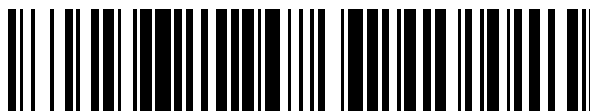


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 653**

51 Int. Cl.:

A23L 1/30 (2006.01)

A23L 1/03 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

C12P 19/00 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08305671 .3**

96 Fecha de presentación: **10.10.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2048238**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.04.2009**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de un extracto vegetal**

30 Prioridad:
12.10.2007 FR 0758257

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.06.2012

73 Titular/es:
31 NATURE
Les Tiolans
03800 Saint Bonnet de Rochefort, FR

72 Inventor/es:
Dubourdeaux, Michel

74 Agente/Representante:
Isern Jara, Jorge

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).

ES 2 383 653 T3

DESCRIPCION

Procedimiento para la preparación de un extracto vegetal.

- 5 La invención tiene por objeto un nuevo procedimiento para la preparación de un extracto vegetal.

Las materias primas vegetales utilizables en la industria se obtienen por extracción a partir de un material vegetal dado (parte de la planta o la planta entera). Se conocen numerosos procedimientos de extracción como por ejemplo en especial la maceración en presencia de un disolvente, la desecación, la molienda, etc... Los extractos obtenidos se presentan, bien sea en forma líquida (tinturas, extractos fluidos, o derivados), o bien en forma sólida (por ejemplo extractos secos secados sobre soportes tipo maltodextrinas). Se puede considerar hoy en día que el conjunto de las materias primas vegetales que entran en la composición de los complementos alimenticios, cosméticos o farmacéuticos, se derivan de las modalidades de transformación citadas más arriba. Estas diferentes técnicas requieren principalmente la utilización de disolventes específicos y la aplicación de temperaturas elevadas para garantizar una concentración de las sustancias activas.

- 15 Los documentos FR 2 443 266 y FR 2 443 265 describen respectivamente un procedimiento de fabricación de un extracto de ginseng y de manzanilla, que consiste en hacer reaccionar la materia prima con una solución enzimática. La materia vegetal se pone en contacto con la solución enzimática, a la presión atmosférica, durante 2 a 4 horas. A continuación se añade a la mezcla un disolvente del tipo propilenglicol, y a continuación se pone a macerar durante 1 semana.

- 20 El documento JP 60109526 describe un procedimiento de fabricación de un extracto vegetal que consiste en hacer reaccionar un polvo de planta congelado, con una solución enzimática, a la presión atmosférica.

El documento JP 2291243 describe un procedimiento de fabricación de una solución que contiene un extracto de patata azucarado, que consiste en poner en contacto la patata con una solución enzimática, a la presión atmosférica.

- 25 El documento JP 1300848 describe una bebida a base de té. El procedimiento de extracción consiste en poner en contacto las hojas de té con una solución enzimática, en atmósfera de gas inerte. No se da ninguna información sobre la presión aplicada. Sin embargo, debido a la naturaleza del producto terminado (bebida), es probable que el procedimiento se efectúe a presión atmosférica.

- 30 El documento JP 61289853 describe un procedimiento de fabricación de un extracto de ginseng obtenido por digestión enzimática de plantas recién recogidas, a presión atmosférica. Para favorecer la extracción, la planta se pone a hervir durante 10 minutos antes del tratamiento enzimático.

- 35 El documento EP 0425391 describe un método de extracción de plantas mediante moliendas sucesivas de plantas enteras, a continuación fracciones de las plantas a una temperatura comprendida entre -40 y -100 °C. Las fracciones se tamizan a continuación, seguidamente se prensan mecánicamente a una temperatura del orden de 0 a 5 °C. Mediante ciclos sucesivos, las fracciones prensadas se congelan a continuación y después se ponen en suspensión a una temperatura de 0 a 5 °C. Mediante ciclos sucesivos, las fracciones prensadas se congelan a continuación y seguidamente se ponen en suspensión a una temperatura de 0 a 5 °C. El líquido obtenido se filtra finalmente.

