

**(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)**

**(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual**
Oficina internacional



**(43) Fecha de publicación internacional
28 de Febrero de 2002 (28.02.2002)**

PCT

**(10) Número de Publicación Internacional
WO 02/16628 A1**

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C12P 7/22,
A23L 1/30

(21) Número de la solicitud internacional: PCT/ES01/00314

(22) Fecha de presentación internacional:
2 de Agosto de 2001 (02.08.2001)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P 200002073 11 de Agosto de 2000 (11.08.2000) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS [ES/ES]**; Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).

(72) Inventores; e
(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): ESPIN DE GEA, Juan Carlos [ES/ES]; Ctro. Edafología y Biología Aplicada del Segura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado 4195, E-30080 Murcia (ES). **DE TOMAS BARBERAN, Francisco Abraham** [ES/ES]; Ctro. Edafología y Biología Aplicada del Segura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado 4195, E-30080 Murcia (ES). **GARCIA VIGUERA, María Cristina** [ES/ES]; Ctro. Edafología y Biología Aplicada del Segura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado 4195, E-30080 Murcia (ES). **FERERERES DE ARCE, Federico** [ES/ES]; Ctro. Edafología

y Biología Aplicada del Segura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apartado 4195, E-30080 Murcia (ES). **SOLER RIVAS, Cristina** [ES/NL]; Ato, 6700 AA, NL-6700 Wageningen (NL). **WICHERS, Harry, J.** [NL/NL]; Ato, 6700 AA, NL-6700 Wageningen (NL).

(74) Mandatario: OJEDA GARCÍA, Pedro; Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Serrano, 113, E-28006 Madrid (ES).

(81) Estados designados (nacional): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Estados designados (regional): patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente europea (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: ENZYMATIC SYNTHESIS OF ANTIOXIDANT HYDROXYTYROSOL

(54) Título: SÍNTESIS ENZIMÁTICA DEL ANTIOXIDANTE HIDROXITIROSOL

(57) Abstract: Reaction occurs in a medium buffered with phosphate in an aqueous medium, at neutral pH and ambient temperature. Hence, the reaction medium consists of: tyrosol as precursor; (commercial) mushroom tyrosinase to catalyze the process and vitamin C in excess. Reaction starts after initial shaking. The reaction stops when the concentration of the initial tyrosol is exhausted. In order for reaction to continue, it will suffice to add more tyrosol (always ensuring that the vitamin C/tyrosol ratio is more than 1). Once the desired concentration of hydroxytyrosol, it is filtered. The enzyme with molecular weight over twice the size of the pore is retained in the filter and can be used once again. This first extract, which is very enriched in antioxidant hydroxytyrosol with a high antioxidant capacity (in the present case, in combination with vitamin C), can already be used as food additive.

(57) Resumen: La reacción transcurre en un medio tamponado con fosfato en medio acuoso, a pH neutro, y a temperatura ambiente. El medio de reacción, se compone por tanto de: tiosol, como precursor; tirosinasa de champiñón (comercial) para catalizar el proceso y vitamina C en exceso. Tras una agitación inicial, la reacción comienza. Cuando la concentración de tiosol inicial se agote la reacción se para. Para que continúe basta con añadir más tiosol (siempre cuidando que la relación vitamina C/ tiosol sea mayor que 1). Cuando se obtenga la concentración de hidroxitirosol deseada, se filtra. La enzima, de peso molecular más del doble del tamaño de poro, queda retenida en el filtro, y puede ser de nuevo reutilizada. Este primer extracto muy enriquecido en antioxidante hidroxitirosol, con una alta capacidad antioxidante, (en este caso, en combinación con vitamina C), ya es susceptible de utilizarse como aditivo alimentario.

WO 02/16628 A1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 01/314

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12P 7/22, A23L 1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12P, A23L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, EPODOC, WPI, HCAPLUS, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	ESPIN, J.C., ET AL., "SYNTHESIS OF THE ANTIOXIDANT HIDROXYTYROSOL USING TYROSINASE AS BIOCATALYST"; J.AGRIC.FOOD CHEM. 2001; VOL 49, N°3, PAG.1187-1193	1-5
X	W00036936A1 (BOOM et al.) 29.06.00	5
A	CAPPASSO, R., et al, "A HIGHLY CONVENIENT SYNTHESIS OF HIDROXYTYROSOL AND ITS RECOVERY FROM AGRICULTURAL WASTE WATERS", J.AGRIC.FOOD CHEM.1999; VOL,47; N° 4 ; PAG.1745-1748	

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 December 2001 (10.12.01)

Date of mailing of the international search report

21 December 2001 (21.12.01)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O.

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.