

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 720 190**

51 Int. Cl.:

C12C 3/08 (2006.01)

C12C 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.10.2014 PCT/EP2014/025009**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15062745**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2014 E 14789798 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 3063260**

54 Título: **Fraccionamiento de aceites de lúpulo usando dióxido de carbono líquido y supercrítico**

30 Prioridad:

28.10.2013 EP 13190555

20.05.2014 EP 14169159

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

18.07.2019

73 Titular/es:

**TOTALLY NATURAL SOLUTIONS LTD (100.0%)
Unit 3a Arnold Business Park, Branbridges Road
East Peckham, Kent TN12 5LG, GB**

72 Inventor/es:

MARRIOTT, RAYMOND

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 720 190 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

Fraccionamiento de aceites de lúpulo usando dióxido de carbono líquido y supercrítico

Campo de la invención

5 La presente invención describe un método para producir aroma de lúpulo a partir de aceite de lúpulo que usa únicamente dióxido de carbono y etanol como disolventes y está estrictamente definido por las reivindicaciones.

Breve descripción de la técnica anterior

10 Los lúpulos proporcionan amargor y aroma para productos de cerveza así como refrescos y otros alimentos. En los últimos 20 años se ha producido una creciente tendencia a separar la fracción de aroma del amargor de modo que los productos puedan formularse mediante adición independiente de productos de aroma o de amargor. Esto también ha tenido como resultado un mayor uso de productos que pueden añadirse después de la fermentación para permitir la diferenciación del producto de una línea de elaboración de cerveza de alta densidad.

15 Los aceites de lúpulos fueron los primeros productos que se usaron para proporcionar adición de aroma independiente y estos se prepararon originalmente por destilación con vapor de lúpulos frescos. El aceite de lúpulo n.º 1 es uno de los productos de aceite de lúpulo original de Pauls and Whites. El aceite de lúpulo se usó principalmente para impartir un carácter de "lúpulo seco" y se añadió a los barriles o depósitos de acondicionamiento mediante un frasco cuentagotas. Más tarde, los aceites de lúpulo se prepararon como emulsiones usando gomas o polisorbatos como emulsionantes para simplificar la adición de los aceites y ayudar a la dispersión como se describe, por ejemplo, en Moir (Moir M.; en Journal of the American Society of Brewing Chemists 58, 4, 131, 2000).

20 En 1980 se desarrollaron por BRI una serie de aromas de lúpulo solubles: estos concluyeron que una fracción "especiada" y una fracción "floral" eran capaces de desarrollar casi todo el carácter de lúpulo cuando se usaban en diferentes combinaciones, como se describe, por ejemplo, en Murray *et al.* (Murray J.P., Westwood K., and Daoud I. en Proceedings of the European Brewery Convention. IRL Press, Oxford University Press, Reino Unido, 321, 1987). Se añadieron seguidamente una fracción cítrica y una fracción de éster por English Hop Products Ltd como se describe por Marriott *et al.* (Marriott R.J., Gardner D.S.J., Fincher M., Kemp T. en Proceedings of the 25th Convention of the Institute of brewing-Asia Pacific Section, 1998, 199).

30 Goiris *et al.* (Goiris K., De Ridder M., De Rouck G., Boeykens A., Van Opstaele F., Aerts G., De Cooman L., and De Keukeleire D., en J. Inst. Brew., 108(1), 86-93, 2002) describen una extracción con fluido supercrítico en dos etapas, primero a una temperatura de 50 °C y una presión de 8×10^3 kPa (80 bar), y luego a una temperatura de 50 °C y una presión de 11×10^3 kPa (110 bar), de granulos de lúpulo con dióxido de carbono. Esta va seguida entonces de una extracción en fase sólida llevada a cabo para eliminar compuestos hidrocarbonados y otros constituyentes del aceite de lúpulo y seguida a continuación de una purificación cromatográfica de la fracción de sesquiterpenoide enriquecida.

35 El documento EP-0019462 describe un método para el procesado exento de disolvente de una mezcla orgánica compleja caracterizada por que la mezcla está revestida sobre un soporte hidrófobo inerte. La mezcla orgánica puede seleccionarse de resina de lúpulo. El soporte es un material polimérico hidrófobo sintético inerte, preferiblemente en la forma de un polvo fino. Tales soportes tienen la propiedad de absorber resina de la suspensión acuosa y convertirla en una suspensión de soporte revestido de resina dispersada en la solución acuosa. Esta forma estable se usa a continuación para el procesado posterior y no necesita el uso de disolventes orgánicos. Los componentes de la resina de lúpulo pueden extraerse entonces de forma selectiva de dicho soporte hidrófobo inerte revestido.

40 El documento EP-1920777 describe un método de elución para la extracción de forma selectiva y separación de productos vegetales triturados mediante varias etapas, usando cada etapa un disolvente o mezcla de disolventes diferente. Como fase estacionaria se usa celulosa vegetal. Si el material de partida es lúpulo, los componentes extraídos pueden usarse en la preparación de cerveza que puede enriquecerse con, o reducir el contenido de fitohormonas.

45 El documento US-2003/138546 describe un método para aislar y caracterizar un grupo de glicósidos inodoros y no volátiles de lúpulos extraídos, que son responsables de la formación del sabor del lúpulo del hervidor.

Describe específicamente un método para la preparación de esencia de lúpulo del hervidor purificado y sabor que comprende las etapas de:

- 1) extraer sólidos de lúpulo con alcohol acuoso con el fin de producir extractos que contienen compuestos solubles en agua polares;
- 50 2) concentrar los extractos de la etapa 1) con respecto a los compuestos solubles en agua polares por evaporación;
- 3) purificar los extractos concentrados de la etapa 2) con el fin de preparar esencia de lúpulo del hervidor purificado.

El documento WO-1999/25807 describe un método para eliminar el veneno de catalizador de extractos de lúpulo que comprende las etapas de:

- agitar una solución acuosa de los extractos de lúpulo en presencia de un adsorbente capaz de adsorber los venenos de catalizador; y
- separar el adsorbente que contiene los venenos de catalizador de la solución acuosa de extractos de lúpulo, siendo dichos extractos de lúpulo ácidos β y ácidos α .

5 Los ácidos β purificados pueden someterse adicionalmente a hidrogenación e hidrogenolisis. Los ácidos α purificados pueden someterse adicionalmente a isomerización e hidrogenación.

La etapa de purificación permite que la posterior hidrogenación se lleve a cabo con menos catalizador.

El documento US-3433642 describe un método para la separación de humulona que comprende las etapas de:

- preparar los extractos de lúpulo con disolventes;
- 10 – hacer pasar los extractos de lúpulo a través de un material adsorbente alcalino que rechaza lupulona y tiene una alta afinidad por humulona a una relación tal con respecto a la geometría del cuerpo y la concentración del extracto como para llevar a cabo una separación cromatográfica frontal y provocar la retención sobre el material adsorbente de una cantidad máxima de la humulona.

El efluente, junto con las ceras de lupulona y otro material no deseado se descargan del material adsorbente.

15 El documento EP-679419 describe un método para la extracción de lúpulos con dióxido de carbono supercrítico donde los extractos de la extracción con dióxido de carbono supercrítico se lavan seguidamente con dióxido de carbono en estado líquido con el fin de eliminar por lavado compuestos no deseados.

20 Recientemente se produjeron una amplia gama de aromas de lúpulo soluble por Botanix Ltd and Kalsec que incluyen fracciones de aroma específicas y notas de salida de lúpulo solubles producidas a partir de variedades específicas de lúpulo. Estos son todos productos solubles diseñados para añadirse a la cerveza clara después de la fermentación y ofrece la mayor flexibilidad para los productores de cerveza.

25 Estos productos derivan todos de lúpulos y comienzan con extractos pero usan una gama de procesos con disolvente para conseguir en primer lugar la separación de los compuestos hidrocarbonados terpenoides de la fracción oxigenada y, seguidamente, el fraccionamiento de la fracción oxigenada para producir características de aroma distintivas. De estas fracciones, las fracciones floral y especiada son las usadas más ampliamente.

30 Está ya disponible una amplia gama de preparaciones de sabores naturales, incluyendo aceites esenciales, extractos vegetales y de especias, moléculas de sabores fraccionadas a partir de aceites esenciales o extractos de plantas y moléculas de sabores naturales producidas por fermentación. Las tecnologías usadas para producir estos productos tradicionales están bien establecidas pero usan métodos que con frecuencia son intensos consumidores de energía o disolventes que se producen de combustibles fósiles y necesitan estar estrictamente controlados con respecto a los niveles residuales. Los mayores volúmenes de extractos usados para saborizantes de alimentos es el de las oleorresinas de plantas y de especias. Estas se extraen fundamentalmente en origen usando una gama de disolventes orgánicos tales como hexano y acetona. La actual legislación de la Unión Europea define tanto los niveles permitidos de disolventes de extracción para preparaciones de saborizantes y sus niveles de residuos máximos en alimentos.

35 Restricciones adicionales están prescritas por los organismos de certificación orgánica: ninguno de estos ha sido armonizado.

40 La certificación orgánica solo permite agua, dióxido de carbono y etanol puesto que esos son disolventes seguros y solo usan materias primas renovables. Además, estos tienen la aceptación más amplia. Tanto el dióxido de carbono líquido como el dióxido de carbono supercrítico se han usado como disolventes de proceso. El dióxido de carbono supercrítico también es conocido como un disolvente de extracción en la industria alimentaria. Sin embargo, no se ha usado de forma extensa debido a su elevado coste de instalación, elevado coste de operación y requerimientos de operadores técnicamente experimentados.

45 Los procesos que o bien reducen o eliminan el uso de compuestos orgánicos volátiles (COV) pueden describirse como “verdes” y en este sentido, el uso de dióxido de carbono supercrítico en la ciencia de la extracción es considerado “verde” puesto que actúa tanto reduciendo como reemplazando los COV.

El aceite de lúpulo se produce en la actualidad usando técnicas verdes, pero todavía necesita proporcionar técnicas verdes para los subsiguientes procesos de fraccionamiento.

Compendio de la invención

Un objeto de la presente invención es fraccionar aceite de lúpulo usando un proceso estrictamente “verde”.

50 Otro objeto de la presente invención es usar dióxido de carbono tanto como líquido y como dióxido de carbono supercrítico como disolvente en el fraccionamiento de aceite de lúpulo.

También se describe la preparación de sabores totalmente exentos de residuos de disolvente. Además se describe la producción de cervezas usando sabores “verdes” y exentos de disolvente.

Breve descripción de las figuras

- 5 La Figura 1 representa un perfil de separación típico que representa la presión expresada en kPa (bar) como función del tiempo expresado en horas. La temperatura está indicada a lo largo de las líneas.
- La Figura 2 representa los cromatogramas de varios aceites de lúpulo de partida.
- La Figura 3 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones para aceite de lúpulo Target (SD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de alúmina.
- 10 La Figura 4 muestra los cromatogramas de las fracciones 1, 5 y 10 de CO₂ líquido para aceite de lúpulo Target (SD) a temperatura ambiente sobre soporte de alúmina.
- La Figura 5 representa el análisis FT-IR para fracciones seleccionadas de aceite de lúpulo Target (SD) a temperatura ambiente sobre soporte de alúmina.
- La Figura 6 representa el rendimiento expresado en gramos como función de CO₂ líquido usado expresado en gramos para 3 aceites de lúpulo de partida diferentes.
- 15 La Figura 7 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones de aceite de lúpulo Target (SD) con una separación llevada a cabo a una temperatura de 10 °C con soporte de alúmina.
- La Figura 8 representa los cromatogramas de las fracciones 1, 4 y 7 de CO₂ líquido para aceite de lúpulo Target (SD), sobre soporte de alúmina y a una temperatura de 10 °C.
- 20 La Figura 9 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones de aceite de lúpulo Target (SD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de alúmina neutra.
- La Figura 10 representa los cromatogramas de las fracciones 1, 6 y 12 de CO₂ líquido para aceite de lúpulo Target SD a temperatura ambiente sobre soporte de alúmina neutra.
- La Figura 11 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones de aceite de lúpulo Target (SD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de alúmina ácida.
- 25 La Figura 12 representa los cromatogramas de las fracciones 1, 6 y 13 de CO₂ líquido para aceite de lúpulo Target SD a temperatura ambiente sobre soporte de alúmina ácida.
- La Figura 13 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones de aceite de lúpulo Target (SD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de alúmina.
- 30 La Figura 14 representa los cromatogramas de las fracciones 2, 8 y 15 de CO₂ líquido para aceite de lúpulo Target SD a temperatura ambiente sobre soporte de sílice.
- La Figura 15 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones de aceite de lúpulo Target (MD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de alúmina básica.
- La Figura 16 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones para aceite de lúpulo Cascade (SD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de alúmina básica.
- 35 La Figura 17 representa el rendimiento expresado en gramos para diversas fracciones para aceite de lúpulo Magnum (MD) con una separación llevada a cabo a temperatura ambiente con soporte de gel de sílice 60A 40-63 um y con una alta carga de aceite de lúpulo sobre el soporte.

