

(22) Data de pedido: 2015.08.31	(73) Titular(es): LANXESS DEUTSCHLAND GMBH KENNEDYPLATZ 1 50569 KÖLN DE
(30) Prioridade(s): 2014.09.29 EP 14186849	
(43) Data de publicação do pedido: 2016.03.30	(72) Inventor(es): MARCUS TAUPP DE
(45) Data e BPI da concessão: 2017.03.08 101/2017	(74) Mandatário: VASCO STILLWELL DE ANDRADE RUA CASTILHO, 165 1070-050 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **MÉTODO DE ESTERILIZAÇÃO DE BEBIDAS CONTAMINADAS COM BACTÉRIAS DE ÁCIDO ACÉTICO**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO REFERE-SE A UM MÉTODO E À UTILIZAÇÃO DE MISTURAS DE AÇÃO SINERGÉTICA PARA A ESTERILIZAÇÃO E SUBSEQUENTE CONSERVAÇÃO DE BEBIDAS, QUE ESTÃO CONTAMINADAS POR BACTÉRIAS DE ÁCIDO ACÉTICO. A MISTURA CONTÉM A) ÁCIDO SÓRBICO OU ÁCIDO BENZOICO E/OU SEUS SAIS DE METAL ALCALINO OU METAL ALCALINOTERROSO E B) DICARBONATO DE DIMETIL E C) DIÓXIDO DE ENXOFRE E/OU SUBSTÂNCIAS QUE LIBERTAM DIÓXIDO DE ENXOFRE.

RESUMO

MÉTODO DE ESTERILIZAÇÃO DE BEBIDAS CONTAMINADAS COM BACTÉRIAS DE ÁCIDO ACÉTICO

A invenção refere-se a um método e à utilização de misturas de ação sinérgica para a esterilização e subsequente conservação de bebidas, que estão contaminadas por bactérias de ácido acético. A mistura contém a) ácido sórbico ou ácido benzoico e/ou seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso e b) dicarbonato de dimetil e c) dióxido de enxofre e/ou substâncias que libertam dióxido de enxofre.

DESCRIÇÃO

MÉTODO DE ESTERILIZAÇÃO DE BEBIDAS CONTAMINADAS COM BACTÉRIAS DE ÁCIDO ACÉTICO

A invenção refere-se a um método e à utilização de misturas de ação sinérgica para a esterilização e conservação subsequente de bebidas, que estejam contaminadas por bactérias de ácido acético.

Bebidas podem ser contaminadas por microrganismos, o que em última análise provoca a deterioração e inutilização do produto. Além disso, uma contaminação microbiana de bebidas representa um risco à saúde do seu utilizador. Através da utilização de conservantes químicos, evita-se uma sobrevivência ou um crescimento de microrganismos nas bebidas. Cada vez mais, nas bebidas, podemos observar germes que foram identificados desde há mais de dez anos, da primeira vez, como bactérias deteriorantes de bebidas e cada vez mais frequentemente ocorrem. Nesse caso, trata-se de bactérias que pertencem à família das bactérias de ácido acético e, especialmente, ao género *Asaia*, *Neoasaia*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* ou similares (Yamada, Y. and Yukphan, P., Genera and species in acetic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 125, 15 a 24, 2008). Cada vez mais se verifica que agentes conservantes não são suficientemente fortes e, portanto, são empregues concentrações muito elevadas a fim de evitar que as referidas bactérias pudessem multiplicar-se e, portanto, que contaminassem a bebida correspondentemente (Horsakova, I., et al., *Asaia* sp. as a bacterium decaying the packaged still fruit beverages., Czech. Journal of Food Science, 27, 362 a 365, 2009). A utilização de elevadas concentrações de agentes conservadores é, porém, do ponto de vista económico indesejada e limitada por normas leis.

É conhecido a partir do documento de patente WO

96/09774 um agente conservador feito de sorbato de potássio e/ou benzoato de sódio e dicarbonato de dimetil e ácido ascórbico, que é adequado para a esterilização e conservação de bebidas. Desvantajoso nesse agente conservante é além disso o facto de o mesmo agir de forma ineficaz contra bactérias de ácido acético.

