



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 265 714**

⑫ Número de solicitud: 200400611

⑬ Int. Cl.:

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 35/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61P 17/18 (2006.01)

A23L 3/3472 (2006.01)

⑭

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑮ Fecha de presentación: **12.03.2004**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2007**

Fecha de la concesión: **17.04.2008**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:
10.04.2008

⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **01.06.2008**

⑱ Fecha de publicación del folleto de la patente:
01.06.2008

⑲ Titular/es:
Universidade de Santiago de Compostela
Edificio CACTUS-CITT-Campus Sur
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES

⑳ Inventor/es: **Pinelo Jiménez, Manuel;**
Sineiro Torres, Jorge;
Núñez García, María José;
Moure Varela, Andrés;
Cruz Freire, José Manuel;
Domínguez González, Herminia y
Parajó Liñares, Juan Carlos

㉑ Agente: **No consta**

㉒ Título: **Procedimiento de obtención de extractos antioxidantes a partir de bagazo de uva fermentado y destilado.**

㉓ Resumen:

Procedimiento de obtención de extractos antioxidantes a partir de bagazo de uva fermentado y destilado y utilización de los extractos como antioxidantes. El procedimiento se lleva a cabo mediante separación del líquido contenido en el residuo sólido procedente de la industria alcohólica, por prensado, filtración o centrifugado, lavado con agua del sólido de la etapa anterior, unión de las dos fases líquidas obtenidas en las anteriores operaciones en una sola, filtración o centrifugado de la misma, extracción de dicho líquido con disolventes apolares, destilación de la fase orgánica una vez separada de la fase acuosa y deshidratación del residuo.

ES 2 265 714 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de obtención de extractos antioxidantes a partir de bagazo de uva fermentado y destilado.

5 Procedimiento de obtención de extractos antioxidantes a partir de bagazo de uva fermentado y destilado. El bagazo es el procedente de las industrias alcoholeras, y los extractos obtenidos como antioxidantes se utilizan en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica.

Estado de la técnica

10 La protección frente al deterioro oxidativo de diversos productos es una preocupación de diversas industrias (alimentaria, farmacéutica, cosmética). Como antioxidantes se emplean principalmente compuestos sintéticos como hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propilo o butirohidroxianisol (BHA). Por otra parte, se ha encontrado que componentes de naturaleza fenólica presentes en vegetales presentan actividad antioxidante comparable a los antioxidantes sintéticos (Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H., Nuñez, M.J. y J.M. Lema. (2000). Evaluation of extracts from Gevuina avellana hulls as antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48:3890-3897; Heinonen, M., Lehtonen, P. J., & Hopia, A. L. (1998). Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 25-31; Landbo, A.K. & Meyer, A.S. (2001). Ascorbic acid improves the antioxidant activity of European grape juices by improving the juices' ability to inhibit lipid peroxidation of human LDL *in vitro*. International Journal of Food Science and Technology, 36, 727-735).

25 Los antioxidantes naturales y sintéticos presentan idénticos mecanismos de actuación, pero existe interés en reemplazar antioxidantes sintéticos por otros de origen natural, debido a factores como: i) las implicaciones en la salud de los consumidores, por las acciones biológicas que desempeñan; ii) la solubilidad de los antioxidantes naturales en agua, aceite y emulsiones; iii) los datos disponibles sobre estudios toxicológicos de los antioxidantes sintéticos, que recomiendan precaución en el empleo de éstos.

30 La mayor parte de los compuestos naturales con actividad antioxidante se encuentran en plantas, y muchos de ellos son de naturaleza polifenólica. En varios estudios llevados a cabo en los últimos años, se ha analizado el potencial antioxidante de vegetales, cereales, frutas, verduras, semillas y de residuos agrícolas e industriales. También presentan actividad antioxidante algunos aceites vegetales, bebidas refrescantes y alcohólicas, habiéndose prestado especial atención a la capacidad antioxidante de los compuestos polifenólicos presentes en bebidas alcohólicas como vino, whisky, sake, jerez y cava. Son de particular interés, como fuente de antioxidantes, las plantas aromáticas y medicinales y las especias, mientras que también se han considerado como fuentes potenciales de compuestos antioxidantes determinadas raíces, tallos, cortezas y hojas de árboles. Finalmente, cabe citar que se ha detectado actividad antioxidante en la parte fibrosa de salvado de cereales, vainas de judías y cáscaras de cacahuete y avellana.