Descripción detallada de la invención

40 Conforme a esto, la presente invención describe un método para extraer dos o más fracciones de aceite de lúpulo, comprendiendo dicho método las etapas de:

- a) proporcionar un soporte adsorbente inerte;
- b) cargar el aceite de lúpulo sobre el soporte de la etapa a) a una tasa de carga que varía entre 1 y 70% en masa;
- c) separar una primera fracción con dióxido de carbono líquido a una primera temperatura que varía entre 0 °C y 30 °C y una primera presión que varía entre 4×10^3 kPa (40 bar) y $7,28 \times 10^3$ kPa (72,8 bar) y un primer caudal que varía entre 1 g y 400 g/kg de material soportado/min hasta que se consigue la separación total o parcial;
- 45 d) separar una segunda fracción con dióxido de carbono supercrítico a una segunda temperatura que varía entre

ES 2 720 190 T3

31 °C y 80 °C y una segunda presión de al menos $7,28 \times 10^3$ kPa (72,8 bar) y un segundo caudal que varía entre 1 g y 400 g/kg de material soportado/min hasta que se consigue la separación total o parcial;

e) opcionalmente, continuar el proceso de separación con dióxido de carbono supercrítico a otro conjunto de temperatura y presión hasta que se separen todas las fracciones deseadas;

5 f) separar una fracción adicional como en la etapa d) o e) si se separó parcialmente, y/o una nueva fracción con dióxido de carbono supercrítico a una temperatura de al menos 31 °C y una presión de al menos $7,28 \times 10^3$ kPa (72,8 bar) y un caudal que varía entre 1 g y 400 g/kg de material soportado/min usando un codisolvente a un nivel que varía entre 0,05% en masa y 100% en masa del caudal de CO₂ hasta que se consigue la separación total o parcial

10 g) opcionalmente, continuar el proceso de separación con dióxido de carbono supercrítico a otro conjunto de temperatura y presión y codisolvente hasta que se separen todas las fracciones deseadas;

h) empapar el soporte resultante de la etapa f) o de la etapa g) en un disolvente “verde”;

i) decantar o filtrar el disolvente “verde” del soporte y, a continuación, evaporar o destilar dicho disolvente;

j) recuperar los residuos no separados restantes

15 estando caracterizado dicho método por que el fraccionamiento del aceite de lúpulo se consigue sin pasar por la etapa intermedia de aceite de lúpulo incrementado 10 veces.

Los soportes adsorbentes que pueden usarse en la presente invención pueden ser neutros, o básicos o ácidos, y pueden estar seleccionados de cualquier material soporte conocido en la técnica, pero estos deberán ser inertes hacia los componentes del aceite de lúpulo. Estos pueden ser, por ejemplo, perlas de vidrio, aunque preferiblemente tienen una gran superficie específica y, por tanto, se proporcionan en una forma finamente molida o en una forma porosa.

20 El soporte puede estar seleccionado de cualquier material poroso. Típicamente, está seleccionado de sílice, alúmina, montmorillonita, silicato de magnesio, silicato de aluminio, zeolita, perlas de poliestireno, quitosano, polisacáridos. El material soporte adecuado puede estar seleccionado, por ejemplo, de Celite S®, Celite 110®, Celite 209®, Celite 281®, Celite 503®, Celite 512M®, Celite 545®, Celite 545AW®, Celite 560®, Celite 577F®, Celite 535® todos producidos por Celite Corp., Alúmina ácida (Alúmina A), Alúmina básica (Alúmina B), Alúmina neutra (Alúmina N), Ascarite® y Florisil® ambas producidas por Sigma-Aldrich, Bentonita, Caolín, tierra de Fuller, producidas por Sigma-Aldrich, gel de sílice 60A 40-63um producida por Fluorochem LC301SP.

Preferiblemente el material soporte poroso tiene las siguientes propiedades típicas;

- poros que tienen un diámetro que varía de 7,5 a 30 nm;
- 30 – porosidad que varía de 1 a 4 cm³/g;
- la superficie específica no está particularmente limitada, típicamente varía de 5 a 250 m²/g; y
- un diámetro promedio de partículas que varía de 1 a 150 µm.

La naturaleza del soporte tiene una influencia sobre la resistencia de unión entre soporte y material adsorbido. Puede ser compleja tal como Celite o bentonita y tener poca resistencia de unión. De forma alternativa, puede ser una alúmina ácida o neutra o básica y ofrecer una unión resistente. El soporte se selecciona así o se adapta de acuerdo con el nivel deseado de separación o de acuerdo con la naturaleza del material a separar. Por ejemplo, se observa que cambiar de soportes de alúmina neutra a ácida tiene como resultado una distribución de fracciones hacia fracciones más polares y mayor interacción del soporte.

40 El material de aceite de lúpulo de partida se obtiene de suministradores comerciales. Puesto que estos varían en el contenido en sabor, necesitan perfilarse. Los compuestos hidrocarbonados, ésteres, cetonas y alcoholes son conocidos por variar de un aceite de lúpulo a otro de acuerdo con la variedad de lúpulo seleccionada. Los principales componentes del aceite de lúpulo son compuestos hidrocarbonados terpenoides en particular mirceno, humuleno y cariofileno.

La Figura 2 representa los cromatogramas de varios aceites de lúpulo de partida.

45 El soporte se carga con aceite de lúpulo a una tasa de carga que varía entre 1 y 70% en masa, preferiblemente entre 1 y 30% en masa, y más preferiblemente entre 5 y 20% en masa.

El dióxido de carbono líquido usado en la primera separación se usa preferiblemente a una temperatura que varía entre 3 °C y 7 °C, a una presión que varía entre 6 y 7×10^3 kPa (60 y 70 bar) con un caudal preferido de 1 g y 400 g/kg de material soportado/min y un período de tiempo que varía entre 45 minutos y 1 hora.

50 Para las posteriores separaciones usando dióxido de carbono, la temperatura y presión se seleccionan para separar el aroma deseado, usando condiciones polares crecientes.

La fracción de CO₂ líquido, sin embargo, varía en el comportamiento dependiendo de la proporción de compuestos hidrocarbonados de mono- y sesquiterpeno en el aceite de lúpulo de partida.

Por encima de la temperatura del punto supercrítico, la temperatura y presión se seleccionan y ajustan para fraccionar una amplia gama de moléculas.

- 5 El dióxido de carbono supercrítico puede incluir además un porcentaje de codisolvente, preferiblemente seleccionado de etanol. Esto conduce a productos de separación diferentes distintivos. El porcentaje de codisolvente añadido varía entre 0,05 y 100% en masa, preferiblemente entre 0,05 y 40% en masa, y más preferiblemente entre 1 y 20% en masa.

10 Otra ventaja de usar dióxido de carbono supercrítico como disolvente de fraccionamiento y extracción es que puede eliminarse fácilmente debido a su tensión superficial “cero”, produciendo de este modo productos exentos de disolvente.

Los disolventes “verdes” están seleccionados de agua, etanol y dióxido de carbono.

También se describen productos de sabor obtenidos por el método de la presente invención. Debido a que los presentes productos de sabor se han obtenido sin disolventes, estos no adolecen de la desventaja de contener cantidades minoritarias de disolventes.

- 15 También se describen productos de cerveza preparados con los productos de sabor de la presente invención. Además de ser totalmente “verdes”, estos tienen un sabor “limpio” distintivo.

Ejemplo 2

Se repitió el mismo esquema de preparación que el del Ejemplo 1 usando una temperatura menor de 10 °C en lugar de temperatura ambiente.

- 20 Los rendimientos de fracciones fueron casi idénticos a los del Ejemplo 1 pero la fracción de CO₂sc fue mayor como puede apreciarse en la Figura 7. Los cromatogramas de cada fracción mostraron que la distribución de las cetonas cambió de forma significativa como se aprecia para el ejemplo en la Figura 8. Hubo menos 2-undecanona en las fracciones de CO₂ líquido y la fracción de CO₂sc fue mucho más rica en cetonas con menos humuleno y cariofileno. Las fracciones de CO₂sc + etanol fueron similares a las obtenidas a temperatura ambiente pero se extrajeron menos ácidos grasos.

El soporte se preparó como sigue: se pesaron 900 g de soporte mineral en un matraz de un evaporador rotatorio de 2000 ml, se añadieron 100 de aceite de lúpulo en porciones de 10 g, haciendo girar el matraz entre adiciones para dispersar totalmente el aceite y se hizo girar el matraz lentamente hasta que se obtuvo un polvo que fluye libremente.

- 30 La extracción se llevó a cabo entonces como sigue: los refrigeradores se ajustaron a una temperatura de 0 °C para la bomba de CO₂ y a una temperatura de +5 °C para la trampa fría. Se cargó 1 kg de aceite de lúpulo soportado en el extractor de 1000 ml, se fluidificó el polvo usando una espátula larga para compactar la carga y se retiró todo el polvo del reborde y roscas internas antes de cerrar el extractor. La presión interior del cilindro se ajustó a 5-5,2 x 10³ kPa (50-52 bar) usando un regulador de contrapresión manual (BPR) sobre la línea de entrada de CO₂, el calentador de entrada en línea y el extractor 1 se desconectaron y el separador se calentó hasta 35 °C.

- 35 La primera extracción se llevó a cabo con CO₂ líquido a temperatura ambiente (25 °C) y 7 x 10³ kPa (70 bar) con un caudal de 15 g/min. Una vez se hubo alcanzado la presión, se ajustó el separador hasta una contrapresión de 1,5 x 10³ kPa (15 bar) y se recogieron muestras cada 15 minutos, hasta que el peso de la fracción de 15 minutos fue menor de 1 g. Cuando se recogió la última muestra, se drenó la trampa fría. Después de completarse, se desconectó la bomba de CO₂, se liberó la contrapresión del separador y se lavaron el separador y la trampa fría con alcoholes industriales metilados (IMS), se descartaron los líquidos de lavado. La tapa se volvió a ajustar y se apretó después de secado concienzudo.

- 45 En la subsiguiente extracción usando CO₂ supercrítico, se ajustó el regulador de contrapresión automatizado (ABPR) a 40 x 10³ kPa (400 bar) y la temperatura del extractor se aumentó hasta 50 °C. Una vez alcanzada la temperatura, se conectó el CO₂ a un caudal de 15 g/minuto y una vez se alcanzó la presión el separador se ajustó a una contrapresión de 1,5 x 10³ kPa (15 bar) y la fracción del separador se recogió después de 60 minutos. Cuando se completó, se desconectó la bomba de CO₂, se liberó la contrapresión y se lavó el separador con IMS. Los líquidos de lavado se descartaron, los volátiles de la trampa se recogieron en un vial separado, luego se abrió la trampa y se lavó con IMS y se descartaron los líquidos de lavado. Se volvieron a ensamblar la trampa y el separador.

- 50 La siguiente extracción se llevó a cabo con CO₂ supercrítico con etanol como codisolvente. Se cebó la bomba de codisolvente, luego se abrió lentamente la válvula para dejar equilibrar la presión con flujo de CO₂sc. El dispositivo ABPR se redujo lentamente hasta 30 x 10³ kPa (300 bar) y la temperatura del extractor se redujo hasta 40 °C. Una vez que la temperatura se hubo alcanzado, se conectó el flujo de CO₂ a un flujo de 18 g/minuto y una vez se hubo alcanzado la presión, el separador se ajustó hasta una contrapresión de 1,5 x 10³ (15 bar) y la bomba de codisolvente se abrió a un caudal de 2 g/minuto de etanol, que corresponde a un 10% en volumen. Las muestras se recogieron

cada hora durante 3 horas pero el separador y la trampa se drenaron cada 30 minutos en el mismo matraz. Después de 3 horas, se desconectó la bomba de codisolvente pero la bomba de CO₂ se hizo funcionar durante otros 30 minutos añadiendo este a la fracción final.

5 Al final de la operación la planta se limpió cuidadosamente como sigue: la planta se despresurizó y se desconectaron todos los calentadores. Los contenidos del extractor se vaciaron en un vaso de precipitados de plástico y el extractor se limpió con un limpiador de vacío. La trampa y el separador se limpiaron con IMS, y se dejaron secar. La planta se volvió a ensamblar.