É conhecido a partir de Watanabe e Ino, 1984 (Watanabe, M.L. and Ino S.; Studies on bacteria isolated from Japanese wine. Part 2. Growth of the Acetobacter sp. A-1 during the fermentation and storage of grape must and red wine. Yamanashiken Shokuhin Kogyo Shidosho Kenkyu Hokoku 16:13, 1984) assim como de Juven, B.J. and Shomen, I., (Juven, B.J. and Shomen, I., Spoilage of soft drinks caused by bacterial flocculation. Journal of Food Protection, 48, 52, 1985), a utilização de dióxido de enxofre em concentrações elevadas para o controlo do crescimento de bactérias de ácido acético.

É também desvantajoso nesse processo o facto de a eficácia não ser suficiente e, portanto, ser necessário a utilização de concentrações elevadas de dióxido de enxofre, que podem interferir no sabor da bebida muitas vezes negativamente e, portanto, podem suscitar reacções alérgicas.

Por essa razão havia também a necessidade de um método para a esterilização de bebidas, através do qual bactérias de ácido acético são eficazmente removidas e sanadas as desvantagens do estado da técnica.

Verificou-se surpreendentemente que a mistura aplicada de acordo com a invenção age de modo sinérgico contra bactérias de ácido acético e bactérias de ácido acético são assim eficazmente combatidas.

Por essa razão é objetivo da invenção a utilização de misturas de ação sinérgica que contêm

- a) ácido sórbico ou ácido benzoico e/ou seus sais de metal alcalino e/ou de metal alcalinoterroso e

b) dicarbonato de dimetil e

c) dióxido de enxofre e/ou substâncias que libertam dióxido de enxofre

para a esterilização de bebidas, que estão contaminadas por bactérias de ácido acético, preferencialmente em relação à sua conservação subsequente.

Como sais de metal alcalino do ácido sórbico são preferidos sorbato de sódio, sorbato de potássio e sorbato de lítio ou misturas desses sais. Como sais de metal alcalinoterroso do ácido sórbico são preferencialmente utilizados sorbato de cálcio ou sorbato de magnésio ou misturas desses sais. É especialmente preferencialmente utilizado sorbato de potássio.

Como sais de metal alcalino do ácido benzoico são preferencialmente utilizados benzoato de sódio, benzoato de potássio e benzoato de lítio ou misturas desses sais. Como sais de metal alcalinoterroso do ácido benzoico são preferencialmente utilizados benzoato de cálcio ou benzoato de magnésio ou misturas desses sais. É especialmente preferencialmente utilizado benzoato de sódio.

Além disso é utilizado dióxido de enxofre e/ou substâncias que libertam dióxido de enxofre como, por exemplo, compostos de enxofre orgânicos e inorgânicos. São preferencialmente empregues compostos de enxofre inorgânicos. Especialmente são preferencialmente utilizados como substâncias que libertam dióxido de enxofre hidrogenossulfito de sódio, sulfito de sódio, hidrogenossulfito de potássio, sulfito de potássio, hidrogenossulfito de cálcio, dissulfito de cálcio, dissulfito de potássio ou misturas desses sais. É utilizado totalmente e mais preferencialmente dissulfito de potássio como substância que liberta dióxido de enxofre.

Bactérias da família das bactérias de ácido acético são em geral bastonetes aeróbios gram-negativos e conhecidos pelo perito na especialidade. A estirpe-tipo

dessas bactérias é *acetobacter aceti* e, entretanto, sobretudo na área *Asaia* sp. Novas bactérias são atribuídas à família das bactérias de ácido acético. Preferencialmente, são selecionadas a partir da mistura bactérias de ácido acético do seguinte grupo *Asaia* sp., *Acetobacter* sp., *Gluconobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Saccharibacter* sp., *Swaminanthia* sp., *Acidomonas* sp., *Kozakia* sp., *Neoasaia* sp., *Granulibacter* sp., *Acidocella* sp., *Acidiphilium* sp., *Roseococcus* sp., *Acidosphaera* sp., *Rhodopila* sp. retiradas das bebidas. A mistura age especialmente preferencialmente contra *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxydans* e *Gluconacetobacter liquefaciens*.

