

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 895 042**

51 Int. Cl.:

**C08J 7/12** (2006.01)

**B08B 17/02** (2006.01)

**C08G 69/48** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.08.2018** **PCT/EP2018/072266**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.03.2019** **WO19048212**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.08.2018** **E 18755476 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.09.2021** **EP 3681937**

54 Título: **Equipo dispensador de bebidas**

30 Prioridad:

**07.09.2017 GB 201714419**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.02.2022**

73 Titular/es:

**THE PROVOST, FELLOWS, FOUNDATION  
SCHOLARS, AND THE OTHER MEMBERS OF  
BOARD, OF THE COLLEGE OF THE HOLY &  
UNDIV. TRINITY OF QUEE (100.0%)**  
Trinity College Dublin, College Green  
Dublin 2, IE

72 Inventor/es:

**SCANLAN, EOIN;  
COLAVITA, PAULA;  
ESTEBAN-TEJEDA, LETICIA y  
DUFF, THOMAS**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

ES 2 895 042 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

Equipo dispensador de bebidas

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a equipos dispensadores de bebidas, en particular, a la dispensación de bebidas con una resistencia mejorada a la bioincrustación.

10 **Antecedentes de la invención**

Los líquidos para beber, incluyendo las bebidas no alcohólicas, tales como los refrescos (por ejemplo, las bebidas gaseosas) y las bebidas duras o que contienen alcohol, se transportan a menudo desde un depósito a través de líneas de dispensación hasta un dispensador, por ejemplo, un grifo. Este tipo de disposición suele estar presente en los locales con bar.

Por ejemplo, la cerveza y las bebidas relacionadas con ella, tales como las bebidas de barril (también deletreadas como de barril), a menudo se transportan a través de líneas dispensadoras, tales como conductos o tuberías, desde un depósito, tal como un barril, hasta una salida, tal como un grifo, para su dispensación. La contaminación de los equipos dispensadores de bebidas, tal como cerveza, incluyendo tuberías, conductos, válvulas, grifos y discos de restricción, a través de la bioincrustación se combate actualmente en la industria mediante la limpieza regular. Este procedimiento suele implicar el desmontaje de los equipos dispensadores, tales como las tuberías y los grifos, y el lavado de un líquido limpiador a través de ellos, con o sin acción mecánica adicional. Alternativamente, el equipo dispensador puede limpiarse a través de la limpieza in situ (CIP), en la que el fluido de limpieza se hace pasar por el equipo. Este procedimiento puede ser tedioso y costoso, en términos de pérdida de producto, por ejemplo, de cerveza, de tiempo de inactividad y de gasto en productos de limpieza.

Las tuberías que transportan tanto bebidas alcohólicas como no alcohólicas están sujetas a la bioincrustación. Además de, por ejemplo, las líneas dispensadoras de cerveza, las tuberías que transportan sidra, refrescos, zumos, agua y productos lácteos tal como la leche pueden verse afectadas de forma similar.

Se han desarrollado varios enfoques para combatir la bioincrustación en los equipos dispensadores de cerveza.

El documento US5645697 describe un procedimiento para prevenir la acumulación de contaminantes en una línea de suministro de cerveza mediante la ubicación de medios generadores de campo electromagnético adyacentes a una sección de una línea dispensadora de cerveza, aplicando una señal de voltaje de onda cuadrada modulada en frecuencia a dichos medios generadores de campo electromagnético para generar un campo electromagnético de frecuencia variable en esa sección de la línea dispensadora. Los autores presentan varias explicaciones para la reducción de los contaminantes, incluyendo que el campo electromagnético aplicado creado en la tubería o conducto que transporta la cerveza interfiere con el transporte de electrones dentro de las células bacterianas, lo que conduce a la estasis o la muerte de las células; y/o que el campo electromagnético puede bloquear la absorción de nutrientes clave, inhibiendo así el crecimiento de las células bacterianas.

El documento GB236106 también se refiere a la aplicación de un campo electromagnético sobre el equipo dispensador de cerveza.

El documento WO2008035051 describe un conducto de transporte de fluidos que comprende una bobina para producir un campo magnético dentro del cuerpo del conducto. Los autores describen las desventajas asociadas con la envoltura de bobinas para la generación electromagnética sobre las líneas de cerveza, por ejemplo, que dichas bobinas son propensas a dañarse, particularmente cuando las líneas se están moviendo. El sistema del documento WO2008035051 tiene la bobina magnética incorporada en el conducto, reduciendo así la probabilidad de que se dañe la bobina.

La bioincrustación en los equipos dispensadores de bebidas que transportan productos que contienen leche es particularmente problemática, por ejemplo, la leche que se estropea en las máquinas de café compromete la calidad, el sabor y el gusto del café producido. Saint-Gobain® ha desarrollado un tubo de silicona curado con platino bajo el nombre comercial de Tygon® SPT-50 LF para solucionar este problema.

El documento WO2013050554 divulga superficies que tienen un hidrato de carbono inmovilizado en las mismas, teniendo el hidrato de carbono una fracción de enlace unida covalentemente a la misma, estando la fracción de enlace dispuesta entre la superficie y el hidrato de carbono, y comprendiendo la fracción de enlace un átomo de carbono que forma un enlace covalente con un átomo de la superficie, en el que el átomo de carbono de la fracción de enlace que forma un enlace covalente con un átomo de la superficie no está sustituido por una fracción =O, =N o =S, en el que el átomo de carbono de la fracción de enlace que forma un enlace covalente con un átomo de la superficie es un componente de un enlace aromático o arílico. Las superficies divulgadas allí pueden utilizarse en la fabricación de material resistente a la bioincrustación.

El documento JPH032115533 describe la inmovilización de la D-glucosamina o de un oligómero de la misma en un moldeado de polímero mediante un agente de entrecruzamiento. Los polímeros se hacen reaccionar con agentes de entrecruzamiento difuncionales, tales como el hidrato de glutaraldehído, para formar un enlace covalente entre el polímero y el agente de entrecruzamiento, y el producto resultante se hace reaccionar posteriormente con glucosamina, para formar un polímero que tiene glucosamina unida a este mediante un enlazador. Los productos se describen como polímeros altamente hidrófilos y pueden utilizarse, por ejemplo, para formar tejidos como la ropa interior.

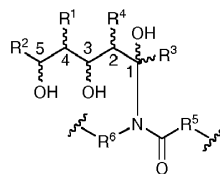
El documento EP3091025 proporciona una solución para abordar el problema de la bioincrustación en los equipos dispensadores de bebidas. Allí se describe un equipo dispensador de bebidas que comprende una superficie que tiene un disacárido inmovilizado allí. El disacárido está unido covalentemente a una fracción de enlace que, a su vez, está unida a la superficie. La fracción de enlazador está dispuesta entre la superficie y el disacárido, y la fracción de enlazador comprende un átomo de carbono que forma un enlace covalente con un átomo de la superficie.

El procedimiento del documento EP3091025 emplea la química del diazonio para unir covalentemente el enlazador - al que está unido covalentemente el disacárido- a un átomo de la superficie del equipo dispensador de bebidas.

A pesar de los diversos procedimientos y aparatos disponibles para combatir la bioincrustación en los equipos dispensadores de bebidas, es deseable proporcionar una construcción alternativa de equipos dispensadores de bebidas, y un enfoque alternativo para combatir la bioincrustación.

### **Sumario de la invención**

En un aspecto, la presente invención proporciona un equipo dispensador de bebidas que comprende un artículo que tiene una superficie de poliamida, comprendiendo dicha superficie de poliamida la siguiente funcionalidad:



en la que:

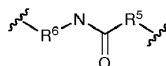
R<sup>1</sup> es -OH, un azúcar monosacárido o un azúcar disacárido;

R<sup>2</sup> es -H, -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>OH;

R<sup>3</sup> es -H o -CH<sub>2</sub>OH;

R<sup>4</sup> es -OH o -NH<sub>2</sub>; y

en la que:



representa la poliamida o parte de la misma,

en la que R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> se seleccionan cada uno independientemente de un grupo alquilo C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>, o un grupo arilo C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>, en el que R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> están cada uno independientemente sustituidos opcionalmente con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, uno o más átomos de halógeno, uno o más grupos oxo y uno o más grupos amina.

R<sup>1</sup> puede ser -OH.

R<sup>2</sup> puede ser -CH<sub>2</sub>OH.

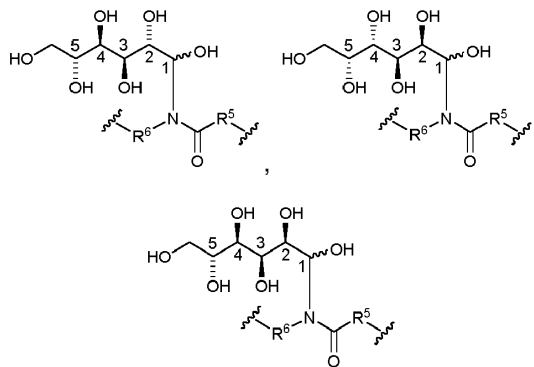
R<sup>3</sup> puede ser -H.

R<sup>4</sup> puede ser -OH.

Convenientemente, R<sup>1</sup> es -OH, R<sup>2</sup> es -CH<sub>2</sub>OH, R<sup>3</sup> es -H y R<sup>4</sup> es -OH.

Ventajosamente, la superficie de poliamida funcionalizada es resistente a la bioincrustación.

La superficie de poliamida puede comprender una funcionalidad seleccionada del siguiente grupo



5

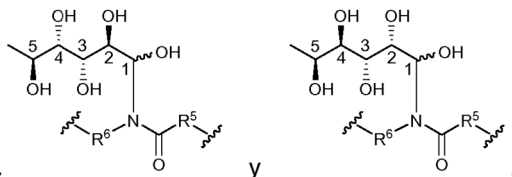
y

Alternativamente,  $R^2$  puede ser  $-\text{CH}_3$ .

10

Convenientemente,  $R^1$  es  $-\text{OH}$ ,  $R^2$  es  $-\text{CH}_3$ ,  $R^3$  es  $-\text{H}$ , y  $R^4$  es  $-\text{OH}$ .

