

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 488**

51 Int. Cl.:

A01N 3/00 (2006.01)

A23B 7/10 (2006.01)

A23B 7/157 (2006.01)

A23L 3/3508 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2021** **PCT/EP2021/078675**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2022** **WO22079277**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2021** **E 21794149 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2024** **EP 4009785**

54 Título: **Método para conservar alimentos frescos**

30 Prioridad:

16.10.2020 EP 20202194

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.07.2024

73 Titular/es:

SINGH, BENJAMIN AMIT (100.0%)
Friedrichstraße 40
33615 Bielefeld, DE

72 Inventor/es:

SINGH, BENJAMIN AMIT

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 975 488 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 para conservar alimentos frescos

5 Campo técnico

La presente invención se refiere al campo técnico de la conservación de alimentos, en particular, a la conservación de alimentos frescos, tal como productos frescos, como frutas, verduras y hierbas.

10 Antecedentes de la invención

La conservación de alimentos implica prevenir el crecimiento de microorganismos indeseados, la ralentización de la oxidación y la inhibición y/o reversión de procesos que conducen al deterioro visual, tal como la reacción del oscurecimiento de los alimentos frescos, en particular de los productos frescos cortados, en particular de verduras, frutas y hierbas. Se conocen muchos procesos aplicables a la conservación de alimentos, que pueden implicar diversos procedimientos de conservación de alimentos. En muchos procesos, el carácter de los alimentos procesados en cuanto a apariencia y sabor cambia fundamentalmente. A diferencia de tales procesos, es deseable en muchos casos hacer que los alimentos sean más duraderos y prolongar su capacidad de almacenamiento al tiempo que se conservan tantas características como sea posible, tales como el sabor, la textura, el olor y la apariencia óptica. Además, muchos procesos conocidos solo son adecuados para tratar uno o más aspectos seleccionados de la conservación de los alimentos, tales como la prevención del oscurecimiento o la ralentización de la oxidación, pero no al mismo tiempo que la inhibición de microorganismos, tales como bacterias y levaduras o viceversa. En particular, para la conservación de productos frescos, tales como frutas, verduras y hierbas frescas, se desea proporcionar un proceso de conservación, que sea capaz de resolver al mismo tiempo los aspectos de conservación más relevantes: oxidación reducida, tratamiento antioscurecimiento e inhibición o reducción de microorganismos, tales como bacterias, hongos y/o levaduras. El oscurecimiento indeseado de productos frescos puede ocurrir, por un lado, debido a la oxidación o a reacciones enzimáticas (denominada también oscurecimiento enzimático) y por otro, el oscurecimiento indeseado puede observarse después de los tratamientos de conservación debido a la decoloración causada por daño tisular.

En el documento EP 3338563 A1 se describe un método para la conservación de productos frescos, en particular de frutas y verduras cortadas, en donde se usa una solución acuosa que comprende carbonato de potasio y al menos una fuente de iones ascorbato e/o isoascorbato con una relación molar muy específica en el intervalo de 1,00:0,95 a 1,00:0,50 para prevenir el oscurecimiento. En este sentido, la solución en forma de una mezcla de todos los componentes se aplica sobre productos frescos para conservar los productos frescos y prolongar la vida útil de las frutas y verduras procesadas. La mezcla allí descrita no se usa para prevenir el deterioro por microorganismos, pero tiene propiedades antioxidantes y de antioscurecimiento.

La patente KR101848788B1 describe el procesamiento de frutas que comprende una etapa de preparación de frutas, una etapa de desinfección, de corte o de eliminación de partes de frutas, dependiendo del tipo de fruta y una etapa de pretratamiento en la que se quita la piel, una etapa de lavado en la que las frutas pretratadas se sumergen en un líquido de inmersión y se lavan y una etapa de deshidratación de la fruta lavada. Específicamente, la desinfección comprende la aplicación de 200 ppm de cloro y la etapa de lavado comprende la aplicación de una mezcla de una solución acuosa que contiene ácido ascórbico e hidrogenocarbonato de sodio.

