

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 017 415**

51 Int. Cl.:

A23L 19/00 (2006.01)

A23L 3/015 (2006.01)

A23L 33/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.08.2020 PCT/EP2020/073013**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.02.2021 WO21028597**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.08.2020 E 20754768 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2025 EP 4013238**

54 Título: **Método de preparación de un producto que contiene fruta**

30 Prioridad:

15.08.2019 EP 19191985

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

12.05.2025

73 Titular/es:

**N.V. NUTRICIA (100.00%)
Eerste Stationsstraat 186
2712 HM Zoetermeer, NL**

72 Inventor/es:

MAZURKIEWICZ, BOZENA ANNA

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 3 017 415 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

Método de preparación de un producto que contiene fruta

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere al campo de la preparación de alimentos y el procesamiento de alimentos, en particular a un método para preparar productos que contienen frutas, tales como alimentos para bebés y purés para bebés.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La demanda de los consumidores por productos de alta calidad mínimamente procesados ha aumentado notablemente en los últimos años. Las preferencias del mercado se han desplazado hacia alimentos frescos, sanos y listos para comer que no solo son ricos en sabor, sino que también tienen propiedades organolépticas que coinciden al máximo posible con un producto fresco. También se aprecia un periodo de validez prolongado, preferiblemente sin el uso de conservantes ni colorantes.

[0003] Los purés de frutas y verduras son productos adecuados para alimentar a los bebés gracias a su consistencia y valor nutricional. En las tiendas se pueden adquirir fácilmente purés de frutas y verduras para bebés. Estos purés suelen almacenarse a temperatura ambiente y tienen un periodo de validez de varios meses. Para permitir un periodo de validez prolongado de este tipo a temperatura ambiente, los purés de frutas y verduras deben tratarse con un proceso de esterilización que garantice la seguridad microbiológica. Sin embargo, el uso de altas temperaturas en el tratamiento térmico a menudo afecta negativamente a las propiedades nutricionales y sensoriales de los productos alimenticios.

[0004] Los purés alimenticios requieren diferentes tipos de esterilización dependiendo del pH de los ingredientes. Por ejemplo, el pH de las frutas es típicamente más ácido que el pH de las verduras, lo que también determina el tipo de microflora presente en las mismas. Los purés de verduras se esterilizan típicamente a temperaturas más altas en comparación con los purés de frutas, ya que los purés de verduras se ven menos afectados por la exposición a temperaturas altas. Para los purés de frutas, es importante que la temperatura durante la esterilización se mantenga baja, ya que el procesamiento térmico afectará negativamente a su aspecto, sabor y color.

[0005] Actualmente, el calentamiento en retorta es de uso extendido en la industria alimentaria para producir tales productos. El calentamiento en retorta incluye calentar el alimento, que está en un recipiente cerrado herméticamente, usando vapor u otros métodos de calentamiento. Los tiempos de mantenimiento y las altas temperaturas (110-135 °C) en el calentamiento en retorta suelen tener un impacto negativo en el valor nutricional y en los aspectos sensoriales, así como organolépticos, del alimento que está en el recipiente.

40

[0006] El uso del tratamiento por alta presión hidrostática (APH), también conocido como pascalización, en la industria alimentaria se desarrolló como una alternativa a los procesos térmicos comunes, tales como la pasteurización y la esterilización, para producir un producto seguro desde el punto de vista microbiológico. En el proceso APH tradicional, los productos alimenticios se sellan y se colocan en un compartimento de acero que contiene un líquido (a menudo agua), después de lo cual se usan bombas para crear la presión necesaria. La presión se aumenta a una cierta velocidad hasta que se alcanza la presión deseada, se mantiene durante una cantidad específica de tiempo y posteriormente se libera a una velocidad específica. Las presiones típicas aplicadas a los alimentos varían de 300 a 800 MPa. Aunque también se puede aplicar calor durante el proceso APH, los procesos de alta presión se llevan a cabo normalmente a temperaturas refrigeradas. Sin embargo, debido al calentamiento adiabático, las temperaturas aumentan de manera natural durante un tratamiento de APH típico. La magnitud del aumento de temperatura depende de la presión y la composición alimenticia deseadas. Tomando el agua como ejemplo, el aumento de temperatura es de aproximadamente 3 °C por 100 MPa. Morales-de la Peña, Food and Bioprocess Technology, 2018, 11, 1211-1221 describe un tratamiento a alta presión de puré de mango a 550 MPa a una temperatura de 59 °C durante 8 minutos que podría ser un tratamiento factible para reducir la actividad enzimática y conservar atributos de calidad similares a los de los productos frescos.

50

[0007] Aunque el proceso APH puede ser eficaz para matar microorganismos en productos alimenticios, las esporas de algunas bacterias son tolerantes a la presión y suelen resistir al tratamiento con APH. Esto no es aceptable para productos diseñados para bebés.

60

[0008] *A. acidoterrestis* es una bacteria descomponedora, formadora de esporas y no patógena que está presente típicamente en los productos que contienen frutas. El deterioro de los alimentos causado por esta bacteria se caracteriza por un mal sabor/aroma, que hace que el producto alimenticio sea inadecuado para el consumo. Las esporas de *A. acidoterrestis* muestran una resistencia térmica extremadamente alta dependiendo del tipo de matriz alimentaria, del contenido de sólidos solubles y del pH. Los valores de D95 de *A. acidoterrestis*

65

(tiempo en minutos durante el cual el número de células vivas disminuye en un 90 %, a 95 °C) varían típicamente de 1,85 a 15,1 min, dependiendo del tipo de alimento. El proceso de pasteurización estándar que usa temperaturas de 85-95 °C durante un periodo de tiempo de aproximadamente 40 minutos a presión ambiente, que esta dirigido a destruir patógenos vegetativos, es, por lo tanto, ineficaz contra esporas de *A. acidoterrestis*.

5

[0009] La HPTS (esterilización térmica a alta presión) combina los efectos de temperaturas elevadas (90 a 121 °C) y presiones superiores o iguales a 600 MPa para lograr la inactivación de las esporas bacterianas. Para el tratamiento con HPTS, el producto debe precalentarse a entre 70 y 90 °C y, a través del calentamiento por compresión durante la acumulación de presión, la temperatura del proceso puede alcanzar hasta 130 °C. Sevenich y col. (High-Pressure Thermal Sterilization: Food Safety and Food Quality of Baby Food Pure, Journal of Food Science, Vol. 79, N.º 2, 2014) inocularon esporas de *B. amiloliquefaciens* o de *G. stearothermophilus* en puré alimenticio para bebés hasta un recuento de esporas de 10^5 a 10^7 y las expusieron a un rango de temperatura de 90-121 °C a 600 MPa. El puré de verduras comprendía: zanahorias 40 %, guisantes 20 %, calabaza 15 %, agua 24,9 % y sal 0,1 %. El valor A_w del puré fue de 0,96, el pH de 6,47 y el contenido de materia seca del 8 %.

10

15

[0010] Silva y col. (Bacterial spore inactivation at 45-65 °C using high pressure processing: Study of Alicyclobacillus acidoterrestis in orange juice, Food microbiology 32 (2012), 206-211) inocularon esporas de *A. acidoterrestis* en zumo de naranja para dar un recuento inicial de aproximadamente 10^6 ufc de esporas/ml. Las muestras de zumo de naranja envasadas (9,2 °Bx, pH = 3,8) se sometieron a procesos simultáneos de alta presión - temperatura suave con presiones de 200 MPa y 600 MPa, temperaturas de 45 °C, 55 °C y 65 °C y tiempos de procesamiento entre 1 min y 15 min. Las condiciones de procesamiento a alta presión analizadas (200 MPa, 600 MPa) dieron como resultado una reducción en el número de microbios, en particular a la temperatura más alta de 65 °C, donde se registraron niveles de reducción de *A. acidoterrestis* de aproximadamente 2 log tras el procesamiento durante 10 minutos. Esta reducción no es suficiente desde el punto de vista de la seguridad alimentaria para bebés, ya que sigue habiendo 10^3 - 10^4 ufc de esporas/ml de *A. acidoterrestis* que permanecen en las muestras de zumo de naranja.