La superficie de poliamida puede comprender una funcionalidad seleccionada del siguiente grupo



15

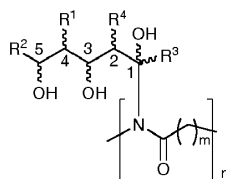
En algunas realizaciones,  $R^1$  es un azúcar monosacárido seleccionado entre glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, fucosa, glucosamina, fructosa, ribosa y xilosa.

20

De manera adecuada, la superficie de poliamida es una superficie de nailon. Por ejemplo, la superficie de nailon puede seleccionarse entre nailon-6, nailon-7, nailon-8, nailon-9, nailon-10, nailon-11 y nailon-12. La superficie de nailon puede seleccionarse entre nailon-4,6, nailon-6,6 o nailon-6,12.

25

La superficie de poliamida puede comprender la siguiente funcionalidad



30

donde  $n$  es un número entero,

y  $m$  es de 2 a 12.

Convenientemente,  $m$  puede ser 10.

35

El equipo dispensador de bebidas puede comprender líneas dispensadoras de bebidas, o grifos dispensadores de bebidas. Por ejemplo, el equipo dispensador de bebidas puede comprender líneas dispensadoras de cerveza, líneas de dispensadoras de refrescos, líneas dispensadoras de productos lácteos.

40

También se proporciona un procedimiento para fabricar equipos dispensadores de bebidas de acuerdo con la presente invención, que comprende los siguientes pasos:

(i) activar una superficie de poliamida tratando dicha superficie con una solución básica que comprende un agente oxidante; y

(ii) tratar la superficie de poliamida activada con una solución que comprende un azúcar reductor.

El agente oxidante puede ser hipoclorito de sodio.

5 El tratamiento de la superficie con una solución básica que comprende un agente oxidante puede comprender la exposición de dicha superficie a múltiples alícuotas de dicha solución básica que comprende dicho agente oxidante.

La solución básica que comprende un agente oxidante puede comprender una solución de hidróxido de sodio y/o de hidróxido de potasio.

10 El azúcar reductor puede seleccionarse del grupo formado por: glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, fucosa, glucosamina, fructosa, ribosa, xilosa, celobiosa, lactosa y maltosa.

15 En algunas realizaciones, la configuración absoluta del azúcar reductor puede ser D. En otras realizaciones, la configuración absoluta del azúcar reductor puede ser L.

20 Ventajosamente, el procedimiento de fabricación en el presente documento divulgado no requiere el uso de agentes de entrecruzamiento tales como los dialdehídos. Además, las superficies de la invención no son tóxicas y el equipo dispensador de bebidas de la presente invención no requiere una limpieza con la frecuencia que requieren los equipos dispensadores de bebidas del estado de la técnica.

El equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la presente invención puede reemplazar fácilmente el equipo dispensador de bebidas de última generación y requiere menos mantenimiento que dicho equipo dispensador de bebidas.

25

### **Breve descripción de los dibujos**

Las realizaciones de la invención se describirán, sólo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos en los que:

30

**Figura 1(a)** Espectros XPS en la región F 1s del polvo de nailon recubierto con un componente polihidroxilado derivado de la F-galactosa.

35

**Figura 1(b)** Espectros de RMN<sup>19F</sup> del nailon recubierto con F-galactosa.

40

**Figura 2** muestra las intensidades de emisión de la albúmina de suero bovino (BSA) adsorbida en la superficie del nailon funcionalizado con componentes polihidroxilados derivados de la manosa, la galactosa, la lactosa y la maltotriosa. Las barras de error representan las desviaciones estándar calculadas sobre tres muestras. La línea de puntos representa el nailon pretratado con una solución básica de hipoclorito de sodio (BB) (control).

45

**Figura 3** muestra las intensidades de emisión de la Concanavalina A (ConA) adsorbida en superficie sobre nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la galactosa y sobre nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la lactosa, y las intensidades de emisión de la aglutinina de cacahuete de *Arachis hypogaea* (PNA) adsorbida en superficie sobre nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la manosa y sobre nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la mannobiosa.

50

**Figura 4** muestra las intensidades de emisión de la BSA adsorbida en superficies pretratadas con nailon BB tras su inmersión en soluciones recién preparadas de metil alfa/beta-D-manopiranosido (Man-Me), trehalosa y ácido lactobiónico. Las barras de error representan las desviaciones estándar calculadas sobre tres muestras.

55

**Figura 5** muestra los resultados de los estudios de biopelícula con *Saccharomyces cerevisiae* contra tres superficies diferentes: (a) nailon desnudo, (b) nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la manosa, y (c) nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la maltotriosa. La barra de escala es de 40 µm.

60

**Figura 6** muestra el efecto de la funcionalización de las superficies de poliamida en la limpieza de la línea mediante la evaluación de la turbidez del agua dispensada.

**Figuras 7a y 7b** muestran el efecto de las superficies de poliamida funcionalizadas sobre la limpieza de la línea mediante la determinación de la concentración de trifosfato de adenosina (ATP) en el agua de aclarado.

**Figura 8** muestra el efecto de las superficies de poliamida funcionalizadas sobre la limpieza de la línea mediante la tinción con violeta de cristal de la biopelícula en el agua de aclarado.

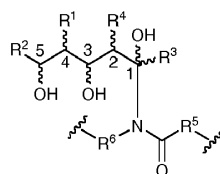
65

**Figura 9** muestra imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las superficies internas de una línea

dispensadora que comprende una superficie de poliamida sin recubrimiento (Figura 9a) y una línea dispensadora que comprende una superficie de poliamida funcionalizada (Figura 9b) y una línea dispensadora después de una prueba de 56 días naturales.

## 5 Descripción detallada

La presente invención proporciona un equipo dispensador de bebidas que comprende un artículo que tiene una superficie de poliamida, comprendiendo dicha superficie de poliamida la siguiente funcionalidad:



en la que:

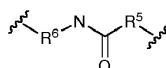
R<sup>1</sup> es -OH, un azúcar monosacárido o un azúcar disacárido;

R<sup>2</sup> es -H, -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>OH;

R<sup>3</sup> es -H o -CH<sub>2</sub>OH;

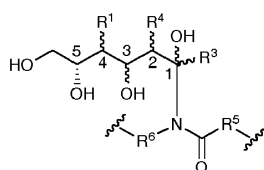
R<sup>4</sup> es -OH o -NH<sub>2</sub>; y

en la que:



representa la poliamida o parte de la misma, en la que R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> se seleccionan cada uno independientemente de un grupo alquilo C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>, o un grupo arilo C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>, en el que R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> están cada uno independientemente sustituidos opcionalmente con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, uno o más átomos de halógeno, uno o más grupos oxo y uno o más grupos amina.

El equipo dispensador de bebidas que comprende un artículo que tiene una superficie de poliamida, puede comprender una superficie de poliamida puede comprender la siguiente funcionalidad



R<sup>1</sup> puede ser -OH.

R<sup>3</sup> puede ser H.

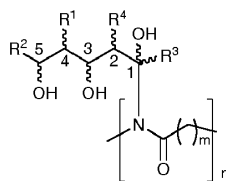
R<sup>4</sup> puede ser -OH.

Convenientemente, R<sup>1</sup> es -OH, R<sup>3</sup> es -H y R<sup>4</sup> es -OH.

En algunas realizaciones, R<sup>1</sup> es un azúcar monosacárido seleccionado entre glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, fucosa, glucosamina, fructosa, ribosa y xilosa.

En una realización preferida, la superficie de poliamida es una superficie de nailon, por ejemplo, la superficie de nailon puede ser seleccionada entre nailon-6, nailon-8, nailon-10, nailon-11 y nailon-12.

La superficie de poliamida puede comprender la siguiente funcionalidad

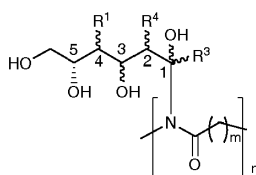


donde n es un número entero,

y m es de 2 a 12.

Convenientemente, m puede ser 10.

Por ejemplo, la superficie de poliamida puede comprender la siguiente funcionalidad



donde n es un número entero,

y m es de 2 a 12.

Preferentemente, m es de 8 a 12, más preferentemente m es de 10.

Convenientemente, el equipo dispensador de bebidas puede ser líneas dispensadoras de bebidas o grifos dispensadores de bebidas. Por ejemplo, el equipo dispensador de bebidas puede ser un equipo dispensador de cerveza, tales como líneas o grifos dispensadores de cerveza. El equipo dispensador de bebidas puede ser líneas o grifos dispensadores de refrescos, o líneas o grifos dispensadores de productos lácteos.

Ventajosamente, el equipo dispensador de bebidas que comprende un artículo que tiene una superficie de poliamida de acuerdo con la invención comprende una superficie resistente a la bioincrustación. La superficie de poliamida puede estar recubierta con componentes polihidroxiados (derivados de azúcares reductores), que resisten el incrustamiento por proteínas y células. El componente polihidroxiado se forma cuando la superficie activada reacciona con el extremo reductor de un azúcar reductor, es decir, cuando la superficie de poliamida activada reacciona con un grupo aldehído terminal en un azúcar reductor. El componente polihidroxiado está conectado directamente a la superficie de la poliamida mediante un enlace covalente desde un átomo de carbono del componente polihidroxiado a un nitrógeno amido de la superficie de la poliamida. El nitrógeno amido está integrado en la red de polímeros de la poliamida que forma la superficie de la misma. La conexión formada entre el componente polihidroxiado y la superficie de la poliamida, no es por ejemplo, a través de un enlazador. Ventajosamente, la conexión covalente directa entre un átomo de carbono en el componente de polihidroxiado y un nitrógeno amido integrado en la superficie de la poliamida es significativamente más fuerte que, por ejemplo, la conexión entre la superficie de la poliamida y una fracción de sacárido a través de un oxígeno anomérico.

Ventajosamente, el equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la presente invención puede reemplazar fácilmente el equipo dispensador de bebidas convencional y requiere menos mantenimiento que el equipo dispensador de bebidas convencional. En concreto, el equipo dispensador de bebidas de la presente invención, debido a su superficie resistente a la bioincrustación, no necesita limpiarse con tanta frecuencia como los equipos dispensadores de bebidas convencionales.