La patente US 2012/0045555 A1 describe un proceso para conservar fruta recién cortada mediante la aplicación de una solución de conservación de fruta fresca que contiene agua, ácido ascórbico, ascorbato de calcio, hidrato de carbono, cloruro de sodio, cloruro de magnesio, bicarbonato de potasio, ácido málico.

La solicitud de patente WO 94/12041 describe un proceso para conservar frutas o verduras recién cortadas para conservar su apariencia natural, incluyendo el remojo de frutas o verduras cortadas en una solución acuosa diluida que contiene iones de sodio y/o potasio, iones calcio, iones cloruro, ácido ascórbico o iones de ascorbato (o sus isómeros o derivados) y ácido cítrico o iones de citrato o ácido málico o iones de malato (o sus isómeros o derivados), durante un corto periodo de tiempo.

La aplicación de ascorbatos metálicos o combinaciones de ácidos ascórbicos y sales metálicas en el tratamiento de frutas, verduras y otros alimentos para reducir la contaminación microbiana, la prevención de la coloración y la conservación, también se describen en los documentos JP06-181684, EP 0141875 y WO 00/30460, que necesariamente comprenden ácido ascórbico o una de sus sales, carbonato sódico o carbonato potásico, así como ácido cítrico o una sal del mismo y un compuesto de sulfito o bisulfito, cada uno de ellos estando presente en una cantidad del 10 al 40 %. Las soluciones allí descritas contienen todos los componentes en una sola mezcla.

El documento US 2012/045555 A1 se relaciona con un conservante de fruta fresca, en particular, al reducir la oxidación de las superficies cortadas expuestas de la fruta. El conservante comprende ácido ascórbico, ascorbato de calcio, hidrato de carbono, cloruro de sodio, cloruro de magnesio, bicarbonato de potasio y ácido málico en una sola mezcla.

El documento KR20130141017 describe composiciones líquidas para prevenir el oscurecimiento de frutas, las composiciones que comprenden 1,5 % en peso de vitamina C, 0,3 % en peso de carbonato de potasio y 98,2 % en peso de agua, dando como resultado una relación molar de cationes de potasio a aniones de ascorbato de 1:1.96, en donde los componentes están presentes en una sola mezcla.

5 Con ello, el estado de la técnica proporciona principalmente métodos para conservar productos frescos en los que se aplica una única solución de conservación en una etapa sobre el producto fresco. Las mezclas de conservación en una sola etapa conocidas pueden contener ascorbato e/o isoascorbato, a menudo junto con carbonatos o bicarbonatos. Tales composiciones son particularmente adecuadas para evitar la oxidación y el oscurecimiento de los
10 productos frescos, pero son menos adecuadas para evitar el deterioro por microorganismos. En todo caso, tales conservantes conocidos y descritos solo tienen propiedades desinfectantes débiles y pueden producirse efectos tampón o reacciones secundarias dentro de las mezclas que se oponen a un fuerte efecto antimicrobiano. Asimismo, la combinación de principios activos en una sola solución para inducir varios efectos muy diferentes simultáneamente, tal como el efecto antimicrobiano, el efecto antioxidante y el efecto antioscurecimiento, ofrece problemas en la
15 preparación de una formulación adecuada y eficaz. De forma adicional, las soluciones para preservar los productos frescos del deterioro por microorganismos utilizan desinfectantes activos o compuestos desinfectantes, que pueden tener un potencial dañino y no están permitidos para la conservación de alimentos en todo el mundo, tal como desinfectantes a base de cloro, por ejemplo. Tales desinfectantes fuertes muy a menudo tampoco se aceptan por el consumidor. Los residuos que influyen en el sabor indeseado en los alimentos tratados también deben evitarse. Las
20 composiciones de conservación conocidas no logran abordar el carácter antimicrobiano en su proceso y solo proporcionan la composición de la solución final. Normalmente, los alimentos se desinfectan con un desinfectante común y a continuación, se tratan con una solución de ascorbato.

25 Los métodos de conservación de alimentos que utilizan dos o más etapas de tratamiento separadas con dos o más soluciones conservantes diferentes se conocen, por ejemplo, a partir de los documentos WO 2013/079903, EP 1574135A1, US 6.500.476 y US 5.919.507.