En la Figura 1 puede apreciarse un perfil típico de extracción donde puede apreciarse que cada pico de fracción eluye durante un período de tiempo dado.

10 La identificación de los compuestos se basó en el índice de retención de Kovats calculado, comparación con espectros de masas de bibliotecas (NIST y Adams) y comparación con componentes patrón. El uso de una columna VF-5 (equivalente a DB-5 o HP-5) permitió una correlación más exacta con la base de datos Adams extensiva. Los espectros infrarrojos también se obtuvieron en las fracciones de CO₂ líquido y CO₂ supercrítico usando un equipo de FT-IR Nicolet 8700 provisto con una celda de diamante. Los barridos se promediaron a partir de treinta y dos barridos.

15 Ejemplo 1

Los ensayos se llevaron a cabo con aceite de lúpulo Target (SD) a temperatura ambiente con soporte de alúmina suministrado por TNS. Esta es una alúmina básica activada por calor suministrada por Rockwood.

Las fracciones separadas se muestran en la Figura 3 y los sabores separados se describen a continuación aquí.

Separación con dióxido de carbono líquido.

20 La Figura 4 muestra los cromatogramas de las fracciones primera, media y última de CO₂ líquido y muestra que hacia el final de la extracción con dióxido de carbono líquido, comenzó a eluir 2-undecanona. Esta tendencia es confirmada por el análisis de FT-IR representado en la Figura 5, que muestra una tensión de carbonilo creciente a 1725 cm⁻¹ a partir de cetonas contra una tensión de carbonilo de éster decreciente a 1740 cm⁻¹. La fracción de CO₂ líquido varía en el comportamiento dependiendo de la proporción de compuestos hidrocarbonados de mono- y sesquiterpeno en el aceite recuperándose cantidades variables en el separador o en la trampa fría.

25 La Figura 6, que representa un gráfico del rendimiento como una función de la cantidad de CO₂ para diversos aceites de lúpulo de partida, muestra claramente que cada aceite debe ser procesado durante un tiempo diferente de acuerdo con su composición.

Separación con dióxido de carbono supercrítico.

30 La fracción de CO₂ supercrítico está compuesta principalmente de cetonas con algo de cariofileno y humuleno residuales y el espectro de FT-IR muestra que esto tiene una tensión de carbonilo de cetona casi pura. Esta fracción parece tener las características organolépticas de una fracción floral.

Dióxido de carbono supercrítico con separación de etanol al 10% en volumen.

35 Las fracciones de CO₂ supercrítico con etanol al 10% añadido fueron inconfundiblemente diferentes. La fracciones primera y segunda estaban compuestas principalmente de linanol y 2-humulenol con algo de 2-undecanona y tenían un carácter especiado de lúpulo distintivo. La tercera fracción contenía niveles mucho mayores de ácidos grasos libres y tenía un aroma ácido apreciable.

Ejemplo 2

40 Se repitió el mismo esquema de separación que el del Ejemplo 1 usando una menor temperatura de 10 °C en lugar de la temperatura ambiente.

45 Los rendimientos de fracciones fueron casi idénticos a los del Ejemplo 1 pero la fracción de CO₂sc fue mayor como puede apreciarse en la Figura 7. Los cromatogramas de cada fracción mostraron que la distribución de las cetonas cambió de forma significativa como se aprecia para el ejemplo en la Figura 8. Hubo menos 2-undecanona en las fracciones de CO₂ líquido y la fracción de CO₂sc fue mucho más rica en cetonas con humuleno y cariofileno. Las fracciones de CO₂sc + etanol fueron similares a las obtenidas a temperatura ambiente pero se extrajeron menos ácidos grasos. Sin pretender quedar limitado por la teoría, se asume que el CO₂ se está comportando como un disolvente menos polar a menores temperaturas y así, debería ser preferible para llevar a cabo la separación a 10 °C.

Las fracciones de CO₂sc + etanol de ambos ensayos con aceite de lúpulo Target tuvieron un carácter especiado general pero cuando se airean en una tira de prueba de olor emerge un apreciable carácter cítrico.

50 Ejemplo 3

Los Ejemplos 1 y 2 se llevaron a cabo ambos usando la alúmina suministrada por TNS. Esta es una alúmina básica activada por calor suministrada por Rockwood. En este ejemplo, el soporte fue alúmina neutra suministrada por Sigma-Aldrich y con una distribución de tamaño de partículas casi idéntica a la alúmina Rockwood.

5 El uso de este soporte produjo fracciones con rendimientos ligeramente mayores en CO₂sc y CO₂sc + etanol a los de los Ejemplos 1 y 2 como puede apreciarse en la Figura 9. Esto puede asociarse con una mayor retención del soporte.

Los cromatogramas mostraron que el CO₂ líquido estaba separando mucha menos 2-undecanona incluso en las últimas fracciones, como puede apreciarse, por ejemplo, en la Figura 10.

10 Al aumentar la presión al CO₂ supercrítico comenzó a separar la 2-undecanona pero esta fracción todavía contenía elevados niveles de compuestos hidrocarbonados de sesquiterpeno. La posterior adición de etanol produjo aún fracciones que eran ricas en 2-undecanona, quedando retenido el linalol en el soporte.

Ejemplo 4

El soporte de alúmina neutra se reemplazó por alúmina ácida. Esto dio lugar a un cambio adicional en la distribución de fracciones hacia fracciones más polares y mayor interacción del soporte como se aprecia en la Figura 11.

15 Los cromatogramas mostraron que el CO₂ líquido casi no estaba separando 2-undecanona incluso en las últimas fracciones. Al aumentar la presión al CO₂ supercrítico comenzó a separar las cetonas pero esta fracción todavía contenía altos niveles de compuestos hidrocarbonados de sesquiterpeno como se aprecia, por ejemplo, en la Figura 12. La adición de etanol produjo fracciones que todavía eran ricas en 2-undecanona, quedando retenido el linalol casi totalmente en el soporte.

Ejemplo 5

20 En esta serie de ensayos se usó soporte de sílice. Este soporte parece comportarse como material altamente ácido pero en realidad es un material neutro que tiene un pH de 6,7 en una solución al 10%.

25 En este ensayo hubo un cambio adicional hacia fracciones más polares con mayores niveles tanto con CO₂sc como con CO₂sc + etanol en particular en la segunda fracción de codisolvente como se aprecia en la Figura 13. Los cromatogramas mostraron que tanto el CO₂ líquido como el CO₂sc casi no estaban separando 2-undecanona como se aprecia, por ejemplo, en la Figura 14. Con la adición del etanol, se separó un nivel significativo de cetonas solo después de la segunda fracción y el linalol quedaba casi totalmente retenido en el soporte.

Ejemplo 6

30 Este ensayo se llevó a cabo usando alúmina básica tratada por calor (Rockwood) usando aceite de lúpulo Target (MD). Se comportó de un modo similar al aceite de lúpulo Target (SD) pero tuvo un rendimiento global menor como puede apreciarse en la Figura 15.

35 Los cromatogramas de las fracciones primera, media y última de CO₂ líquido indicaron que hacia el final de la extracción con CO₂ líquido, 2-undecanona y 2-tridecanona comenzaron a ser los componentes predominantes. La fracción de CO₂ supercrítico estaba compuesta principalmente de cetonas pero también estaba presente linalool. La fracción de CO₂ supercrítico con 10% de etanol añadido se recogió como fracciones a las tres horas. Estas fueron inconfundiblemente diferentes: la primera fracción estaba compuesta principalmente de linalol y 2-humulenol pero tanto la segunda como la tercera fracciones tenían niveles significativos de ácidos grasos. Se cree que la separación podría mejorarse usando este aceite a menor temperatura que la observada en el aceite de lúpulo Target (SD) del Ejemplo 2.

Ejemplo 7

40 En este ensayo se usó aceite de lúpulo Cascade (SD). También parece tener una cantidad significativa de material polimerizado puesto que el rendimiento total fue solo de un 63% del peso de partida. La distribución de fracciones también mostró bajos niveles tanto de las fracciones de CO₂sc como de CO₂sc + etanol como puede apreciarse en la Figura 16. Estas tuvieron un aroma muy intenso.

45 Los cromatogramas para las fracciones de Cascade mostraron que las fracciones de CO₂ líquido comprendían casi totalmente compuestos hidrocarbonados. La fracción de CO₂ supercrítica tuvo un intenso aroma a rosas/floral probablemente atribuido al alto nivel de geranato de metilo. Las fracciones de CO₂sc + etanol eran predominantemente linalool y geraniol y de nuevo tuvieron un intenso aroma floral. La fracción de CO₂sc + etanol tuvo altos niveles de ácidos grasos incluyendo ácido geránico y por tanto era una fracción precursora potencial para producir más geranato de metilo.

Ejemplo 8

50 Este ensayo se llevó a cabo usando gel de sílice 60A 40-63um (Fluorochem LC301SP) y aceite de lúpulo Magnum (MD). En este ejemplo se demuestra una carga de aceite de lúpulo significativamente mayor con 460 g de aceite de

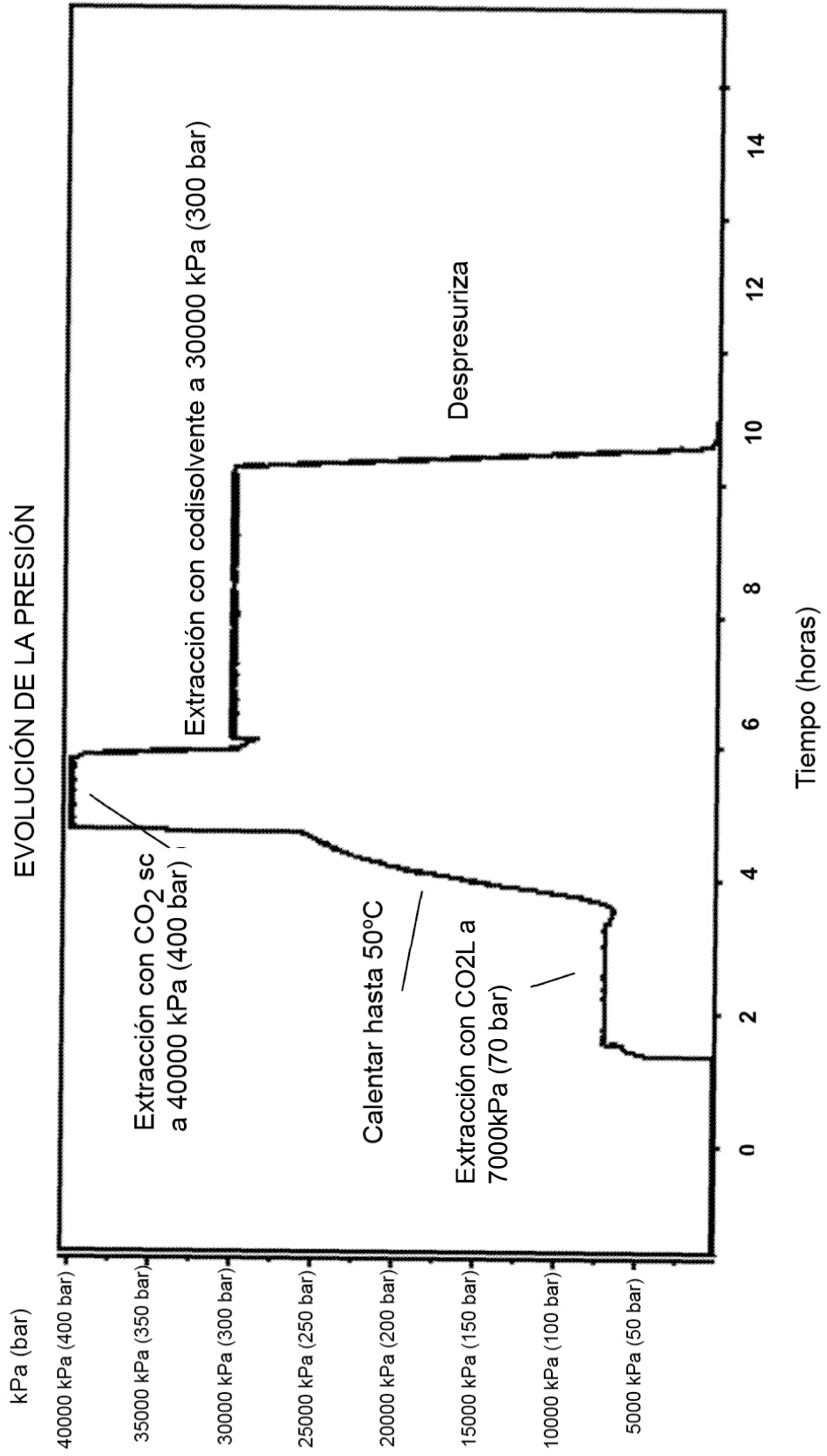
lúpulo Magnum que está revestido sobre 500 g de sílice. La extracción siguió un modelo de rendimientos similar al de los ejemplos anteriores llevados a cabo con una menor carga de aceite como puede apreciarse en la Figura 17. Los cromatogramas de las fracciones de CO₂ líquido indicaron que la composición era casi totalmente compuestos hidrocarbonados de terpeno con menores niveles de ésteres, tales como 4-decenoato de metilo hacia el final de la extracción con CO₂ líquido. La fracción de CO₂ supercrítico estaba compuesta principalmente de cetonas pero también estaba presente un bajo nivel de linalool. La fracción de CO₂ supercrítico con etanol al 10% añadido se recogió como fracciones a una hora. Estas eran todas similares y compuestas principalmente de linalool y 2-humulenol con otros alcoholes de mono- y sesquiterpeno presentes. Aunque este ejemplo produjo fracciones que tenían propiedades organolépticas muy distintivas la separación entre los compuestos hidrocarbonados, ésteres, cetonas y alcoholes no era tan pronunciada como la de los Ejemplos 1 a 7 llevados a cabo con menor carga de aceite.