También se proporciona un procedimiento para fabricar equipos dispensadores de bebidas de acuerdo con la presente invención, que comprende los siguientes pasos:

(i) activar una superficie de poliamida tratando dicha superficie con una solución básica que comprende un agente oxidante; y

(ii) tratar la superficie de poliamida activada con una solución que comprende un azúcar reductor.

Ventajosamente, el procedimiento puede llevarse a cabo fácilmente en equipos convencionales dispensadores de bebidas. Por ejemplo, un equipo dispensador de bebidas, tal como una línea de cerveza de nailon, puede ser

funcionalizado por el procedimiento de la invención, para proporcionar un equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la invención, que tiene una mayor resistencia a la bioincrustación. El procedimiento de la invención es robusto y puede llevarse a cabo in situ, sin necesidad de equipos especializados. Esto representa un marcado avance respecto a la tecnología anterior, en la que los parámetros, tal como la temperatura y la exposición a la luz, deben ser rigurosamente controlados para funcionalizar las superficies con carbohidratos.

Por ejemplo, una línea de cerveza de nailon puede tratarse con una solución básica que comprende un agente oxidante para activar la superficie de nailon, es decir, para proporcionar una superficie de poliamida activada. La solución básica que comprende un agente oxidante (es decir, la solución activadora) puede comprender una solución de hidróxido de sodio y/o hidróxido de potasio. La línea puede activarse exponiendo la línea, durante un período de 5 a 15 minutos, a una alícuota de solución activadora. El procedimiento puede repetirse utilizando otras alícuotas de la solución activadora. A continuación, la solución activadora se enjuaga y la línea que comprende la superficie de poliamida activada se trata con una solución que comprende un azúcar reductor. El tratamiento de la superficie de poliamida activada puede implicar la exposición de la superficie de poliamida activada a una solución que comprende un azúcar reductor. La solución que comprende un azúcar reductor, puede ser una solución básica que comprende un agente oxidante y un agente reductor.

Ventajosamente, el procedimiento de fabricación del equipo dispensador de bebidas de la presente invención no requiere el uso de agentes de entrecruzamiento. Esto aumenta la economía de átomos de la presente invención con respecto a las tecnologías del estado de la técnica más avanzadas para funcionalizar superficies poliméricas. Además, muchas de las estrategias de entrecruzamiento de última generación para funcionalizar superficies poliméricas emplean agentes de entrecruzamiento tóxicos, tal como los dialdehídos, que los harían inadecuados para formar equipos dispensadores de bebidas. Por lo tanto, la presente metodología representa un marcado avance en el estado de la técnica.

### **Definiciones**

Términos en el siguiente formato: [Por "superficie de poliamida [sacárido X] funcionalizada" se entiende una superficie de poliamida funcionalizada con un componente polihidroxilado derivado del sacárido X. Por ejemplo, "nailon funcionalizado con manosa" indica nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la manosa; "nailon funcionalizado con lactosa" indica nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la lactosa; "nailon funcionalizado con maltotriosa" indica nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la maltotriosa; "nailon funcionalizado con mannobiosa" indica nailon funcionalizado con un componente polihidroxilado derivado de la mannobiosa. Los términos en el formato anterior también pueden representarse de la siguiente manera: El "nailon funcionalizado con lactosa" puede representarse por "nailon-lac"; el "nailon funcionalizado con manosa" puede representarse por "nailon-man".

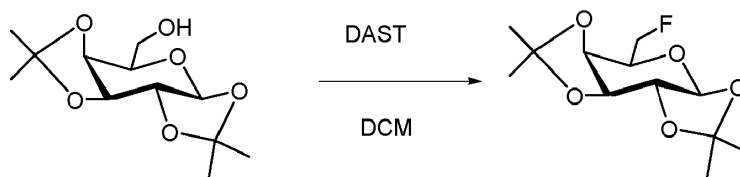
El término "equipo dispensador de bebidas" incluye equipos tales como líneas dispensadoras de bebidas, por ejemplo tubos o tuberías, a través de los cuales se pueden transportar las bebidas.

El término "cerveza" incluye, por ejemplo, la cerveza, la cerveza negra, *ale*, la cerveza rubia y la sidra. El término "cerveza" incluye las cervezas con y sin alcohol, es decir, la "cerveza" puede ser cerveza con o sin alcohol.

El término "producto lácteo" incluye, por ejemplo, los productos que comprenden leche, nata, mantequilla o yogur.

**Productos químicos y materiales:** Las láminas de nailon 6,6 y el polvo de nailon 6 (tamaño medio de partícula de 15-20  $\mu\text{m}$ ) se compraron a Goodfellow; el hipoclorito de sodio, el hidróxido de sodio, el hidróxido de potasio, el tampón salino tamponado con fosfato (PBS 0,010 M, pH 7,4), el nitrito de sodio y el ácido fluorobórico se compraron a Sigma Aldrich. La lectina Concanavalina A (ConA), la albúmina de suero bovino (BSA) y la aglutinina de cacahuete de *Arachis hypogaea* (PNA) conjugada con Alexa Fluor 647 se compraron a BioSciences Ltd. Los sacáridos nativos (manosa, glucosa, galactosa, lactosa, maltotriosa y trehalosa) se compraron a Carbosynth. El metil alfa/beta-D-manopiranosido (Manosa-Me) y el ácido lactobiónico se sintetizaron de acuerdo con procedimientos estándar. La F-Galactosa se sintetizó como se describe a continuación.

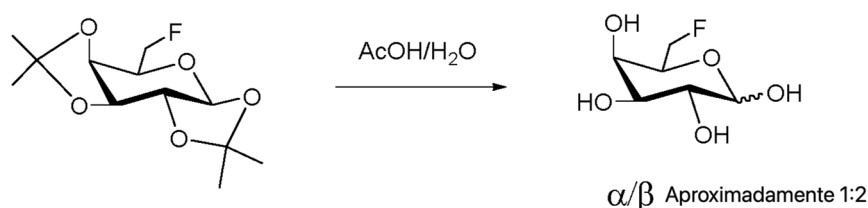
### **1,2,3,4-Di-O-isopropilideno-6-deoxi-6-fluoro-D-galactosa**



Se disolvió 1,2,3,4-Diisopropilideno Galactosa (2,5 g, 9,6 mmol) en diclorometano (DCM) seco (40 ml) y a esto se

añadió 2,6-lutidina (2,2 m, 19,3 mmol) seguido de trifluoruro de dietilaminosulfuro (DAST) (3,1 g, 19,3 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante 2 horas, tras lo cual el análisis por TLC mostró el consumo completo del material de partida. La mezcla se diluyó con DCM adicional (60 ml) y luego se lavó con HCl 1M (100 ml x 2) y salmuera (1 x 100 ml) y luego se secó (MgSO<sub>4</sub>). Se eliminó el DCM para dar el producto como un aceite amarillo (1,50 g, 60%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz) CDCl<sub>3</sub> : 5,56 (1H, d, *J* = 5,0 Hz, H-1), 4,67-4,57 (2H, m, H-6a, H-3), 4,55-4,46 (1H, m, H-6b), 4,35 (1H, q, *J* = 2,5 Hz, H-2), 4,27 (1H, dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 8,0 Hz, H-4), 4,12-4,05 (1H, m, H-5). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz) CDCl<sub>3</sub> : 109,6, 108,8 (2 x q-C, acetónidos), 96,2 (C-1), 82,1 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 169 Hz, C-6), 70,6 (C-3), 70,5 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 7 Hz, C-4), 66,6 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 22 Hz, C-5), 26,0, 25,9, 24,9, 24,4 (4 x CH<sub>3</sub>, acetónidos). HRMS(*m/z*APCI+): Encontrado: 261,1208 ([M + H]<sup>+</sup> C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>FO<sub>5</sub> Requiere: 261,1217). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c = 0,01, CH<sub>3</sub>OH) = +8,0 v<sub>máx</sub> (película)/cm<sup>-1</sup>: 2.990, 1.382, 1.254, 1.210, 1.166, 1.066, 1.000, 962, 857 cm<sup>-1</sup>.

#### 6-Deoxi-6-fluoro-D-galactosa (F-galactosa)



La 1,2,3,4-Di-O-isopropilideno-6-deoxi-6-fluoro-galactosa (980 mg, 3,7 mmol) se mezcló con AcOH/H<sub>2</sub>O 4:1 (30 ml) y se calentó a 100 °C durante 8 horas. Se eliminaron los disolventes y el residuo se coevacuó con tolueno (50 ml x 2) para eliminar las trazas de agua. El residuo aceitoso se purificó por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>/MeOH 20 %/EtOAc 80 %, v/v: Producto R<sub>f</sub> = 0,4) donde el producto se aisló como un sólido blanco (400 mg, 60 %) que era una mezcla de anómeros α/β en una proporción aproximada de 35/65 % según la RMN. m.p. 148-150°C <sup>1</sup>H RMN (400 MHz) D<sub>2</sub>O: (β-anómero) 4,50 (2H, m, H6), 4,49 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-1), 3,87 (1H, m, H-5), 3,85 (1H, m, H4), 3,53 (1H, dd, *J*<sub>3,4</sub> = 3,4 Hz, *J*<sub>3,2</sub> = 9,9 Hz, H-3), 3,38 (1H, dd, *J*<sub>2,1</sub> = 8,0 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 9,6 Hz, H-2). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz) D<sub>2</sub>O: (β-anómero) 96,4 (C-1), 83,0 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 165 Hz, C-6), 73,4 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 20 Hz, C-5), 72,4 (C-3), 71,6 (C-2), 68,3 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 7 Hz, C-4). <sup>19</sup>F RMN (377 MHz) -229,8 (C-F). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz) D<sub>2</sub>O: (anómero α) 5,16 (1H, d, *J* = 3,6 Hz, H-1), 4,50 (2H, m, H-6), 4,20 (1H, m, H-5), 3,91 (1H, m, H-4), 3,75 (1H, dd, *J*<sub>3,4</sub> = 3,3 Hz, *J*<sub>3,2</sub> = 10,5 Hz, H-3), 3,68 (1H, dd, *J*<sub>2,1</sub> = 3,8 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 10,2 Hz, H-2). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz) D<sub>2</sub>O: (anómero α) 92,3 (C-1), 83,4 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 165 Hz, C-6), 68,9 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 20 Hz, C-5), 68,8 (d, *J*<sup>19</sup>F-<sup>13</sup>C = 7 Hz, C-4), 68,7 (C-3), 68,1 (C-2). <sup>19</sup>F RMN (377 MHz) -229,8 (C-F). HRMS(*m/z*ESI+): Encontrado: 205,0488 ([M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Requiere: 205,0482). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c = 0,01, CH<sub>3</sub>OH) = + 5,4; v<sub>máx</sub> (película)/cm<sup>-1</sup>: 3.657, 3.329, 2.981, 1.381, 1.251, 1.148, 1.070 cm<sup>-1</sup>.

