

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 018 864**

51 Int. Cl.:

**C12H 1/07** (2006.01)

**C12H 1/044** (2006.01)

**C01B 33/00** (2006.01)

**B01J 29/03** (2006.01)

**C01B 33/18** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.03.2022** **PCT/IB2022/051891**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.09.2022** **WO22185250**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2022** **E 22713730 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025** **EP 4301836**

54 Título: **Macropartículas funcionalizadas de sílice mesoporosa para la estabilización de proteínas y la eliminación de metales de una bebida**

30 Prioridad:

**04.03.2021 EP 21160683**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.05.2025**

73 Titular/es:

**ENARTIS S.R.L. (100.00%)**

**Via San Cassiano 99**

**28069 Trecate frazione San Martino (NO), IT**

72 Inventor/es:

**TRIULZI, GIOVANNI y**

**ANGIULI, FABIO**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 3 018 864 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

Macropartículas funcionalizadas de sílice mesoporosa para la estabilización de proteínas y la eliminación de metales de una bebida

### Campo técnico

La presente invención se refiere a macropartículas de sílice mesoporosa funcionalizada (SMF) y a su uso tanto por sí sola como dentro de un cartucho o un dispositivo de filtrado, para la estabilización de una bebida mediante la eliminación de proteínas y/o metales.

### Estado de la técnica

La "turbidez proteica" es un fenómeno comúnmente observable en los vinos, en particular en el caso de los vinos blancos y/o rosados, y implica la precipitación de las proteínas contenidas en ellos de manera incontrolada e impredecible a lo largo del tiempo. Las principales proteínas responsables de este fenómeno pertenecen a dos familias con características muy similares: la familia de las taumatinas y la familia de las quitinasas. Ambas estas familias de proteínas poseen una estructura globular con una masa comprendida entre 20 y 30 kdaltons, un tamaño de entre 5 y 20 nm y un punto isoeléctrico de 4,5 y 5, respectivamente (de modo que, por ejemplo, en el pH típico del vino (entre 2,8 y 3,5) ambas están cargadas positivamente). Dichas proteínas se definen típicamente como proteínas inestables, ya que tienden a volverse insolubles con el tiempo. Este fenómeno resulta particularmente indeseable, ya que provoca turbidez, floculación y la posible formación de un depósito sólido, incluso después de que el vino ha sido embotellado, lo que hace que el producto ya no sea atractivo desde un punto de vista comercial, ya que es percibido negativamente por los consumidores. También se observa un fenómeno similar en otros tipos de bebidas, en particular las bebidas alcohólicas, tales como, por ejemplo, la cerveza.

La turbidez proteica se puede prevenir mediante pretratamientos que permiten obtener una bebida denominada "estabilizada" o "clarificada".

En el estado actual de la técnica, una de las soluciones más ampliamente utilizadas para prevenir el fenómeno de la turbidez proteica proporciona la utilización de bentonita. El término "bentonita" indica una gran cantidad de arcillas de origen volcánico, que consisten principalmente en montmorillonita, un mineral arcilloso perteneciente a la clase de los fililosilicatos. Desde un punto de vista químico, estas arcillas consisten en aluminosilicatos que comprenden óxidos de hierro y otros cationes, tales como Mg, Ca y Na, en cantidades variables. La bentonita es, además, un material altamente poroso, cargado negativamente a un pH típico del vino (entre 2,8 y 3,5), y posee una alta capacidad de absorción (la bentonita posee la capacidad de absorber cantidades considerables de agua, aumentando de esta manera su volumen).

Para poderse utilizar en la estabilización de bebidas, en particular vinos, la bentonita comercial debe someterse a un etapa de hidratación/expansión en agua y solo después puede dispersarse en un volumen apropiado de la bebida a tratar, en la que sedimentará en un período de tiempo variable.

Aunque un tratamiento de estabilización con bentonita demuestra ser eficaz para la eliminación de proteínas, la utilización de dicho material conlleva numerosas desventajas y efectos no deseados, el primero y principal, la pérdida de un gran volumen de la bebida que queda absorbido dentro de la bentonita.

Actualmente se estima que, solo en la industria del vino, se utilizan aproximadamente 600 toneladas/año de bentonita, en forma de bentonita natural sódica, cálcica o activada. Aunque el coste del material en sí no es excesivamente alto, el coste total del proceso de estabilización es decididamente más sustancial. Este aumento en costes está estrechamente relacionado con el hecho de que la bentonita, una vez dispersada en el volumen de vino a tratar, forma un sedimento no compacto que incorpora dentro de sí una cierta cantidad de vino (3 % a 6 %) que se pierde inevitablemente durante la eliminación del propio sedimento.

Una desventaja adicional relacionada con el uso de la bentonita es el hecho de que su uso afecta a los tiempos del procedimiento de estabilización, ya que se requieren de 3 a 6 días para la sedimentación completa y la maximización de su efecto absorbente. Además, se deben añadir 2 a 24 horas, según las características de la bentonita inicial, al tiempo necesario para el pretratamiento de hidratación del material. Esta etapa resulta ser excesivamente laboriosa, además de provocar un mayor alargamiento de los tiempos del procedimiento, y de hecho resulta desventajosa a nivel industrial desde un punto de vista económico.

Una desventaja adicional relacionada con el uso de la bentonita es su baja selectividad, como resultado de la cual, simultáneamente con la eliminación de proteínas inestables, también se eliminan aromas, coloides y otros componentes que son valiosos para la calidad general de la bebida misma, lo que causa un deterioro general del producto.

Finalmente, otro aspecto que está atrayendo cada vez más la atención de los operadores de la industria es la liberación

de cationes constitutivos de la bentonita (en particular, Na y Ca) y de otros metales que generalmente están presentes en ella como impurezas (por ejemplo, hierro, aluminio, cobre, zinc y manganeso).

La liberación de estos cationes en la bebida sujeta a estabilización demuestra ser particularmente desventajosa, especialmente en el caso del vino, ya que estos cationes pueden actuar como catalizadores para las reacciones redox que tienen lugar en el vino en presencia de pequeñas cantidades de oxígeno disuelto. Estas reacciones involucran diferentes sustancias, tales como, por ejemplo, aromas, pigmentos y taninos, y pueden modificar drásticamente las cualidades organolépticas del vino, con frecuencia obligando a un tratamiento adicional con materiales específicos (es decir, la adición de taninos, la adición de ftalato de calcio, el uso de ferrocianuro potásico y la utilización de ácido cítrico) con el fin de eliminar por lo menos en parte los cationes metálicos presentes en el vino.

Además, también resulta importante considerar que la eficacia en la eliminación de proteínas y la entidad y tipo de metales liberados están estrechamente relacionados con el lugar de extracción y el tipo de bentonita utilizada. Lo anterior resulta en la necesidad de que el operador someta a ensayo constantemente la calidad de cada lote de bentonita en términos de capacidad de desproteínización, entidad del sedimento y liberación de metales.

En los últimos años, se han desplegado numerosos recursos con el objetivo de encontrar una alternativa válida a la utilización de bentonita. Por ejemplo, Marangon et. al., Australian Journal of Grape and Wine Research 17, 28-35, 2011, han propuesto la utilización de gránulos de dióxido de zirconio mesoporoso como material alternativo a la bentonita. Aunque el dióxido de zirconio es capaz de eliminar proteínas y llevar los diferentes vinos considerados a una condición de estabilidad, la cantidad en gramos de material por litro necesaria para conseguir este resultado es más de veinte veces la de la bentonita, lo que hace que este material resulte esencialmente no competitivo en términos prácticos y económicos.

M. Sarmento et. al., Selection of low swelling materials for protein adsorption from white wines, International Journal of Food Science & Technology, 35, 41-47, 2000, por el contrario sometieron a ensayo diversas resinas de intercambio iónico y otros materiales disponibles en el mercado con un índice de hinchamiento bajo. Entre estos productos comerciales, Macro-prep® 50S, una resina acrílica activada con grupos sulfónicos; Spherosil® LS, basada en sílice microporosa funcionalizada con grupos sulfónicos, y Streamline™ SP, basada en agarosa y que análogamente contiene grupos sulfónicos, han demostrado ser los candidatos más prometedores para reemplazar la bentonita.

Aunque estos materiales sintéticos poseen una buena estabilidad y una buena eficacia en la eliminación de las proteínas del vino, su rendimiento no alcanza niveles que sean competitivos con los bentonitas sódicas.

Bibent et al., EUROPEAN JOURNAL OF INORGANIC CHEMISTRY, vol. 2011, no. 21, 1 de julio de 2011 (2011-07-01), páginas 3214 a 3225, dan a conocer la síntesis en un solo reactor y la caracterización de sílice SBA-15 mesoporosa funcionalizada que contiene diferentes grupos ácidos: -COOH, -PO(OH)<sub>2</sub> y SO<sub>3</sub>H.

Cotea et al., ANALYTICA CHIMICA ACTA, vol. 732, 18 de octubre de 2011 (2011-10-18), páginas 180 a 185, han descrito la sílice mesoporosa SBA-15 como nuevo adsorbente para polifenoles bioactivos en el vino tinto.

De esta manera, sigue existiendo la necesidad en el sector de proporcionar un material para la estabilización de bebidas, preferentemente vinos, que sea capaz de resolver, por lo menos con la misma eficacia, si no mayor, el problema de la estabilidad proteica de las bebidas, pero que también sea capaz, al mismo tiempo, de superar o por lo menos reducir los efectos secundarios típicos que se derivan de la utilización de bentonita. En particular, sigue existiendo una necesidad de proporcionar un material que sea "estable con el tiempo" (es decir, que siempre sea el mismo estructural y químicamente), listo para usar (es decir, un material que se pueda utilizar directamente sin una etapa previa de hidratación/hinchamiento), que dé lugar a una sedimentación rápida y compacta, no libere cationes metálicos (pero que incluso permita la eliminación simultánea de algunos metales que son "peligrosos" para la estabilidad de la bebida, posiblemente ya presentes de forma natural en la propia bebida) y permita la eliminación selectiva de proteínas sin absorber aromas y otras sustancias, de manera que no se alteren las cualidades organolépticas de la bebida misma.

La presente invención resuelve los problemas anteriormente descritos del estado de la técnica mediante la provisión de partículas de sílice mesoporosa que, gracias a la funcionalización específica de la sílice, su porosidad y su tamaño (macropartículas), permiten una estabilización eficaz de las bebidas, tanto en un procedimiento de flujo como a través de sedimentación, al eliminar las proteínas inestables contenidas en ellas, a la vez que garantizan la eliminación simultánea de metales.

Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención además muestran ser ventajosas desde el punto de vista de costes para el procedimiento de estabilización, ya que no solo permiten reducir los tiempos globales del procedimiento, sino que también se pueden recuperar y regenerar durante un determinado número de ciclos, demostrando de esta manera que son un material particularmente ventajoso tanto desde el punto de vista económico como medioambiental.

Descripción resumida de la invención

La presente invención se refiere a partículas de sílice mesoporosa funcionalizada con por lo menos un grupo que presenta una funcionalidad ácida y/o por lo menos un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica anclada a la sílice mediante un enlace silicio-oxígeno. La funcionalidad ácida es preferentemente un grupo alquilo portador de un grupo seleccionado de  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{COOH}$  y  $-\text{PO}(\text{OH})_2$ .