REIVINDICACIONES

1. Un método para extraer dos o más fracciones de aceite de lúpulo, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - a) proporcionar un soporte adsorbente inerte;
 - b) cargar el aceite de lúpulo sobre el soporte de la etapa a) a una tasa de carga que varía entre 1 y 70% en masa;
 - 5 c) separar una primera fracción con dióxido de carbono líquido a una primera temperatura que varía entre 0 °C y 30 °C y una primera presión que varía entre 4×10^3 kPa (40 bar) y $7,28 \times 10^3$ kPa (72,8 bar) y un primer caudal que varía entre 1 g y 400 g por min y por kg de material soportado hasta que se consigue la separación total o parcial;
 - 10 d) separar una segunda fracción con dióxido de carbono supercrítico a una segunda temperatura que varía entre 31 °C y 80 °C y una segunda presión de al menos $7,28 \times 10^3$ kPa (72,8 bar) y un segundo caudal que varía entre 1 g y 400 g por minuto y por kg de material soportado por min hasta que se consigue la separación total o parcial;
 - e) opcionalmente, continuar el proceso de separación con dióxido de carbono supercrítico a otro conjunto de temperatura y presión hasta que se separen todas las fracciones deseadas;
 - 15 f) separar una fracción adicional como en la etapa d) o e) si se separó parcialmente, y/o una nueva fracción con dióxido de carbono supercrítico a una temperatura de al menos 31 °C y una presión de al menos $7,28 \times 10^3$ kPa (72,8 bar) y un caudal que varía entre 1 g y 400 g por minuto y por kg de material soportado usando un codisolvente a un nivel que varía entre 0,05% en masa y 100% en masa del caudal de CO₂ hasta que se consigue la separación total o parcial;
 - 20 g) opcionalmente, continuar el proceso de separación con dióxido de carbono supercrítico a otro conjunto de temperatura y presión y codisolvente hasta que se separen todas las fracciones deseadas;
 - h) empapar el soporte resultante de la etapa f) o de la etapa g) en un disolvente "verde";
 - i) decantar o filtrar el disolvente "verde" del soporte y, a continuación, evaporar o destilar dicho disolvente;
 - j) recuperar los residuos no separados restantes.
- 25 2. El método de la reivindicación 1 donde los soportes adsorbentes inertes que pueden usarse en la presente invención pueden ser neutros, o básicos o ácidos.
3. El método de la reivindicación 2 donde el soporte está seleccionado de sílice, alúmina, montmorillonita, silicato de magnesio, silicato de aluminio, zeolita, perlas de poliestireno, quitosano, polisacáridos.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la tasa de carga del soporte con aceite de lúpulo varía entre 1 y 30% en masa.
- 30 5. El método de la reivindicación 4 donde la tasa de carga del soporte con aceite de lúpulo varía entre 5 y 20% en masa.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el disolvente "verde" está seleccionado de agua, etanol o dióxido de carbono obtenido de fuentes biológicas y sostenibles.
- 35 7. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde en la etapa c) la temperatura varía entre 3 °C y 7 °C, y la presión varía entre $6-7 \times 10^3$ kPa (60-70 bar).
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la presión en la reivindicación 1, etapa d) es como máximo 7×10^4 kPa (700 bar).
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el codisolvente en la reivindicación 1 etapa f) es etanol usado en una cantidad que varía entre 1 y 20% en masa.

40

FIGURA 1



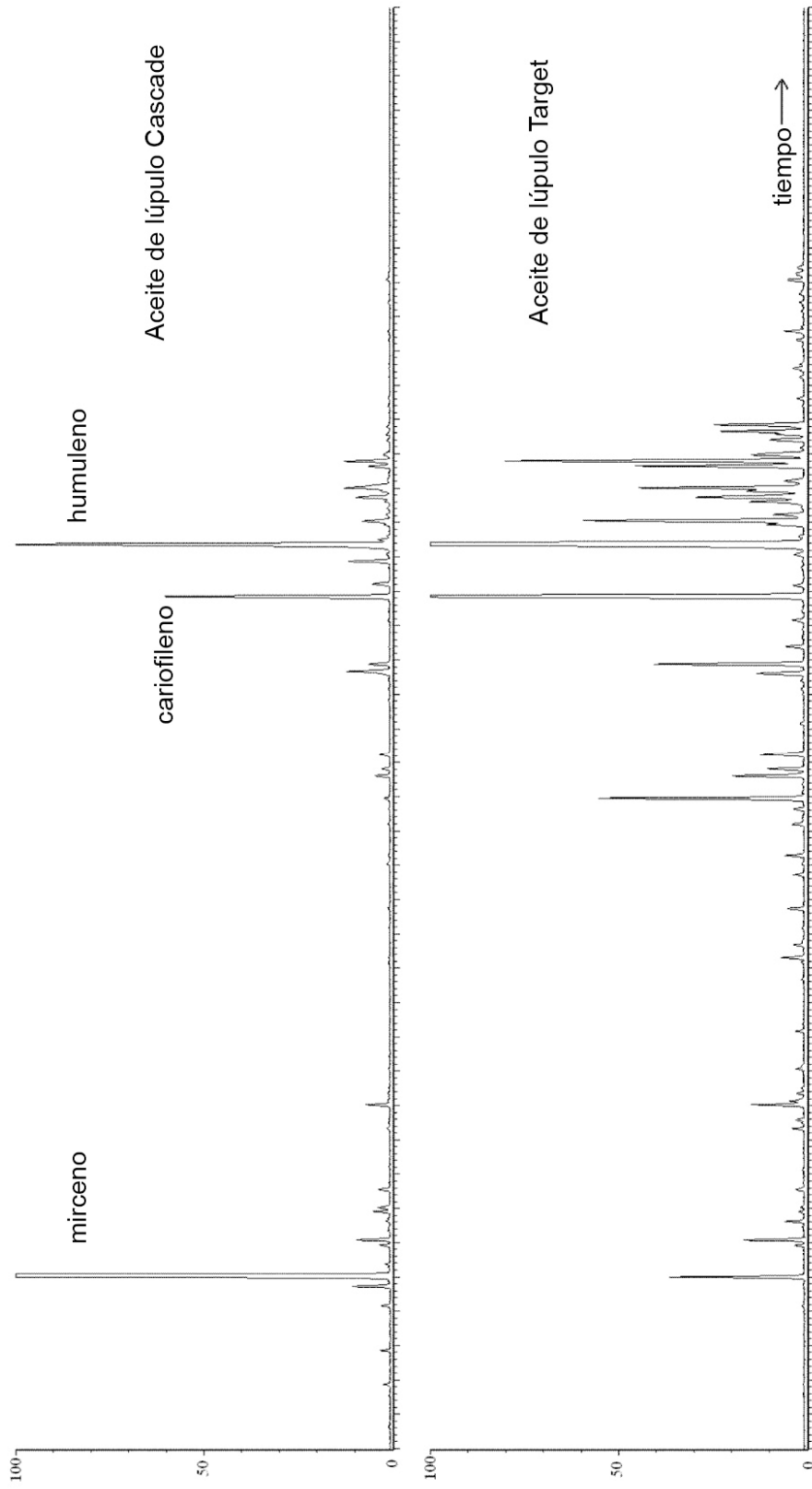
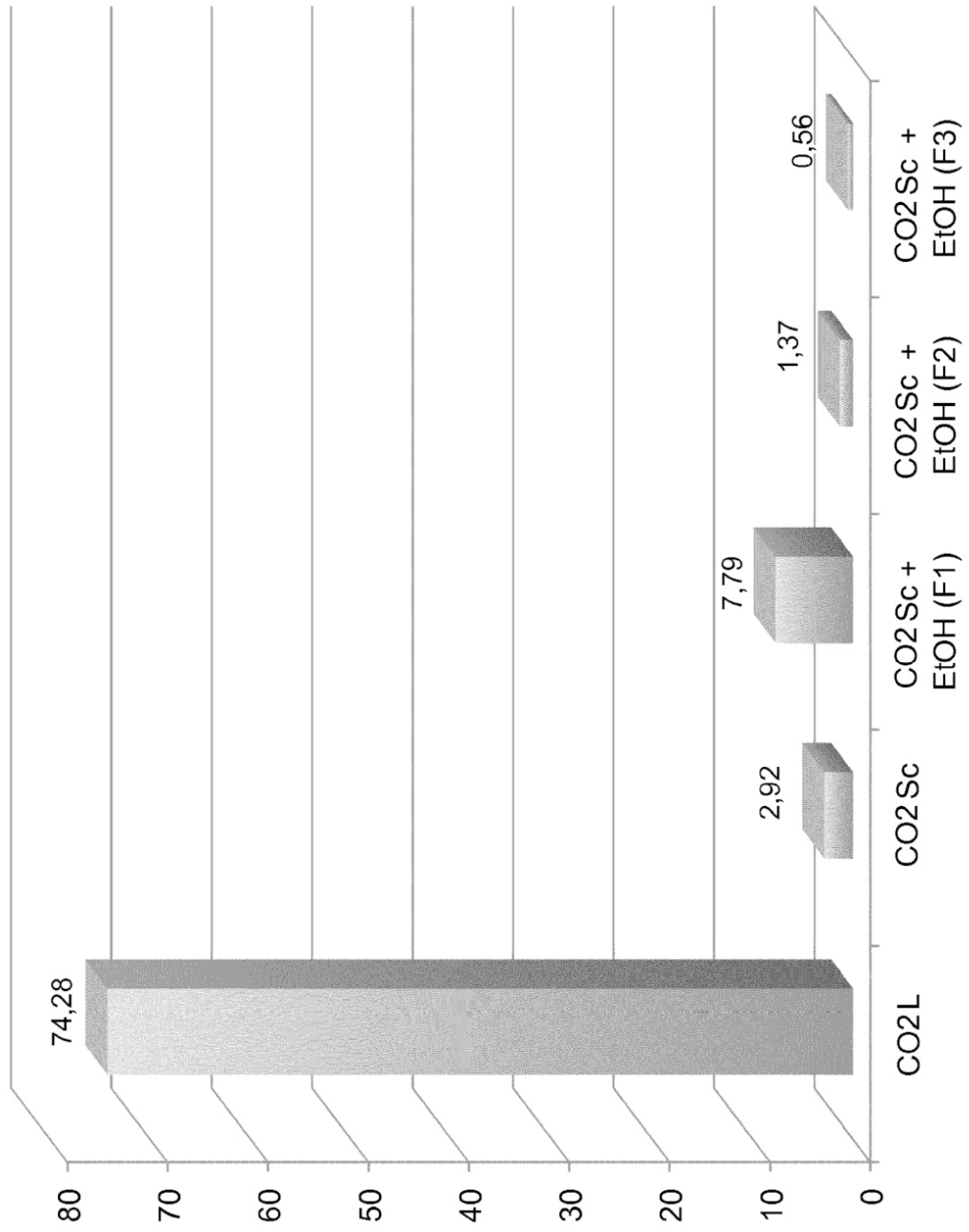