**Modificación del nailon: (Protocolo de 40 minutos)** La activación de las superficies de nailon se llevó a cabo mediante el tratamiento con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 0,5% en base (KOH 1 % y NaOH 1 %), denominada BB de aquí en adelante, durante 30 minutos en total, mientras se cambiaba la solución BB cada 10 minutos con una alcuota nueva. Tras la activación, la funcionalización de la superficie de nailon preactivada se llevó a cabo mediante la incubación en soluciones recién preparadas de 0,4 mg/ml del correspondiente sacárido nativo en BB durante 10 min. **(Protocolo de 20 min)** La activación de las superficies de nailon se llevó a cabo mediante el tratamiento con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 0,5 % en base (KOH 1 % y NaOH 1 %), denominada BB de aquí en adelante, durante 15 min en total, mientras se cambiaba la solución BB cada 5 min con una alcuota nueva. Tras la activación, la funcionalización de la superficie de nailon preactivada se llevó a cabo mediante la incubación en soluciones recién preparadas de 0,4 mg/ml del correspondiente sacárido nativo en BB durante 5 minutos.

**Caracterización de la superficie:** La espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) se realizó en un sistema VG Scientific ESCAlab Mk II (<200 Pa), utilizando una fuente de Al Kα (1.486,6 eV); la energía de paso se fijó en 200 eV para los espectros de sondeo y en 20 eV para los espectros de alta resolución. Los espectros se recogieron con una corriente de emisión de 100 mA al 50 % de las condiciones normales de funcionamiento (200 mA) para minimizar el daño de la muestra. Los picos se referenciaron a la energía del núcleo C 1s para corregir la carga antes del análisis con el software CasaXPS. La RMN se llevó a cabo en un espectrómetro Bruker de Resonancia Magnética Nuclear HD utilizando la técnica de giro de ángulo mágico de un solo pulso π/2, 400 MHz, 3,2 mm y sonda H/X CP-MAS. Los ángulos de contacto estáticos se midieron en un sistema comercial (FTA1000) en aire, utilizando gotas de 20 µl.

**Estudios de unión de la biomolécula al nailon:** Las muestras de nailon se incubaron durante 1 hora en una solución de 0,5 mg/ml de tampón PBS a pH 7,4 incluyendo 0,1 mM de CaCl<sub>2</sub> and MgCl<sub>2</sub> para los conjugados de ConA y PNA. Para los estudios de adsorción de proteínas, las muestras de nailon se incubaron durante 1 hora en una solución de BSA de 0,2 mg/ml en tampón PBS a pH 7,4. Tras la incubación, las superficies se lavaron con solución PBS para

eliminar las proteínas no unidas antes de la obtención de imágenes. Las imágenes de fluorescencia se adquirieron utilizando un microscopio invertido Olympus BX51 con un software de procesamiento de imágenes digitales cellSens. Las imágenes se adquirieron con un conjunto de filtros cúbicos con un filtro de borde de paso largo EdgeBasic a 635 nm, un filtro divisor de haz dicróico de borde único a 649 nm y un filtro de barrera a 620-640 nm. El análisis de las intensidades de emisión se realizó por triplicado utilizando el software Image J.

**Estudios de biopelícula en superficies de nailon glicosiladas:** Se inoculó una sola colonia de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 en 10 ml de caldo de peptona dextrosa de extracto de levadura (YEPD), compuesto por 1 % (p/v) de extracto de levadura, 2 % (p/v) de peptona y 2 % (p/v) de glucosa, y se incubó durante la noche a 37 °C. El cultivo (5 µl) se diluyó en medio fresco (10 ml) y se cultivó a 37 °C durante 6 horas; finalmente, se añadieron 310 µl de medio ( $1.615 \cdot 10^7$  CFU/ml) se inoculó en 50 ml de YEPD. Las superficies de nailon desnudas (controles) y las superficies de nailon funcionalizadas se colocaron en sus correspondientes medios frescos que contenían la levadura y el cultivo durante 6 días a 20 °C. Los controles y las muestras se prepararon por triplicado.

El procedimiento de funcionalización implica un procedimiento de dos pasos. El primer paso consiste en un pretratamiento de activación de las superficies de poliamida (por ejemplo, nailon) mediante la exposición a una solución de hipoclorito de sodio y base (BB). El segundo paso consiste en la inmovilización de componentes polihidroxilados derivados de sacáridos en la superficie, tratando la superficie de poliamida activada (por ejemplo, nailon) con una solución que comprende un azúcar reductor.

Las superficies preactivadas de nailon se funcionalizaron mediante la inmersión en soluciones recién preparadas de sacáridos nativos. Después de la modificación, las superficies se enjuagaron y se secaron. La inmovilización de los componentes polihidroxilados derivados de los sacáridos en la superficie se confirmó primero mediante estudios de XPS y RMN utilizando galactosa fluorada (F-galactosa), que se utilizó para determinar la presencia de flúor en la superficie recubierta (véase la Figura 1).

La inmovilización de los componentes polihidroxilados derivados de los sacáridos en la superficie también se confirmó estudiando el efecto de la modificación de la superficie en la absorción de la proteína BSA. Las muestras se incubaron durante 1 hora en una solución de proteína BSA marcada con fluorescencia y se enjuagaron después con PBS antes de la obtención de imágenes. La Figura 2 muestra los valores promedio de intensidad de emisión obtenidos tras la incubación de BSA en las superficies de nailon correspondientes a: nailon funcionalizado con manosa, nailon funcionalizado con galactosa, nailon funcionalizado con lactosa y nailon funcionalizado con maltotriosa. Tras el pretratamiento con BB, la superficie del nailon se oxida ligeramente y la cantidad de proteína adsorbida aumenta. Sin embargo, tras la funcionalización con componentes polihidroxilados derivados de sacáridos se observa una notable disminución de la emisión, lo que indica que se adsorbe menos BSA en las superficies de poliamida de la presente invención. Los resultados indican que la inmovilización de componentes polihidroxilados derivados de mono, di y trisacáridos conduce a una disminución de la unión inespecífica de proteínas en comparación con las superficies de nailon oxidadas.

La inmovilización de un componente polihidroxilado en la superficie también se confirmó mediante interacciones específicas de unión a la lectina. La funcionalización se confirmó mediante experimentos de unión de ConA en superficies de nailon funcionalizadas con manobiosas y mediante experimentos de unión de PNA en superficies de nailon funcionalizadas con lactosa. Las interacciones de unión específicas entre ConA y manosa y entre PNA y galactosa están bien establecidas y pueden utilizarse para confirmar la presencia de manósidos unidos a la superficie (Maupin et al, *Glycobiology* 2012, 22(1), 160-169 Sharon et al, *FASEB Journal* 1990, 4(14), 3198-3208).

Las muestras se incubaron durante 1 hora en una solución de ConA o PNA marcada con fluorescencia y se enjuagaron después con PBS antes de la obtención de imágenes. La Figura 3 muestra la intensidad de emisión del nailon funcionalizado con galactosa y del nailon funcionalizado con lactosa tras el tratamiento con PNA. Una vez que el nailon activado reacciona con la galactosa para producir el nailon funcionalizado con galactosa, el anillo de azúcar de la galactosa se abre y el componente polihidroxilado resultante que se une covalentemente a la superficie del nailon tiene una afinidad de unión significativamente reducida para el PNA. Por el contrario, el nailon funcionalizado con lactosa comprende un anillo de galactosa en contacto con la superficie del nailon y, por lo tanto, mantiene la capacidad de unir el PNA. La Figura 3 también demuestra la capacidad del nailon funcionalizado con manobiosas para unirse a ConA, mientras que el nailon funcionalizado con manosa tiene una afinidad de unión notablemente reducida por ConA.

Se observan mayores emisiones en la superficie de nailon funcionalizado con manobiosas cuando se expone a ConA y en la superficie de nailon funcionalizado con lactosa cuando se expone a PNA, lo que indica que el aumento de las emisiones es el resultado de interacciones específicas manosa-ConA o galactosa-PNA. Sin embargo, se observan emisiones muy bajas (que indican que no hay unión específica) en la superficie del nailon funcionalizado con manosa cuando se expone a ConA y en la superficie del nailon con galactosa cuando se expone a PNA, en contraste con los datos obtenidos cuando se utiliza el nailon funcionalizado con homodisacáridos respectivamente (nailon funcionalizado con manobiosas y nailon funcionalizado con lactosa).

Estos resultados sugieren que el extremo reductor del azúcar reductor es esencial para modificar la superficie del nailon.

Para confirmar que el mecanismo de injerto es a través de un enlace covalente a través del carbono anomérico presente en el sacárido nativo, se realizó un estudio comparativo de adsorción de BSA utilizando superficies de nailon que fueron activadas con BB como se ha descrito anteriormente, y posteriormente tratadas con sacáridos no reductores. En particular, el nailon activado se trató con metil alfa/beta-D-manopiranosido (Man-Me), ácido lactobiónico y trehalosa. La Figura 4 muestra los valores de intensidad de emisión obtenidos para las superficies pretratadas con nailon BB tras su inmersión en soluciones recién preparadas de Man-Me, trehalosa y ácido lactobiónico. Tras la inmersión en los análogos no hemiacetales, no se observó un rechazo significativo de BSA. Esto indica que es necesaria una terminación reductora para que se produzca la reacción, y que el papel de la mezcla de hipoclorito de sodio y base en el procedimiento de inmovilización no implica la oxidación de los sacáridos.