40 Merecen particular atención las materias primas de origen residual de procesos agroindustriales que puedan servir como fuentes de antioxidantes. En este campo, se han considerado como materias primas algunos materiales como residuos de piel de patata, orujo de oliva, alpechines, pepitas de uva y bagazo de vino y pieles de uva. Se han realizado estudios que incluyen la identificación de compuestos polifenólicos activos en bagazo de manzana (Lu, Y. & Foo, L. Y. (1997). Identification and quantitation of major polyphenols in apple pomace. Food Chemistry, 59, 187-194), semillas y pieles de cítricos (Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., & Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2123-2129), residuos de pulpa de zanahoria (Chen, B. H., & Tang, Y. C. (1998). Processing and stability of carotenoid powder from carrot pulp waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2312-2318). Processing and stability of carotenoid powder from carrot pulp waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2312-2318). Processing and stability of carotenoid powder from carrot pulp waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2312-2318), subproductos del coco (Azizah, A. H., Nik Ruslawati, N. M., & Swee Tee, T. (1999). Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. Food Chemistry, 64, 199-202), residuos no volátiles del aceite esencial de naranja (Vargas-Arispuro, I., Sanz, B. I., Martínez-Téllez, M. A., & Primo Yúfera, E. (1998). Actividad antioxidante de compuestos aislados del residuo no-volátil del aceite esencial de naranja. Grasas y Aceites, 49, 159-164), y melazas de soja (Hosny, M., & Rosazza, J. P. N. (1999). Novel isoflavone, cinnamic acid, and triterpenoid glycosides in soybean molasses. Journal of Natural Products, 62, 853-858).

55 Finalmente, es conocido que en la pulpa y mosto de uva (Landbo, A.K. & Meyer, A.S. (2001). Ascorbic acid improves the antioxidant activity of European grape juices by improving the juices' ability to inhibit lipid peroxidation of human LDL *in vitro*. International Journal of Food Science and Technology, 36, 727-735), las pepitas de uva (Koga, T., Moro, K., Nakamori, K., Yamakoshi, J., Hosoyama, H., Kataoka, S., & Ariga, T. (1999). Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 1892-1897), el vino (Frankel, E.N., Waterhouse, A.L. & Teissedre, P.L. (1995). Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43, 890-894), y los productos de desecho de la fabricación del vino (Heinonen, M., Lehtonen, P. J., & Hopia, A. L. (1998). Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 25-31; Spanos, G. A., & Wrolstad, R. E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38, 1565-1571; Lu, Y., & Foo, L. Y. (1999). The polyphenol constituents of grape pomace. Food Chemistry, 65, 1-8) están presentes compuestos con poder antioxidante y otras propiedades biológicas

relacionadas. Existen patentes que reivindican el empleo de pepitas de uva (Nkiliza y Marzelle EP0692480; Enrong *et al.*, WO0211744), de pulpa de uva (Pointer, WO0209722), y de bagazo de prensado de uva (Saura Calixto y García Larrauri, ES2130092) como fuentes de antioxidantes y/o fibra dietética.

Los antioxidantes pueden actuar de diversas formas durante la oxidación (por ejemplo, secuestrando iones metálicos, captando radicales libres, actuando como agentes reductores, descomponiendo peróxidos, etc.). En sistemas alimentarios la oxidación implica la oxidación de los lípidos, mientras que en sistemas *in vivo* los radicales libres pueden dañar además proteínas, ADN y otras moléculas (Moure, A., Cruz, J. Franco, D., Domínguez, J.M., Sineiro, J. Domínguez, H., Núñez, M.J. y Parajó, J.J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry, 72: 145-171).