FIGURA 2

FIGURA 3



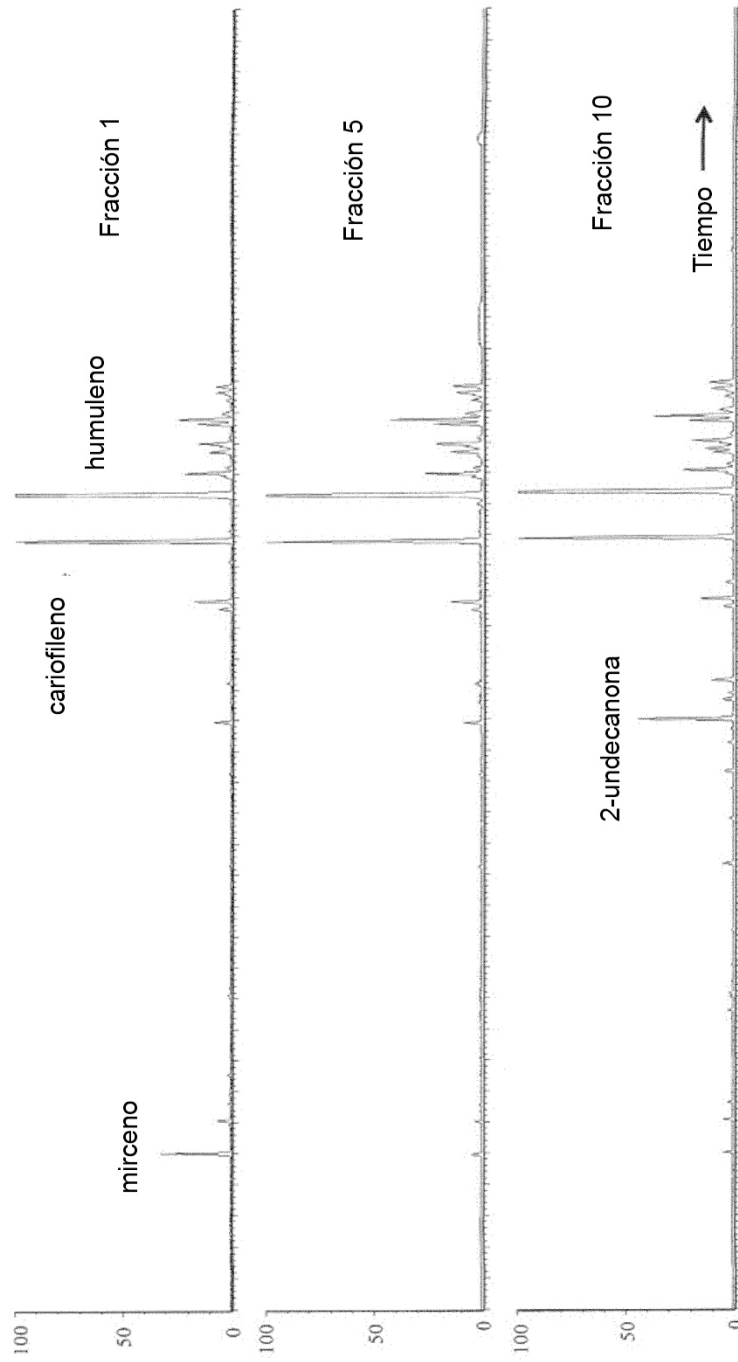


FIGURA 4

FIGURA 5

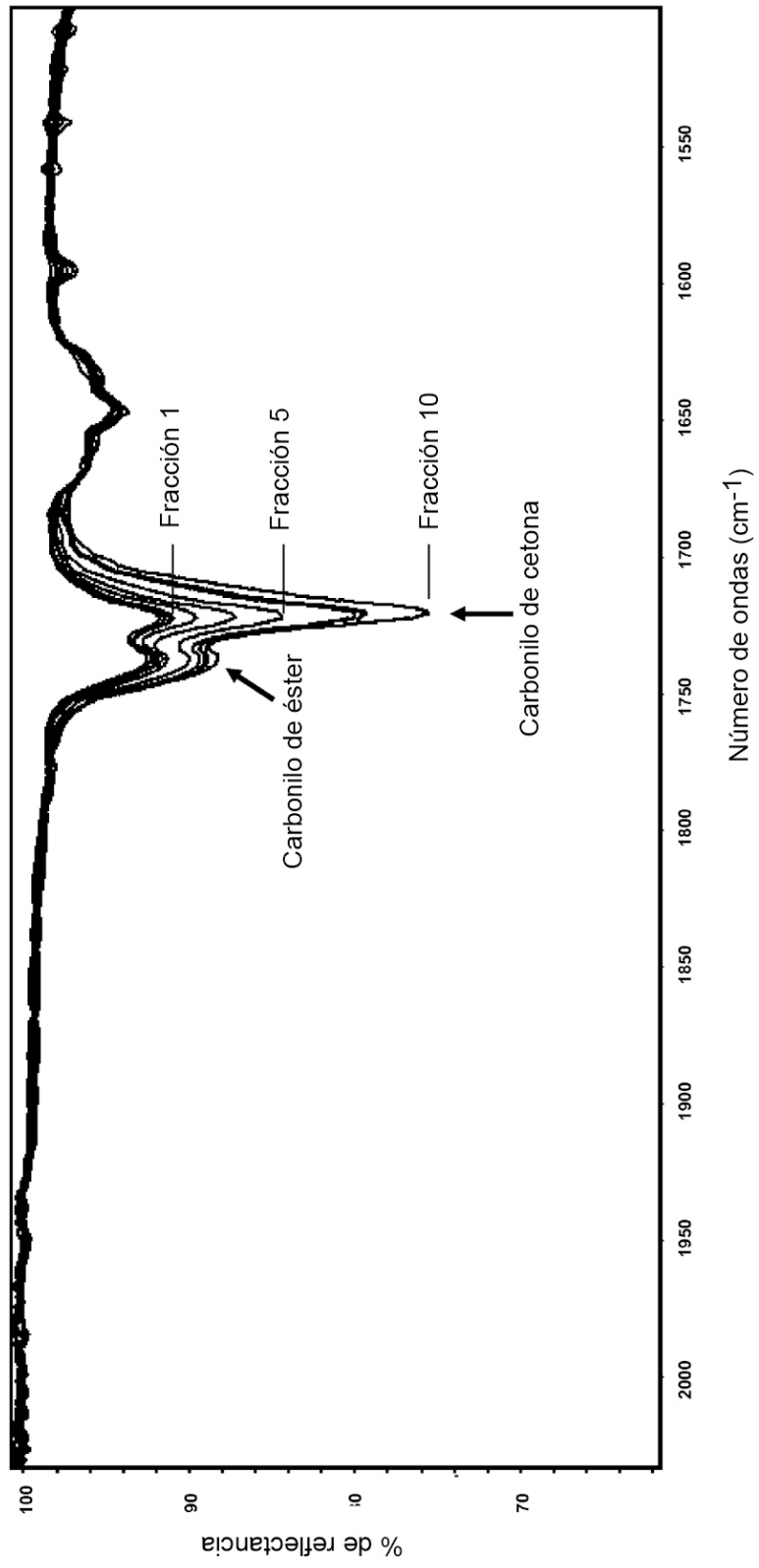
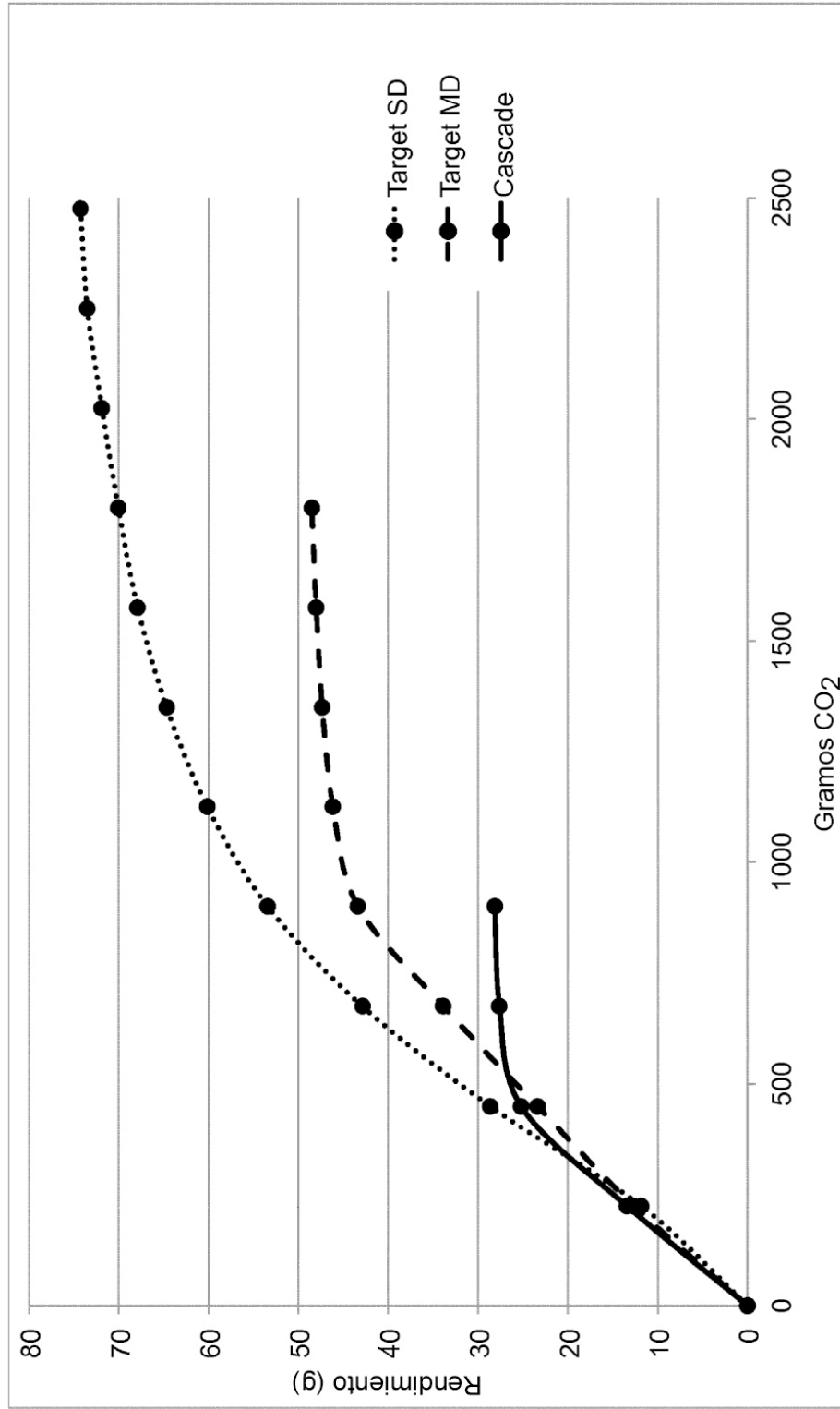