Las propiedades antiincrustantes de las superficies de nailon funcionalizadas con componentes polihidroxilados derivados de la manosa (monosacárido) y la maltotriosa (un trisacárido) se evaluaron contra un *Saccharomyces cerevisiae* conocido por formar biopelículas. La Figura 5 muestra que el nailon desnudo (es decir, el nailon que no ha sido funcionalizado de acuerdo con la presente invención) no muestra actividad antiincrustante, sin embargo, cuando la superficie del nailon se funcionaliza con componentes polihidroxilados derivados de la manosa, no se observa ninguna biopelícula, sólo unas pocas colonias aisladas. Curiosamente, cuando la funcionalización del nailon es con un componente polihidroxilado derivado de la maltotriosa, no se observó actividad anticrustante obteniendo la misma cantidad de biopelícula que en el control. Esto indica que, aunque la funcionalización se consigue cuando el nailon activado se trata con una solución de maltotriosa, la estructura específica de la fracción inmovilizada (es decir, la composición química del componente polihidroxilado) influye en que la superficie pueda rechazar sólo proteínas o también células. En el caso de los sistemas de dispensación de bebidas, el rechazo tanto de las proteínas como de las células es importante para el control de la incrustación. Así, mientras que el nailon funcionalizado con maltotriosa demostró un rechazo significativo de las proteínas, como se muestra en la Figura 2, el nailon funcionalizado con maltotriosa no rechazó la bioincrustación de las células de levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

#### **Procedimiento experimental para los ensayos con cerveza**

**Configuración de dispensación de bebidas:** Las líneas utilizadas en los ensayos de prueba se configuraron para simular una configuración de dispensación de cerveza a temperatura ambiente. Este tipo de configuración es muy propensa a la bioincrustación debido a que grandes segmentos de la línea están expuestos a condiciones de temperatura ambiente mientras que las superficies internas están sumergidas en cerveza, que es rica en nutrientes. Las líneas dispensadoras de nailon (nailon-11) que se habían utilizado anteriormente en el comercio se conectaron a los barriles que contenían cerveza (cerveza negra) utilizando elementos estándar de roscado y ajuste. Las líneas se utilizaron por parejas, una de ellas se limpió mediante procedimientos estándar de limpieza in situ (CIP) y la otra se limpió y se funcionalizó con componentes polihidroxilados derivados de la manosa para formar una superficie de poliamida funcionalizada. Cada par de líneas de control y de prueba se enviaron a través de una unidad de refrigeración que enfriaba la cerveza para que se dispensara entre 5° y 7° centígrados, esto es representativo de las temperaturas de dispensación comerciales. Cada par de líneas de control y de prueba se envió a un grifo que podía utilizarse para dispensar la cerveza a presión desde un tanque de gas estándar. En las figuras que resumen los resultados de las pruebas, cada par de grifos está etiquetado como A, B y C. El volumen interno de las líneas utilizadas era de aproximadamente 800 ml, según las mediciones experimentales, lo que corresponde a longitudes totales de 10-12 m según la línea específica. Se extrajeron cantidades idénticas de cerveza de cada grifo durante 56 días naturales, en todos los días laborables (41 días laborables).

**Tratamientos de la línea de dispensación:** Todas las líneas se limpiaron con una solución de detergente CIP comercial, utilizando el suministro a presión de la solución desde botellas de lavado de 15 l o 25 l. Las líneas de control se enjuagaron con agua del grifo pasando el equivalente a tres volúmenes internos totales y posteriormente se cargaron con cerveza. Para el tratamiento con sacáridos, las líneas limpias se cargaron completamente con una solución que contenía 0,5 % de hipoclorito de sodio (dilución 3,5:100 de NaClO comercial concentrado al 14%), 1 % en peso de NaOH y 1 % en peso de KOH en agua. La línea se expuso a esta solución durante 10 minutos y el procedimiento se repitió dos veces. Inmediatamente después, las líneas se cargaron con una solución que contenía: 0,4 mg/ml de sacárido (D-manosa), 0,5 % de hipoclorito de sodio, 1 % en peso de NaOH y 1 % en peso de KOH en agua. Las líneas tratadas se expusieron a esta solución durante 10 minutos, posteriormente se enjuagaron con agua pasando el equivalente a tres volúmenes internos totales, y finalmente se cargaron con cerveza lista para su uso.

**Análisis de la contaminación de la línea:** Una primera indicación de la limpieza/contaminación de la línea se obtuvo examinando la cabeza de espuma de las pintas dispensadas de las líneas de control y de las tratadas con sacarosa al final del periodo de prueba (56 días naturales), ya que las cabezas de espuma altas (>1,5 cm) son un indicador cualitativo de la fermentación secundaria en las líneas contaminadas. Se vaciaron las líneas de cerveza y se retiraron los picos de plástico del extremo dispensador. A continuación, las líneas se cargaron con agua desionizada para un volumen interno y una pinta para evitar la contaminación por residuos de cerveza en las muestras de agua utilizadas para el análisis. Todas las líneas (con y sin recubrimiento) se dejaron expuestas al agua desionizada durante 2 minutos; posteriormente, se dispensaron 750 ml del agua de enjuague de cada línea en recipientes de plástico estériles para su análisis. Este procedimiento se llevó a cabo tres veces, con lo que se obtuvieron 3 muestras acuosas de 750 ml cada una para cada línea; el uso de tres extracciones de enjuague diferentes confirmó que las conclusiones eran independientes del conjunto específico de muestras utilizadas para el análisis.

La contaminación de las líneas recubiertas en relación con las no recubiertas se evaluó cuantitativamente mediante una combinación de pruebas: (a) se analizaron las soluciones acuosas extraídas de cada línea para determinar la turbidez relativa y el contenido de ATP (véanse las Figuras 7 y 8); b) se determinó la cantidad media de biopelícula retenida por las paredes internas de nailon de las líneas de dispensación mediante tinción con violeta de cristal (véase la Figura 8); y c) la visualización de la biopelícula se llevó a cabo mediante análisis de microscopía de muestras de las paredes internas de la línea (véase la Figura 9).

**Figura 6** muestra las mediciones de turbidez a 595 nm para el agua obtenida de las líneas de dispensación después de 56 días naturales de uso. Se analizaron las soluciones acuosas extraídas de todas las líneas para determinar su turbidez relativa en el caso de las líneas con nailon funcionalizado con manosa frente a las líneas sin recubrimiento, utilizando un espectrómetro UV-Vis, mediante la monitorización de la extinción de la solución a 595 nm frente a un blanco de agua. Las líneas que comprenden superficies de poliamida funcionalizadas con sacáridos demostraron tener importantes propiedades antiincrustantes.

**Figura 7** muestra las unidades de luminiscencia relativas medidas a partir de soluciones de agua de enjuague extraídas de las líneas dispensadoras de cerveza después de 56 días naturales. La Figura 7a (a la izquierda) corresponde al primer volumen extraído de líneas recubiertas o sin recubrir y la Figura 7b (a la derecha) corresponde al segundo volumen extraído de líneas recubiertas o sin recubrir. El contenido de ATP (trifosfato de adenosina) es un indicador de la biomasa acumulada; la cantidad de ATP liberada en el agua de enjuague por las líneas recubiertas y no recubiertas se comparó mediante la monitorización de la luminiscencia total utilizando un ensayo comercial de luciferasa (Hygiena, AquaSnap). Los datos se presentan en unidades de luminiscencia relativa (RLU), que es la lectura estándar del ensayo. La concentración de ATP es proporcional a las unidades RLU hasta valores de 10.000; en el caso de la primera extracción, las concentraciones de ATP obtenidas de las líneas sin recubrir están más allá del intervalo medible del luminómetro, mientras que en la segunda extracción están cerca del límite.

**Figura 8** muestra la absorbencia del violeta de cristal extraído de las líneas dispensadoras teñidas después de una prueba de 56 días naturales. Cuanto mayor sea la absorbencia, mayor será la cantidad de violeta de cristal extraído de las paredes internas de las líneas dispensadoras, lo que indica una mayor acumulación de biopelícula. Por lo tanto, las líneas no recubiertas acumulan mayores cantidades de biopelícula que las líneas recubiertas. Se cortaron muestras de tubos de 2 cm de longitud de la sección media de cada línea y se tiñeron con una solución de violeta de cristal al 0,01 % por inmersión durante 2 minutos, siguiendo los protocolos de tinción estándar. A continuación, las muestras se enjuagaron con abundante agua para eliminar el colorante no unido. El colorante violeta cristal retenido por la biopelícula en la superficie interna del tubo se disolvió en 40 ml de etanol al 95 % por inmersión (15 min) y se determinó la cantidad relativa de colorante liberado por las líneas recubiertas y no recubiertas mediante la monitorización de la absorbencia del colorante a 595 nm. Cuanto mayor sea la cantidad de cristal violeta liberado por el tubo en el etanol, mayor será la cantidad de biopelícula retenida por las paredes del tubo.

**Figura 9** muestra una imagen de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de las superficies internas de una línea dispensadora después de una prueba de 56 días naturales. Las líneas no recubiertas (Figura 9a) muestran una acumulación visible de biomasa mientras que la línea funcionalizada con un componente polihidroxilado derivado de la manosa está limpia de biopelícula. Estas imágenes específicas corresponden a las líneas del grifo A de las figuras 6-8.

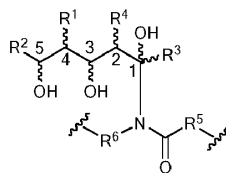
Las imágenes de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) de las paredes internas del tubo se llevaron a cabo en cortes secos que habían sido ligeramente recubiertos por chisporroteo con Au para evitar la carga. La cobertura relativa de la biopelícula en las líneas recubiertas y revestidas puede compararse visualmente como se muestra en las figuras. La Figura 9a muestra una importante acumulación de biomasa, mientras que la superficie de nailon funcionalizada con manosa no presenta acumulación de biomasa.