20

25

30

[0011] Ferrari y col. (The effects of high hydrostatic pressure on the polyphenes and antocyanates in red fruit products, Procedia Food Science 1 (2011) 847-853) describen la preparación de una espuma de fresa. Se lavaron dos veces fresas frescas, se cortaron en trozos pequeños, se añadieron ácido cítrico y sacarosa como conservante y para la corrección de la acidez y los °Bx respectivamente y, por último, se homogeneizaron usando un mezclador eléctrico. Las muestras se almacenaron en condiciones refrigeradas antes de los experimentos de alta presión. En los tratamientos de alta presión, las condiciones de procesamiento se establecieron en 500 MPa, 50 °C, 10 min para las muestras de espuma de fresa. Al final del tratamiento, las muestras se almacenaron a 4 °C.

35

40

[0012] Un objeto de la presente invención es proporcionar un producto para bebés que contiene fruta que sea seguro desde el punto de vista microbiológico, sin el uso de conservantes antimicrobianos, y que sea adecuado para almacenarlo a temperatura ambiente, y que, al mismo tiempo, mantenga un aspecto natural, con un color y sabor atractivos.

RESUMEN DE LA INVENCION

45

[0013] Los inventores han descubierto sorprendentemente que un producto que contiene frutas, seleccionado de entre alimentos para bebés, purés de frutas, productos untables de frutas, suspensiones, espumas/espumas ligeras, compotas, cremas y mermeladas, que es seguro desde el punto de vista microbiológico, puede obtenerse mediante un método que incluye los pasos de:

50

a. proporcionar una composición a base de fruta que comprende al menos un 65 % en peso, con respecto a los sólidos totales, de un material de fruta, donde la composición tiene un pH de entre 3,0 y 4,5 y un contenido total de sólidos de entre el 10 y el 30 % en peso del producto, en condiciones ambientales; y

b. someter la composición a base de fruta a una presión de entre 300 MPa y 500 MPa y a una temperatura de entre 65 °C y 80 °C, durante 2 a 30 minutos.

55

[0014] El método según la invención permite la preparación de un producto que contiene fruta que es seguro desde el punto de vista microbiológico, incluso para los estándares de los alimentos para bebés, en comparación con composiciones similares preparadas mediante el tratamiento térmico habitual, con un periodo de validez prolongado a temperatura ambiente. Sorprendentemente, los inventores han descubierto que el método según la invención es eficaz en particular para reducir drásticamente el número de esporas bacterianas no deseadas, tales como *Alicyclobacillus acidoterrestis*.

60

65

[0015] Ventajosamente, a diferencia de los tratamientos térmicos existentes en la técnica, el producto que contiene fruta preparado mediante el método de la invención presenta un aspecto más natural (en particular, un color mejorado) que productos similares preparados mediante otros tratamientos térmicos de la técnica. Así, el producto preparado mediante el método de la invención se asemeja más a un producto casero a base de fruta en

términos de características organolépticas en comparación con productos a base de fruta esterilizados con pasteurización estándar.

5 [0016] La invención se refiere además a un producto que contiene frutas que se puede obtener mediante el método según la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

10 [0017] En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método para preparar un producto que contiene fruta que contiene menos de 10^3 esporas resistentes al calor por gramo del producto que contiene fruta, donde el método comprende los pasos de:

- 15 a. proporcionar una composición a base de fruta que comprende al menos un 65 % en peso, con respecto a los sólidos totales, de un material de fruta, donde la composición tiene un pH de entre 3,0 y 4,5 y un contenido total de sólidos de entre el 10 y el 30 % en peso del producto, en condiciones ambientales; y
b. someter la composición a base de fruta a una presión de entre 300 MPa y 500 MPa y a una temperatura de entre 65 °C y 80 °C, durante 2 a 30 minutos,

20 donde el producto que contiene fruta se selecciona de entre alimentos para bebés, purés de frutas, productos untables de frutas, suspensiones, espumas/espumas ligeras, compotas, cremas y mermeladas.

25 [0018] "Producto que contiene fruta", como se usa en el presente documento, se refiere a un producto comestible adecuado para el consumo humano, preferiblemente para su consumo por bebés, pero sin limitarse a ello. Los ejemplos de productos que contienen frutas en el contexto de la invención incluyen "alimento para bebés", purés de frutas, productos untables de frutas, suspensiones, espumas/espumas ligeras, compotas, cremas, mermeladas y similares. En el presente documento, "alimento para bebés" (indistintamente: "primer alimento dietético") se refiere a alimentos de destete con el significado común en la técnica como se define, por ejemplo, en la Directiva 2006/125/CE de la Comisión. Los alimentos para bebés se usan normalmente como suplemento a la dieta infantil (que, de lo contrario, puede estar compuesta solo por leche animal y/o preparado de leche infantil/preparado de crecimiento/preparado para niños pequeños) a medida que los bebés progresan a una dieta familiar mixta y/o en su adaptación progresiva a los alimentos normales.

35 [0019] "Fruta", en el contexto de la presente invención, tiene el significado habitual en la técnica y, por lo tanto, se define como un producto obtenido de plantas asociadas con semillas. En el contexto de la invención, "material de fruta" se refiere a fruta o una mezcla de dos o más frutas, preferiblemente en forma de puré de fruta pura, concentrado de fruta pura y/o pulpa de fruta pura. "Fruta pura" se refiere en la presente memoria a frutas sin ningún aditivo. Las frutas adecuadas para la preparación del producto que contiene fruta según el método de la invención incluyen, pero no se limitan a, manzanas, albaricoques, plátanos, bayas, arándanos, cerezas, clementinas, berros, uvas, pomelo, limones, mangos, naranjas, papaya, melocotones, peras (por ejemplo, pera Williams), piñas, ciruelas, frambuesas, ruibarbo, acedera, fresas y similares. En el contexto de la presente invención, los tomates no se consideran una fruta.

45 [0020] Los métodos para determinar el pH y el contenido total de sólidos en la composición a base de fruta son habituales para el experto. Por ejemplo, el valor de pH de la composición a base de fruta usada en el método de la presente invención puede determinarse usando, por ejemplo, un medidor de pH colocando la sonda directamente en la composición de fruta, sin dilución en agua, a temperatura ambiente.

50 [0021] Como se usa en el presente documento, "sólidos totales" tiene su significado habitual en la técnica; por ejemplo, se refiere al contenido de hidratos de carbono y celulosa de una composición a base de fruta, la mayoría del cual es insoluble. Los sólidos totales de la composición a base de fruta pueden calcularse como una suma de los sólidos totales proporcionados para cada uno de los ingredientes de la composición.

55 [0022] Como se describe en el presente documento, el término "densidad relativa Brix", "Brix" o "°Bx", se refiere a una escala hidrométrica ampliamente conocida para medir el contenido de sólidos solubles de un líquido según se determina mediante un refractómetro calibrado a 20 °C. La escala Brix mide el número de gramos de azúcar presente por 100 gramos de solución acuosa de azúcar (el contenido total de sólidos solubilizados). Por ejemplo, una medición de 10 °Bx se refiere a 10 mg/ml de azúcar en solución. Como referencia, los zumos de naranja envasados normalmente tienen alrededor de 11 °Bx. Los sólidos solubles (°Bx) en el método según la invención pueden medirse usando un refractómetro MS REF 090L My-Soft, calibrado a 20 °C.

60 [0023] La actividad de agua ("Aw") se mide mediante técnicas comunes conocidas en la técnica. Por ejemplo, la actividad de agua puede medirse usando un medidor de actividad de agua AQUALAB 3TE (Decagon Device Inc.).