El objeto de la presente invención consiste en un procedimiento para la obtención de fracciones con poder antioxidante a partir de bagazo de uva fermentado y destilado (un residuo sólido de la industria alcoholera sin valor alguno para las empresas).

Modo de realización

La realización de la presente invención se lleva a cabo según las siguientes etapas:

Etapa a). El bagazo de uva procedente de la industria alcoholera es sometido a una etapa de separación sólido-líquido mediante prensado filtración a través de una malla entre 1 y 20 mm, centrifugado a velocidades entre 300 rpm y 10000 rpm, o prensado a presiones entre 10 y 50 bar, para separar parte del líquido que empapa el bagazo, obteniéndose un material sólido, y un líquido en cantidades comprendidas entre 0,2 g/Kg y 4 g/Kg de bagazo.

Etapa b). El sólido resultante de la etapa anterior es sometido a un lavado con agua con relaciones superiores a 0,1 g de agua por Kg de sólido y menores de 50 g de agua por Kg de sólido. A continuación, esta masa se somete a filtración, centrifugado o prensado en las condiciones indicadas en la etapa a), obteniéndose una suspensión acuosa que se mezcla con el líquido obtenido en la anterior etapa.

Etapa c). Los líquidos de las etapas a) y b) se mezclan y esta mezcla se deja sedimentar, se filtra o centrifuga para separar sólidos en suspensión, obteniéndose un líquido que se somete a una etapa de extracción con disolventes. Estos disolventes serán disolventes apolares parcialmente miscibles con agua y autorizados para uso alimentario, como acetato de etilo, éter etílico o acetona. Como resultado de esta operación se obtiene dos fases: una fase acuosa y una fase orgánica.

Etapa d). La fase acuosa de la etapa c) se descarta y la fase orgánica se somete a una operación de destilación, recuperándose como destilado el disolvente, que se reutiliza y quedando como residuo una suspensión que contiene las sustancias antioxidantes no volátiles.

Etapa e). El residuo indicado en la etapa d) se somete a una deshidratación a baja temperatura mediante liofilización, evaporación a vacío o secado, no superándose una temperatura de 45°C, obteniéndose finalmente un extracto en forma de sólido o de disolución acuosa concentrada con contenido de agua inferior al 10%.

Ejemplo

Se parte de 100 Kg. de bagazo de uva tinta fermentado y destilado procedente del proceso de fabricación del aguardiente, que contiene entre 0,5 y 1,5 g de líquido lixiviable por cada 100 g sólido seco inerte. Este material es sometido a un proceso que comprende las siguientes etapas:

a) Prensado del residuo sólido en una prensa hidráulica a una presión de 30 atmósferas, y recogida del líquido escurrido.

b) Lavado con agua del sólido residual en la etapa anterior recogiendo una suspensión acuosa y descartando la fase sólida.

c) Mezcla de los líquidos resultantes de las etapas a) y b) y realizando una separación sólidos finos mediante filtración.

d) Extracción con acetato de etilo de la fase líquida de la anterior etapa, obteniéndose una fase acuosa que se descarta y una fase orgánica que se somete a destilación para recuperar el disolvente.

e) Evaporación a vacío del líquido residual de la destilación realizada en la etapa d), a una temperatura inferior a 45°C, hasta eliminar el 95% del agua presente.

f) Secado en horno a vacío a 45°C durante 48 horas, y a una presión de 0,01 atm.

Al sólido seco se le determinó el contenido en compuestos fenólicos como equivalentes en ácido gálico por el método de Folin-Denis, obteniéndose entre 0,166 y 0,173 Kg. Se determinó asimismo la actividad antioxidante por el

ES 2 265 714 B2

método de captación del radical DFPH (radical α,α difenil- β -picril hidracilo) (von Gadow, A., Joubert, E., Hansmann, C. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT and BHA. J. Agric. Food Chem. 45: 632-638) observándose un 50% de inhibición del radical DFPH con concentraciones entre 0,4 y 0,791 g/L.