Las palabras "comprende/que comprende" y las palabras "que tiene/que incluye", cuando se utilizan en el presente documento con referencia a la presente invención, se usan para especificar la presencia de características, números enteros, pasos o componentes indicados, pero no excluyen la presencia o adición de una o más características, números enteros, pasos, componentes o grupos de los mismos.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que se describen, para mayor claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola realización. A la inversa, diversas características de la invención que, por brevedad, se describen en el contexto de una sola realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

## REIVINDICACIONES

1. Equipo dispensador de bebidas que comprende un artículo que tiene una superficie de poliamida, comprendiendo dicha superficie de poliamida la siguiente funcionalidad:



en la que:

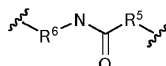
$R^1$  es -OH, un azúcar monosacárido o un azúcar disacárido;

$R^2$  es -H, -CH<sub>3</sub> o -CH<sub>2</sub>OH;

$R^3$  es -H o -CH<sub>2</sub>OH;

$R^4$  es -OH o -NH<sub>2</sub>; y

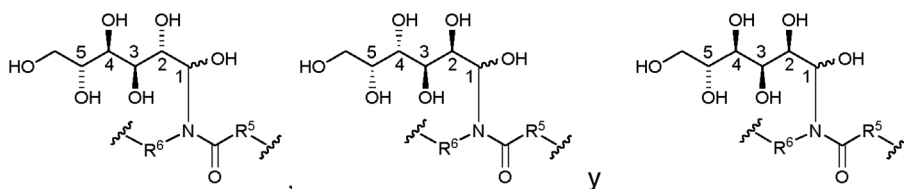
en la que:



representa la poliamida o parte de ella, en la que  $R^5$  y  $R^6$  se seleccionan cada uno independientemente de un grupo alquilo C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>, o un grupo arilo C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>, en el que  $R_5$  y  $R_6$  están cada uno independientemente sustituidos opcionalmente con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, uno o más átomos de halógeno, uno o más grupos oxo y uno o más grupos amina.

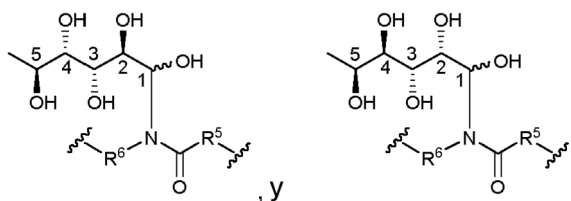
2. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la reivindicación 1, en el que  $R^1$  es -OH,  $R^2$  es -CH<sub>2</sub>OH,  $R^3$  es -H y  $R^4$  es -OH.

3. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la superficie de poliamida comprende una funcionalidad seleccionada del grupo que comprende



4. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la reivindicación 1, en el que  $R^1$  es -OH,  $R^2$  es -CH<sub>3</sub>,  $R^3$  es -H, y  $R^4$  es -OH.

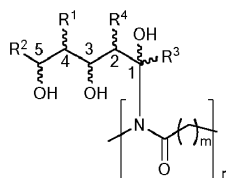
5. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la superficie de poliamida comprende una funcionalidad seleccionada del grupo que comprende



6. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la reivindicación 1, en el que  $R^1$  es un azúcar monosacárido seleccionado del grupo que consiste en glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, fucosa, glucosamina, fructosa, ribosa y xilosa.

7. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que la superficie de poliamida es una superficie de nailon, por ejemplo nailon-4,6, nailon-6,6, nailon-6, nailon-11, nailon-12.

5 8. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la superficie de poliamida comprende la siguiente funcionalidad



10 Donde n es un número entero,  
y m es de 2 a 12.

9. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con la reivindicación 8, en el que m es 10 (nailon-11).

15 10. Equipo dispensador de bebidas de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende líneas dispensadoras de cerveza, líneas dispensadoras de refrescos o líneas dispensadoras de productos lácteos.

11. Un procedimiento de fabricación de equipos dispensadores de bebidas de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende los siguientes pasos:

20 (i) activar una superficie de poliamida tratando dicha superficie con una solución básica que comprende un agente oxidante; y  
(ii) tratar la superficie de poliamida activada con una solución que comprende un azúcar reductor.

12. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el agente oxidante es hipoclorito de sodio.

25 13. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11 o 12, en el que el tratamiento de la superficie con una solución básica que comprende un agente oxidante comprende la exposición de dicha superficie a múltiples alícuotas de dicha solución básica que comprende dicho agente oxidante.

30 14. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que la solución básica que comprende un agente oxidante comprende una solución de hidróxido de sodio y/o hidróxido de potasio.

35 15. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, en el que el azúcar reductor se selecciona del grupo que consiste en: glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, fucosa, glucosamina, fructosa, ribosa, xilosa, celobiosa, lactosa y maltosa.

