mediante otros aditivos, como por ejemplo, agentes emulsionantes u otros aditivos alimentarios adecuados. Como agentes disolventes pueden usarse agentes disolventes hidrófilos, orgánicos y miscibles con agua. De manera preferente no se agrega ningún agente disolvente adicional. Preferentemente los compuestos se incorporan por separado en las bebidas.

Tras la esterilización de las bebidas tiene lugar de manera preferente una conservación mediante los agentes conservantes añadidos.

DMDC y los agentes complejantes de metales seleccionados actúan de manera sinérgica contra las bacterias del ácido acético. De este modo pueden esterilizarse y conservarse bebidas de manera eficiente y económica.

Además de ello, puede renunciarse a la adición de etil lauroil arginato y ácido trans-cinámico y a pesar de ello lograrse un buen efecto de conservación contra las bacterias del ácido acético en bebidas. Este modo de proceder no es favorable solo desde el punto de vista económico, sino que conduce también a la reducción de la cantidad total de agentes conservantes en bebidas.

Ejemplos

Ejemplo 1

Una bebida se contaminó con una cantidad determinada de una mezcla de microorganismos y se examinó una mezcla de agentes conservantes en comparación con las sustancias individuales en lo referente a eficacia. En el caso de la mezcla de gérmenes se trata de *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxidans* así como de *Gluconacetobacter liquefaciens*. Tras una semana se examinó una parte de la bebida en lo referente a la presencia de microorganismos.

Sustancias de prueba individuales:	dicarbonato de dimetilo, hexametrafosfato de sodio (SHMP)
Germen de prueba:	mezcla de diferentes bacterias del ácido acético aisladas de líneas de llenado de bebidas
Sustrato:	limonada no carbonatada
Semilla de germen por ml de sustrato:	200 ufc/ml por germen en la mezcla

Tabla 1:

Principio activo individual	CMI [ppm] tras una semana	
SHMP	750	
Dicarbonato de dimetilo	300	
Combinación de principios activos	CMI [ppm] tras una semana	Indice de sinergia
SHMP	250	IS = 0,83
Dicarbonato de dimetilo	150	

Ejemplo 2 (ejemplo de comparación)

5 Una bebida se contaminó con una cantidad determinada de una mezcla de microorganismos y se examinó una mezcla de agentes conservantes en comparación con las sustancias individuales en lo referente a eficacia. En el caso de la mezcla de gérmenes se trata de *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxidans* así como de *Gluconacetobacter liquefaciens*. Tras una semana se examinó una parte de la bebida en lo referente a la presencia de microorganismos.

10 Sustancias de prueba individuales: dicarbonato de dimetilo, ácido etilendiaminotetraacético de calcio disódico (CaEDTA)

15 Germen de prueba: mezcla de diferentes bacterias del ácido acético aisladas de líneas de llenado de bebidas

Sustrato: té helado no carbonatado

Semilla de germen por ml de sustrato: 200 ufc/ml por germen en la mezcla

Tabla 2:

Principio activo individual	CMI [ppm] tras una semana	
CaEDTA	250	
Dicarbonato de dimetilo	350	
Combinación de principios activos	CMI [ppm] tras una semana	Indice de sinergia
CaEDTA	25	IS = 0,6
Dicarbonato de dimetilo	175	

20 El sinergismo se determinó según el método descrito por Kull et al. (F.C. Kull, P.C. Eismann, H.D. Sylvestrowicz, R.L. Mayer, Applied Microbiology 9, 538 a 541, 1961). A este respecto tienen validez las siguientes relaciones:

$$QA/Qa + QB/Qb = IS$$

25 Qa = concentración de sustancia A, que representa la CMI

Qb= concentración de sustancia B, que representa la CMI

30 QA= concentración de sustancia A en la concentración de A/B/C, que suprime el crecimiento microbiano

QB = concentración de sustancia B en la concentración de A/B/C, que suprime el crecimiento microbiano

35 IS = índice de sinergia

IS = 1 significa propiedad aditiva

IS >1 significa antagonismo

40 IS <1 significa sinergismo

Ejemplo 3

45 Una bebida se contaminó con una cantidad determinada de una mezcla de microorganismos y se examinó una mezcla consistente en polifosfato y dicarbonato de dimetilo en comparación con una mezcla consistente en polifosfato, hexametáfosfato de sodio (SHMP), dicarbonato de dimetilo, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido cinámico y etil lauroil arginato (LAE) en lo referente a eficacia antimicrobiana. En el caso de la mezcla de gérmenes se trata de *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxidans* así como de *Gluconacetobacter liquefaciens*. Tras una semana se examinó una parte de la bebida en lo referente a la presencia de microorganismos.