La funcionalidad hidrofóbica es preferentemente un grupo alquilo lineal saturado. La invención se refiere, además, a la utilización de partículas de sílice mesoporosa para eliminar proteínas de una bebida que presenta un pH inferior a 4, preferentemente de vino, cerveza, sidra y una combinación de los mismos.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un cartucho de filtración que comprende por lo menos un medio poroso por lo menos parcialmente recubierto, preferentemente totalmente recubierto, con las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la invención.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un dispositivo de filtración que comprende un cuerpo principal que define un conducto de entrada para la bebida a estabilizar, un conducto de salida para la bebida estabilizada y una pluralidad de canales que se extienden entre el conducto de entrada y el conducto de salida, en donde cada canal atraviesa por lo menos un cartucho de filtración.

#### Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra un diagrama de la funcionalización de la sílice mesoporosa con funciones ácidas e hidrofóbicas según una realización preferente de la invención, tal como se muestra en el Ejemplo 1 (los enlaces de sílice-oxígeno no se muestran en la figura).

La figura 2 muestra una micrografía de las partículas sintetizadas tal como se muestra en el Ejemplo 1, obtenida con un microscopio electrónico de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) y en la que se puede apreciar la estructura mesoporosa del SMF.

La figura 3 muestra la distribución de tamaño de las partículas obtenidas mediante análisis de difracción láser, tal como se describe en el Ejemplo 1.2.

La figura 4 muestra dos micrografías, a diferentes aumentos, de las partículas obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), tal como se describe en el Ejemplo 1.3.

La figura 5 muestra la entidad de sedimento producido por diferentes bentonitas comerciales (bentonita Ph, Pn y Pc) en comparación con el producido por las partículas obtenidas según el Ejemplo 1 (SMF) tras un tratamiento de estabilización de proteínas con un procedimiento estático en vino Chardonnay, tal como se describe en el Ejemplo 2.1 (sedimentación durante 24 horas).

La figura 6 muestra la variación en la inestabilidad de proteínas en un vino tratado tal como se describe en el Ejemplo 2.5 con diferentes concentraciones de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada con solo funcionalidades ácidas (II) y de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada tanto con funcionalidades ácidas como hidrofóbicas (I), sintetizadas según el Ejemplo 1.

La figura 7 muestra un gráfico que, tal como se describe en el Ejemplo 4, indica la concentración de ésteres fermentativos en diversos vinos tratados y no tratados, respectivamente, con bentonita comercial y partículas obtenidas según el Ejemplo 1.

La figura 8 muestra el análisis electroforético SDS-PAGE tal como se describe en el Ejemplo 5 y realizado en muestras no tratadas de vino Trebbiano (Tb1), muestras tratadas con bentonita PLC (Tb2) y con partículas según la presente invención obtenidas tal como se describe en el Ejemplo 1 (Tb3).

La figura 9 muestra la variación de la inestabilidad de proteínas en un vino tratado tal como se describe en el Ejemplo 7 con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada con solo funcionalidad ácida (II) y partículas de sílice mesoporosa funcionalizada con funcionalidad tanto ácida como hidrofóbica (I) según la presente invención.

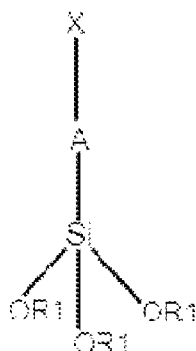
#### Descripción detallada de la invención

Para los fines de la presente invención, el término "macropartículas" se refiere a partículas que presentan un diámetro medio, medido con un microscopio electrónico de barrido (SEM), mayor que  $0,1\text{ }\mu\text{m}$ .

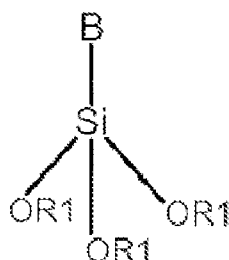
Para los fines de la presente invención, "uno o más compuestos proteicos" y "una o más proteínas" se utilizan como sinónimos perfectamente intercambiables.

La materia objeto de la presente invención se refiere a partículas de sílice mesoporosa funcionalizada en la superficie con:

- (i) por lo menos un grupo que presenta funcionalidad ácida, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (I):

**Fórmula (I)**

y  
(ii) por lo menos un grupo que presenta funcionalidad hidrofóbica, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (II):

**Fórmula (II)**

en donde por lo menos uno de los grupos R1 de las fórmulas (I) y (II) representa un enlace covalente entre el oxígeno de la fórmula (I) o (II) respectiva y el silicio de la sílice (enlace covalente silicio-oxígeno), en donde los otros dos grupos R1 de forma independiente son H o un enlace covalente silicio-oxígeno,

A es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> lineal o ramificado, saturado o insaturado, preferentemente C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, más preferentemente C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado de: éter (-O-), tioéter (-S-), amino (-NH-), ciano (-CN), carbonilo (-CO), epóxido, un halógeno, preferentemente -Cl o -Br, arilo, opcionalmente sustituido, y una combinación de los mismos.

X es una funcionalidad ácida seleccionada del grupo que consiste en: -SO<sub>3</sub>H, -COOH, -PO(OH)<sub>2</sub>, y una combinación de los mismos,

B es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub> lineal o ramificado, saturado o insaturado, preferentemente C<sub>4</sub>-C<sub>18</sub>, más preferentemente C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>, incluso más preferentemente C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>, opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado de éter (-O-), tioéter (-S-), amino (-NH-), ciano (-CN), carbonilo (-CO), epóxido, un halógeno, preferentemente -Cl o -Br, arilo, opcionalmente sustituido, y una combinación de los mismos.

Las partículas preferentemente presentan un diámetro comprendido entre 0,1 y 400 μm, más preferentemente entre 0,1 y 200 μm, y comprenden poros que presentan un diámetro mayor que 1 nm, con el componente comprendido entre 5 y 50 nm superior a 50 %, preferentemente superior a 60 %.

Según una realización particularmente preferente de la presente invención, por lo menos dos R1 de la fórmula (I) representan un enlace covalente de silicio-oxígeno, preferentemente los tres R1 de la fórmula (I) representan un enlace covalente de silicio-oxígeno.

Según una realización particularmente preferente de la presente invención, por lo menos dos R1 de la fórmula (II) representan un enlace covalente de silicio-oxígeno, preferentemente los tres R1 de la fórmula (II) representan un enlace covalente de silicio-oxígeno.

Preferentemente, las fórmulas (I) y (II) presentan por lo menos dos R1 que corresponden a un enlace covalente silicio-oxígeno, preferentemente todos los R1 de las fórmulas (I) y (II) corresponden a un enlace silicio-oxígeno.

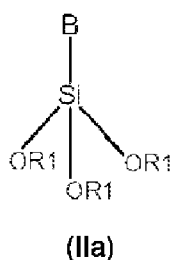
En una realización preferente, A es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal saturado, preferentemente un grupo alquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>

lineal saturado, más preferentemente es un grupo alquilo C<sub>3</sub> lineal saturado. Preferentemente, X es una funcionalidad ácida -SO<sub>3</sub>.

Preferentemente, B es un grupo alquilo C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub> lineal saturado, preferentemente un grupo alquilo C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub> lineal saturado, más preferentemente es un grupo alquilo C<sub>8</sub> lineal saturado.

En una realización preferente de la invención, las fórmulas (I) y (II) presentan ambas por lo menos dos R1 que corresponden a un enlace covalente de silicio-oxígeno, preferentemente todos los R1 de las fórmulas (I) y (II) corresponden a un enlace de silicio-oxígeno; A es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal saturado, preferentemente un grupo alquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> lineal saturado, más preferentemente un grupo alquilo C<sub>3</sub> lineal saturado; X es una funcionalidad ácida -SO<sub>3</sub>H; B es un grupo alquilo C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub> lineal saturado, preferentemente un grupo alquilo C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub> lineal saturado, más preferentemente es un grupo alquilo C<sub>8</sub> lineal saturado.

El grupo o grupos (II) que presentan funcionalidad hidrofóbica se obtienen de una reacción de anclaje, a la superficie de la sílice, de por lo menos un precursor de fórmula (IIa):



en la que B es tal como se ha indicado anteriormente y los grupos R1 se seleccionan independientemente de metilo, etilo y propilo. Preferentemente, los grupos R1 son idénticos entre sí y se seleccionan de metilo, etilo y propilo. Más preferentemente, los tres grupos R1 son metilo o etilo.

La reacción de anclaje del precursor de fórmula (IIa) a la superficie de la sílice se lleva a cabo a través de la formación de por lo menos un enlace silicio-oxígeno, preferentemente por lo menos dos enlaces silicio-oxígeno, más preferentemente por lo menos tres enlaces silicio-oxígeno. El enlace o enlaces de silicio-oxígeno se forma a través de la salida de por lo menos un grupo -OR1 del precursor (IIa) y la formación del alcohol R1-OH respectivo (alcohol etílico, metílico o propílico).

El precursor de la fórmula (IIa) se selecciona preferentemente de: (11-metoximetoxiundecil)trimetoxisilano (CAS 944720-78-9), (3-metoxipropil)trimetoxisilano (CAS 33580-59-5), (3,3-dimetilbutil)trimetoxisilano (CAS 157223-36-4), (N,N-octil-3-aminopropil)trimetoxisilano (CAS 89130-62-1), 11-cianoundeciltrimetoxisilano (CAS 253788-37-3), 11-cloroundeciltrimetoxisilano (CAS 17948-05-9), 8-bromoociltrimetoxisilano (CAS 82985-34-0), 7-octeniltrimetoxisilano (CAS 52217-57-9), 4-fenilbutiltrimetoxisilano (CAS 152958-91-3), (11-dietilfosfonatoundecil)trimetoxisilano (CAS 944721-48-6), (3-glicidoxipropil)trimetoxisilano (CAS 2530-83-8), 8-oxiran-2-ilociltriethoxisilano (CAS 35567-31-8), S-(octanoil)mercaptopropiltriethoxisilano (CAS 220727-26-4) o es:



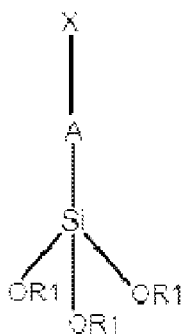
en donde los grupos R1 son tal como se han definido anteriormente.

Preferentemente, el precursor de fórmula (IIa) es:



en donde los grupos R1 se seleccionan independientemente de metilo, etilo y propilo. Los grupos R1 son preferentemente idénticos entre sí y se seleccionan de metilo, etilo y propilo. Más preferentemente, los tres grupos R1 son metilos.

El grupo o grupos (I) que presentan una funcionalidad ácida se obtienen de una reacción de anclaje, a la superficie de dicha sílice, de un precursor de fórmula (Ia):



**Formula (Ia)**

en la que A es tal como se ha indicado anteriormente;

X se selecciona de: -SH, -COOH, -PO(OH)<sub>2</sub>.

los grupos R1 se seleccionan de forma independiente de entre metilo, etilo y propilo. Preferentemente, los grupos R1 son idénticos entre sí y se seleccionan de metilo, etilo y propilo. Más preferentemente, los tres grupos R1 son metilo o etilo.