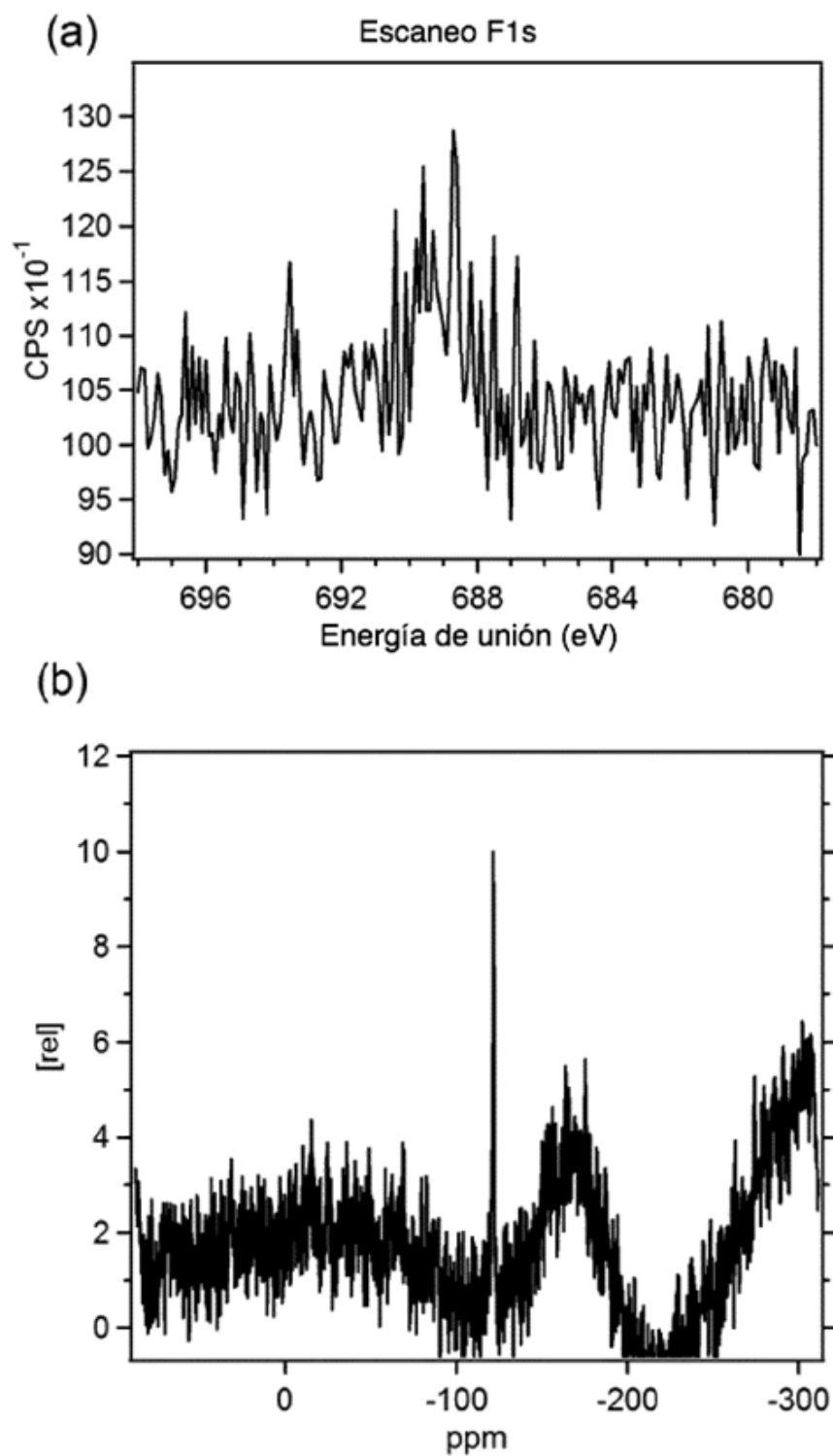


Figura 1

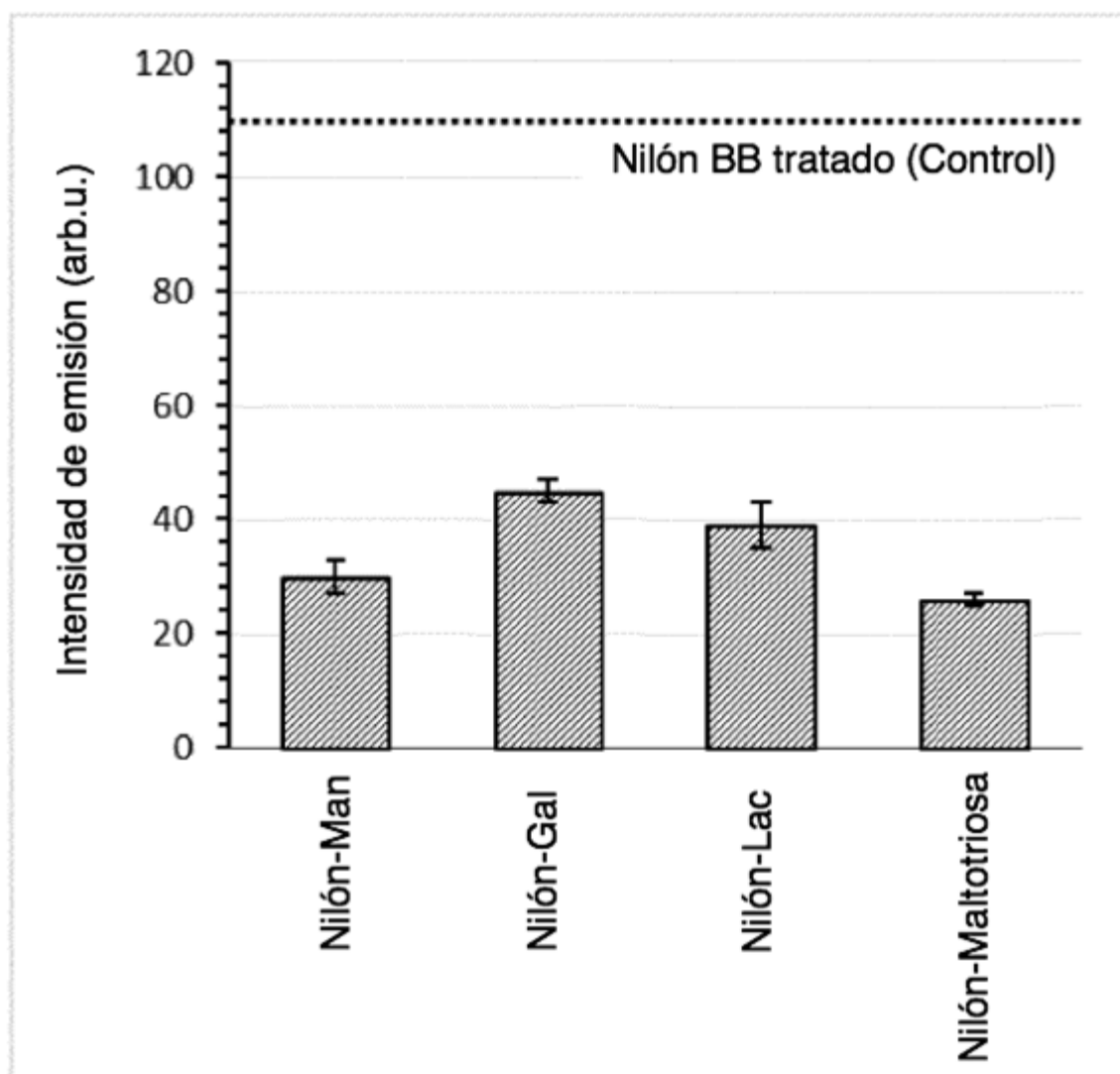


Figura 2

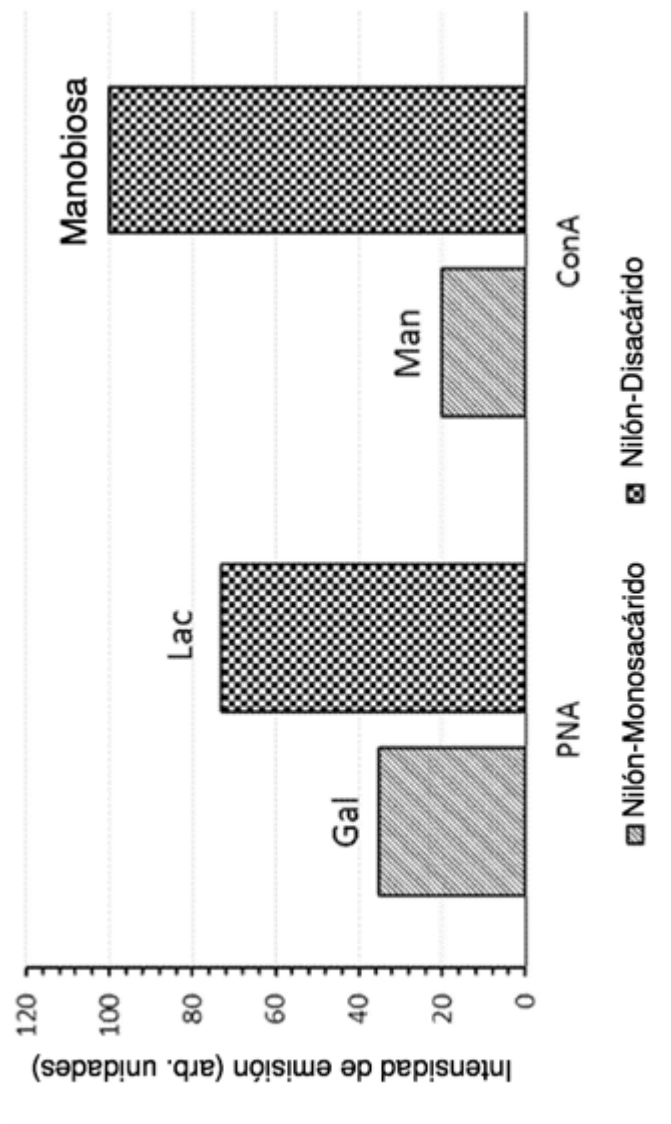


Figura 3

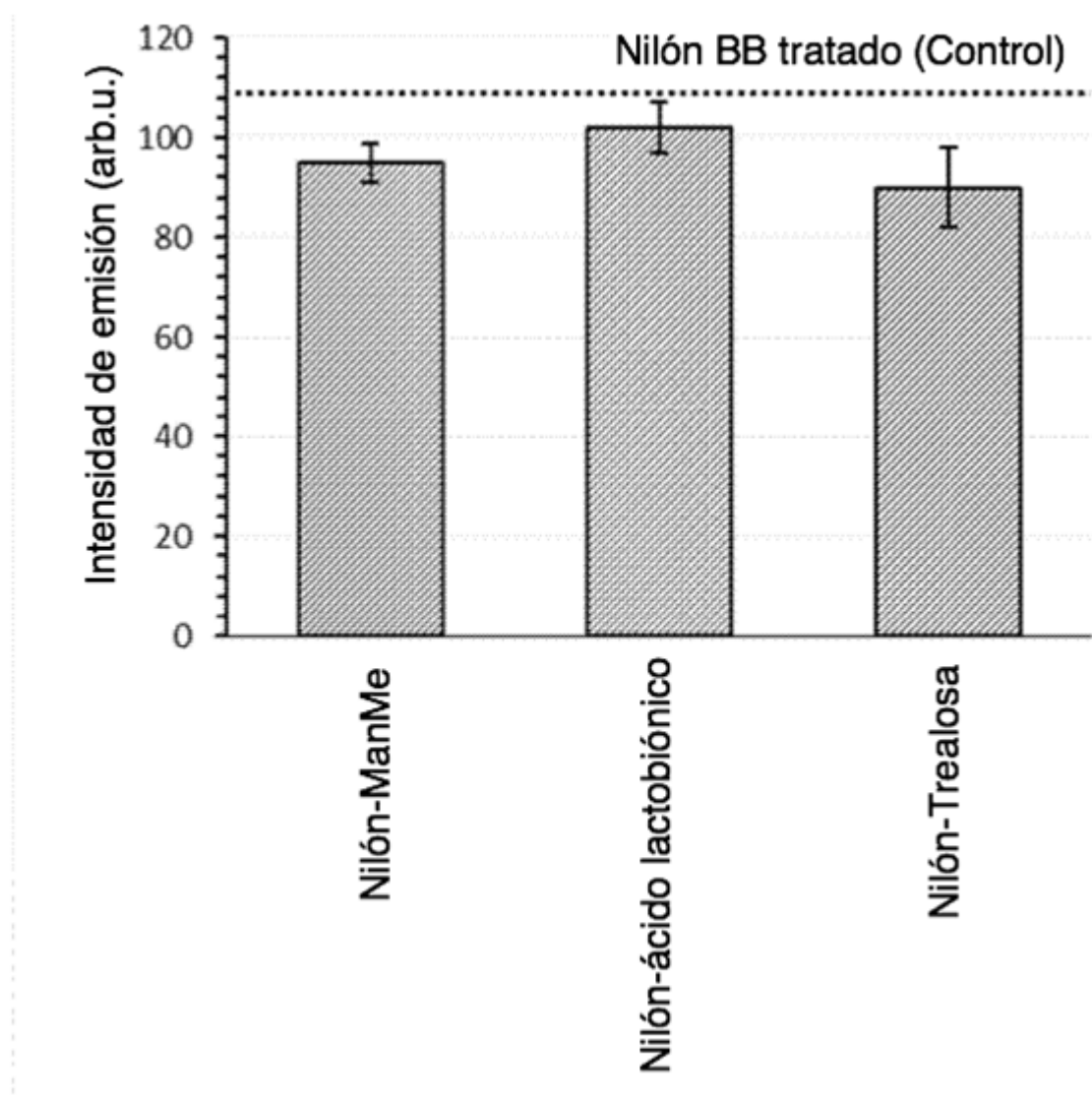


Figura 4

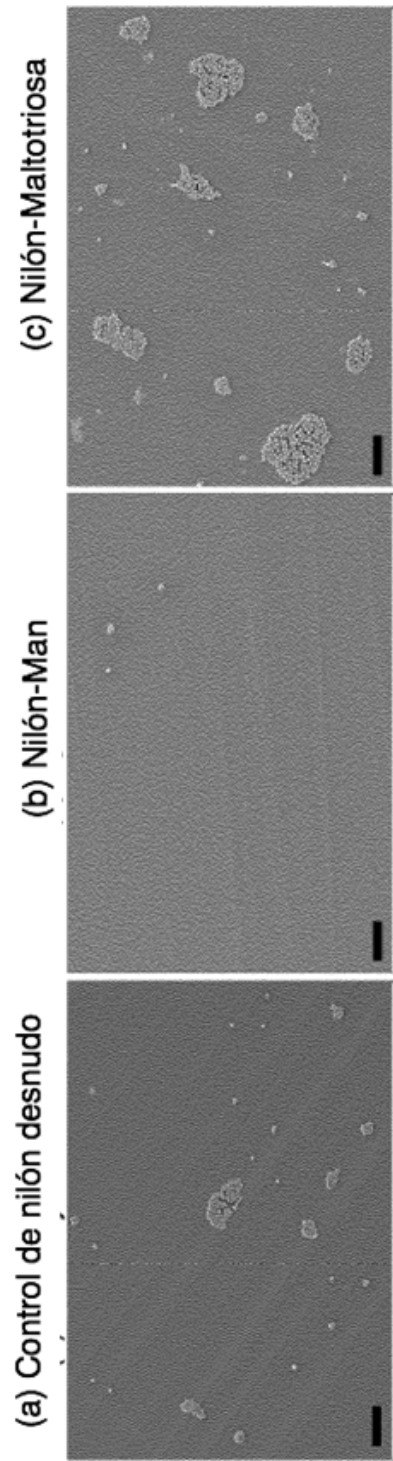


Figura 5 (Escala de barra = 40µm)