- 45 El documento Sakamoto et al., Biosci. Biotechnol. Biochem. 70 (7), 1564-1570 (2006), describe un procedimiento de reblandecimiento del tejidos de las plantas, que consiste en hacer macerar el polvo congelado de la planta con enzimas de digestión en solución a 40 °C. La digestión se efectúa a atmósfera reducida, durante 5 minutos, a continuación la mezcla vuelve a ponerse a presión atmosférica. En este documento, la digestión no es más que parcial, siendo el objetivo el de reblandecer los vegetales para facilitar su ingestión por las personas ancianas.

Los inconvenientes que se derivan de estas condiciones de aplicación son principalmente:

- 50 - la extracción solamente de una parte de los principios activos en función de la naturaleza del disolvente escogido, extracción selectiva que es incompatible con la legislación sobre los complementos alimenticios,
 - la ausencia de conservación de la totalidad y de la integridad de las moléculas por elevación de la temperatura principalmente,
 - la presencia de compuestos celulósicos que disminuyen la concentración de sustancia activa así como su biodisponibilidad.

- 60 El problema que se propone resolver la invención es pues, el de desarrollar un procedimiento de extracción que respete completamente la integridad y la totalidad de los componentes vegetales, tanto desde un punto de vista físico químico como desde un punto de vista organoléptico (olor, color, gusto), sin seleccionar ninguno de los principios activos contenidos en la materia vegetal de partida.

Otro objetivo de la invención es el de desarrollar un procedimiento que permita obtener extractos secos o líquidos pudiendo ser fácilmente incorporados en las formas galénicas diversas como cápsulas, comprimidos, bolsitas o líquidos, jarabe, bebidas, véanse las preparaciones alimenticias.

La primera diferencia notable entre la célula animal y la célula vegetal reside en que esta última está encerrada en una pared rígida hecha de un material típicamente vegetal, la celulosa. Esta pared, denominada pared pectocelulósica confiere a la planta propiedades únicamente mecánicas, asegurando por otra parte, una acción fisiológica limitada de lastre. Además de la celulosa, esta pared que representa una masa importante en el seno del vegetal, contiene igualmente, pectina, hemicelulosa, agua, enzimas y proteínas de estructura.

El solicitante ha constatado que de manera totalmente sorprendente, el hecho de efectuar la digestión de los tejidos vegetales mediante un ciclo de presión/depresión, en atmósfera de gas inerte, permite, en combinación con otras etapas conocidas por sí mismas, la obtención de un extracto que satisface todos los requisitos antes mencionados.

La invención tiene pues por objetivo un procedimiento para la preparación de un extracto vegetal, que comprende las etapas siguientes:

- enfriamiento de la planta o parte de la planta recién recogida, en particular las partes aéreas, a una temperatura comprendida entre -10 y -100 °C,
- molienda de la planta congelada,
- puesta en contacto de la planta congelada molida con parte de una solución enzimática apta para digerir la pared pectocelulósica de las células vegetales,
- ajuste del pH a un pH al cual actúan las enzimas, al igual que ajuste de la temperatura a la temperatura a la cual actúan las enzimas,
- adición del resto de la solución enzimática,
- aplicación de un ciclo de depresión y de presión, por medio de un gas inerte,
- una vez acabada la digestión, tamizado y a continuación, estabilización del extracto líquido obtenido.

Según una primera característica, la materia vegetal de partida se coloca en un recipiente en contacto con nitrógeno líquido o cualquier otro gas inerte con el fin de estabilizar este material, y en el caso del nitrógeno, conducirlo a una temperatura comprendida entre -10° y -80 °C. Preferentemente, la planta se enfría a una temperatura comprendida entre -60 y -70 °C.

Según la invención, la materia vegetal se muele, ventajosamente en atmósfera de nitrógeno, después de la congelación, y se presenta bajo la forma de un polvo de granulometría comprendida entre 2 cm y 100 µm, ventajosamente entre 100 y 500 µm, es decir, un tamaño superior al de las células. Lógicamente, puede ser aplicada cualquier técnica adecuada para obtener un polvo, como por ejemplo principalmente la molienda, con ayuda por ejemplo de un cúter, aplicando el vacío o cualquier otro medio de molienda.