Preferentemente, por lo menos un precursor de funcionalidad ácida presenta la fórmula (Ia), en la que:

A es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal saturado, preferentemente un grupo alquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> lineal saturado, más preferentemente es un grupo alquilo C<sub>3</sub> lineal saturado,

X es -SH.

En una realización particularmente preferente, en el precursor de la fórmula (Ia), A es un grupo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> lineal saturado, más preferentemente es un grupo C<sub>3</sub> lineal saturado y X es -SH.

En el caso en el que X sea -SH en el precursor de la fórmula (Ia), tras la formación del enlace silicio-oxígeno entre el precursor y la sílice de las partículas, las partículas funcionalizadas se someten a la oxidación del grupo -SH a un grupo -SO<sub>3</sub>H, preferentemente mediante tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Según cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, el grupo o grupos con funcionalidad ácida y el grupo o grupos que presentan funcionalidad hidrofóbica se anclan a la superficie mesoporosa de la sílice, tanto en la superficie

externa de las partículas como dentro de los poros. Las partículas tal como se han descrito anteriormente preferentemente presentan un diámetro, medido mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM), comprendido entre 0,1 y 400  $\mu\text{m}$ , más preferentemente entre 0,1 y 200  $\mu\text{m}$ .

Según una realización, las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención se caracterizan por presentar una distribución de tamaño no homogénea de dichos poros, en la que entre 20 % y 30 % de los poros presentan un diámetro medio comprendido entre 1 y 5 nm, entre 50 % y 65 % de los poros presentan un diámetro medio comprendido entre 5 y 50 nm y entre 6 % y 8 % de los poros presentan un diámetro medio comprendido entre 50 y 100 nm y entre 3 % y 5 % de los poros presentan un diámetro mayor de 100 nm.

El método utilizado para el análisis de porosimetría es la TFD (teoría funcional de la densidad) con adsorción volumétrica de gas nitrógeno a 77 °K mediante el Micromeritics ASAP2020.

Según una realización, las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada de la presente invención comprenden de 86 % a 92 % en peso de sílice y de 4 % a 14 % en peso de funcionalidad ácida y de funcionalidad hidrofóbica tal como se ha descrito anteriormente.

Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención comprenden preferentemente de 86 % a 92 % en peso de sílice, de 2 % a 7 %, preferentemente de 4 % a 7 % en peso de funcionalidad ácida y de 2 % a 7 %, preferentemente de 4 % a 7 % en peso de funcionalidad hidrofóbica, tal como se ha descrito anteriormente.

Según una realización particularmente preferente de la invención, las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención comprenden 90 % en peso de sílice, 5 % en peso de funcionalidades ácidas y 5 % en peso de funcionalidades hidrofóbicas.

Según una realización todavía más preferente, las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención comprenden 90 % en peso de sílice, 7,5 % en peso de funcionalidades ácidas y 2,5 % en peso de funcionalidades hidrofóbicas.

Ventajosamente, dicha proporción entre la sílice y las funcionalidades ácidas e hidrofóbicas y, preferentemente, la relación específica entre las dos funcionalidades, demuestra ser óptima para la estabilización de bebidas.

Sin deseo de restringirse a ninguna teoría específica, el solicitante ha encontrado que el incremento del componente de funcionalidades ácidas disminuye la eficiencia de las partículas en la eliminación de las proteínas, mientras que si se aumenta el componente de funcionalidades hidrofóbicas, la dispersión de las partículas dentro de la bebida que se va a estabilizar demuestra ser más difícil.

Según una realización, las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención se caracterizan por poseer una superficie mayor de 500  $\text{m}^2/\text{g}$ , preferentemente comprendida entre 500 y 1.000  $\text{m}^2/\text{g}$ , más preferentemente comprendida entre 700 y 1.000  $\text{m}^2/\text{g}$ .

Sin deseo de restringirse a ninguna teoría específica, el solicitante ha encontrado que la funcionalización de la sílice mesoporosa según la presente invención con la combinación específica de funcionalidades ácidas e hidrofóbicas de la invención permite obtener partículas de sílice mesoporosa que poseen una carga electrostática negativa y, simultáneamente, un componente hidrofóbico. Estas características son óptimas para la interacción con las proteínas presentes en una bebida que se va a estabilizar, preferentemente en una bebida con un pH inferior a 4, más preferentemente en un vino. Estas proteínas, de hecho, presentan tanto un componente hidrofóbico como un componente que generalmente está cargado positivamente a los valores de pH de las bebidas que se van a estabilizar. Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada permiten de esta manera que estas proteínas resulten atraídas gracias a las fuerzas electrostáticas y atrapadas y mantenidas dentro de su estructura mesoporosa gracias a las interacciones hidrofóbicas. Además, sin deseo de restringirse a ninguna teoría específica, es posible afirmar que, además de la funcionalización anteriormente mencionada, la mesoporosidad característica y el tamaño específico de los poros desempeñan un papel importante en la eficacia de la estabilización, ya que permiten obtener una gran superficie en combinación con tamaños de poro que pueden acomodar ventajosamente las proteínas a eliminar (típicamente de un tamaño  $>5$  nm) dentro de ellos.

La materia objeto de la presente invención se refiere, además, a un procedimiento para obtener las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada tal como se ha descrito anteriormente. Dicho procedimiento comprende las siguientes etapas:

- a) preparación de una suspensión acuosa ácida de un molde polimérico, en donde dicha suspensión acuosa ácida opcionalmente comprende un fluoruro, preferentemente seleccionado en el grupo que consiste en:  $\text{NH}_4\text{F}$ ,  $\text{NaF}$  y  $\text{KF}$ , y la mezcla hasta la formación de moldes de micelas;
- b) adición de un ortosilicato de tetraalquilo como precursor de sílice, en donde dicho ortosilicato de tetraalquilo se selecciona preferentemente del grupo que consiste en: ortosilicato de tetraetilo (TEOS), ortosilicato de tetrametilo y ortosilicato de tetrapropilo, hasta la formación de partículas de sílice,

c) funcionalización de las partículas de sílice mediante la adición de:

(i) por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad ácida, en donde dicho precursor presenta la fórmula general (Ia) tal como se ha descrito anteriormente;

y

(ii) por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica, en donde dicho precursor presenta la fórmula general (IIa) tal como se ha descrito anteriormente,

d) eliminar el molde, preferentemente mediante por lo menos un lavado con un alcohol.

Dicho molde polimérico mencionado utilizado en la etapa a) permite ventajosamente proporcionar la morfología deseada a las partículas según la presente invención.

Dicho molde polimérico se selecciona preferentemente del grupo que consiste en: un copolímero de bloque, seleccionado preferentemente de: un copolímero de bloque que contiene óxido de polietileno y óxido de polipropileno; un copolímero tribloque PEG-PPG-PEG, un copolímero tribloque, más preferentemente un copolímero tribloque que contiene dos bloques de óxido de polietileno y un bloque de óxido de polipropileno o un bloque de óxido de polietileno y dos bloques de óxido de polipropileno.

Preferentemente, dicho molde es Pluronic®, más preferentemente Pluronic® P123.

Preferentemente, dicho precursor o precursores de un grupo que presenta una funcionalidad ácida (i) y dicho precursor o precursores de un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica (ii) son tal como se ha indicado anteriormente.

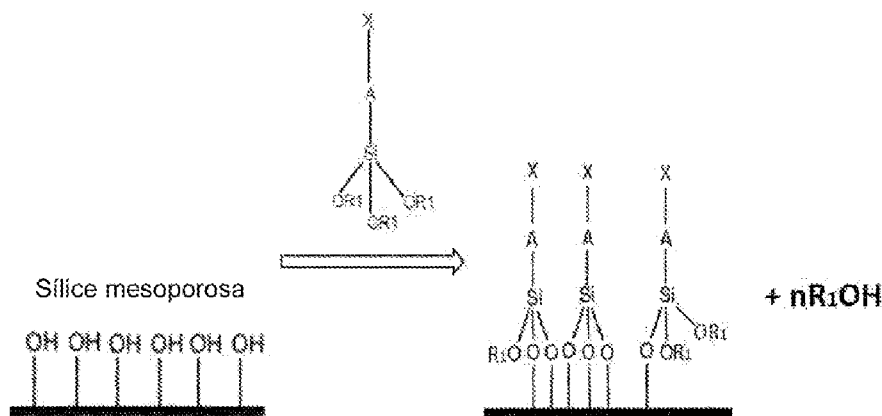
Según una realización particularmente preferente de la invención, la etapa a) se lleva a cabo en presencia de un flúor, preferentemente fluoruro amónico.

El uso de dicho flúor, preferentemente fluoruro amónico, en combinación con el uso de dicho molde, favorece la formación de la morfología deseada, en particular al favorecer la formación de la mesoporosidad característica tanto en términos de tamaño de poro como en términos de distribución de poro.

Como también se demuestra en la sección de ejemplos, el solicitante ha encontrado que el papel del flúor, y particularmente del fluoruro amónico ( $\text{NH}_4\text{F}$ ), en la síntesis de las partículas según la presente invención, aunque no es indispensable para la formación de las partículas en sí, no obstante demuestra presenta efectos ventajosos en el sentido de que permite una reducción en los tiempos de reacción en comparación con un procedimiento llevado a cabo en ausencia de dicho flúor; además, evita etapas adicionales o tratamientos posteriores y permite conseguir la estabilización completa de una bebida con una cantidad reducida de partículas (en otras palabras, permite obtener partículas que son más eficaces en la estabilización de bebidas).

En el caso en que el precursor del grupo que presenta funcionalidad ácida presente un grupo X que sea  $-\text{SH}$ , la etapa c) también comprende la adición de un agente oxidante, preferentemente  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

La etapa c), tal como se indicado anteriormente, es un etapa en la que tiene lugar la reacción de anclaje del precursor o precursores (Ia) y el precursor o precursores (IIa) debido a la salida de grupos alcóxido con la formación de  $\text{R}_1\text{OH}$  (con  $\text{R}_1$  tal como se ha indicado anteriormente) de acuerdo con el siguiente diagrama 1, que muestra el mecanismo de reacción a título de ejemplo únicamente para el precursor (Ia) y donde "n" es un número que depende del número de enlaces silicio-oxígeno que se forman entre el precursor (Ia) y la sílice:



Según una realización preferente, el procedimiento según la presente invención, después de la etapa c) y antes de la etapa d), comprende un etapa c') de permitir que los poros de las partículas de sílice formadas en la etapa b) se expandan a una temperatura constante superior a 70 °C.

El alcohol mencionado en la etapa d) se selecciona preferentemente del grupo que consiste en: metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol y una combinación de los mismos.

La materia objeto de la presente invención se refiere, además, al uso de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada para la eliminación de proteínas de una bebida que presenta un pH inferior a 4, en donde dichas partículas se funcionalizan con por lo menos un grupo que presenta una funcionalidad ácida de la fórmula (I) y/o por lo menos un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica de fórmula (II), tal como se ha indicado anteriormente; las partículas de sílice se funcionalizan preferentemente con ambas funcionalidades, ácida e hidrofóbica.