65 [0024] En el presente documento, la "viscosidad" se puede determinar a 20 °C usando, por ejemplo, el dispositivo RM180 Rheomat Mettler Toledo. A modo de comparación, los valores de viscosidad se refieren a la velocidad de

cizallamiento de 10 s^{-1} , a menos que se indique lo contrario. El sistema de medición, que consiste en un tubo lleno con la muestra (puré o bebida), se acopla a un cilindro giratorio que se sumerge en el baño de un circulador de refrigeración/calentamiento F12 (Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Alemania) a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$. El cilindro interior comienza a girar desde 0 cizallamiento y asciende hasta velocidades de cizallamiento más altas. Los productos que contienen frutas preferidos preparados mediante el método de la invención son purés de frutas, que suelen ser un fluido no newtoniano, en particular un fluido de adelgazamiento por cizallamiento. Un fluido no newtoniano no tiene una viscosidad constante, sino que varía dependiendo de la velocidad de cizallamiento. Es decir, estos fluidos se deforman o fluyen de acuerdo con una velocidad de cizallamiento, o la rapidez con la que se aplica la presión, tal como un tubo que se aprieta. En un fluido de adelgazamiento por cizallamiento (como el ketchup), la viscosidad del fluido disminuye con el aumento de la tensión de cizallamiento.

[0025] Según una forma de realización, el pH de la composición a base de fruta está entre 3,2 y 4,4, preferiblemente entre 3,5 y 4,3, de la manera más preferible entre 3,9 y 4,2. El producto que contiene fruta preparado mediante el método de la invención también tiene preferiblemente un pH entre 3,0 y 4,5, más preferiblemente entre 3,2 y 4,4, preferiblemente entre 3,5 y 4,3, de la manera más preferible entre 3,9 y 4,2, ya que el tratamiento de presión/temperatura de la invención no altera sustancialmente el pH de la composición a base de fruta.

[0026] El método de la invención es particularmente eficaz para reducir las esporas resistentes al calor en el rango de pH de 3,0 a 4,5, lo que permite aplicar otros parámetros de procesamiento, en particular tiempo y temperatura, en los extremos inferiores de los rangos. Por consiguiente, si es necesario, el pH de la composición a base de fruta del paso (a) puede ajustarse a los rangos definidos para el presente método en caso de que el material de fruta proporcione un pH inferior a 3,0 o superior a 4,5. Por ejemplo, cuando el material de fruta comprende solo o sustancialmente solo plátano, el pH del material de fruta puede ser superior a 4,5, requiriendo así el ajuste del pH a los valores de pH de la presente invención. Los métodos para ajustar el pH son conocidos por el experto en la técnica. Según una forma de realización, el método comprende el paso de ajustar el pH del material de fruta con un componente de ajuste del pH antes del paso (a). El componente de ajuste del pH es aceptable en productos alimenticios para bebés, y se selecciona preferiblemente de entre zumo de fruta o concentrado de zumo de fruta, más preferiblemente zumo de limón o concentrado de zumo de limón.

[0027] En una forma de realización preferida, el contenido total de sólidos del producto de partida de la composición a base de fruta y/o el producto obtenido está entre el 10,5-28 % en peso, preferiblemente entre el 11-25 % en peso, más preferiblemente entre el 15-20 % en peso, en peso del producto. De acuerdo con una forma de realización, la composición a base de fruta y/o el producto que contiene fruta según la invención comprende más del 70 % en peso de material de fruta, con respecto a los sólidos totales, más preferiblemente más del 75 % en peso de material de fruta, incluso más preferiblemente más del 80 % en peso de material de fruta, con respecto a los sólidos totales.

[0028] En una forma de realización preferida, el "material de fruta" del paso (a) comprende una o más frutas seleccionadas del grupo que comprende manzana, pera (por ejemplo, pera Williams), bayas, plátano, cereza, mango, melocotón, albaricoque, piña y/o combinaciones de los mismos. En una forma de realización, el "material de fruta" comprende manzana y una segunda fruta seleccionada del grupo que comprende pera (por ejemplo, pera Williams), bayas, plátano, cereza, mango, melocotón, albaricoque, piña en una relación en peso de fruta de 1:1, preferiblemente de 1,5:1, más preferiblemente de 2:1. En otra forma de realización, el "material de fruta" comprende plátano y una segunda fruta seleccionada del grupo que comprende manzana, pera (por ejemplo, pera Williams), bayas, cereza, mango, melocotón, albaricoque, piña en una relación en peso de fruta de 1:1, preferiblemente de 1,5:1, más preferiblemente de 2:1.

[0029] Preferiblemente, el producto preparado mediante el método de la invención no contiene carne, pescado, proteína de leche, proteína de huevo, legumbres (es decir, una planta de la familia Fabaceae o una fruta o semilla de esta) ni/o vegetales, en particular no contiene carne, legumbres ni/o vegetales. En el contexto de la presente invención, el tomate se define como una verdura. Por consiguiente, en una forma de realización preferida, el producto no contiene tomate, berenjena, patata, calabacín y similares. Más preferiblemente, el producto no contiene tomate.

[0030] En una forma de realización preferida, la composición a base de fruta usada en el método según la invención tiene un porcentaje de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) de al menos $12 \text{ }^{\circ}\text{Bx}$, más preferiblemente de al menos $13 \text{ }^{\circ}\text{Bx}$, incluso más preferiblemente de al menos $14 \text{ }^{\circ}\text{Bx}$. En una forma de realización preferida, el método según la invención no altera sustancialmente el porcentaje de sólidos solubles de la composición sometida a tratamiento de temperatura y alta presión. Por tanto, el producto preparado mediante el método de la invención tiene sustancialmente el mismo porcentaje de sólidos solubles que la composición a base de fruta inicial usada en el paso (a).

[0031] El material de fruta puede ser opcionalmente una mezcla de diferentes frutas y o purés de frutas que se mezclan para lograr el porcentaje deseado de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$) y pH. Los $^{\circ}\text{Brix}$ influyen en el dulzor percibido del producto terminado y el pH influye en la acidez o acritud del producto terminado.

[0032] Preferiblemente, la composición a base de fruta está en forma de puré de fruta (es decir, una composición a base de fruta que se puede tomar con cuchara). Como se define en el presente documento, "puré" se refiere a la pulpa de un producto que se ha triturado u homogeneizado hasta llegar a un estado sustancialmente fluido y/o cremoso, sin una cantidad sustancial de constituyentes de pulpa conglomerados como fragmentos o trozos. La transformación de fruta(s) fresca(s) en la composición a base de fruta deseada puede hacerse adecuadamente por medio de diversas técnicas conocidas en la técnica (por ejemplo, trituración, cocción, prensado). Por consiguiente, el presente método puede incluir opcionalmente un paso de pretratamiento (antes del paso (a)) que incluye, pero no se limita a, preparación de la fruta (por ejemplo, lavado, pelado, etc.), combinación o mezcla, fragmentación de las células de la fruta (por ejemplo, por medio de un homogeneizador, Sonolator, molino de piedra, aparato de alto cizallamiento, emulsionador o cualquier otro dispositivo capaz de romper o fragmentar células de fruta intactas), eliminación de pieles, tallos, semillas, pieles y similares. Alternativamente, también se pueden usar purés y/o concentrados de zumos de frutas previamente mezclados. En una forma de realización, el puré de fruta no es una espuma. Las espumas se caracterizan por tener burbujas de aire incorporadas en una composición suave. Los purés de frutas son distintos de los zumos de frutas, cuya actividad de agua es demasiado alta, proporcionando así un efecto baroprotector cuando se lleva a cabo el método según la invención.