La materia vegetal molida congelada, se pone en contacto en primer lugar con una parte solamente de la solución enzimática denominada todavía "preparación enzimática". Este es principalmente el caso cuando la materia vegetal se presenta bajo la forma de frutos frescos ricos en agua. Cuando la materia vegetal se presenta bajo la forma de partes de plantas que son distintas a los frutos, presentando un contenido débil en agua, la materia vegetal se dispersa en el seno de una mezcla de agua y de solución enzimática. Se trata de una etapa de humectación efectuada con agitación durante un período de aproximadamente 10 minutos, en función del volumen de materia a tratar. Ventajosamente, el agua representa de 1 a 2 veces el volumen de la materia vegetal.

Antes de la etapa de digestión, propiamente hablando, conviene ajustar el pH del medio a un pH al cual las enzimas actúan asegurando la lisis de la pared pectocelulósica, al igual que la temperatura del medio al cual las enzimas de digestión actúan, en la práctica, mediante la extracción de una muestra.

Lógicamente el pH y la temperatura dependerán de la naturaleza de las enzimas utilizadas. Puede tratarse de pectinasas, lignasas, celulasas, β-glucanasas. De manera general, la temperatura está comprendida entre 25 y 40 °C y el pH está comprendido entre 3 y 6.

El calentamiento que permite hacer pasar la temperatura de la materia vegetal desde aproximadamente -20 °C (a la salida de la transferencia de la materia congelada, en la práctica en la turbosfera) a más de 25 °C, se efectúa por convección o hiperfrecuencia, lo cual permite lograr la temperatura adecuada en un tiempo muy corto. Esta etapa del calentamiento rápido contribuye igualmente al rendimiento de la extracción.

Una vez efectuados los ajustes de temperatura y del pH, se añade a la preparación enzimática, el resto de la solución. La digestión puede entonces acelerarse por aplicación de una depresión por un valor de por lo menos 5600 Pa (42 mm Hg). Esta depresión alterna con un ciclo de puesta en presión a un valor máximo de 2 bars, es decir, 1 bar por encima de la presión atmosférica. Según una característica esencial, esta puesta en presión se efectúa por medio de un gas inerte como por ejemplo el nitrógeno, el argón, o cualquier otro de los gases raros, o el helio.

La duración de la etapa de digestión depende de numerosos parámetros como por ejemplo principalmente la granulometría, la temperatura y el pH. En la práctica, la digestión dura desde 30 minutos hasta varias horas.

5 Para ser capaz de verificar en qué medida la digestión está acabada, el procedimiento comprende una etapa suplementaria de control microscópico y/o un análisis de la materia seca. La cantidad de materia seca y la cantidad de materia lisada permiten evaluar efectivamente el avance de la digestión.

10 En la práctica, se paraliza la acción de las enzimas cuando la materia seca representa entre un 2 y un 15% en peso del extracto, y cuando la cantidad de materia vegetal lisada (diferencia entre la cantidad de materia prima a la puesta en marcha y la cantidad de materia vegetal al término de la digestión) representa menos del 20% en peso. El paro de la digestión se efectúa modificando el pH. Ventajosamente, se pasteuriza el producto obtenido.

15 En una última etapa, se tamiza el producto obtenido a través de una malla comprendida entre 150 y 500 µm. Se obtiene un extracto líquido que conviene estabilizar a continuación, para impedir cualquier acción osmótica.

El medio estabilizante puede estar basado en polioles, aceites vegetales, glicol (sorbitol, propilenglicol) o una mezcla de aceite vegetal o mineral y glicerina a un 50/50 por ejemplo.

20 El extracto final se presenta bajo una forma líquida en la cual están dispersadas las partículas sólidas. Puede ser utilizado tal cual o bajo forma seca sobre un soporte de tipo maltodextrina o cualquier otro soporte adaptado. El extracto contiene mayoritariamente células lisadas, agua de constitución, y el estabilizante.

La invención y las ventajas que se derivan de la misma, destacarán más a partir del ejemplo siguiente.

25 Preparación de un extracto de bardana según el procedimiento de la invención

20 kilos de raíces de bardana recién recogidas, lavadas, se ponen en contacto con nitrógeno líquido y se trituran con un cúter de dos lamas, con el fin de obtener un polvo de una granulometría de 500 µm. La temperatura del polvo es de -60 °C.