El documento WO 2013/079903 proporciona un método para la protección contra el oscurecimiento enzimático utilizando una solución de ascorbato de calcio y un inhibidor de enzimas, que es un acidulante capaz de reducir el pH
30 por debajo de 4. El método descrito en ese documento puede comprender una primera etapa opcional de sumergir previamente el producto en una solución con un agente quelante.

El documento EP 1574135A1 describe un procedimiento de conservación de dos etapas en el que se aplica una primera solución ácida con un pH de 1,5 a 4,5 al producto para reducir la concentración microbiana, seguido de un
35 segundo tratamiento de antioscurecimiento mediante la aplicación de una solución con un pH de 7 a 9 que contiene un agente quelante y un antioxidante.

Si bien el documento WO 2013/079903 no proporciona ningún tratamiento para inhibir o reducir el deterioro microbiano, el documento EP 1574135A1 utiliza una solución ácida para inhibir a los microorganismos. Tal tratamiento
40 con ácido conduce a una influencia indeseada del sabor del producto tratado y proporciona una eficacia antimicrobiana insuficiente. Además, ambos métodos requieren el uso de agentes quelantes, lo que es indeseable por razones de regulación alimentaria y una admisibilidad muy limitada en el procesamiento de alimentos en la Unión Europea.

El documento US 6.500.476 describe un procedimiento de conservación de tres etapas, que comprende una primera
45 etapa de poner en contacto las setas con una solución alcalina de pH alto de 10,5 a 11,5 para reducir los microorganismos, seguida de una segunda etapa de neutralización con un tampón neutralizante de ácidos orgánicos y una sal de un ácido orgánico y posteriormente, seguida de una tercera etapa de tratamiento antioscurecimiento con antioxidantes, una fuente de calcio y un agente quelante. En este sentido, la primera solución alcalina se prepara preferentemente con carbonatos y bicarbonatos. La segunda solución neutralizante es, sustancialmente, sin ácido
50 eritórbito y eritorbato de sodio. La tercera solución antioscurecimiento comprende eritorbato de sodio, ácido eritórbito, ácido ascórbico o ascorbato de calcio (o L-cisteína) como la inhibidora del oscurecimiento. Con ello, el proceso allí descrito necesita una etapa adicional de lavado y neutralización antes de realizar el tratamiento de antioscurecimiento.

De modo similar, el documento US 5.919.507 describe un procedimiento de conservación con una solución alcalina
55 de pH alto de 9,5 a 11,0 para reducir los microorganismos y utiliza un tratamiento de dos etapas, en donde la segunda etapa de tratamiento comprende lavar y neutralizar las setas tratadas con una solución neutralizante de pH de ácido eritórbito y eritorbato de sodio en una proporción específica de 1:4. Al igual que en el documento US 6.500.476, el proceso de dos etapas descrito en el documento US 5.919.507 utiliza preferentemente carbonatos y bicarbonatos para preparar la solución alcalina y preferentemente añade EDTA como agente quelante a la segunda solución neutralizante
60 y de antioscurecimiento.

Como se ha mencionado anteriormente, el uso de agentes quelantes para lograr el antioscurecimiento es menos deseable debido a las limitaciones reglamentarias, en particular en el tratamiento de productos frescos. Además, los
65 inventores de la presente invención descubrieron que un tratamiento antimicrobiano como se describe en los documentos US 6.500.476 y US 5.919.507 con soluciones que tienen un pH de 11,5 o menos solo proporciona una eficacia antimicrobiana limitada. Incluso si estos documentos de la técnica anterior pueden proporcionar resultados de

buenos recuentos microbianos totales en placa, esto solo tiene una importancia limitada con respecto a la vida útil de los productos, dado que un producto con un alto recuento microbiano total aún se puede comercializar. El documento US 5.919.507 explica en la columna 2, líneas 62 a 66, que un tratamiento conservante altamente alcalino está limitado con respecto a los límites superiores de pH y que el tiempo de exposición de la solución debe controlarse cuidadosamente para optimizar la destrucción bacteriana al tiempo que se evita la sobreexposición contraproducente a extremos de pH, que da como resultado un daño químico del tejido.