[0033] Típicamente, los productos que contienen frutas según la invención tienen una viscosidad de 3,5 a 5,5 Pa.s, preferiblemente de 3,8 a 5,2 Pa.s, más preferiblemente de 4,0 a 5,0 Pa.s, según se determina a una velocidad de cizallamiento de 10 s^{-1} a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, usando, por ejemplo, un dispositivo RM 180 Rheomat Mettler Toledo. Los productos que contienen frutas son típicamente fluidos no newtonianos con adelgazamiento por cizallamiento. Por lo tanto, la viscosidad del producto disminuirá a medida que aumente la velocidad de cizallamiento. A modo de comparación, cuando la viscosidad se mide a una velocidad de cizallamiento más alta, los productos según la invención tienen una viscosidad de 0,3 a 1,5 Pa.s, preferiblemente de 0,5 a 1,0 Pa.s, determinada a una velocidad de cizallamiento de 130 s^{-1} a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, usando, por ejemplo, un dispositivo RM 180 Rheomat Mettler Toledo. Estas viscosidades son apropiadas para un producto que contiene fruta que se puede tomar con cuchara y/o exprimir según la invención. Preferiblemente, la composición a base de fruta del paso (a) se homogeneiza. Después de la homogeneización, la composición a base de fruta se bombea posteriormente hasta un procesador de alimentos adecuado en el que se lleva a cabo el paso (b).

[0034] Antes del paso (b), la composición a base de fruta puede almacenarse en condiciones refrigeradas ($2\text{-}8 \text{ }^\circ\text{C}$). Preferiblemente, antes del paso (b), la temperatura de la composición a base de fruta se lleva a temperatura ambiente aproximadamente ($20\text{-}24 \text{ }^\circ\text{C}$).

[0035] El paso (b) es un procesamiento por alta presión hidrostática (APH). La presión aplicada en el paso (b) está entre 300 MPa y 500 MPa, preferiblemente entre 330 MPa y 450 MPa.

[0036] La temperatura aplicada en el paso (b) del método según la invención está entre $65 \text{ }^\circ\text{C}$ y $80 \text{ }^\circ\text{C}$, más preferiblemente entre $65 \text{ }^\circ\text{C}$ y $76 \text{ }^\circ\text{C}$, e incluso más preferiblemente entre $65 \text{ }^\circ\text{C}$ y $74 \text{ }^\circ\text{C}$. En una forma de realización preferida adicional, la composición a base de fruta no se expone a una temperatura que exceda los $85 \text{ }^\circ\text{C}$, más preferiblemente los $80 \text{ }^\circ\text{C}$, antes y/o después de que se ejecute el paso (b).

[0037] En una forma de realización preferida, el paso (b) se lleva a cabo durante entre 3 y 26 minutos, más preferiblemente entre 5 y 22 minutos, e incluso más preferiblemente entre 7 y 18 minutos, de la manera más preferible entre 8 y 12 minutos.

[0038] Después del paso (b), preferiblemente se envasa el producto que contiene fruta. El envase adecuado incluye, pero no se limita a, frascos de vidrio o tubos compresibles. El envase es preferiblemente estéril. Alternativamente, el envasado puede ocurrir antes del paso (b), es decir, antes del tratamiento con temperatura y alta presión.

[0039] Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que el método según la invención evita ventajosamente la necesidad de añadir conservantes alimentarios para productos que contienen frutas que se almacenan preferiblemente a temperatura ambiente, a la vez que logra una excelente estabilidad microbiológica, incluyendo contra esporas bacterianas que se suelen encontrar en los productos alimentarios. Como se usa en el presente documento, "conservante" se describe como un agente que se añade al producto para potenciar su estabilidad microbiológica, conservar/retener el sabor, el color, la textura, la estructura de la pared celular, el aspecto, la humedad y similares.

[0040] El presente método permite preparar ventajosamente composiciones que contienen frutas con una estabilidad microbiológica mejorada (es decir, con una reducción de las esporas bacterianas) en comparación con productos idénticos preparados mediante los tratamientos térmicos habituales, independientemente de la presencia de conservantes en las formulaciones. En una forma de realización preferida, el método de la presente invención incluye el paso de añadir un conservante antimicrobiano comestible a la composición a base de fruta antes, durante o después del paso (b), preferiblemente después de aplicar el paso (b). El o los conservantes

antimicrobianos adecuados son aptos para el consumo, y se seleccionan de entre ácido sórbico, un sorbato (por ejemplo, sorbato de sodio), ácido benzoico, un benzoato (por ejemplo, hidroxibenzoato o benzoato de sodio), parabens, nitrato, nitrito, ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico, un propionato (por ejemplo, propionato de sodio), ácido málico, ácido tartárico, dióxido de azufre y sulfito. Preferiblemente, el conservante se añade en una cantidad de menos del 0,1 % en peso con respecto al peso total, más preferiblemente menos del 0,05 % en peso, incluso más preferiblemente menos del 0,03 % en peso.

[0041] Las frutas pueden incluir conservantes naturales (por ejemplo, ácido cítrico). Sin embargo, de acuerdo con una forma de realización, no se añade ningún conservante antimicrobiano a la composición a base de fruta en el método según la invención, en particular donde el método es para preparar un producto alimenticio para bebés que contiene fruta. Más preferiblemente, no se añade ningún conservante antimicrobiano después de aplicar el paso (b). Dicho de otro modo, en una forma de realización preferida, el producto que contiene fruta según la invención no incluye conservante(s) añadido(s) (es decir, no incluye conservante(s) que se añada(n) a la composición y/o que esté(n) presente(s) en el o los ingredientes de fruta natural presentes en el producto).

[0042] De acuerdo con una forma de realización, la composición a base de fruta del paso (a) comprende menos del 10 % en peso de azúcares con respecto al peso del producto, preferiblemente menos del 5 % en peso de azúcar, incluso más preferiblemente menos del 3 % en peso de azúcar con respecto al peso del producto. Como se define en el presente documento, "azúcares" se refiere a azúcares añadidos que no están presentes de manera natural en el material de fruta, es decir, en la fruta natural pura. Por lo tanto, "azúcares", como se usa en el presente documento, se refiere a azúcares añadidos seleccionados de entre sacarosa, glucosa, galactosa, disacáridos y combinaciones de estos, más preferiblemente, sacarosa. Por consiguiente, el método según la invención no comprende un paso de añadir azúcar a la composición a base de fruta antes, durante o después del paso (b) de aplicar temperatura y alta presión a la composición a base de fruta.

[0043] La composición del paso (a) comprende al menos un 65 % en peso, con respecto al peso total, de material de fruta, preferiblemente al menos un 75 % en peso de material de fruta, más preferiblemente, al menos un 85 % en peso de material de fruta, de la manera más preferible al menos un 90 % en peso de material de fruta.

[0044] Típicamente, la composición y/o producto según la invención tiene un contenido de agua de hasta un 35 % en peso de agua, con respecto al peso total, más preferiblemente hasta un 25 % en peso, incluso más preferiblemente hasta un 15 % en peso de agua, de la manera más preferible hasta un 10 % en peso de agua.

[0045] En una forma de realización preferida, la composición que contiene fruta tiene una actividad de agua (A_w) de al menos 0,96, más preferiblemente de al menos 0,97. Además, se prefiere que la composición que contiene fruta no tenga una actividad de agua superior a 0,99. Preferiblemente, el producto obtenido tiene una actividad de agua de entre 0,95 y 0,99, más preferiblemente de entre 0,98 y 0,99.

[0046] Preferiblemente, el producto que contiene fruta según la invención no contiene productos lácteos.