FIGURA 6



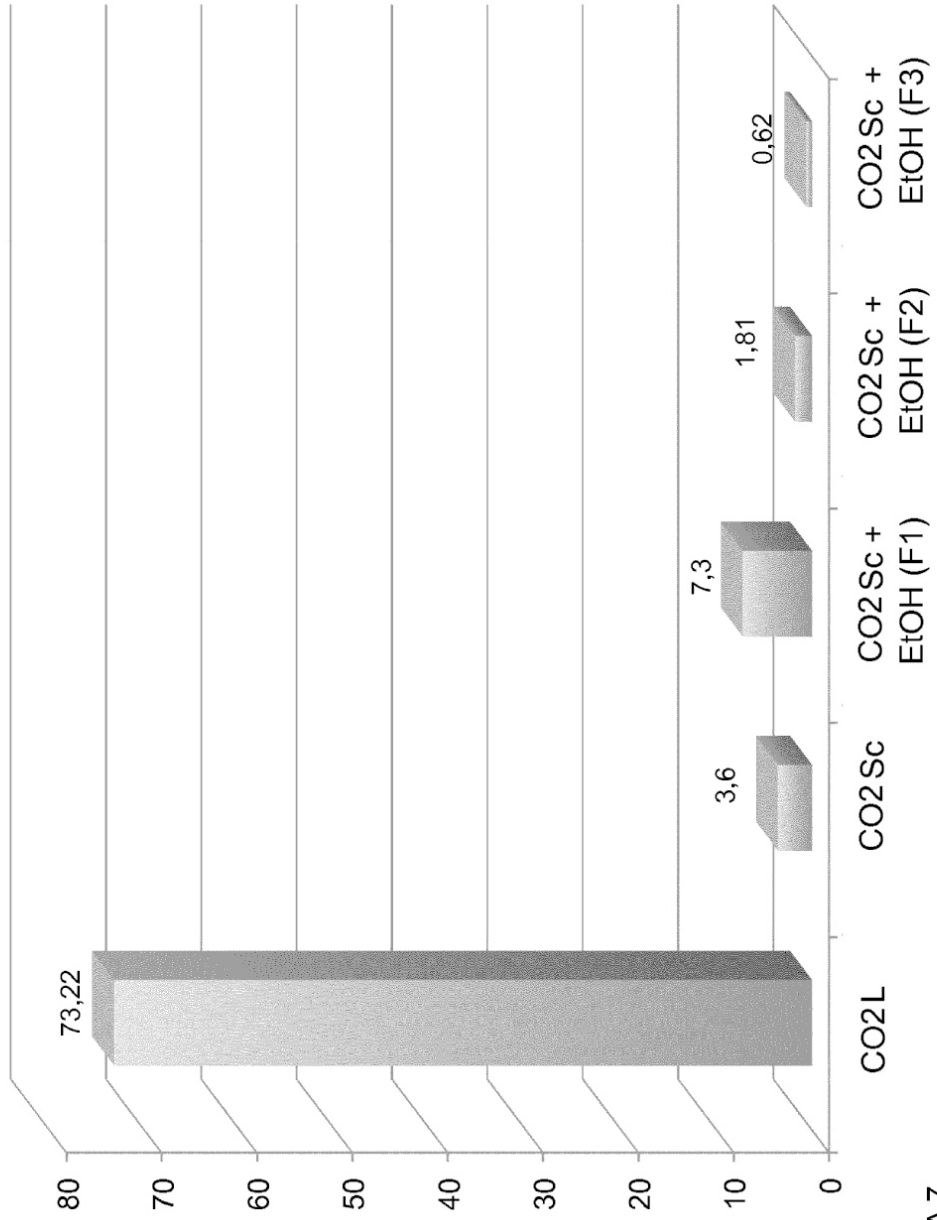


FIGURA 7

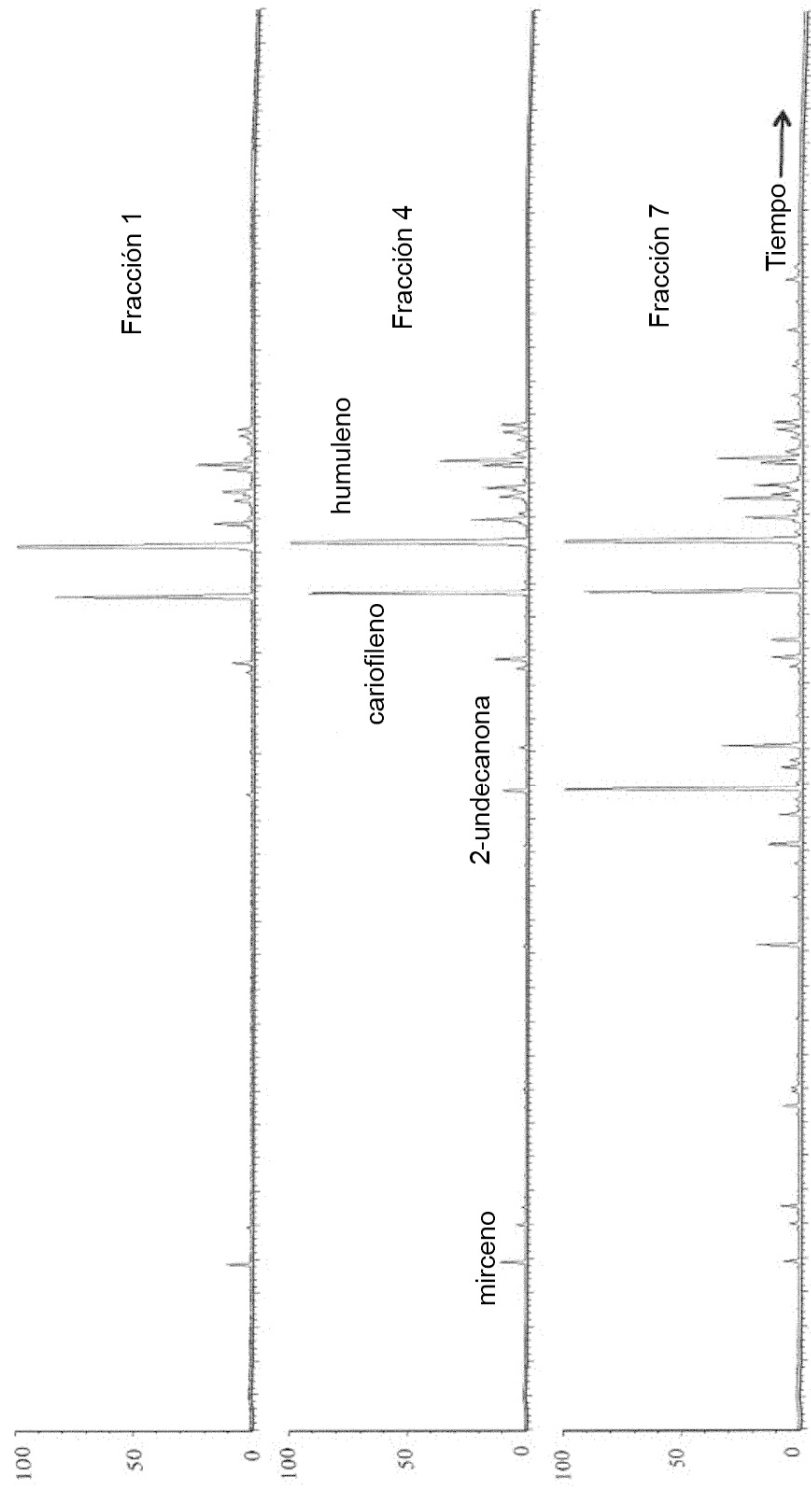


FIGURA 8

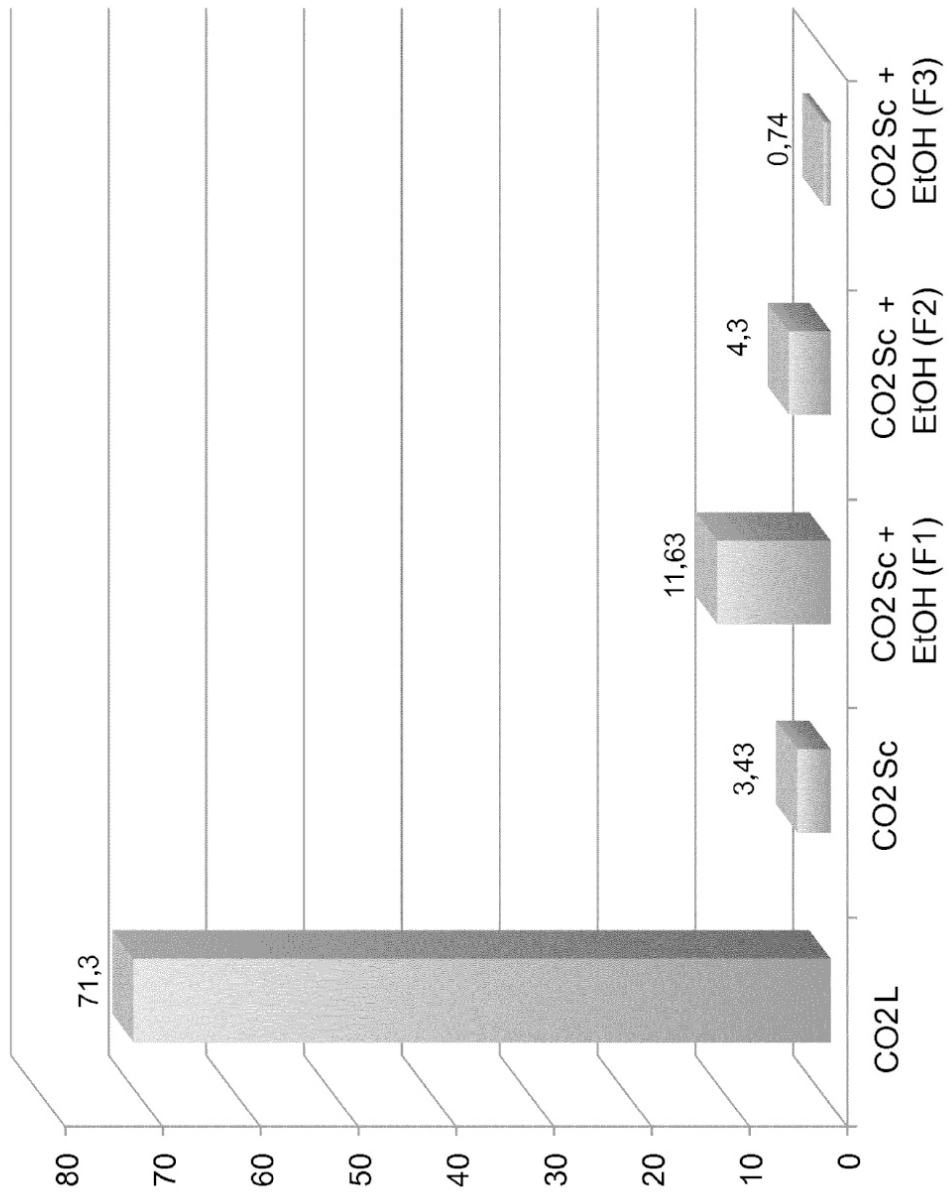


FIGURA 9

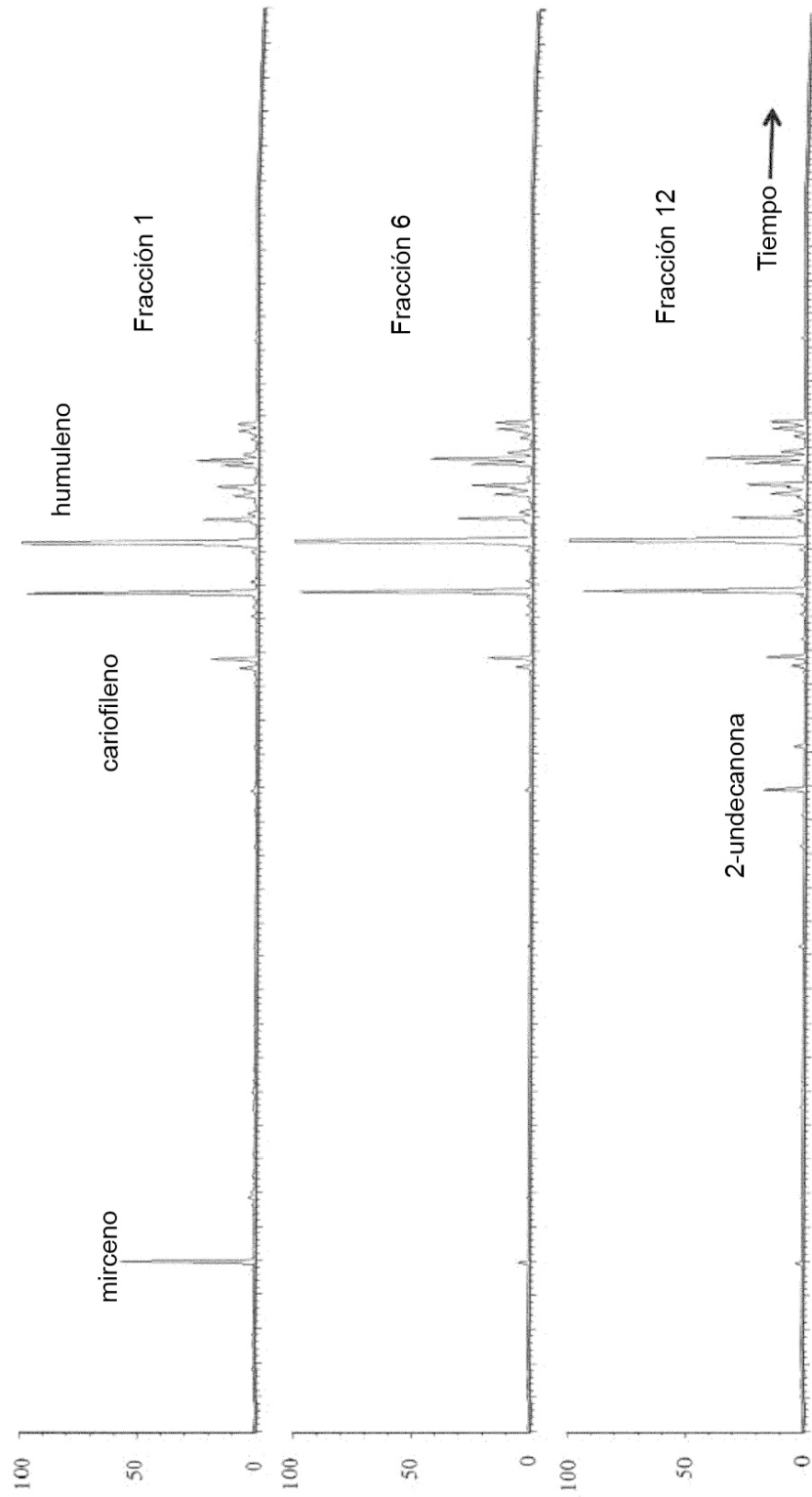