Entende-se por bebidas preferencialmente bebidas refrigerantes, como, por exemplo, e preferencialmente, águas tônicas, sumos de frutas e bebidas que contêm sumo de fruta, bebidas refrigerantes aromatizadas, tais como limonadas, chá (as assim chamadas bebidas à base de chá prontas para beber), como, por exemplo, e preferencialmente chá gelado, bebidas mistas de uma bebida refrigerante que contem chá/sumo de fruta, mas também concentrados correspondentes, assim como refresco de vinho e vinho sem álcool. São especialmente preferidas as bebidas de chá gelado.

O ácido sórbico e/ou os seus sais de metal alcalino e/ou de metal alcalinoterroso, em geral, são utilizados numa quantidade de 50 ppm a 1000 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada, podem ser utilizados também em quantidades menores ou maiores. Preferencialmente, a quantidade de ácido sórbico utilizada e/ou dos seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso situa-se entre 100 ppm a 350 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada. Ácido benzoico e/ou seus sais de metal alcalino e/ou de metal alcalinoterroso, em geral, são utilizados numa quantidade

de 50 ppm a 1000 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada, mas podem, porém, ser utilizados também em quantidades menores ou maiores. A quantidade de ácido benzoico utilizado e/ou dos seus sais de metal alcalino ou metal alcalino - terroso pode situar-se entre 100 ppm a 350 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada. DMDC, em geral, é utilizado numa quantidade de 50 ppm a 1000 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada, mas também pode ser utilizado em quantidades menores ou maiores. Preferencialmente, a quantidade de DMC utilizado situa-se entre 75 ppm a 250 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada.

O dióxido de enxofre e/ou as substâncias que libertam dióxido de enxofre, em geral, são utilizados numa quantidade de até 500 ppm, mas também podem ser utilizados em níveis mais elevados. Preferencialmente o dióxido de enxofre e/ou as substâncias que libertam dióxido de enxofre são utilizados numa quantidade de 5 ppm a 100 ppm em relação à quantidade de bebida a ser tratada. Ainda mais preferencialmente, o dióxido de enxofre e/ou as substâncias que libertam dióxido de enxofre são utilizados numa quantidade de 5 ppm a 20 ppm em relação à quantidade de bebida a ser tratada.

É utilizada totalmente e mais preferencialmente uma mistura feita de sorbato de potássio e/ou benzoato de sódio e dicarbonato de dimetil e dissulfito de potássio. Essa mistura atua de modo especialmente sinérgico. É utilizado totalmente e mais preferencialmente sorbato de potássio e/ou benzoato de sódio numa quantidade de 100 ppm a 350 ppm e dicarbonato de dimetil numa quantidade de 100 ppm a 250 ppm e dissulfito de potássio numa quantidade de 5 ppm a 100 ppm em relação à quantidade da bebida a ser esterilizada.

Entende-se por impurezas através de bactérias de ácido acético de acordo com a invenção o facto de os métodos de comprovação conhecidos no estado da técnica pelo perito na

especialidade fornecerem uma comprovação significativa de bactérias de ácido acético nas bebidas. A comprovação realizada de acordo com esse método de uma bactéria já representa uma impureza no sentido da invenção.

Como a utilização de acordo com a invenção também se refere à incorporação dos compostos nas bebidas a serem esterilizadas, é também provido pela invenção um método para a esterilização de bebidas que estejam contaminadas por bactérias de ácido acético, no qual,

- a) ácido sórbico ou ácido benzoico e/ou seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso e
- b) dicarbonato de dimetil e
- c) dióxido de enxofre e/ou substâncias que libertam dióxido de enxofre

são incorporados nas bebidas.