La funcionalización de las partículas se consigue a partir de la reacción de anclaje a la superficie de dicha sílice, de:

- (i) por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad ácida de fórmula (Ia) tal como se ha indicado anteriormente y/o
- (ii) por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica de fórmula (IIa) tal como se ha indicado anteriormente,

en donde el precursor (Ia) y/o (IIa) se une a la superficie de dicha sílice por medio de por lo menos un enlace silicio-oxígeno, preferentemente mediante por lo menos dos enlaces silicio-oxígeno, más preferentemente mediante por lo menos tres enlaces silicio-oxígeno.

Las partículas preferentemente presentan un diámetro comprendido entre 0,1 y 400 µm, más preferentemente entre 0,1 y 200 µm, y comprenden poros que presentan un diámetro mayor que 1 nm, con el componente comprendido entre 5 y 50 nm superior a 50 %, preferentemente superior a 60 %.

Según una realización particularmente preferente, la utilización de las partículas anteriormente mencionadas según la presente invención permite una eliminación parcial adicional simultánea de metales de dicha bebida, lo que resulta ventajosamente en un rendimiento superior de estabilización de la bebida, que estará libre de proteínas inestables y contendrá una menor concentración de cualesquiera metales que podrían catalizar reacciones redox indeseables en su interior.

Según una realización de la invención, dicha bebida presenta un pH inferior a 4, preferentemente comprendido entre 3 y 4.

Según una realización preferente de la invención, dicha bebida es una bebida alcohólica, que comprende o consiste preferentemente en: vino, cerveza, sidra y una combinación de los mismos.

Según una realización todavía más preferente, dicha bebida alcohólica es vino, preferentemente vino blanco y/o vino rosado.

Según una realización preferente de la invención, dichas partículas tal como se ha indicado anteriormente pueden utilizarse para la estabilización de una bebida sin necesidad de ser sometidas a pretratamientos, por ejemplo, hidratación.

Sin que se desee restringirse a ninguna teoría específica, el solicitante ha encontrado que la utilización de dichas partículas según la presente invención para la estabilización de dichas bebidas resulta ser particularmente ventajoso, ya que permite una estabilización por sedimentación (estabilización estática) que no solo resulta particularmente eficaz, sino también rápida, ya que dichas partículas, tal como ya se ha señalado, no requieren hidratación y, además, el proceso de sedimentación de las partículas según la presente invención resulta ser muy rápido con la formación de sedimentos compactos.

La materia objeto de la presente invención se refiere, además, a un cartucho de filtración que resulta adecuado para la estabilización de una bebida que presenta un pH inferior a 4 mediante la eliminación de proteínas y, preferentemente, de metales, que comprende por lo menos un medio poroso y una pluralidad de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada que recubren por lo menos parcialmente dicho medio o medios porosos, en donde dicho medio o medios porosos se caracterizan por presentar un tamaño de poro medio que es menor que el diámetro medio de dichas partículas, de manera que se impide que dichas partículas pasen a través de dicho medio o medios porosos.

Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada son partículas funcionalizadas con por lo menos un grupo que presenta una funcionalidad ácida de fórmula (I) y/o por lo menos un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica de fórmula (II), tal como se ha indicado previamente.

La funcionalización de las partículas se consigue a partir de la reacción de anclaje a la superficie de dicha sílice, de:

- (i) por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad ácida de fórmula (Ia) tal como se ha indicado anteriormente y/o
- (ii) por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica de fórmula (IIa) tal como se ha indicado anteriormente,

en donde el precursor (Ia) y/o (IIa) se une a la superficie de dicha sílice por medio de por lo menos un enlace silicio-oxígeno, preferentemente mediante por lo menos dos enlaces silicio-oxígeno, más preferentemente mediante por lo menos tres enlaces silicio-oxígeno.

Las partículas preferentemente presentan un diámetro comprendido entre 0,1 y 400  $\mu\text{m}$ , más preferentemente entre 0,1 y 200  $\mu\text{m}$ , y comprenden poros que presentan un diámetro mayor que 1 nm, con el componente comprendido entre 5 y 50 nm superior a 50 %, preferentemente superior a 60 %.

Dicho medio o medios porosos son preferentemente un medio poroso inerte, preferentemente es un septo poroso inerte.

La presente invención se refiere, además, a un dispositivo de filtración adecuado para la estabilización de una bebida con un pH inferior a 4 mediante la eliminación, por filtración, de proteínas y, preferentemente, de metales, en donde dicho dispositivo comprende un cuerpo principal que define un conducto de entrada para la bebida a estabilizar, un conducto de salida para la bebida estabilizada y una pluralidad de canales que se extienden entre dicho conducto de entrada y dicho conducto de salida; en donde cada canal pasa a través de por lo menos un cartucho de filtración tal como se ha indicado anteriormente.

Sin deseo de limitarse a ninguna teoría específica, el solicitante ha encontrado que el cartucho de filtración y el dispositivo de filtración según la presente invención demuestran ser particularmente ventajosos para los fines de estabilizar una bebida que presentan un pH inferior a 4, ya que permiten que la estabilización se lleva a cabo en un flujo continuo, reduciendo de esta manera adicionalmente los tiempos del procedimiento de estabilización, ya que no resulta necesario esperar a la sedimentación de las partículas.

La presente invención se refiere, además, a un método para estabilizar una bebida que presenta un pH inferior a 4 mediante la eliminación de proteínas y, preferentemente, de metales, en donde dicho método comprende las siguientes etapas:

- a) puesta en contacto de partículas de sílice mesoporosa con un volumen de una bebida, preferentemente añadiendo dichas partículas a dicho volumen de bebida bajo agitación,
- b) dejar que dichas partículas sedimenten y separación de la bebida estabilizada de esta manera,

en donde dichas partículas de sílice mesoporosa funcionalizada tal como se ha descrito anteriormente.

Dicho método preferentemente no comprende etapas adicionales de pretratamiento de las partículas (tales como, por ejemplo, un etapa de hidratación de las partículas) ni etapas de postratamiento para la bebida tratada.

Según una realización particularmente preferente del método según la presente invención, dicha etapa de poner en contacto las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada con un volumen de una bebida es una etapa a1) lleva a cabo de manera continua al pasar un flujo de una bebida a estabilizar a través de por lo menos un cartucho filtrante que comprende una pluralidad de dichas partículas tal como se descrito anteriormente o a través del dispositivo de filtración que comprende por lo menos un cartucho filtrante.

El método comprende preferentemente, además, una etapa b1), después de la etapa b), de recogida del volumen de dicha bebida estabilizada de esta manera.

Según una realización preferente de la invención, el método comprende una etapa c), después de la etapa b) y/o b1), de recuperación y regeneración de las partículas, que pueden utilizarse nuevamente en un nuevo ciclo de estabilización de bebidas.

## Ejemplos

*Ejemplo 1. Síntesis de partículas de sílice mesoporosa funcionalizadas según la presente invención.*

Se sintetizaron macropartículas de sílice mesoporosa funcionalizada con funcionalidades ácidas y funcionalidades hidrofóbicas.

Se disolvieron inicialmente 13 g de Pluronic P123 (PEG-PPG-PEG, Pluronic® P123) y 0,3 g de NH<sub>4</sub>F en 400 ml de HCl 2M.

La mezcla se dejó bajo agitación a temperatura ambiente hasta obtener la dispersión total del P123 y la formación de micelas dentro de la mezcla de reacción.

La mezcla de reacción se calentó a una temperatura de 40 °C y se añadieron 26 ml de TEOS (ortosilicato de tetraetilo) bajo agitación vigorosa.

Después de la formación de la sílice porosa, se añadieron en sucesión 2 ml de trietoxi(octil)silano, 1,2 ml de (3-mercaptopropil)trimetoxisilano y 10 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 %.

El producto obtenido se calentó a una temperatura de 100 °C durante 8 horas.

La sílice mesoporosa funcionalizada seguidamente se lavó bajo reflujo con metanol durante 24 horas hasta la eliminación completa del P123.

A continuación, se separó el metanol mediante filtración del SMF y el producto terminado se secó al aire a una temperatura superior a 60 °C.

#### *Ejemplo 1.1. Caracterización fisicoquímica*

Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada sintetizadas tal como se describe en el Ejemplo 1 se caracterizaron desde el punto de vista fisicoquímico.

Tal como puede apreciarse en la micrografía mostrada en la figura 2, las partículas de sílice obtenidas son partículas porosas.

El método utilizado para el análisis de porosimetría es la teoría funcional de la densidad (TFD) con adsorción volumétrica de gas nitrógeno a 77 °K utilizando un aparato Micromeritics ASAP2020.

La distribución del tamaños de poros es la siguiente:

|                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| poros con diámetro de 1 a 5 nm  | 26,6 % |
| poros con diámetro de 5 a 50 nm | 62,5 % |
| poros de 50 a 100 nm            | 6,7 %  |
| poros de >100 nm                | 4,2 %  |

Con este método, resultó posible además determinar la superficie total de las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada, tal como se muestra en el Ejemplo 1.

La superficie total es igual a 700 m<sup>2</sup>/g.

#### *Ejemplo 1.2. Análisis de distribución de tamaños*

Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada sintetizadas según el procedimiento de la presente invención y funcionalizadas con un 2,5 % de C<sub>8</sub> y un 7,5 % de SO<sub>3</sub>H, fueron analizadas mediante la técnica de difracción láser para caracterizar la distribución de tamaños de las partículas. La figura 3 muestra la distribución de tamaños obtenida.

Las partículas presentan un tamaño entre 0,5 y 86 µm.

#### *Ejemplo 1.3. Caracterización mediante microscopía electrónica (SEM)*

Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada sintetizadas tal como se describe en el Ejemplo 1 también se analizaron mediante microscopía electrónica (SEM) y las imágenes obtenidas se muestran en la figura 4.

#### *Ejemplo 2. Ensayo de estabilidad*

Se realizaron diversos ensayos analíticos con el propósito de evaluar la estabilidad de las proteínas de diferentes muestras de vino.

Los ensayos llevados a cabo se basan en el uso de factores que desestabilizan las proteínas presentes en el vino, tales como el calor y/o la adición de taninos, con el fin de verificar la reactividad de los compuestos proteicos presentes en el vino después del posible tratamiento. Tal como se ha mencionado anteriormente, para los fines de la presente invención, los compuestos proteicos genéricamente definidos como inestables se consideran, desde un punto de vista

químico, que pertenecen a los grupos de la quitinasa y la taumatina. Como resultado de sus características de carga e hidrofobicidad, estas moléculas tienden a volverse insolubles con el tiempo, desestabilizando de esta manera el vino en el que están presentes. Mediante la verificación de la variación en la turbidez bajo las condiciones de ensayo específicas descritas posteriormente, resulta posible obtener una estimación de la inestabilidad proteica presente en los vinos sometidos a ensayo.

Los ensayos de estabilidad se llevaron a cabo en muestras tratadas mediante un procedimiento de estabilización estática que prevé la adición del material (bentonita para los ensayos comparativos o partículas según la presente invención) a la masa de la bebida a tratar (diferentes variedades de vino en este caso específico), que después se deja bajo agitación con el fin de distribuir el material de manera uniforme y permitir una interacción óptima. El material agotado a continuación se deja sedimentar y la bebida estabilizada se filtra.