[0047] En una forma de realización preferida, un espesante está presente en la composición a base de fruta. Los espesantes preferidos se seleccionan del grupo que comprende almidones, tales como almidón de maíz ceroso, harinas, preferiblemente harina de arroz, arroz, cereales y granos, pasta y/o galletas trituradas/molidas (harina de galleta) y/o gomas tales como goma xantana o goma carragenina. Preferiblemente, se añaden espesantes en la composición a base de fruta en el método de la invención en una cantidad de menos del 5 % en peso con respecto al peso total, más preferiblemente de menos del 3 % en peso con respecto al peso total, incluso más preferiblemente de menos del 2 % en peso con respecto al peso total. En una forma de realización, la composición a base de fruta comprende de 2,0 a 3,0 % en peso con respecto al peso total de un espesante, preferiblemente almidón, tal como almidón de maíz ceroso. En el contexto de la invención, la gelatina no se usa preferiblemente como espesante.

[0048] En una forma de realización preferida, el método según la invención incluye el paso de almacenar el producto final que contiene fruta en condiciones ambientales, típicamente a una temperatura en el rango de 15-25 °C o incluso 20-24 °C. Preferiblemente, el método comprende el paso de almacenar el producto en condiciones ambientales durante al menos 7 días, más preferiblemente al menos 2 meses, incluso más preferiblemente, al menos 4 meses en condiciones ambientales. En una forma de realización más preferida, el producto preparado mediante el método de la invención tiene un periodo de validez de al menos 12 meses en condiciones de almacenamiento ambiente, o incluso al menos 18 meses en condiciones de almacenamiento ambiente.

[0049] De acuerdo con otro aspecto más de la invención, el método es para reducir la descomposición microbiana de un producto que contiene fruta, más específicamente para reducir el número de esporas resistentes al calor en un producto que contiene fruta. Preferiblemente, el método es para lograr al menos una reducción de 3 log, preferiblemente al menos una reducción de 5 log e, incluso más preferiblemente, al menos una reducción de 7 log de las esporas resistentes al calor en el producto. En una forma de realización preferida

adicional, el método logra al menos una reducción de 3 log, preferiblemente al menos una reducción de 5 log e, incluso más preferiblemente, al menos una reducción de 7 log de las esporas resistentes al calor, tal como de *Alicyclobacillus acidoterrestris*, en el producto. El método para reducir el número de esporas resistentes al calor en un producto que contiene fruta da como resultado una reducción del número de esporas resistentes al calor hasta por debajo de 10^3 esporas/g, más preferiblemente por debajo de 10^2 esporas/g o incluso por debajo de 10 esporas/g. Más preferiblemente, la cantidad de esporas resistentes al calor está por debajo del límite de detección.

[0050] En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un producto que contiene fruta obtenible mediante el método de la presente invención.

[0051] El producto que contiene fruta preparado mediante el método de la invención tiene una densidad energética de entre 30 y 80 kcal por 100 g, preferiblemente 40-60 kcal/100 g de producto.

[0052] El producto que contiene fruta según la invención es preferiblemente vertible, untable o que se puede tomar con cuchara, más preferiblemente que se puede tomar con cuchara, que está listo para consumir. El producto que contiene fruta en el contexto de la invención se selecciona de entre "alimento para bebés", purés de frutas, productos untables de fruta, suspensiones, espumas/espumas ligeras, compotas, cremas, mermeladas y similares. Alternativamente, el producto de fruta untable puede usarse como un ingrediente alimentario o sistema aromatizante para producir otros productos. Por ejemplo, el producto puede usarse como sustituto de la leche o para mejorar productos tales como yogur, helado u otros productos adecuados que emplean frutas o sabores de frutas.

[0053] Preferiblemente, el producto que contiene fruta es estable en almacenamiento en condiciones ambientales durante 12-18 meses.

[0054] El "producto que contiene fruta" según la presente invención está destinado preferiblemente a ser consumido por un bebé/niño pequeño humano, preferiblemente de una edad entre 3-36 meses, más preferiblemente de entre 3-24 meses e, incluso más preferiblemente, de entre 3-18 meses. Por lo tanto, el producto que contiene fruta también puede denominarse alimento infantil que contiene fruta o incluso alimento para bebés que contiene fruta, preferiblemente un puré de frutas infantil o un puré de frutas para bebés.

[0055] El producto que contiene fruta obtenido mediante el método de la invención contiene menos de 10^3 esporas resistentes al calor por gramo, o incluso menos de 10^2 esporas por gramo. Preferiblemente, el producto que contiene fruta contiene menos de 10^3 , más preferiblemente menos de 10^2 o incluso menos de 10 esporas de *Alicyclobacillus acidoterrestris*. De la manera más preferible, el producto que contiene fruta no contiene esporas de *Alicyclobacillus acidoterrestris*. En una forma de realización preferida, el producto que contiene fruta obtenido mediante el método de la invención comprende al menos un 65 % en peso de un material de fruta con respecto al peso total, un pH de 3,0 a 4,5, una densidad de energía de entre 30 y 80 kcal por 100 g, y una viscosidad de entre 3,5 y 5,5 Pa.s a una velocidad de cizallamiento de 10 s^{-1} a 20 °C .

[0056] Todas las demás limitaciones y definiciones proporcionadas en el presente documento para el método según la invención se aplican *mutatis mutandis* al producto obtenido de este modo.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

1.1 Organismos de prueba

[0057] La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* DSM 1333 usada en este estudio se obtuvo de la Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares.

[0058] La cepa de *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 2498 usada en este estudio se obtuvo de la Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares. Esta cepa se aisló de zumo de manzana por Cerny y col. 1984. *A. acidoterrestris* es una bacteria grampositiva formadora de esporas, acidófila y resistente al calor.

[0059] Los cultivos madre se mantuvieron inmovilizados en perlas estériles a -80 °C en un Cryobank.

1.2 Preparación de suspensiones e inóculos de *Saccharomyces cerevisiae*

[0060] Un cultivo de veinticuatro horas de la cepa de *S. cerevisiae* DSM 1333 cultivada en caldo YPG (1 % extracto de levadura - Difco, 1 % peptona - Difco, 2 % glucosa - POCh) se centrifugó a 4 °C durante 10 minutos a $5900 \times g$, y las células sedimentadas se resuspendieron aseptícamente en solución salina con pH regulado con fosfato (PBS, pH 7,2) y se centrifugaron de nuevo. El procedimiento de lavado se repitió dos veces. Las suspensiones modelo de *S. cerevisiae* ($5,4-8,7 \text{ log ufc/ml}$) se prepararon en PBS y se dispensaron en porciones

de 2,5 ml en crioviales de plástico estériles (Simport, Canadá), por duplicado. En un preparado alimenticio infantil se inocularon células de *S. cerevisiae* (de la suspensión modelo) hasta 6 log ufc/g y se transfirieron a botellas (Bionova) en porciones de 25 g, por duplicado.

5 **1.3 Preparación de suspensiones e inóculos de *Alicyclobacillus acidoterrestris***

[0061] Una suspensión de cultivo reciente de *A. acidoterrestris* se extendió sobre 10 placas de agar de dextrosa de patata con un pH de 4,0 (Oxoid). Las placas inoculadas, envasadas en bolsas de plástico sellables para evitar el secado, se incubaron a 45 °C durante aproximadamente 10 días, hasta que se hubo desarrollado más del 90 % de esporas. El grado de esporulación se monitorizó por microscopía después de tinción con verde malaquita. Las placas de agar esporuladas se recolectaron mediante inundación con 2,5 ml de agua desionizada estéril y raspado con un asa de dispersión. Las esporas se lavaron por centrifugación tres veces (14 000 r.p.m. durante 10 min a 4 °C). Finalmente, los sedimentos de esporas se resuspendieron en 5 ml de agua desionizada estéril y se almacenaron a 4 °C hasta su uso. El número de esporas se evaluó después de diluciones en serie y la incubación posterior en agar BAT (Merck) durante 5 días a 45 °C. Justo antes de los experimentos, las esporas se suspendieron en un preparado alimenticio para bebés a aproximadamente 6 log ufc/g.