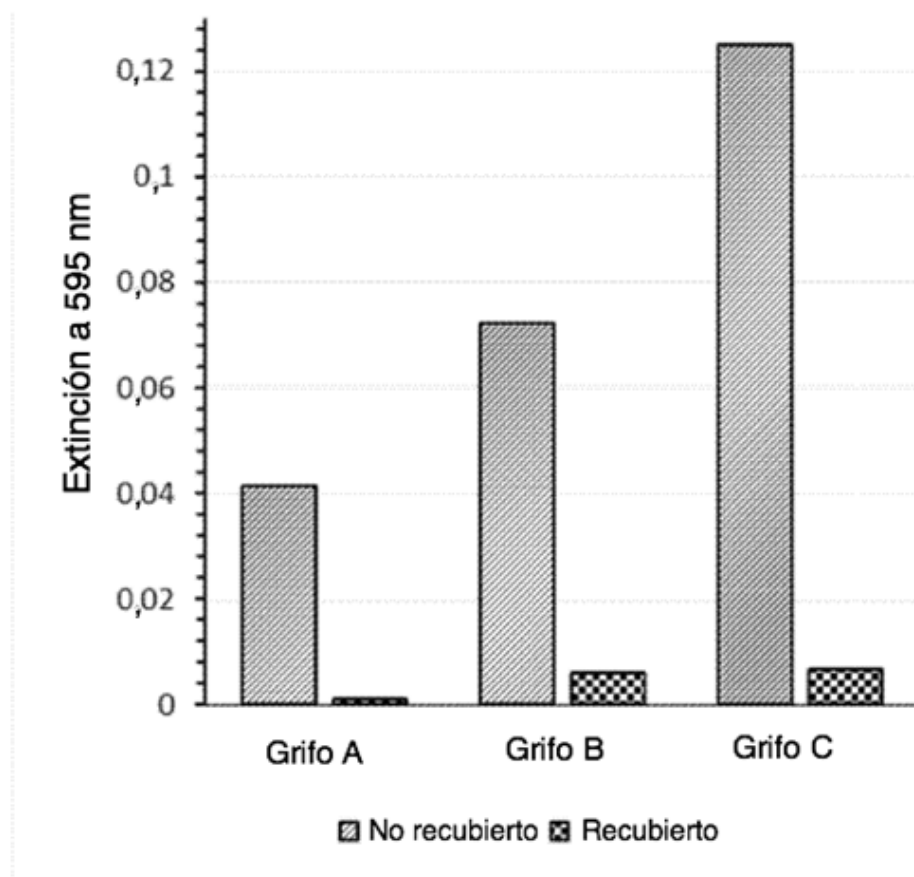


Figura 6

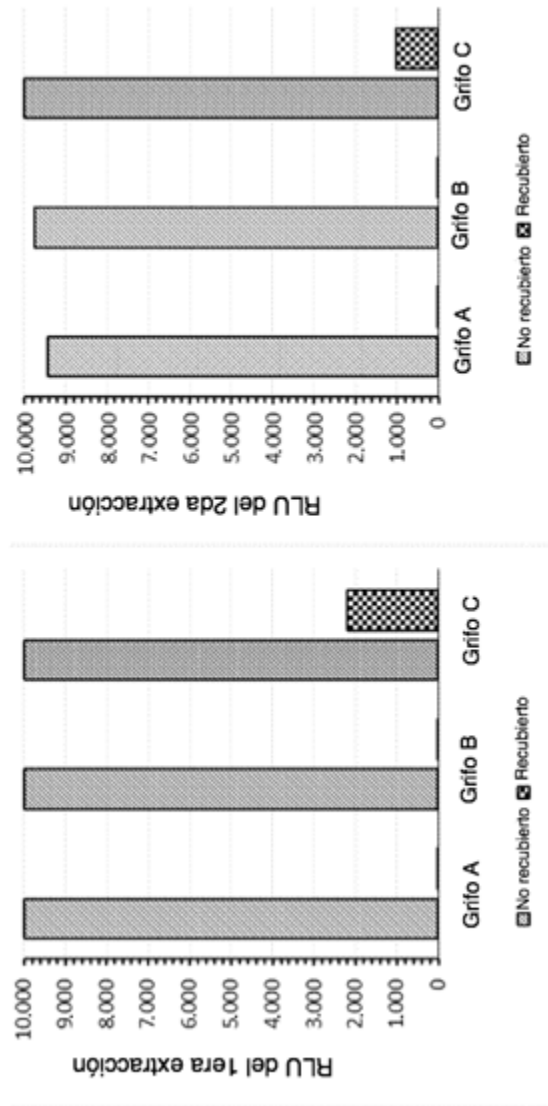


Figura 7a y 7b

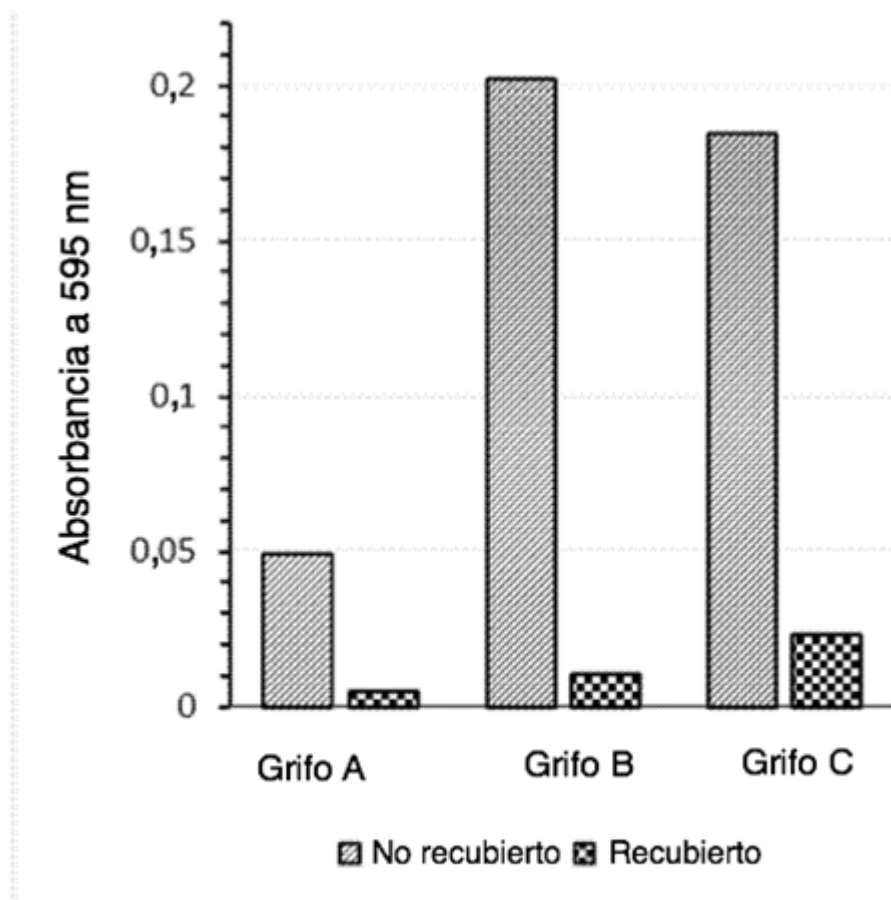


Figura 8

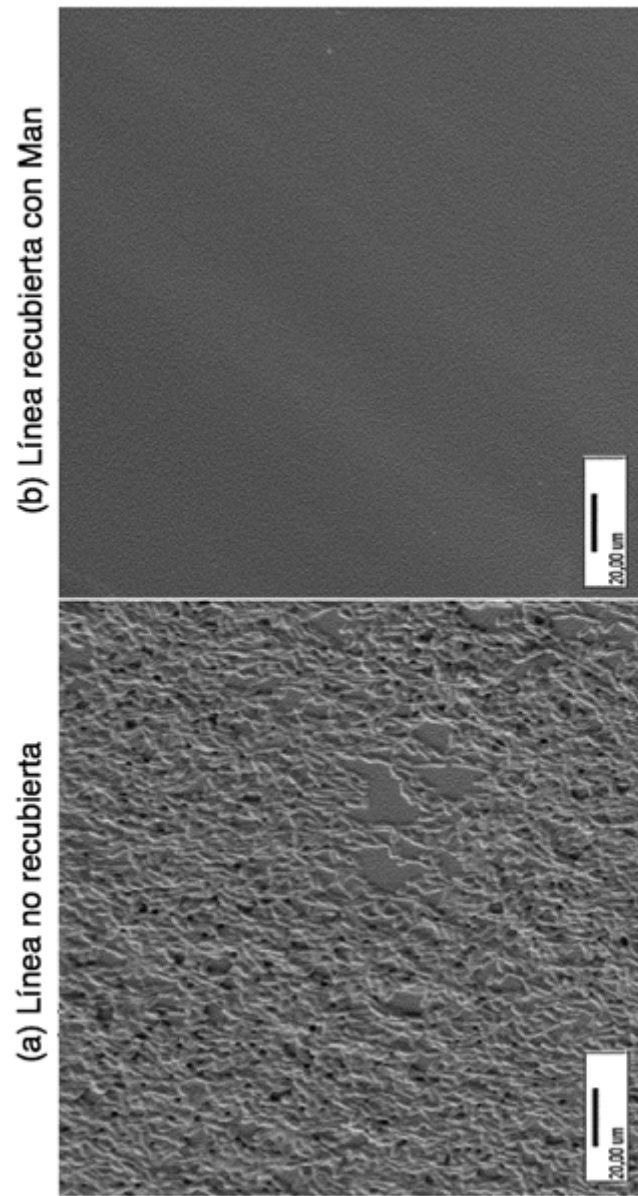


Figura 9