Tal como se puede observar en la figura 5, que muestra los sedimentos obtenidos mediante tratamiento del vino Chardonnay con las partículas obtenidas según el Ejemplo 1 y con diferentes bentonitas comerciales, la cantidad de sedimento que se obtiene (después de 24 horas) utilizando las partículas según la presente invención se reduce considerablemente.

#### *Ejemplo 2.1. Ensayo de calor en la variedad de vino Erbaluce 2018*

Se sometieron tres muestras diferentes de vino (Erbaluce 2018) a un ensayo de inestabilidad bajo calentamiento: una muestra de control, una muestra tratada con 60 g/hL de bentonita PLC y una muestra tratada con 60 g/hL de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención.

En los Ejemplos 2.1 a 2.5, el tratamiento con bentonita PLC o con las partículas de la presente invención se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento típicamente utilizado para la bentonita tradicional, es decir, mediante suspensión del material (bentonita PLC o partículas de la invención) en el vino y permitiendo que sedimente.

A continuación, se filtró cada muestra a través de una membrana de 0,45 µm y se midió la turbidez de la misma T1 (NTU 1). A continuación, cada muestra de vino se mantuvo en un baño de agua a una temperatura de 80 °C durante 30 minutos y se dejó enfriar. Tan pronto como la muestra alcanzó la temperatura ambiente, se llevó a cabo una segunda medición de turbidez T2 (NTU 2).

Una muestra de vino se considera estable si:  $\Delta NTU = (T2 - T1) < 2$ .

Los resultados obtenidos para las diversas muestras se muestra en la Tabla 1.

#### *Ejemplo 2.2. Ensayo de calor con tanino*

Las mismas muestras de vino que en el Ejemplo 2.1 también fueron sometidas a un ensayo de inestabilidad bajo calentamiento y en presencia de tanino. En este caso también, se filtró cada muestra con una membrana de 0,45 µm. Se añadió una solución de tanino gálico a una concentración de 100 g/l, en una cantidad de 2,5 % v/v, a cada muestra de vino previamente filtrada. A continuación, se midió la turbidez T1 (NTU 1). A continuación, cada muestra de vino se mantuvo en un baño de agua a una temperatura de 80 °C durante 30 minutos y se dejó enfriar. Tan pronto como la muestra alcanzó la temperatura ambiente, se llevó a cabo una segunda medición de turbidez T2 (NTU 2).

Una muestra de vino se considera estable si:  $\Delta NTU = (T2 - T1) < 10$ .

Los resultados obtenidos para las diversas muestras se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

| Muestra de vino Erbaluce 2018                                                                                         | Ensayo de calor.<br>Ejemplo 2.1 ( $\Delta NTU$ ) | Ensayo de calor con<br>tanino.<br>Ejemplo 2.2 ( $\Delta NTU$ ) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Control                                                                                                               | 3,7                                              | 68,6                                                           |
| Muestra tratada con 60 g/hl de bentonita PLC                                                                          | 1,5                                              | 10,5                                                           |
| Muestra tratada con 60 g/hl de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención - Ejemplo 1 | 0,4                                              | 1,4                                                            |

Basándose en los resultados, se puede observar que las partículas de sílice mesoporosa funcionalizadas según la presente invención son considerablemente más eficientes en la estabilización del vino en comparación con el uso de bentonita, siendo iguales las dosis utilizadas.

#### *Ejemplo 2.3. Ensayo de calor en la variedad de vino Trebbiano 2018*

De manera similar a lo realizado en el Ejemplo 2.1, se llevaron a cabo ensayos de inestabilidad bajo calentamiento utilizando, en lugar de la variedad Erbaluce 2018, una variedad de vino diferente: Trebbiano 2018.

Los resultados obtenidos para las diversas muestras se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

| Muestras de vino Trebbiano 2018                                                                                       | Ensayo de calor.<br>Ejemplo 2.3 ( $\Delta$ NTU) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Control                                                                                                               | 2,4                                             |
| Muestra tratada con 60 g/hl de bentonita PLC                                                                          | 1,9                                             |
| muestra tratada con 60 g/hl de partículas de sílice mesoporosa funcionalizadas según la presente invención. Ejemplo 1 | 0,9                                             |

Estos resultados confirman el comportamiento de la bentonita PLC y de las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención y demuestran que los rendimientos obtenidos son independientes de la variedad de vino tratado.

*Ejemplo 2.4. Ensayo de calor: comparación con sílices no funcionalizadas*

Se llevaron a cabo ensayos comparativos con diferentes muestras de la variedad de vino Sauvignon blanc 2018, tratadas con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención, con partículas de sílice mesoporosa sintetizadas de manera similar al procedimiento según la presente invención pero sin una etapa de funcionalización y con sílices comerciales porosas, igualmente no funcionalizadas (SBA 15 y MCM 41 - ACS Material LLC).

Los ensayos se llevaron a cabo de manera similar a lo que se describió en los Ejemplos 2.1 a 2.3, anteriormente.

Se muestran los resultados en la tabla a continuación.

Tabla 3

| Muestra de vino Sauvignon blanc 2018                                                                                  | Ensayo de calor ( $\Delta$ NTU) | Ensayo de calor con tanino ( $\Delta$ NTU) |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|
| Control                                                                                                               | 8,4                             | 168                                        |
| muestra tratada con 70 g/hl de partículas de sílice mesoporosa funcionalizadas según la presente invención. Ejemplo 1 | 1,6                             | 7,3                                        |
| Muestra tratada con 70 g/hl de partículas de sílice mesoporosa no funcionalizadas                                     | 7,2                             | 136                                        |
| Muestra tratada con 60 g/hl de sílice SBA 15                                                                          | 7,3                             | 148                                        |
| Muestra tratada con 600 g/hl de sílice SBA 15                                                                         | 7,2                             | 144                                        |
| Muestra tratada con 60 g/hl de sílice MCM 41                                                                          | 7,9                             | 154                                        |
| Muestra tratada con 600 g/hl de sílice MCM 41                                                                         | 7,5                             | 151                                        |

Los resultados obtenidos muestran que la funcionalización de la sílice según la presente invención es indispensable para conseguir la estabilización del vino. Las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención de hecho demuestran ser eficaces para estabilizar el vino, a diferencia de las sílices no funcionalizadas consideradas.

*Ejemplo 2.5. Ensayo de calor con tanino: comparación entre sílices mesoporosas funcionalizadas de diferentes maneras*

Se llevaron a cabo ensayos de estabilización en vino tratado con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada con funcionalidades ácidas únicamente (que comprenden el grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$ ) en una cantidad igual a 10 % en peso respecto al peso total de las partículas y con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada tanto con funcionalidades ácidas (que comprenden el grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$ ) en una cantidad igual a 5 % en peso respecto al peso total de las partículas como con funcionalidades hidrofóbicas (en una cantidad igual a 5 % en peso respecto al peso total de las partículas), sintetizadas de acuerdo con el Ejemplo 1. La estabilidad de la proteína se evaluó mediante el ensayo de calor con tanino tal como se ha descrito anteriormente. Los resultados obtenidos se muestran en el gráfico de la figura 6. Tal como se puede observar, las partículas de sílice que comprenden la funcionalización dual ácida e hidrofóbica resultan más eficaces en el intervalo de dosificación comprendido entre 0,6 y 1,8 g/l que las partículas de sílice funcionalizadas con funcionalidades ácidas solamente. La dosis realmente necesaria para la estabilización completa del vino ( $\Delta$ NTU  $\leq 10$ ) es de aproximadamente 0,8 g/l en el caso de partículas de sílice funcionalizada con funcionalidades ácidas y

hidrofóbicas, y de aproximadamente 1,2 g/l en el caso de partículas de sílice funcionalizadas solo con funcionalidades ácidas. Este efecto puede explicarse por la diferente afinidad de los dos materiales para las dos familias de proteínas presentes en el vino (taumatinas y quitinasas).

El presente ejemplo destaca que, por un lado, la funcionalización mixta con funcionalidades ácidas e hidrofóbicas lleva a una mejora considerable en la eficacia de eliminación de proteínas, mientras que, por otro lado, en cualquier caso es posible estabilizar el vino utilizando partículas de sílice mesoporosa que presenten únicamente una funcionalidad ácida. En el último caso, las partículas de sílice deben usarse en dosis más grandes.

#### *Ejemplo 2.6. Ensayo de calor y ensayo de calor con tanino mediante estabilización de flujo.*

Las partículas según la presente invención, sintetizadas en el Ejemplo 1, también fueron sometidas a ensayo en el caso del procedimiento de estabilización del flujo.

Las partículas según la presente invención de hecho pueden utilizarse también en procedimientos de estabilización continuos (es decir, de flujo), a diferencia de la bentonita, que no permite la formación de paneles de filtración permeables, lo que hace imposible llevar a cabo un procedimiento de filtración y estabilización en flujo continuo.

En la estabilización en flujo, el vino que contiene las proteínas inestables pasa a través de un cartucho filtrante tal como se describe en la presente solicitud de patente, que en este caso específico comprende las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según el Ejemplo 1 depositadas en un septo poroso inerte capaz de retener las partículas anteriormente indicadas. Al pasar a través del panel de filtración, el vino transfiere las proteínas a las partículas según la presente invención.

Los datos mostrados en la Tabla 4 indican que el procedimiento de estabilización de proteínas mediante filtración funciona bien. La estabilización en flujo presenta una eficacia ligeramente superior a la de la estabilización con la técnica tradicional (similar a la técnica de bentonita).

Tabla 4

| Muestra                                                                                        | Ensayo de calor ( $\Delta$ NTU) | Ensayo de calor con tanino ( $\Delta$ NTU) |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|
| Control de vino Gewurztraminer                                                                 | 2,4                             | 217                                        |
| Gewurztraminer en tratamiento por lotes con 60 g/hl de partículas de sílice. Ejemplo 1         | 1,8                             | 12                                         |
| Gewurztraminer en tratamiento de flujo continuo con 60 g/hl de partículas de sílice. Ejemplo 1 | 1,3                             | 8,3                                        |

#### *Ejemplo 3. Ensayo de eliminación de metal*

Las partículas obtenidas según el Ejemplo 1 fueron sometidas a ensayo para evaluar su capacidad de eliminar diferentes tipos de metales presentes en un vino. Además, los resultados obtenidos se compararon con los rendimientos que se pueden obtener con un bentonita comercial.

Las Tablas 5 y 6 muestran los principales cationes que deben considerarse después de un tratamiento de vino con bentonita. Desde un punto de vista químico, de hecho, la bentonita se clasifica como un aluminosilicato rico en iones de calcio, sodio y magnesio y en óxidos de hierro.