1.4 Alimento/puré para bebés que se puede tomar con cuchara

[0062] El preparado alimenticio para bebés utilizado en este estudio (14,5° Brix, pH 3,7) consistía en los siguientes ingredientes aptos para el consumo infantil: puré de manzana 64 %, puré de arándano 20 %, puré de pera Williams 14 %, harina de arroz 2 % y 0,04 % de vitamina C. Los purés utilizados se fabricaron a partir de fuentes autorizadas para el suministro de alimentos aptos para el consumo infantil y no contenían materias extrañas ni aditivos aparte de vitamina C (por ejemplo, colorantes, aromas, conservantes). El alimento para bebés obtenido es un puré o una composición que se puede tomar con cuchara como se vende típicamente en los supermercados, donde tiene su propio segmento de mercado. La actividad de agua (Aw) se midió usando un medidor de actividad de agua AQUALAB 3TE (Decagon Device Inc.). La Aw de la muestra, medida por triplicado, fue de 0,987.

30 **1.5 Enumeración de células viables y dañadas de *S. cerevisiae***

[0063] Las muestras se diluyeron en serie en diluyentes de recuperación máxima (Merck) y se extendieron en agar Sabouraud (Merck) y agar Sabouraud con NaCl al 7 % (POCh). Esta fue la concentración máxima de NaCl que no provocó una reducción en el recuento de colonias de células sin estrés de la cepa de *S. cerevisiae* DSM 1333. Las placas se incubaron a 25 °C durante 5 días. La diferencia entre las células viables (ufc en agar Sabouraud) y no dañadas (ufc correspondientes en agar Sabouraud con NaCl al 7 %) se usó para estimar los supervivientes dañados basándose en Somolinos y col., 2008 [Somolinos M, García D, Pagán R, Mackey B. Appl. Environ. Microbiol. 2008;74:7570-7577].

40 **1.6 Determinación del recuento de esporas de *A. acidoterrestris* supervivientes usando el método de placa**

[0064] El número de población superviviente se determinó usando el método de placa en agar BAT (Merck) mediante incubación durante 5 días a 45 °C. Las muestras se analizaron justo después del tratamiento de presión y después del almacenamiento durante el número indicado de días en condiciones ambientales (22-24 °C).

1.7 Pasos del proceso de alta presión hidrostática (APH)

50 [0065] Los pasos del proceso APH se llevaron a cabo utilizando un procesador de alimentos de laboratorio de alta presión, Tipo U4000, año de producción 2010, fabricado por el Institute of High-Pressure Physics, Unipress Equipment Division.

55 [0066] Los parámetros técnicos que pueden ajustarse incluyen una presión máxima de 600 MPa, una temperatura de funcionamiento de entre -10° y 80 °C, la cámara de muestra tiene un volumen de aproximadamente 1 litro y un espacio de muestra de 65 mm de diámetro y una altura de 284 mm. Como fluido de presión se emplearon agua destilada y polipropilenglicol (1:1). La presión se controla mediante un proceso de presión multiciclo completamente automatizado. Se generó una presión de hasta 500 MPa en 70-80 s; el tiempo de liberación fue de 2-4 s. La adquisición de datos permite la monitorización y el registro de todos los parámetros importantes del proceso, incluyendo la presión en el recipiente, las temperaturas en el recipiente y en las muestras, y se describen en el presente documento.

65 [0067] Esquema general de procesamiento de las muestras: se expusieron muestras de veinticinco gramos en botellas de HDPE (Bionova) a tratamiento de alta presión con 300, 400 o 500 MPa a temperaturas de 60 °C, 70 °C y 75 °C durante 5, 10 y 15 min, seguido de almacenamiento del puré tratado en condiciones ambientales durante varias semanas o incluso meses, durante los cuales se tomaron muestras en puntos de tiempo

seleccionados para el análisis microbiológico con el fin de determinar el deterioro del producto tratado. Los tiempos de presurización, como se ha mencionado, no incluyen el tiempo necesario para aumentar y liberar la presión. Los ensayos se llevaron a cabo usando dos muestras independientes de dos experimentos realizados de manera independiente. Se usaron muestras sin presión como controles. Después del tratamiento, las muestras se retiraron de la cámara y se almacenaron en condiciones ambientales a 22 - 24 °C para un análisis adicional. Las mediciones de temperatura y presión en línea mostraron que el proceso estaba bien controlado y que no se produjo ningún exceso en la temperatura de la muestra sometida. Por ejemplo, a un ajuste de temperatura de 70 °C, se midió una temperatura máxima en línea de 70,5 °C.

1.8 Análisis de viscosidad de alimento/puré para bebés que se puede timar con cuchara

[0068] El puré se puede extraer de un tarro y darse a un bebé con una cuchara. La determinación de la viscosidad dinámica a 20 °C se realizó usando un dispositivo RM 180 Rheomat Mettler Toledo usando el protocolo habitual para la medición de la viscosidad. Se aplicó el protocolo habitual para determinar la viscosidad: incluye un sistema de medición, que consiste en un tubo, lleno de la muestra (puré o bebida), acoplado con el cilindro interior giratorio, que se sumerge en el baño de un circulador refrigerado/calefactor F12 (Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Alemania). La temperatura aplicada durante la medición fue de 20 °C. La velocidad del cilindro se aumentó tomando mediciones a diferentes velocidades de cizallamiento (s⁻¹).

[0069] Se midió la viscosidad del alimento/puré para bebés que se puede tomar con cuchara preparado en el punto 1.4 y preparado según el método de la invención (como se describe en el punto 1.7 con la siguiente configuración: 70 °C/400 MPa/10 min), y se almacenó a 20 °C durante 4 meses). Los valores de viscosidad media medidos en 3 muestras se dan a continuación.

Velocidad de cizallamiento (s ⁻¹)	Viscosidad (Pa.s)
6,46	6,55
9,90	4,68
15,2	3,39
23,3	2,46
35,7	1,79
54,9	1,31
84,1	0,96
129,0	0,71

1.8 Resultados

[0070] La inactivación de cepas de *S. cerevisiae* DSM 1333 después del tratamiento con APH en todos los tipos de condiciones aplicadas fue de 5 log y se mantuvo a este nivel durante al menos nueve semanas de almacenamiento refrigerado o a temperatura ambiente (después de 9 semanas se terminó la prueba del periodo de validez). La inactivación bacteriana de las esporas de *A. acidoterrestris* también fue muy eficaz en una variedad de condiciones diferentes, dando como resultado una reducción de aproximadamente 6 log.

Tabla 1: Resultados de los parámetros de procesamiento indicados que indican el número de esporas de *A. acidoterrestris* supervivientes después de la inoculación en puré multifrutas (que contenía manzana, arándanos y pera Williams) de 10⁶ esporas por g de producto después del tiempo de almacenamiento indicado. A y B indican muestras duplicadas independientes. Se obtuvieron resultados similares después del almacenamiento de las muestras durante 21, 28, 42 y 63 días.

Condiciones de almacenamiento	Todas las muestras se almacenaron durante 7 días en condiciones ambientales							
Parámetros de proceso	Sin tratar		500 MPa/75 °C/5'		500 MPa/75 °C/10'		500 MPa/75 °C/15'	
Muestra	A	B	A	B	A	B	A	B
Recuento ufc/g	2,0×10 ⁵	3,1×10 ⁵	<10	10	<10	<10	<10	<10

[0071] También se obtuvieron buenos resultados con el ensayo a 400 MPa, a una temperatura de 75 °C durante 5, 10 y 15 minutos. En estas condiciones, las muestras se almacenaron durante un periodo de entre 7 y 63 días, dando recuentos de ufc suficientemente bajos para diversas de las condiciones analizadas.