A incorporação pode ser feita, por exemplo, através de adição separada dos compostos a), b) e c) em qualquer sequência ou mediante adição desses compostos numa mistura. Essa mistura pode ser diluída através de outros solventes ou também através de outros aditivos, como, por exemplo, emulsificantes ou outros aditivos adequados alimentares. Como solventes podem ser utilizados solventes hidrófilos, orgânicos e miscíveis com água. Preferencialmente, não deve ser adicionado solvente adicional. Preferencialmente, os compostos são incorporados nas bebidas separadamente.

Após a esterilização das bebidas realiza-se preferencialmente uma conservação através dos agentes conservantes adicionados.

A mistura utilizada de acordo com a invenção age de modo sinérgico contra bactérias de ácido acético. Neste caso, as bebidas podem ser esterilizadas e conservadas de modo eficiente e favorável em termos de custos.

Exemplos

Uma bebida foi contaminada com uma quantidade determinada de mistura de microrganismos e uma mistura

feita de agentes conservantes foi analisada em comparação com as substâncias individuais quanto à eficácia. Das duas misturas de germes trata-se de *Asaia bogorensis*, *Asaia lannaensis*, *Gluconobacter oxydans* assim como *Gluconacetobacter liquefaciens*. Transcorrida uma semana, uma porção da bebida foi analisada quanto à presença de microrganismos.

Substâncias de teste individuais: sorbato de potássio, dicarbonato de dimetil, benzoato de sódio, dissulfito de potássio

Germe de teste: mistura feita de diferentes bactérias de ácido acético isoladas de linhas de envase de bebidas.

Substrato: chá gelado

População de germes por mL de substrato: 200 cfu/mL por germe na mistura

Tabela 1:

Substância ativa - individual	MHK ppm após uma semana	
Sorbato de potássio	750 mg/L	
Dicarbonato de dimetil	300 mg/L	
Dissulfito de potássio	60 mg/L	
Mistura de substância ativa	MHK ppm após uma semana	Índice sinérgico
Sorbato de potássio dicarbonato de dimetil dissulfito de potássio	150 mg/L 150 mg/L 10 mg/L	SI=0,87

Substância ativa - individual	MHK ppm após uma semana	
Benzoato de sódio	550 mg/L	
Dicarbonato de dimetil	300 mg/L	
Dissulfito de potássio	60 mg/L	
Mistura de substância ativa	MHK ppm após uma semana	Índice sinérgico
Benzoato de sódio	125 mg/L	SI=0,92
dicarbonato de	175 mg/L	
dimetil dissulfito de potássio	7,5 mg/L	

De acordo com o método descrito por Kull et al. (F.C. Kull, P.C. Eismann, H.D. Sylvestrowicz, R.L. Mayer, Applied Microbiology 9, 538 bis 541, 1961) foi apurado o sinérgismo. Nesse caso, aplicam-se as seguintes relações:

$$QA/Qa + QB/Qb + QC/Qc = SI$$

Qa = concentração de substância A, que representa a MHK

Qb= concentração de substância B, que representa a MHK

Qc= concentração de substância C, que representa a MHK

QA= concentração de substância A na concentração de A/B/C, que impede o crescimento de micróbios

QB = concentração de substância B na concentração de A/B/C, que evita o crescimento de micróbios

QC= concentração de substância C na concentração de A/B/C, que evita o crescimento de micróbios

SI = Índice sinérgico

SI = 1 significa aditividade

SI >1 significa antagonismo

SI<1 significa sinérgismo

DOCUMENTOS REFERIDOS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de documentos referidos pelo autor do presente pedido de patente foi elaborada apenas para informação do leitor. Não é parte integrante do documento de patente europeia. Não obstante o cuidado na sua elaboração, o IEP não assume qualquer responsabilidade por eventuais erros ou omissões.