Tabla 5: Vino Chardonnay 2019, tratado con 25 g/hl de cada tipo de material

| ppm de metal | Vino Chardonnay sin modificación (SM) | Bentonita | Partículas SMF Ejemplo 1 | % de bentonita vs SM | % SMF vs SM | % SMF vs Bentonita |
|--------------|---------------------------------------|-----------|--------------------------|----------------------|-------------|--------------------|
| Al           | 0,41                                  | 0,50      | 0,41                     | 21,95                | -1,22       | -23,20             |
| Fe           | 1,69                                  | 1,87      | 1,66                     | 10,98                | -1,48       | -12,46             |
| Na           | 14,0                                  | 19,6      | 12,2                     | 40,0                 | -12,9       | -52,9              |
| Mg           | 125                                   | 126       | 124                      | 0,8                  | -0,8        | -1,60              |

Tabla 6: Vino Pinot grigio 2019, tratado con 150 g/hl de cada tipo de material

| ppm de metal | Vino Pinot grigio como tal (AS) | Bentonita | Ejemplo 1 de partículas SMF | % de bentonita vs SM | % SMF vs SM | % SMF vs Bentonita |
|--------------|---------------------------------|-----------|-----------------------------|----------------------|-------------|--------------------|
| Al           | 0,23                            | 0,48      | 0,20                        | 15,85                | -51,22      | -67,07             |
| Fe           | 0,38                            | 1,00      | 0,38                        | 166,67               | 1,33        | -165,33            |

(continuación)

| ppm de metal | Vino Pinot grigio como tal (AS) | Bentonita | Ejemplo 1 de partículas SMF | % de bentonita vs SM | % SMF vs SM | % SMF vs Bentonita |
|--------------|---------------------------------|-----------|-----------------------------|----------------------|-------------|--------------------|
| Na           | 12,0                            | 28,0      | 11,0                        | 133,33               | -8,33       | -141,67            |
| Mg           | 116,00                          | 116,70    | 114,00                      | 0,60                 | -1,72       | -2,33              |

Tal como se puede observar en los resultados mostrados anteriormente, el vino tratado con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención (según el Ejemplo 1) presenta un contenido de metales, de media, más bajo que el vino tratado con bentonita y, en el caso de algunos cationes, un contenido incluso más bajo que el vino sin tratar.

#### *Ejemplo 4. Ensayo sensorial*

Las partículas obtenidas según el Ejemplo 1 también se sometieron a ensayo para evaluar su impacto sensorial, lo que involucró el análisis de la concentración de ésteres fermentativos (figura 7) en diferentes vinos no tratados y vinos tratados respectivamente con bentonita comercial o con las partículas según la presente invención.

Tal como se puede observar en el gráfico de la figura 7, una mayor concentración de compuestos presentes es indicativa de una eliminación más ventajosa y baja por parte de las partículas según la presente invención cuando se utilizan en el tratamiento de vinos.

#### *Ejemplo 5. Análisis electroforético*

Se analizaron tres muestras diferentes de vino (Trebiano 2018) mediante análisis electroforético de SDS-PAGE: una muestra de control (Tb1), una muestra tratada con 60 g/hl de bentonita PLC (Tb2) y una muestra tratada con 60 g/hl de partículas de sílice mesoporosa funcionalizada según la presente invención obtenida de acuerdo con el Ejemplo 1 (Tb3).

Esta técnica se utilizó para confirmar, de manera inequívoca, si estaban presentes o no proteínas inestables en el vino. El análisis electroforético consistió en exponer proteínas a un campo eléctrico y hacer pasar las moléculas a través de un gel de poliacrilamida. Mediante este procedimiento resulta posible diferenciar los diversos compuestos de proteínas en grupos, según su masa molecular. Debido a que las dos familias de proteínas inestables que se encuentran más comúnmente en los vinos (quitinasas y taumantinas) normalmente presentan una masa molecular comprendida entre 20.000 y 30.000 daltons, es posible, tras la coloración en ese intervalo, determinar la presencia o ausencia de tales proteínas.

Los resultados obtenidos para cada una de las muestras se muestran en la fig.8, en la que se puede observar claramente la banda teñida en el caso de la muestra de control, mientras que en el caso de las muestras tratadas con bentonita y las partículas de la presente invención, no se observa banda alguna, demostrando de esta manera la eficacia estabilizadora de las partículas según la presente invención.

#### *Ejemplo 6. Efecto de $\text{NH}_4\text{F}$ sobre la síntesis y el rendimiento de las partículas de sílice mesoporosa funcionalizada.*

Se llevó a cabo un experimento comparativo para evaluar el papel de  $\text{NH}_4\text{F}$  en la síntesis descrita en el Ejemplo 1 con el fin de verificar su efecto sobre la capacidad del producto final de estabilizar el vino.

Se sintetizaron partículas mediante repetición de las etapas del Ejemplo 1, aunque con una mezcla de reacción sin fluoruro amónico.

El producto obtenido era capaz de estabilizar completamente el vino, pero con aproximadamente el doble de la cantidad en comparación con el producto obtenido utilizando  $\text{NH}_4\text{F}$  (1,6-1,7 g/l frente a 0,8 g/l).

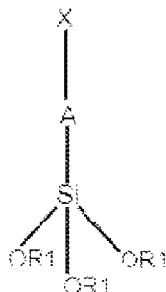
#### *Ejemplo 7. Experimento de comparación entre sílices mesoporosas funcionalizadas de manera diferente*

Se llevaron a cabo ensayos de estabilización en vino tratado con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada únicamente con funciones ácidas (que comprenden el grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$ ) en una cantidad igual a 10 % en peso del peso total de las partículas y con partículas de sílice mesoporosa funcionalizada tanto con funcionalidades ácidas (que comprenden el grupo  $-\text{SO}_3\text{H}$ ) en una cantidad igual a 7,5 % en peso del peso total de las partículas y con funcionalidades hidrofóbicas (que comprenden el grupo  $\text{C}_8$  en una cantidad de 2,5 % en peso del peso total de las partículas), sintetizadas de acuerdo con el procedimiento de la presente invención. El vino utilizado es un vino "Manzoni" de la cosecha de 2021 con inestabilidad proteica media-alta (proteínas quitinasa y taumatina). En el gráfico mostrado en la figura 9, es posible ver claramente cómo la sílice con funcionalización mixta según la presente invención presenta una eficiencia significativamente mayor en la eliminación de proteínas que la sílice funcionalizada solo con funciones ácidas.

## REIVINDICACIONES

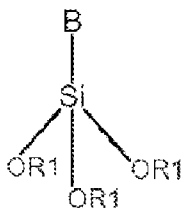
1. Partículas de sílice mesoporosas, en las que dicha sílice está funcionalizada sobre la superficie con:

(i) por lo menos un grupo que presenta funcionalidad ácida, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (I):



**Fórmula (I)**

y  
(ii) por lo menos un grupo que presenta funcionalidad hidrofóbica, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (II):



**Fórmula (II)**

en donde por lo menos uno de los grupos R1 de las fórmulas (I) y (II) representa un enlace covalente entre el oxígeno de la fórmula (I) o (II) respectiva y el silicio de la sílice (enlace covalente silicio-oxígeno), en donde los otros dos grupos R1 son de forma independiente H o un enlace covalente silicio-oxígeno,

A es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> lineal o ramificado, saturado o insaturado, preferentemente C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, más preferentemente C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado de: éter (-O-), tioéter (-S-), amino (-NH-), ciano (-CN), carbonilo (-CO), epóxido, un halógeno, preferentemente -Cl o -Br, arilo, opcionalmente sustituido, y una combinación de los mismos,

X es una funcionalidad ácida seleccionada del grupo que consiste en: -SO<sub>3</sub>H, -COOH, -PO(OH)<sub>2</sub>, y una combinación de los mismos,

B es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub> lineal o ramificado, saturado o insaturado, preferentemente C<sub>4</sub>-C<sub>18</sub>, más preferentemente C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>, todavía más preferentemente C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>, opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado de: éter (-O-), tioéter (-S-), amino (-NH-), ciano (-CN), carbonilo (-CO), epóxido, un halógeno, preferentemente -Cl o -Br, arilo, opcionalmente sustituido, y una combinación de los mismos,

en donde dichas partículas presentan un diámetro comprendido entre 0,1 y 400 μm, más preferentemente entre 0,1 y 200 μm y comprenden poros que presentan un diámetro mayor de 1 nm, con el componente comprendido entre 5 y 50 nm superior al 50 %, preferentemente superior al 60 %.

2. Partículas de sílice mesoporosa según la reivindicación 1, caracterizadas porque presentan una distribución de tamaño no homogénea de dichos poros, en donde 20 % a 30 % de los poros presentan un diámetro medio comprendido entre 1 y 5 nm, 50 % a 65 % de los poros presentan un diámetro medio comprendido entre 5 y 50 nm y 6 % a 8 % de los poros presentan un diámetro medio comprendido entre 50 y 100 nm y 3 % a 5 % de los poros presentan un diámetro mayor de 100 nm.

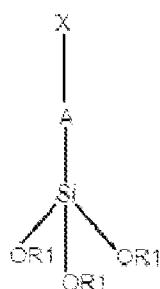
3. Partículas de sílice mesoporosa según la reivindicación 1 o 2, que comprenden 86 % a 92 % en peso de sílice, 4 % a 14 % en peso de por lo menos un grupo que presenta funcionalidad ácida y dicho grupo o grupos que presentan funcionalidad hidrofóbica, preferentemente 2 % a 7 % en peso de dicho grupo o grupos que presentan funcionalidad ácida y 2 % a 7 % en peso de por lo menos un grupo que presenta funcionalidad hidrofóbica.

4. Partículas de sílice mesoporosa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por una superficie mayor de 500 m<sup>2</sup>/g, preferentemente comprendida entre 500 y 1.000 m<sup>2</sup>/g.

5. Procedimiento para preparar partículas de sílice mesoporosa según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende los etapas siguientes:

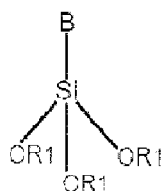
- preparación de una suspensión acuosa ácida de un molde polimérico, en donde dicha suspensión acuosa ácida opcionalmente comprende un flúor, y mezcla hasta la formación de moldes micelares,
- adición de un ortosilicato de tetraalquilo como precursor de sílice, en donde dicho ortosilicato de tetraalquilo preferentemente seleccionado del grupo que consiste en: ortosilicato de tetraetilo (TEOS), ortosilicato de tetrametilo y ortosilicato de tetrapropilo, hasta la formación de partículas de sílice,
- funcionalización de las partículas de sílice mediante la adición de:

- por lo menos un grupo que presenta funcionalidad ácida, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (Ia):



**Fórmula (Ia)**

- por lo menos un precursor de un grupo que presenta una funcionalidad hidrofóbica, en donde dicho precursor presenta la fórmula general (IIa):



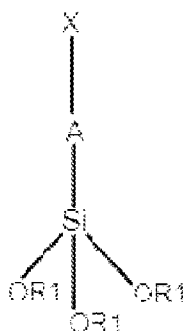
**(IIa)**

en la que A y B son tal como se indica en la reivindicación 1, X se selecciona de: -SH, -COOH, -PO(OH)<sub>2</sub>, los grupos R1 se seleccionan independientemente de metilo, etilo y propilo; los grupos R1 son preferentemente idénticos entre sí y se seleccionan de metilo, etilo y propilo; más preferentemente, los tres grupos R1 son metilo o etilo,

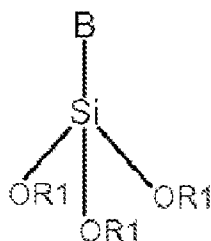
- eliminación del molde, preferentemente mediante por lo menos un lavado con alcohol.