Tabla 2: Resultados de los parámetros de procesamiento indicados que indican el número de esporas de *A. acidoterrestris* supervivientes después de la inoculación en puré multifrutas (que contenía manzana, arándanos y pera Williams) de 10⁶ esporas por g de producto después del tiempo de almacenamiento indicado. A y B indican muestras duplicadas independientes. Se obtuvieron resultados similares en las muestras inmediatamente después del proceso de alta presión hidrostática, así como durante periodos de almacenamiento prolongados (hasta 224 días).

Condiciones de almacenamiento	Todas las muestras se almacenaron durante 7 días en condiciones ambientales (22-24 °C).							
Parámetros de proceso	Sin tratar		400 MPa/70 °C/5'		400 MPa/70 °C/10'		400 MPa/70 °C/15'	
Muestra	A	B	A	B	A	B	A	B
Recuento ufc/g	1,4x 10 ⁵	n.d.	<10	10	<10	<10	30	<10

[0072] También se obtuvieron buenos resultados con el ensayo a 500 MPa, a una temperatura de 70 °C durante 5, 10 o 15 minutos, donde ya después de 7 días de almacenamiento se registraron recuentos de ufc bajos similares (<10 o 10). En estas condiciones, las muestras también se almacenaron durante hasta 63 días, dando esos recuentos de ufc bajos.

Tabla 3: Resultados de los parámetros de procesamiento indicados que indican el número de esporas de *A. acidoterrestris* supervivientes después de la inoculación en puré multifrutas (que contenía manzana, arándanos y pera Williams) de 10⁶ esporas por g de producto después del tiempo de almacenamiento indicado. A y B indican muestras duplicadas independientes. Se obtuvieron resultados similares para muestras que se habían almacenado durante períodos más cortos (por ejemplo, 28 y 28 días) y más largos (por ejemplo, 63 días).

Condiciones de almacenamiento	Todas las muestras se almacenaron durante 42 días en condiciones ambientales							
Parámetros de proceso	Sin tratar		400 MPa/60 °C/5'		400 MPa/60 °C/10'		400 MPa/60 °C/15'	
Muestra	A	B	A	B	A	B	A	B
Recuento ufc/g	2,7x 10 ⁶	3,2x 10 ⁶	20	20	-	10	<10	20

[0073] También se obtuvieron buenos resultados con el ensayo a 500 MPa, una temperatura de 60 °C durante 5, 10 y 15 minutos. En estas condiciones, las muestras se almacenaron durante un período de entre 7 y 63 días, dando recuentos de ufc suficientemente bajos para diversas de las condiciones analizadas.

1.9 Conclusión

[0074] El proceso de pasteurización a alta presión llevado a cabo de acuerdo con el ejemplo 1 permite obtener un producto con una reducción adecuada de esporas resistentes al calor indeseables.

Ejemplo 2

2.1 Análisis sensorial

[0075] Para validar la aceptación de los consumidores, se compararon varios atributos sensoriales de los productos de fruta obtenidos usando el proceso APH con productos obtenidos mediante tecnología de pasteurización en retorta convencional. Este tratamiento convencional se practica en la actualidad para asegurar que se obtengan productos que puedan almacenarse en condiciones ambientales durante periodos de tiempo prolongados sin dejar de ser seguros para que los bebés los consuman. Por lo tanto, con fines comparativos, se usó la misma fórmula a base de fruta producida en una fábrica obtenida usando un tratamiento térmico convencional para la producción comercial.

[0076] Los atributos sensoriales analizados incluyeron el color, el aspecto, el sabor, el olor y la consistencia, y se evaluaron de acuerdo con la característica de escala de seis puntos por expertos certificados en paneles de análisis sensorial de alimentos del Institute of Agriculture and Food Biotechnology, Varsovia, Polonia (acreditación n.º AB 452, concedida por PCA). Cada vez, al menos siete expertos evaluaron independientemente las muestras. Durante todos los períodos de almacenamiento, a los productos tratados con APH obtenidos se les dio un valor más alto para todos los atributos evaluados en comparación con las recetas procesadas de manera convencional.

2.2 Mediciones colorimétricas

[0077] Las mediciones colorimétricas se realizaron con el colorímetro CR-221 Chroma Meter (Minolta, Osaka, Japón) con iluminación circunferencial de 45° y medición de geometría de ángulo de visualización de 0°, tamaño de apertura de Ø 3 mm y fuente de luz D65 (lámpara de xenón pulsada). Se usó la escala de color CIE Lab (CIE L*a*b*) especificada por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE). Las coordenadas en el sistema de evaluación CIE Lab son: luminosidad L* (0 para negro, 100 para blanco), cromaticidad a* en un eje de verde (valores negativos) a rojo/magenta (valores positivos), y cromaticidad b* en un eje de azul (valores negativos) a amarillo (valores positivos). Los parámetros de color se midieron sin ningún pretratamiento como extracción o centrifugación de muestras. Antes del análisis, el instrumento se calibró con una baldosa cerámica blanca. Se llenaron cubetas de plástico estándar con 10 ml de longitud de trayectoria óptica con aproximadamente 3 ml de las muestras. Las cubetas se cubrieron con cartón en tres lados, excluyendo el lado orientado hacia el cabezal

de medición del colorímetro, para proporcionar un fondo negro. Las mediciones se realizaron en una sala sin fuentes de luz externas. Se registraron las coordenadas de color cuatro veces para cada muestra para garantizar una repetitividad de medición precisa, y se calcularon los valores medios. La medición del fondo se hizo en condiciones idénticas con el uso de una cubeta en blanco y cartón de fondo negro. Dado que las coordenadas combinadas proporcionan una mejor indicación del color que las individuales, los resultados en los cambios de color se expresan como la ΔE calculada usando los cálculos basados en el espacio de color CIE $L^*a^*b^*$ según

$$\Delta E_{12} = \sqrt{(L_1^* - L_2^*)^2 + (a_1^* - a_2^*)^2 + (b_1^* - b_2^*)^2}$$

donde $L^*a^*b^*$ se determinan según el estándar CIELAB76,

donde el ángulo de tono $h = \arctan(b^*/a^*)$,

Chroma C^* representa la saturación de color, es decir, las proporciones en las que el color se mezcla con negro, blanco o gris según

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

y ΔE es la diferencia de color total.

[0078] Cuanto mayor sea la delta E (ΔE), mayor será la diferencia de color entre la muestra analizada (tratada) y la muestra de referencia (no tratada). Una delta E (ΔE) por encima de 2 significa cambios visibles (incluyendo en el ojo no entrenado); una ΔE inferior a 2 puede ser detectable visiblemente por el ojo experto.

2.3 Resultados de la prueba de color

[0079] La diferencia total de color (ΔE) se midió en muestras preparadas como se ha descrito anteriormente en el punto 1.4. Las muestras se procesaron mediante métodos según la invención (utilizando una presión de 500 MPa y 400 MPa, cada una durante 10 y 15 min, a 70 °C) y la misma receta de muestras de alimentos para bebés a base de fruta se procesó mediante una técnica térmica estándar (pasteurización: 87 °C, 41 minutos). La diferencia total de color se evaluó en las muestras inmediatamente después del tratamiento, así como durante el almacenamiento tanto a temperatura ambiente como a temperatura refrigerada (de 2 a 7 °C) durante 14, 28, 42, 56 y 70 días.

[0080] Se observaron diferencias significativas en el color total (es decir, todas las $\Delta E > 3,5$) entre todas las muestras procesadas mediante el método según la invención en comparación con las muestras pasteurizadas inmediatamente después del procesamiento y durante todo el almacenamiento hasta 70 días (cuando se detuvo el análisis) a temperatura ambiente. En almacenamiento refrigerado, se observó que la $\Delta E > 3,5$ hasta 28 días y aún se observaron cambios visibles ($\Delta E > 2$) en el día 140 de almacenamiento.