FIGURA 10

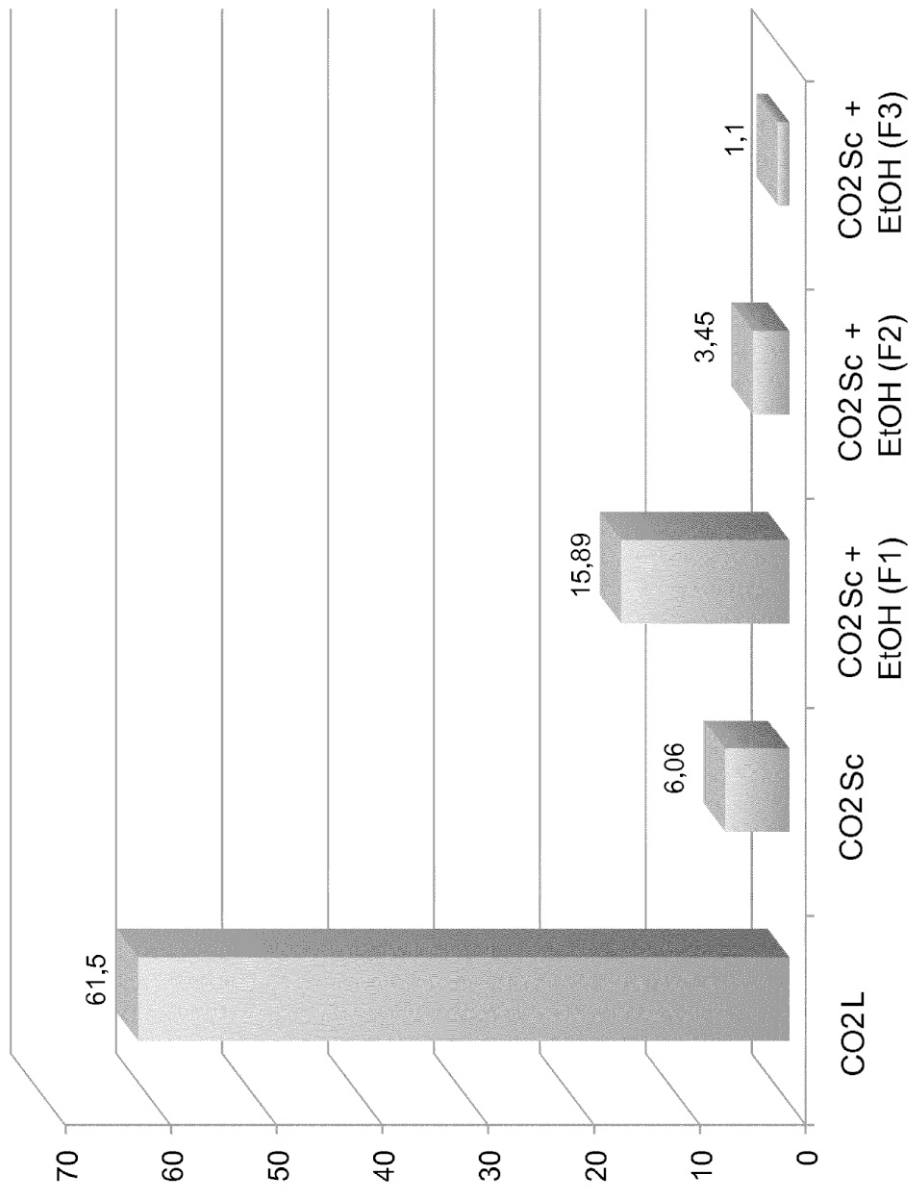


FIGURA 11

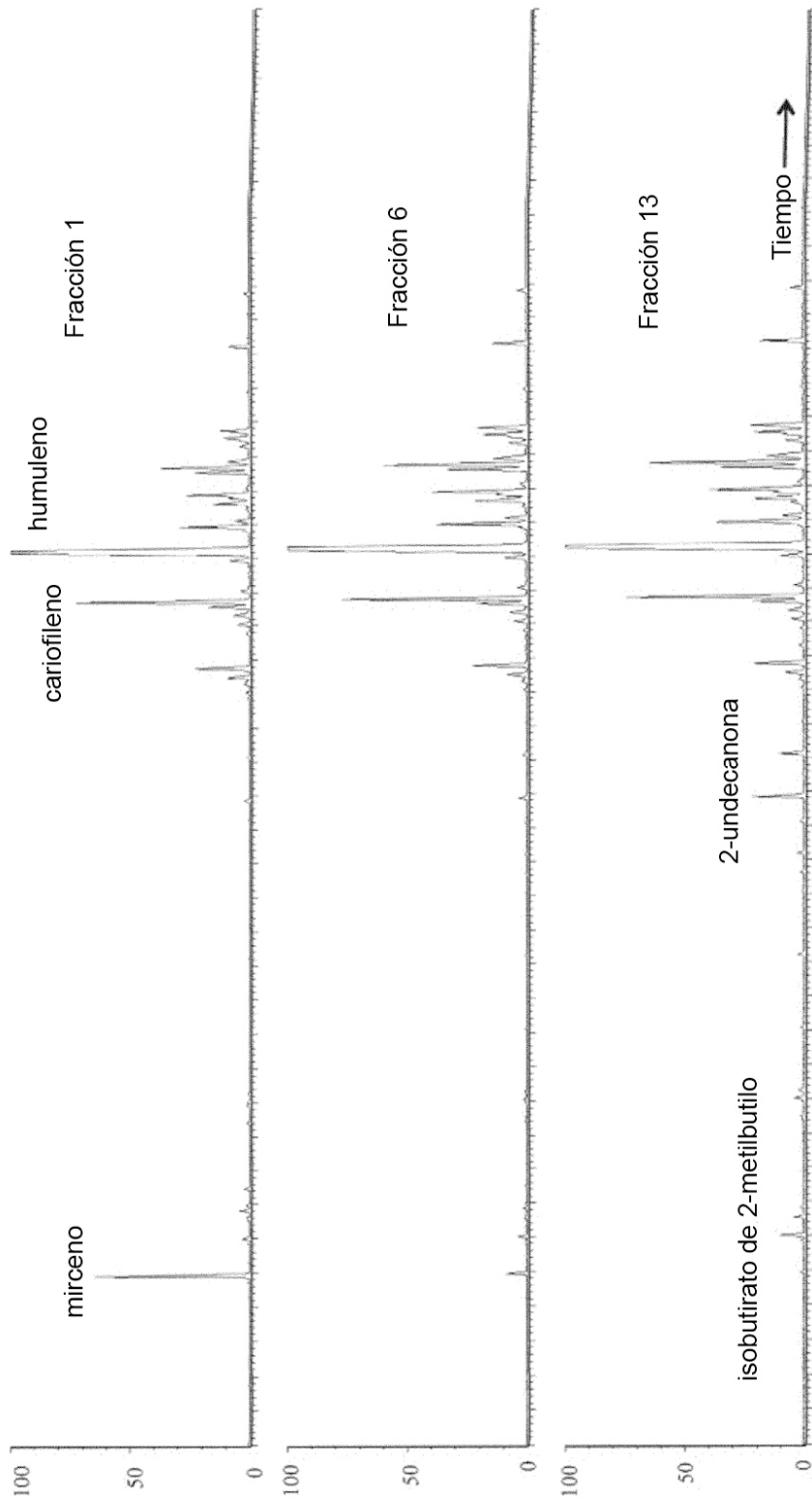


FIGURA 12

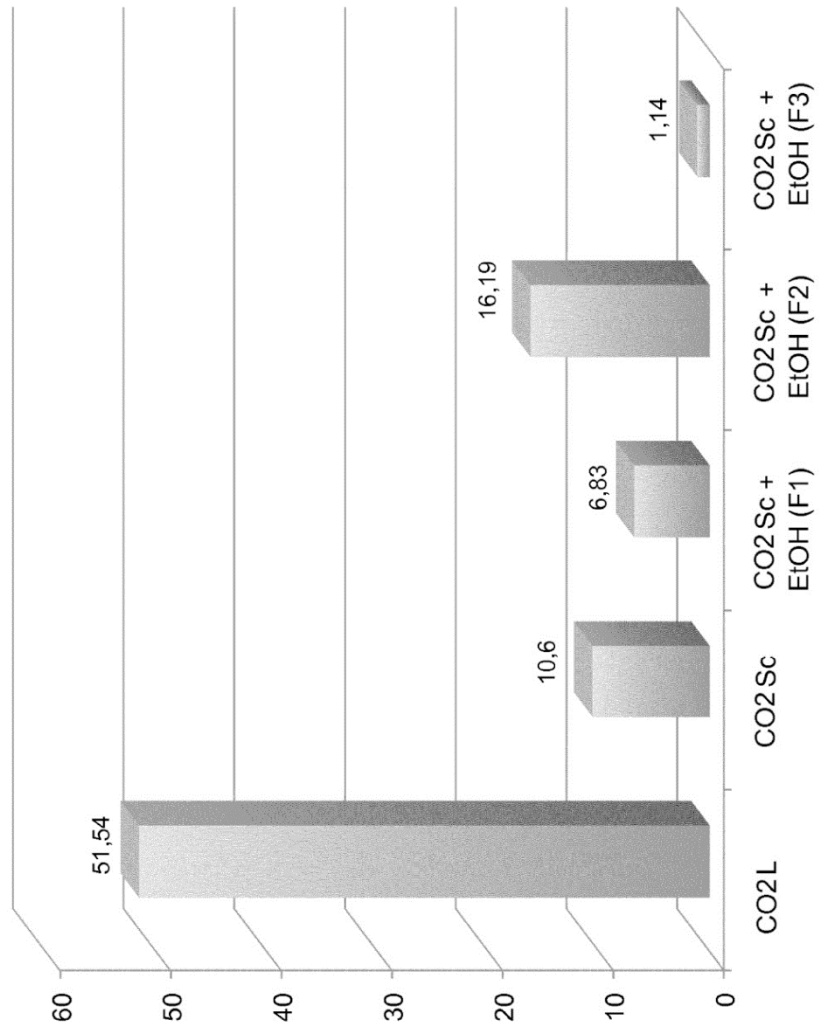


FIGURA 13