6. Utilización de partículas de sílice mesoporosa para la eliminación de proteínas de una bebida con un pH inferior a 4, en la que dicha sílice se funcionaliza con:

- por lo menos un grupo que presenta funcionalidad ácida, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (I):

**Fórmula (I)**

y  
(ii) por lo menos un grupo que presenta funcionalidad hidrofóbica, en donde dicho grupo presenta la fórmula general (II):

**Fórmula (II)**

en donde por lo menos uno de los grupos R1 de las fórmulas (I) y (II) representa un enlace covalente entre el oxígeno de la fórmula (I) o (II) respectiva y el silicio de la sílice (enlace covalente silicio-oxígeno), en donde los otros dos grupos R1 son de forma independiente H o un enlace covalente silicio-oxígeno,

A es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> lineal o ramificado, saturado o insaturado, preferentemente C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, más preferentemente C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado de: éter (-O-), tioéter (-S-), amino (-NH-), ciano (-CN), carbonilo (-CO), epóxido, un halógeno, preferentemente -Cl o -Br, arilo, opcionalmente sustituido, y una combinación de los mismos,

X es una funcionalidad ácida seleccionada del grupo que consiste en: -SO<sub>3</sub>H, -COOH, -PO(OH)<sub>2</sub>, y una combinación de los mismos,

B es un grupo alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub> lineal o ramificado, saturado o insaturado, preferentemente C<sub>4</sub>-C<sub>18</sub>, más preferentemente C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>, todavía más preferentemente C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>, opcionalmente sustituido con por lo menos un grupo seleccionado de: éter (-O-), tioéter (-S-), amino (-NH-), ciano (-CN), carbonilo (-CO), epóxido, un halógeno, preferentemente -Cl o -Br, arilo, opcionalmente sustituido, y una combinación de los mismos,

en donde dichas partículas presentan un diámetro comprendido entre 0,1 y 400 μm y comprenden poros que presentan un diámetro mayor de 1 nm, con el componente comprendido entre 5 y 50 nm superior al 50 %, preferentemente superior al 60 %.

7. Utilización según la reivindicación 6 para la eliminación simultánea adicional de metales de dicha bebida.
8. Utilización según la reivindicación 6 o 7, en la que dicha bebida comprende o consiste en: vino, cerveza, sidra y una combinación de los mismos.
9. Cartucho de filtro adecuado para la estabilización de una bebida que presenta un pH inferior a 4 a través de la eliminación de proteínas y, preferentemente, de metales, que comprende por lo menos un medio poroso y una pluralidad de partículas de sílice mesoporosa que recubren por lo menos parcialmente dicho medio poroso, en donde dicho medio poroso se caracteriza por presentar un tamaño de poro medio que es menor que el diámetro medio de dichas partículas, de manera que se evite que dichas partículas pasen a través de dicho medio poroso; en donde dichas partículas de sílice mesoporosa son tal como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

- 5 10. Dispositivo de filtración adecuado para la estabilización de una bebida que presenta un pH inferior a 4 mediante la eliminación, por filtración, de proteínas y, preferentemente, de metales, en donde dicho dispositivo que comprende un cuerpo principal que define un conducto de entrada para la bebida a estabilizar, un conducto de salida para la bebida estabilizada y una pluralidad de canales que se extienden entre dicho conducto de entrada y dicho conducto de salida, en donde cada canal pasa a través de por lo menos un cartucho de filtración según la reivindicación 9.
- 10 11. Método para estabilizar una bebida que presenta un pH inferior a 4, mediante la eliminación de proteínas y, preferentemente, de metales, en donde dicho método comprende los etapas siguientes:
  - 15 a) puesta en contacto de partículas de sílice mesoporosa con un volumen de una bebida, preferentemente añadiendo dichas partículas a dicho volumen de bebida bajo agitación,
  - b) dejar que dichas partículas sedimenten y separación del volumen de dicha bebida estabilizada de esta manera,en donde dichas partículas de sílice mesoporosa son tal como se definen en la reivindicación 1.
- 20 12. Método según la reivindicación 11, en el que dicho etapa de puesta en contacto de las partículas de sílice mesoporosa con un volumen de una bebida es una etapa a1) realizado de forma continua haciendo pasar un flujo de una bebida a estabilizar a través de por lo menos un cartucho de filtrado según la reivindicación 9, que comprende una pluralidad de dichas partículas o a través del dispositivo de filtración según la reivindicación 10, que comprende por lo menos un cartucho de filtración según la reivindicación 9, en donde dicho método comprende una etapa b1) de recogida del volumen de dicha bebida estabilizada de esta manera.
- 25