Para predecir o simular la actividad antioxidante del extracto en sistemas en emulsión, se determinó el Coeficiente de Actividad Antioxidante (CAA) para la cinética de decoloración de β -caroteno en una emulsión con ácido linoleico (Miller, H. E. A. (1971). Simplified method for the evaluation of antioxidants. Journal of the American Oil Chemist's Society, 45, 91). El CAA para una concentración de 0,5 g/L es 436,24, mientras que el BHA y el BHT para concentraciones de 0,5 g/L presentan un CAA de 875,8 y 853,8 respectivamente.

Las ventajas como antioxidante de las fracciones que se obtienen del proceso incluyen: estabilidad al almacenamiento, elevado contenido en compuestos fenólicos (entre 0,166 y 0,173 g de ácido gálico equivalente/100 g sólido seco), elevado poder antioxidante (CE_{50} =0,40-0,719g/L). Como dato comparativo, cabe citar que la actividad antioxidante es ligeramente inferior que la de antioxidantes sintéticos comerciales como el BHA (CE_{50} = 0,241 g/L), pero presentan una actividad de hasta 8 veces superior a la del BHT (CE_{50} = 2,794 g/L).

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de obtención de extractos antioxidantes a partir de bagazo de uva fermentado y destilado, que comprende las siguientes etapas:

- a) El bagazo es sometido a una operación de filtración a través de una malla entre 1 y 20 mm, centrifugado a velocidades entre 300 rpm y 10000 rpm, o prensado a presiones entre 10 y 50 bar para separar parte del líquido que empapa el bagazo, obteniéndose un material sólido, y un líquido en cantidades comprendidas entre 0,2 g/Kg y 4 g/Kg de bagazo; este líquido contiene polifenoles, entre otros componentes.
- b) El sólido resultante de la etapa a) es sometido a lavado con agua con relaciones superiores a 0,1 g de agua por Kg de sólido y menores de 50 g de agua por Kg de sólido; posteriormente se somete a filtración, centrifugado o prensado en las condiciones indicadas en la etapa a), obteniéndose un sólido residual que se desecha, y un líquido que contiene polifenoles, entre otros componentes.
- c) Los líquidos obtenidos en las etapas a) y b) son sometidos a una operación de separación sólido-líquido como filtración, centrifugado o sedimentación, para eliminar los sólidos en suspensión.
- d) El líquido obtenido en la etapa c) se procesa mediante extracción con disolventes apolares, como por ejemplo el acetato de etilo, aptos para uso alimentario, con el fin de separar la fracción de azúcares y la de compuestos antioxidantes. La fase acuosa resultante se descarta; y la fase orgánica se somete a una destilación para recuperar el disolvente y obtener un residuo, exento de disolvente, que contiene sustancias no volátiles con actividad antioxidante.
- e) Al residuo resultante de la etapa d) se le elimina al menos el 90% del agua presente, utilizando técnicas de deshidratación tales como evaporación y/o secado y/o atomización y/o liofilización, u otras que se apliquen con el mismo fin, no superando una temperatura de 45°C y quedando contenidos los solutos no volátiles en un extracto, que puede presentarse como sólido o como suspensión acuosa conteniendo un 10% de agua como máximo.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 265 714

⑫ Nº de solicitud: 200400611

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 12.03.2004

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X A	ZA 9800102 A (HOWARD FOUNDATION) 08.07.1998, todo el documento.	2 1
X A A	BONILLA, F. et al. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. Food Chemistry. 1999, Vol. 66, páginas 209-215. PEKIC, B. et al. Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seeds. Food Chemistry. 1998, Vol. 61, Nº 1/2, páginas 201-206.	2 1 1
A	MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry. 01.02.2001. Vol. 72, Nº 2, páginas 145-171.	1,2
A	US 6544581 B1 (SHRIKHANDE ANIL J. et al.) 08.04.2003, todo el documento.	1

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

24.01.2007

Examinador

E. Ulloa Calvo

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A23L 1/30 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61P 17/18 (2006.01)
A23L 3/3472 (2006.01)