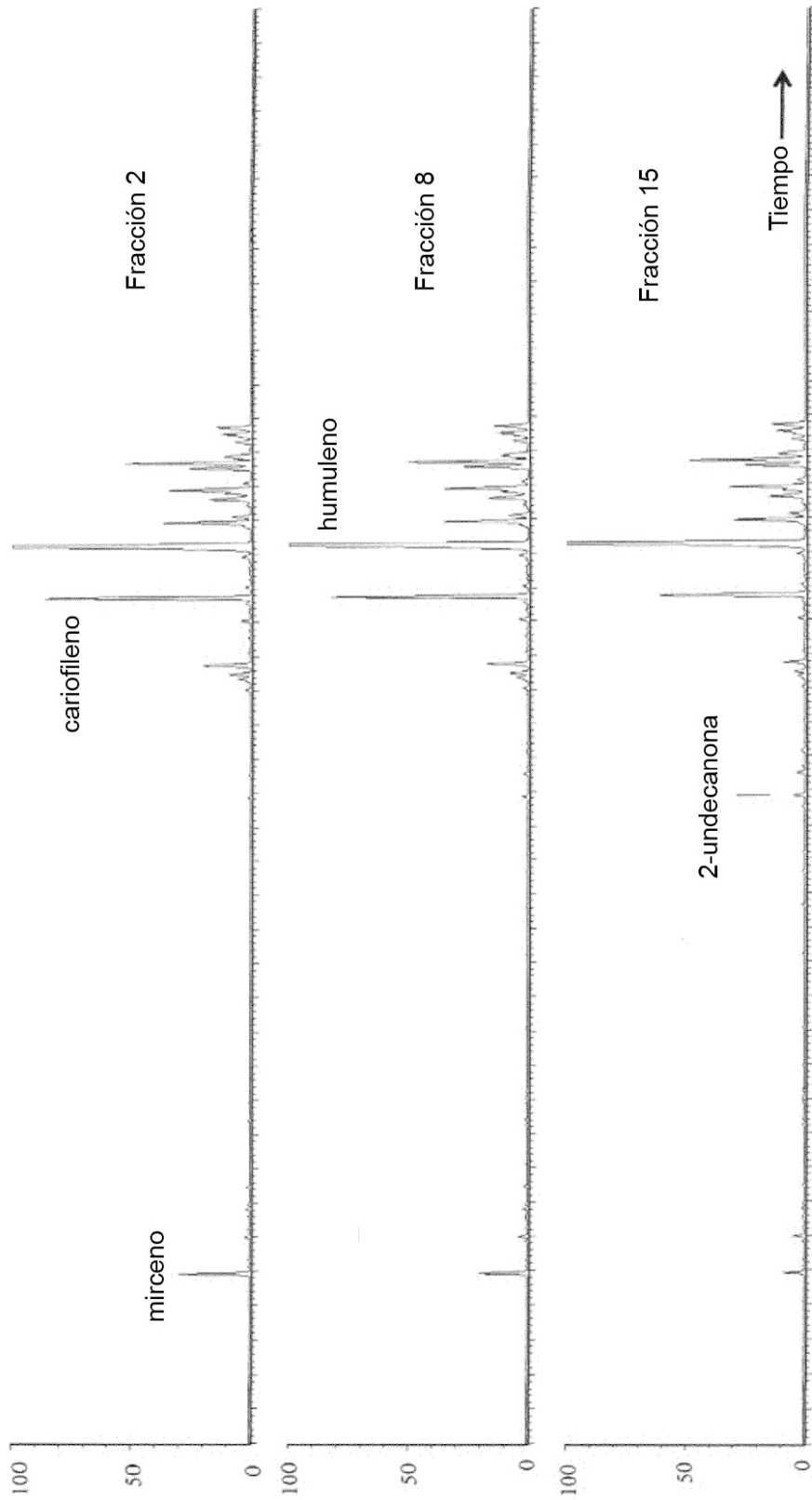


FIGURA 14

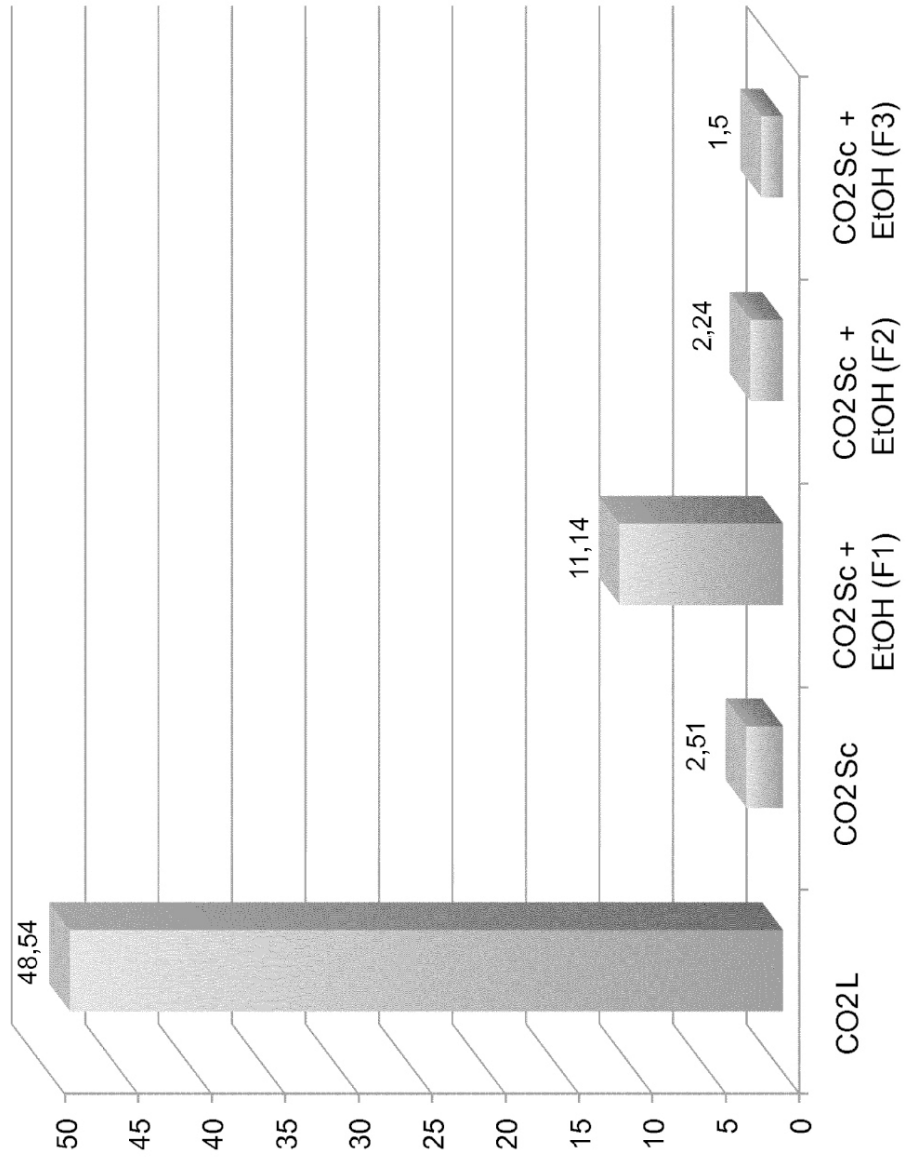


FIGURA 15

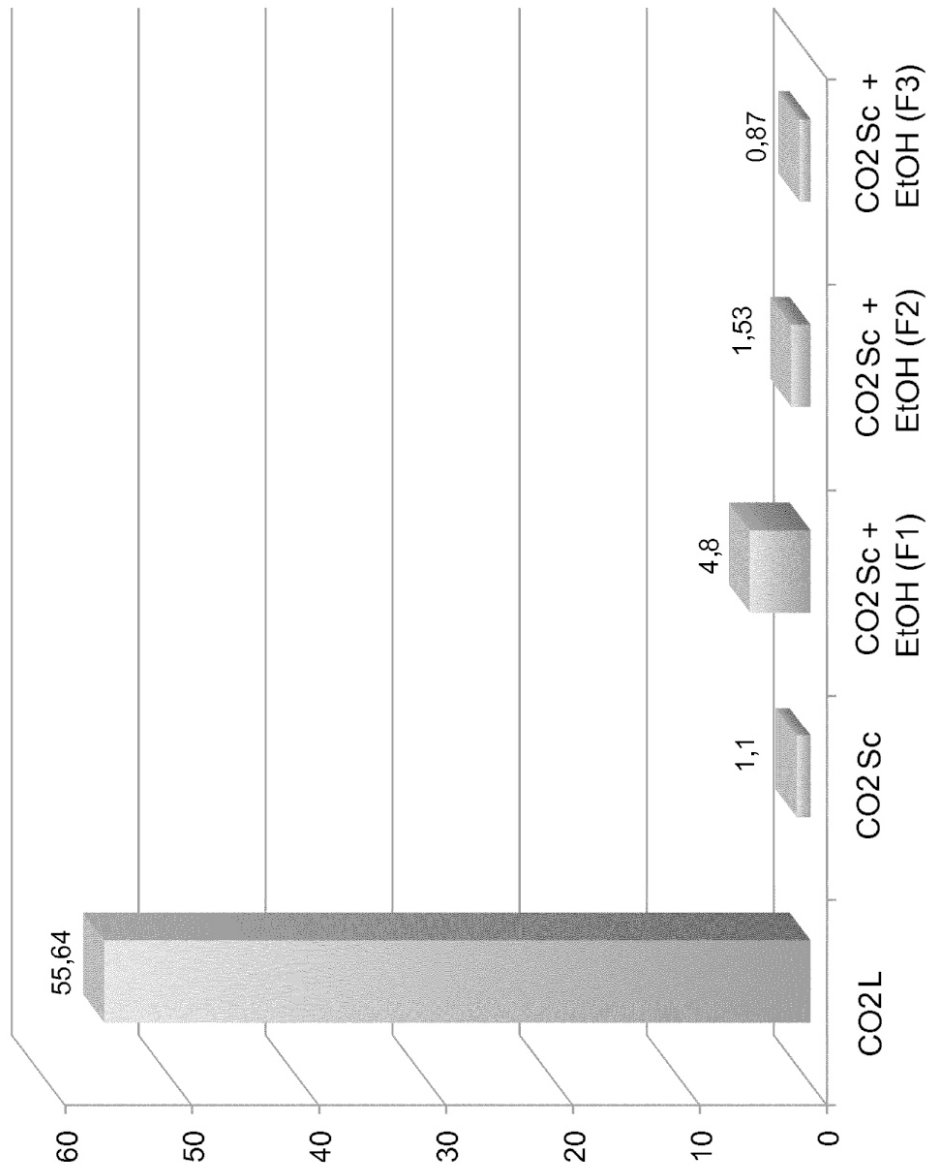


FIGURA 16

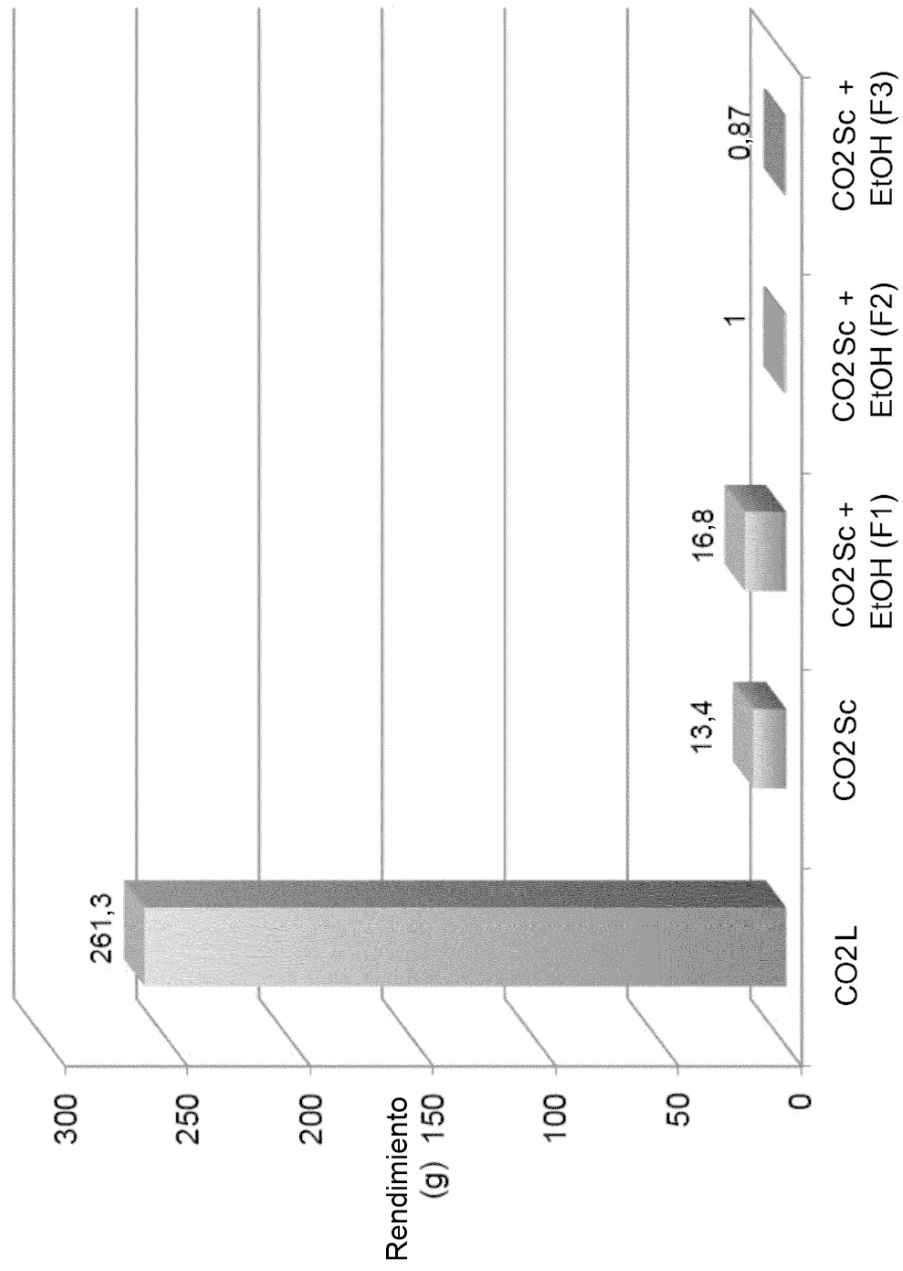


FIGURA 17