FIG. 1

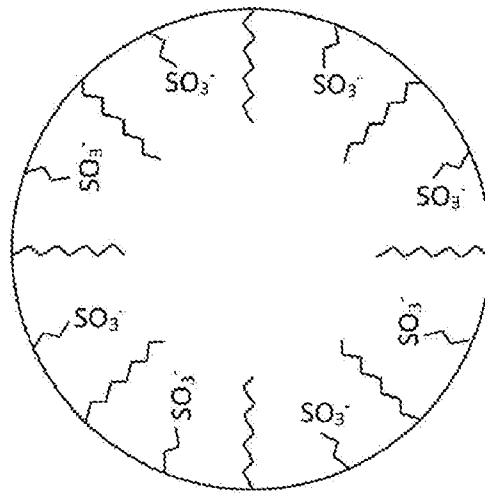


FIG. 2

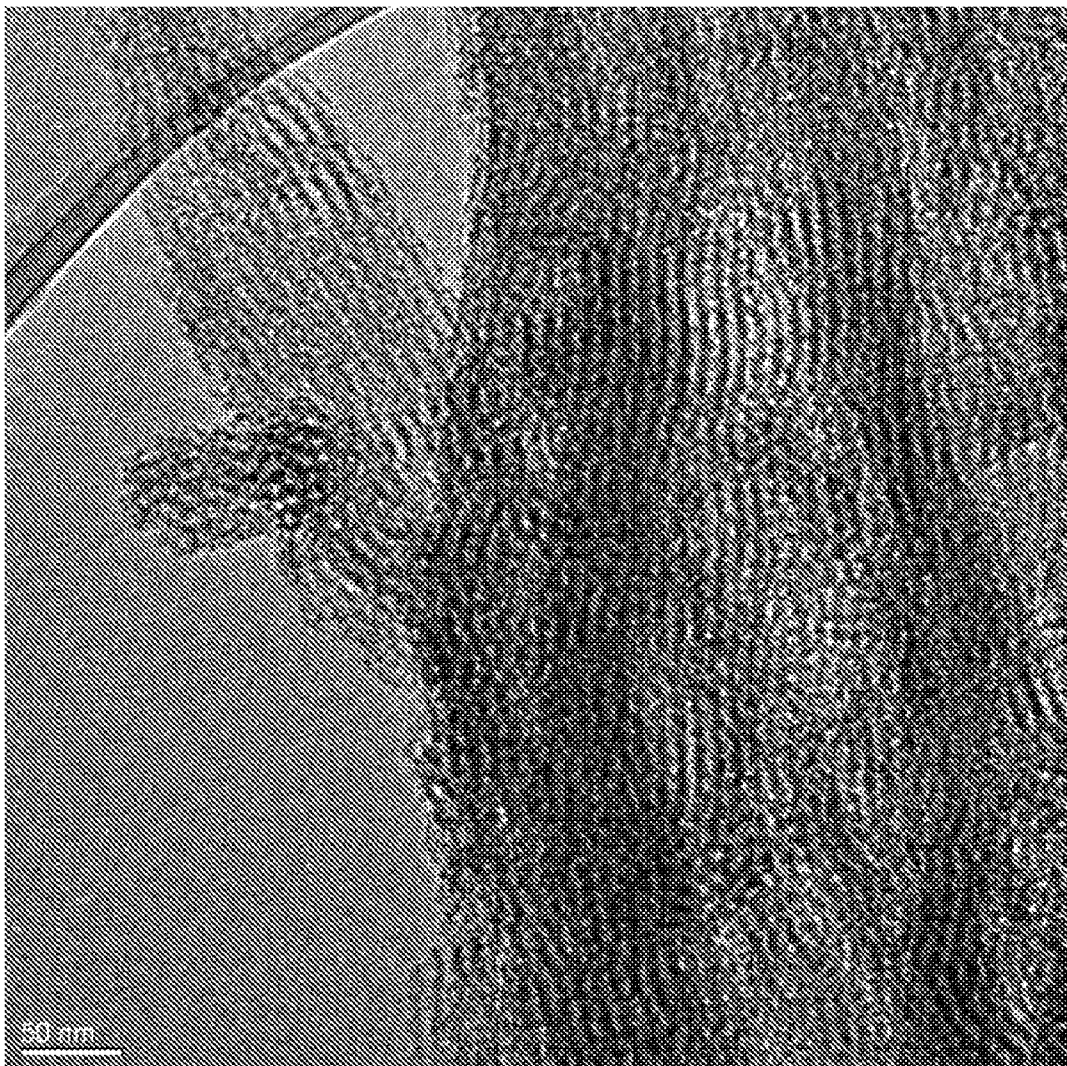


FIG.3

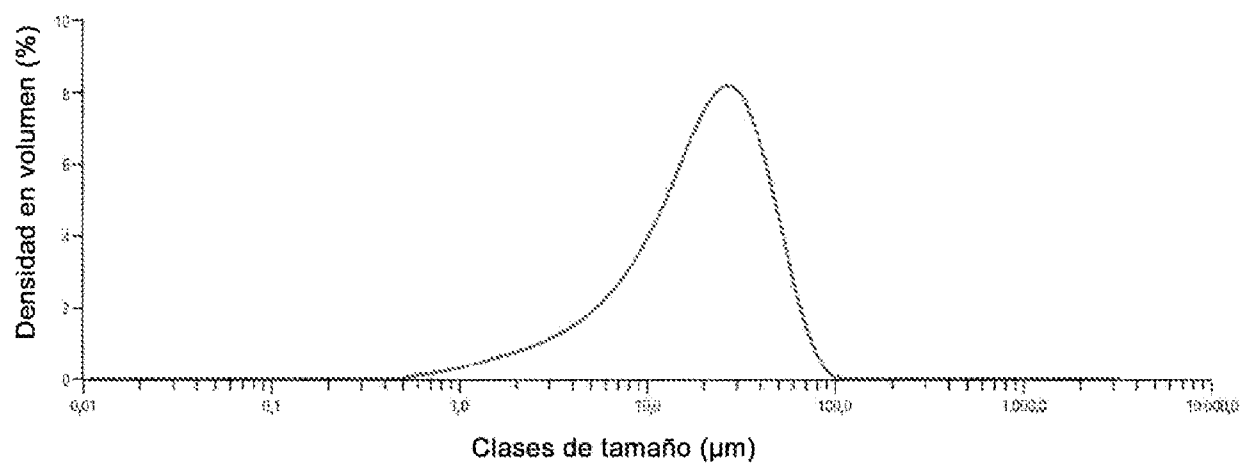


FIG.4

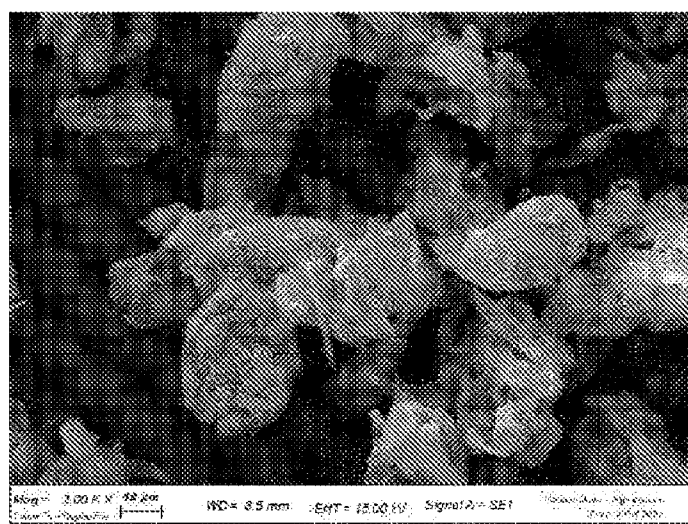
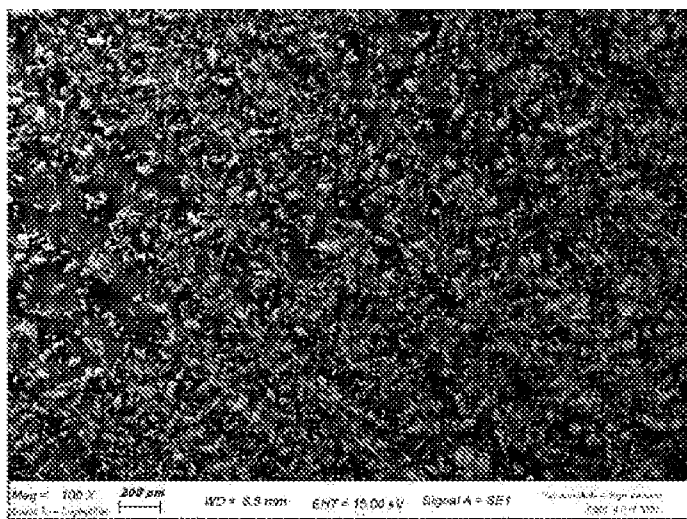


FIG.5

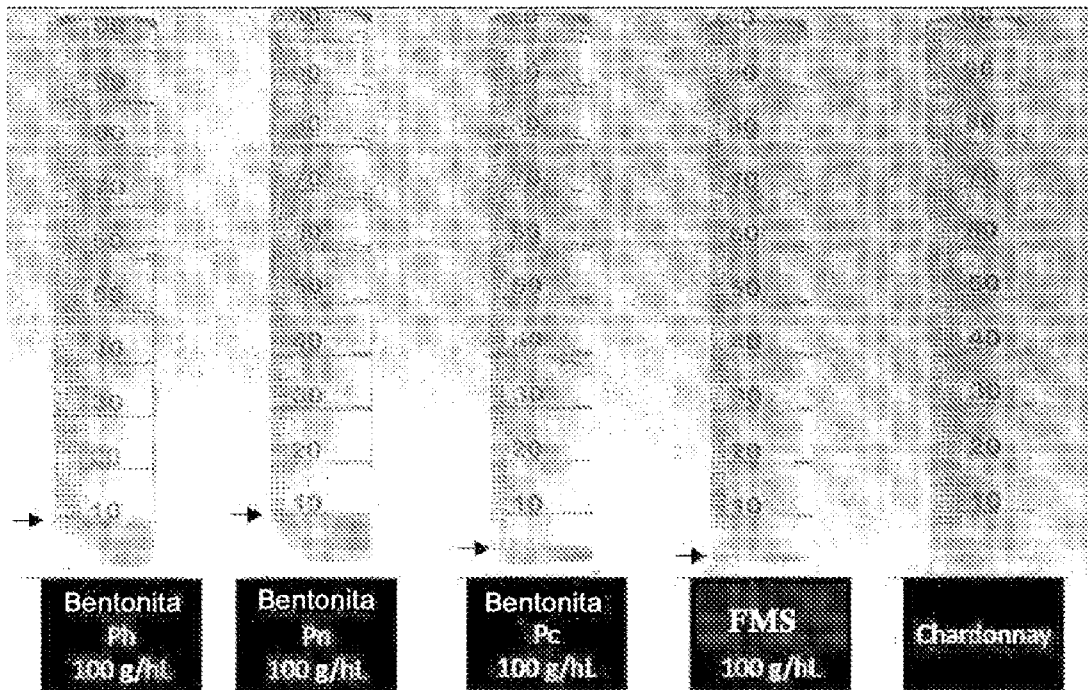


FIG.6

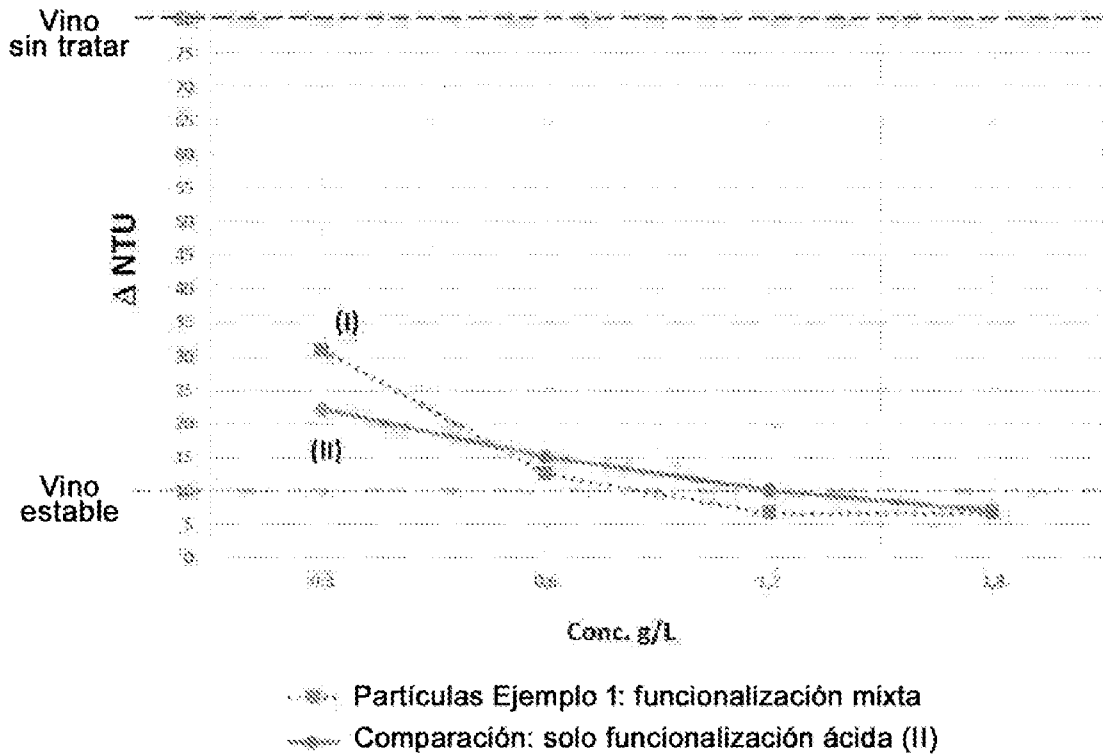


FIG.7

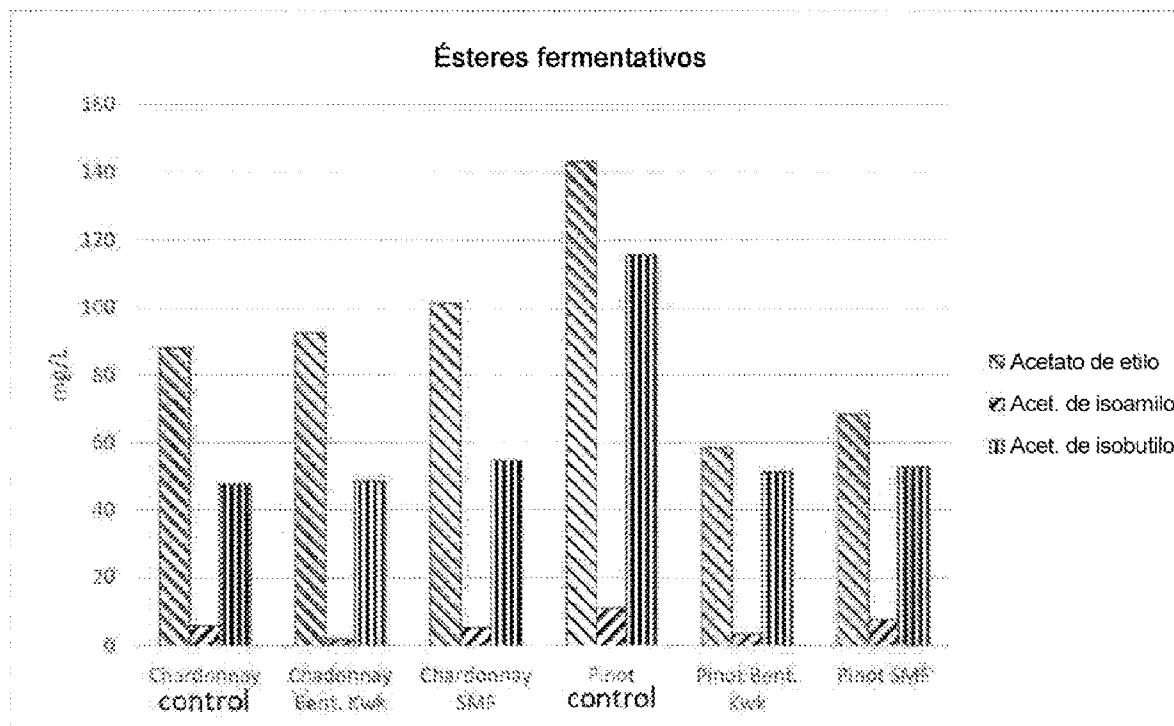


FIG.8

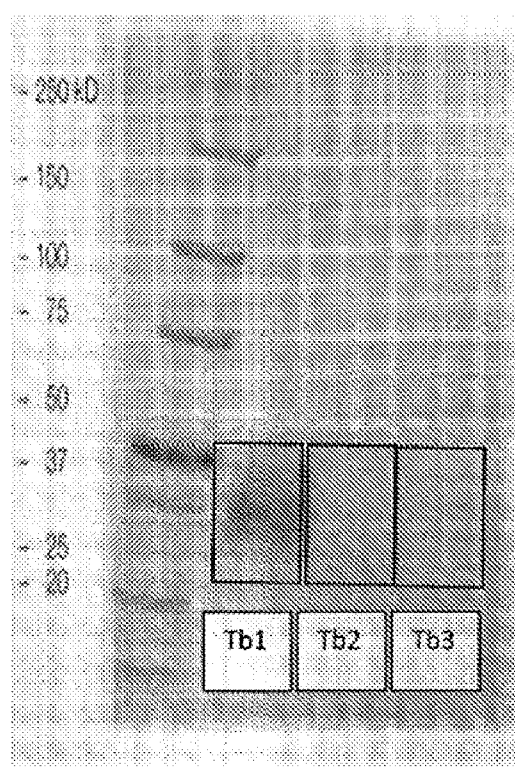


FIG. 9