Documentos de patente referidos na descrição

- WO 9609774 A [0003]

Literatura não relacionada com patentes referida na descrição

- YAMADA, Y. ; YUKPHAN, P. Genera and species in acetic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, vol. 125, 15-24 [0002]
- HORSAKOVA, I. et al. Asaia sp. as a bacterium decaying the packaged still fruit beverages. *Czech. Journal of Food Science*, 2009, vol. 27, 362-365 [0002]
- WATANABE, M.L. ; INO S. Studies on bacteria isolated from Japanese wine. Part 2. Growth of the *Acetobacter* sp. A-1 during the fermentation and storage of grape must and red wine. *Yamanashi-ken Shokuhin Kogyo Shidosho Kenkyu Hokoku*, 1984, vol. 16, 13 [0004]
- JUVEN, B.J. ; SHOMEN, I. Spoilage of soft drinks caused by bacterial flocculation. *Journal of Food Protection*, 1985, vol. 48, 52 [0004]
- F.C. KULL ; P.C. EISMANN ; H.D. SYLVESTROWICZ ; R.L. MAYER. *Applied Microbiology*, 1961, vol. 9, 538-541 [0023]

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de misturas de ação sinérgica que compreendem

a) ácido sórbico ou ácido benzoico e/ou os seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso e

b) dicarbonato de dimetil e

c) dióxido de enxofre e/ou substâncias que libertam dióxido de enxofre

para esterilização de bebidas que estiverem contaminadas por bactérias de ácido acético, preferencialmente em relação à sua conservação subsequente.

2. Utilização, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** como sais de metal alcalino ou de metal alcalinoterroso do ácido sórbico serem utilizados sorbato de sódio, sorbato de potássio e sorbato de lítio ou sorbato de cálcio ou misturas desses sais.

3. Utilização, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** como sais de metal alcalino ou de metal alcalinoterroso do ácido benzoico serem utilizados benzoato de sódio, benzoato de potássio e benzoato de lítio ou benzoato de cálcio ou misturas desses sais.

4. Utilização, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** como substâncias que libertam dióxido de enxofre serem utilizados hidrogenossulfito de sódio, dissulfito de sódio, hidrogenossulfito de potássio, dissulfito de potássio, hidrogenossulfito de cálcio, dissulfito de cálcio ou misturas desses sais.

5. Utilização, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** na reivindicação 1 ser utilizada uma

mistura que contém sorbato de potássio e/ou benzoato de sódio, dicarbonato de dimetil e dissulfito de potássio para a esterilização de bebidas, que esteja contaminada por bactérias de ácido acético, e para a sua conservação subsequente.

6. Utilização, de acordo com qualquer uma ou várias das reivindicações 1 a 5, **caracterizada por** serem utilizados o ácido sórbico e/ou seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso numa quantidade de 100 ppm a 350 ppm ou o ácido benzoico e/ou seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso numa quantidade de 100 ppm a 350 ppm e o DMDC ser utilizado numa quantidade de 75 ppm e 250 ppm e o dióxido de enxofre e/ou as substâncias que libertam dióxido de enxofre serem utilizados numa quantidade de 5 ppm a 100 ppm em relação à quantidade de bebida a ser tratada.

7. Utilização, de acordo com qualquer uma ou várias das reivindicações 1 a 6, **caracterizada por** como bebidas serem tratadas bebidas refrigerantes, como, especialmente, chás gelados, bebidas energéticas, sumos de fruta e bebidas com teor de sumo de fruta.

8. Utilização, de acordo com qualquer uma ou várias das reivindicações 1 a 7, **caracterizada por** a ação da mistura ser feita contra bactérias de ácido acético selecionadas a partir do seguinte grupo *Asaia* sp., *Acetobacter* sp., *Gluconobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Saccharibacter* sp., *Swaminanthia* sp., *Acidomonas* sp., *Kozakia* sp., *Neoasaia* sp., *Granulibacter* sp., *Acidocella* sp., *Acidiphilium* sp., *Roseococcus* sp., *Acidosphaera* sp., *Rhodopila* sp.

9. Método de esterilização de bebidas que estejam contaminadas por bactérias de ácido acético, **caracterizado**

por

- a) ácido sórbico ou ácido benzoico e/ou seus sais de metal alcalino ou metal alcalinoterroso e
- b) dicarbonato de dimetil e
- c) dióxido de enxofre e/ou substâncias que libertam dióxido de enxofre serem incorporados nas bebidas.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado por**, após a esterilização das bebidas, ser feita uma conservação das bebidas através da conservação das bebidas por meio dos agentes conservantes adicionados.