2.4 Conclusión

[0081] Todos los atributos sensoriales analizados con respecto al olor, sabor, aspecto y consistencia (datos no mostrados) y color mejoraron con respecto a los purés de frutas obtenidos mediante el tratamiento térmico convencional. La aceptación de los purés de frutas por el consumidor se considera mejorada para todos los atributos analizados, en particular para la medición del color.

Ejemplo 3

[0082] Se obtuvo zumo de naranja de tres marcas diferentes de un supermercado local y se analizó la reducción de esporas de *Alicyclobacillus acidoterrestis* según el procedimiento mencionado en el ejemplo 1-1.7.

Muestras:

[0083]

Zumo de naranja Hortex (concentrado pasteurizado al 100 % y envasado comercialmente en una botella de 1 l, número de lote 10.2019 1006QB31 con un contenido de hidratos de carbono de 10,6 g/100 ml, de los cuales 10,5 g/100 ml son azúcares; Brix medidos: 11,46 °Bx; viscosidad a 841 s⁻¹: 0,006 Pa.s);

Zumo de naranja Cappy (concentrado pasteurizado al 100 % y envasado comercialmente en una botella de 1 l, número de lote 24,07,2019 L22N00:51WS con un contenido de hidratos de carbono de 8,9 g/100 ml, de los cuales 8,9 g/100 ml son azúcares; Brix medidos: 11,15°Bx); y

Zumo de naranja Tymbark (concentrado pasteurizado al 100 % al que se añadió vitamina C, envasado comercialmente en una botella de 1 l, número de lote 08.2019 L81121FKF con un contenido de hidratos de

carbono de 10 g/100 ml, de los cuales 10 g/100 ml son azúcares; Brix medidos: 11,04 °Bx; viscosidad a 841 s⁻¹: 0,006 Pa.s).

[0084] Los sólidos solubles (°Bx) se midieron mediante la técnica estándar, usando un refractómetro (MS REF 090L My-Soft). La actividad de agua (Aw) de los zumos de naranja comerciales se midió usando un medidor de actividad de agua AQUALAB 3TE (Decagon Device Inc.). La Aw de las muestras fue de aproximadamente 0,991.

[0085] La determinación de esporas inactivadas se hizo usando el método de placas extendidas de BAT-agar como se describe en el ejemplo 1.

Resultados

[0086]

Tabla 4: Resultados de los parámetros de procesamiento indicados que indican el número de esporas de *A. acidoterrestis* supervivientes después de la inoculación en muestras de zumo de naranja disponible en el mercado de aproximadamente 10⁶ esporas por g de producto. Las muestras se analizaron inmediatamente después de ejecutar el proceso de alta presión hidrostática. A y B indican muestras duplicadas independientes. Se obtuvieron resultados similares para el zumo de naranja Tymbark.

Parámetros de proceso	Sin tratar		400 MPa/60 °C/10'		Sin tratar		400 MPa/60 °C/10'	
	Hortex A	Hortex B	Hortex A	Hortex B	Cappy A	Cappy B	Cappy A	Cappy B
Recuento ufc/g	6,5×10 ⁵	9,4×10 ⁵	1,6×10 ³	1,8×10 ³	1,1×10 ⁸	1,1×10 ⁸	2,5×10 ³	4,3×10 ³

Conclusión

[0087] Mientras que el método de la invención logró una reducción logarítmica de 5 a 6 para muestras de puré de fruta cuando se analizaron las esporas supervivientes inmediatamente después de que se ejecutase el procesamiento (véase el ejemplo 1), en estas condiciones, se logró una simple reducción logarítmica de 2 a 3 en muestras de zumo de naranja. Es decir, este ejemplo confirma los resultados de Sokolowska y col (Polish Journal of Microbiology 2015, Vol. 64, No 4, 351-359) donde se obtiene una reducción logarítmica máxima de la cantidad de *Alicyclobacillus acidoterrestis* en germinación resistente al calor. Se obtuvieron esporas de hasta aproximadamente 2 log. Este valor se considera inadecuado e inseguro para el presente fin, que es obtener composiciones a base de fruta que están destinadas a almacenarse en condiciones ambientales y destinadas a ser ingeridas por bebés o niños pequeños. Sorprendentemente, se descubrió que unos ajustes de procesamiento similares aplicados sobre una matriz alimentaria diferente proporcionaron resultados mejorados y satisfactorios.

Análisis estadístico

[0088] Se utilizaron el análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Duncan usando StatSoft® Statistica 7.1 para analizar la significación de las diferencias (p < 0,05) entre los valores logarítmicos medios de las células supervivientes después del tratamiento. Se usó Microsoft Office Excel 2007 para la regresión lineal y exponencial de los datos representados en curvas de supervivencia y para calcular el coeficiente de determinación (R²).

Conclusión global

[0089] Los resultados experimentales indican que la tecnología de procesamiento por alta presión hidrostática es una técnica adecuada para conservar productos alimenticios infantiles a base de fruta. Se demostró que la presurización junto con las condiciones térmicas aplicadas tiene un efecto positivo en la calidad y seguridad del producto infantil a base de fruta, así como en atributos sensoriales que obtuvieron una valoración más alta en comparación con la receta procesada estándar (después de la pasteurización en retorta).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para preparar un producto que contiene fruta que contiene menos de 10^3 esporas resistentes al calor por gramo del producto que contiene fruta, donde el método comprende los pasos de:
- 10 a. proporcionar una composición a base de fruta que comprende al menos un 65 % en peso, con respecto a los sólidos totales, de un material de fruta, donde la composición tiene un pH de entre 3,0 y 4,5 y un contenido total de sólidos de entre el 10 y el 30 % en peso del producto, en condiciones ambientales; y
- 10 b. someter la composición a base de fruta a una presión de entre 300 MPa y 500 MPa y a una temperatura de entre 65 °C y 80 °C, durante 2 a 30 minutos,
- y donde el producto que contiene fruta se selecciona de entre alimentos para bebés, purés de frutas, productos untables de frutas, suspensiones, espumas/espumas ligeras, compotas, cremas y mermeladas.
- 15 2. Método según la reivindicación 1, donde el producto que contiene fruta es un alimento para bebés.
3. Método según las reivindicaciones 1 o 2, donde la temperatura usada en el paso (b) está entre 65-74 °C.
- 20 4. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el período de tiempo está entre 3-26 minutos, más preferiblemente 5-22 minutos e, incluso más preferiblemente, entre 7-18 minutos.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición a base de fruta tiene un pH de entre 3,2 y 4,2.
- 25 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el material de fruta se selecciona del grupo que comprende manzana, pera, bayas, plátano, cereza, mango, melocotón, albaricoque o combinaciones de estos.
- 30 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición a base de fruta tiene una viscosidad de 3,5 a 5,5 Pa.s a una velocidad de cizallamiento de 10 s^{-1} a 20 °C y/o un valor Brix de al menos 12 °Brix, preferiblemente al menos 14 °Brix.
- 35 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el método no incluye el paso de añadir un conservante antimicrobiano antes o después del paso (b).
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el contenido total de sólidos del producto está entre el 10,5-28 % en peso.
- 40 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el producto comprende menos del 10 % en peso de azúcar con respecto al peso del producto, preferiblemente donde el azúcar es sacarosa.
- 45 11. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el método es para aumentar el periodo de validez de un producto que contiene fruta a temperatura ambiente y/o para mejorar las propiedades organolépticas de un producto que contiene fruta almacenado a temperatura ambiente.
- 50 12. Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el producto que contiene fruta se puede verter, untar o se puede tomar con cuchara.
13. Producto que contiene fruta obtenible mediante el método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
14. Producto que contiene fruta según la reivindicación 13, donde el producto tiene un periodo de validez de 12 a 18 meses cuando se almacena a temperatura ambiente.
- 55 15. Producto que contiene fruta según la reivindicación 13 o 14, donde el producto es un puré de frutas para bebés.