30 En un vaso de precipitados, se efectúa la preparación, dispersando la mezcla enzimática (CELL01) (mezcla de glucanasa, lignasa, celulasa), mezcla específica para los órganos subterráneos, en 2 litros de agua destilada.

35 El polvo se coloca a continuación en la turbosfera de 100 litros, se añaden 20 kilos de una mezcla de agua y del preparado enzimático (60/40), se mezcla esta preparación durante 10 minutos, y se efectúa la toma de una muestra para determinar el pH.

Se añaden 10 grs de ácido cítrico para ajustar el pH a un valor de 6.

40 Se lleva la temperatura de la mezcla a 35°, a continuación se vierte la solución enzimática en la turbosfera. Se ajusta el aparato en depresión a un valor de 42 mm de Hg, a continuación se aumenta la presión hasta un valor de 2 bars por medio de un gas inerte. Se toman muestras de la operación.

45 Después de 7 horas de contacto, la reacción se interrumpe vertiendo 150 grs de ácido cítrico en la preparación. Se extrae una muestra para controlar la lisis.

El contenido de materia seca inferior a un 15% y la presencia de protoplastos, permite identificar el final del proceso de lisis.

50 La preparación se tamiza a continuación a través de 500 µm y se mezcla con un agente estabilizante antes de ser acondicionada.

Las ventajas de la invención se desprenden de la descripción precedente:

- 55 1- Utilización del material vegetal recién recogido.
- 2- Utilización de un gas inerte que permite conservar la integridad de los componentes de la primera materia.
- 3- Molienda en atmósfera de nitrógeno para prevenir los riesgos de la oxidación.
- 4- Realización del proceso en un vacío parcial y en atmósfera de gas inerte a presión, limitando los fenómenos de oxidación.
- 60 5- Aumento de la biodisponibilidad al eliminar la pared pectocelulósica no digerida por el ser humano.
- 6- Aumento de la concentración al eliminar toda la parte pectocelulósica de la planta con respecto a la planta seca.
- 7- Conservación de la integridad y la totalidad de los principios activos contenidos en la materia prima vegetal.
- 8- Posibilidad de utilizar este nuevo protocolo de transformación del vegetal en las industrias alimenticias, cosméticas y farmacéuticas.
- 65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de un extracto vegetal, que comprende las etapas siguientes:
 - 5 - enfriamiento de la planta o parte de la planta recién recogida, a una temperatura comprendida entre -10 y - 80 °C,
 - molienda de la planta congelada,
 - puesta en contacto de la planta congelada molida con parte de una solución enzimática apta para digerir la pared pectocelulósica de las células vegetales,
 - 10 - ajuste del pH a un pH en el cual actúan las enzimas, y ajuste igualmente de la temperatura a la temperatura a la cual actúan las enzimas,
 - adición del resto de la solución enzimática,
 - aplicación de un ciclo de depresión y de presión por medio de un gas inerte,
 - una vez terminada la digestión, tamizado y a continuación, estabilización del extracto líquido obtenido.
 - 15
2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, el enfriamiento consiste en una congelación o una puesta en contacto de la planta recién recogida, con nitrógeno líquido.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, la molienda conduce a una granulometría del polvo comprendida entre 100 y 500 µm.
- 20 4. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, simultáneamente con la puesta en contacto con una parte de la solución enzimática, la planta congelada molida se pone en suspensión en el agua.
- 25 5. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, el agua representa de 1 a 2 veces el volumen de materia vegetal.
6. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, las enzimas se escogen del grupo formado por las pectinasas, las lignasas, las celulasas, las β-glucanasas.
- 30 7. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, la depresión aplicada tiene un valor mínimo de 5.600 Pa.
8. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, la presión aplicada es de un máximo de 2 bars.
- 35 9. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, se continúa la digestión hasta que la materia seca represente entre un 2 y un 15% en peso del extracto, y que la cantidad de materia vegetal lisada representa menos del 20% en peso.
- 40 10. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, modificando el pH se paraliza la acción de las enzimas, y a continuación se pasteuriza el producto obtenido.
- 45 11. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque**, se tamiza el producto obtenido a través de una malla comprendida entre 150 y 500 µm.