Germen de prueba: mezcla de diferentes bacterias del ácido acético
aisladas de líneas de llenado de bebidas
Sustrato: limonada no carbonatada
Semilla de germen por ml de sustrato: 200 ufc/ml por germen en la mezcla

5

Tabla 1:

Principio activo mezcla 1	Concentración de principio activo	Resultado tras 1 semana
SHMP Dicarbonato de dimetilo	250 mg/L 150 mg/L	No determinable crecimiento microbiano
Principio activo mezcla 2	CMI ppm tras una semana	Resultado tras 1 semana
SHMP Dicarbonato de dimetilo EDTA Ácido cinámico LAE	750 mg/L 175 mg/L 30 mg/L 30 mg/L 7,5 mg/L	No determinable crecimiento microbiano

Como resultado ha de tenerse en consideración que también sin el uso de EDTA, ácido cinámico y LAE, la mezcla de principios activos 1 presenta una eficacia igual de buena que la mezcla de principios activos 2 de composición compleja. De manera adicional se redujo la cantidad de uso de dicarbonato de dimetilo en la mezcla 1 y se redujo la cantidad de uso de polifosfato en la mezcla 1 de manera significativa con respecto a la mezcla 2. La mezcla de principios activos 1 permite de esta manera a los productores de bebidas estabilizar sus bebidas de manera eficaz con la mezcla 1 contra bacterias del ácido acético. Además de ello, el consumidor final ingiere con respecto a la mezcla 2, con la mezcla 1 encontrada, esencialmente menos aditivos a través del consumo de bebidas.

10

15

REIVINDICACIONES

5 1. Uso de dicarbonato de dimetilo (DMDC) y de polifosfatos cíclicos para esterilizar bebidas que están contaminadas con bacterias del ácido acético, preferentemente para su conservación posterior, en ausencia de etil lauroil arginato y ácido trans-cinámico.

2. Uso según la reivindicación 1, **caracterizado por que** como polifosfato, polifosfatos cíclicos con la fórmula general (I)

10
$$M_{n+2}P_nO_{3n+1} \quad (I),$$

siendo $n = 1$ hasta 100 y M un catión metálico monovalente.

15 3. Uso según la reivindicación 1, **caracterizado por que** como polifosfato se usa hexametafosfato de sodio.

4. Uso según la reivindicación 3, **caracterizado por que** $n = 5$ hasta 20.

20 5. Uso según una o varias de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** se usa polifosfato en una cantidad de 50 ppm a 5000 ppm, referido a la cantidad de bebida a tratar, y que se usa DMDC en una cantidad de 75 ppm y 250 ppm, referido a la cantidad de bebida a tratar.

25 6. Uso según una o varias de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** como bebidas se tratan bebidas refrescantes, tales como en particular téis helados, bebidas para deportistas, zumos de frutas y bebidas que contienen zumos de frutas.

7. Uso según una o varias de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** el efecto de la mezcla se produce contra bacterias del ácido acético seleccionadas del siguiente grupo *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxidans*, así como *Gluconacetobacter liquefaciens*.

30 8. Procedimiento para la esterilización de bebidas que están contaminadas por bacterias del ácido acético, **caracterizado por que** se incorporan

- a) dicarbonato de dimetilo y
- b) polifosfatos cíclicos

35 en las bebidas, en ausencia de etil lauroil arginato y ácido trans-cinámico.

9. Procedimiento según la reivindicación 8, **caracterizado por que** tras la esterilización de las bebidas se produce una conservación de las bebidas mediante los agentes conservantes añadidos.