La invención descrita en el presente documento combina ambos aspectos, antioscurecimiento/antioxidación e inhibición de microorganismos, al tiempo que es más eficaz y proporciona un procedimiento de dos etapas eficaz en cuanto a coste y esfuerzo. Además, la presente invención permite proporcionar un proceso conservante sin los aspectos negativos de los desinfectantes comunes, tales como el deterioro de las propiedades físicas y de las características del producto tratado y sin las limitaciones reglamentarias de los quelantes comunes antioscurecimiento. Sorprendentemente, los inventores de la presente invención descubrieron además que con el nuevo proceso descrito en el presente documento fue posible aplicar soluciones antimicrobianas alcalinas incluso más altas, con valores de pH > 11,5, a productos frescos sin deterioro o daño químico del producto tratado, como se habría esperado de la enseñanza del documento US 5.919.507. En particular, con el método de la presente invención se puede evitar el oscurecimiento indeseado debido a la decoloración provocada por el daño tisular después del tratamiento de conservación.

Problema a resolver

El aumento de las distancias de transporte y el requisito de proporcionar y almacenar alimentos convenientes, especialmente productos frescos cortados, por ejemplo, en colegios, cafeterías o restaurantes de comida rápida, requiere una mayor conservación y vida útil. La prolongación de la vida útil está limitada por la contaminación microbiana debida a un pretratamiento antimicrobiano ineficaz. Además, la vida útil prolongada y la conservación frente al deterioro comprenden la protección del producto fresco frente al deterioro visual y textural, por ejemplo, debido a la oxidación, encogimiento y oscurecimiento indeseado. Por tanto, para proporcionar un pretratamiento antimicrobiano mejorado eficaz, es deseable que no cambie la estructura, sabor y apariencia de los alimentos en un grado inaceptable y que se pueda prolongar la vida útil de los productos frescos.

El problema a resolver por la presente invención es la provisión de un método mejorado para la conservación de productos frescos. En particular, la contaminación microbiana debe controlarse, al tiempo que deben evitarse los efectos indeseados en la apariencia, el sabor y la textura, como, por ejemplo, la reacción de oscurecimiento indeseada debida a la oxidación o debida a la decoloración causada por daño tisular después del tratamiento de conservación, el cambio de estructura, el estado de crujiente, los residuos que influyen en el sabor y los cambios similares. En un aspecto adicional, es deseable proporcionar un proceso de conservación eficaz, que combine los dos aspectos de conservación más importantes en el tratamiento de productos frescos y que proporcione al mismo tiempo un tratamiento antimicrobiano altamente eficaz y un tratamiento antioscurecimiento/antioxidante. Tal proceso de conservación debería evitar el oscurecimiento indeseado debido a la decoloración provocada por el daño tisular después del tratamiento de conservación. Esto significa que un objeto particular de la invención se refiere a proporcionar un nuevo proceso de conservación de alimentos altamente eficaz, que se equilibra entre un pH alcalino alto para lograr una actividad antimicrobiana altamente eficaz y la evitación del deterioro textural o estructural indeseado, tal como el grabado, el daño químico o la decoloración (oscurecimiento) del producto tratado.

El proceso debe ser fácil de aplicar y por tanto, eficaz en términos de coste y esfuerzo. Además, el proceso debe ser adecuado para evitar limitaciones reglamentarias, en particular, logrando el antioscurecimiento incluso sin el uso de agentes quelantes. En un aspecto particular, el nuevo proceso debería proporcionar un método de conservación altamente eficaz que permita combatir no solo las bacterias sino que también sea altamente eficaz contra el deterioro microbiano causado por levaduras.

La invención resuelve este problema, proporcionando un nuevo método para conservar productos frescos, que comprende la aplicación de dos soluciones diferentes en un procedimiento de dos etapas como se describe en el presente documento en detalle. El nuevo proceso permite mejorar el rendimiento en cuanto a la contaminación antimicrobiana, incluida la actividad contra bacterias y levaduras y con ello la extensión de la vida útil, mientras mantiene la textura y la frescura, así como las propiedades gustativas y la buena apariencia óptica. Los alimentos tratados con el proceso reivindicado muestran que las levaduras, las bacterias y los hongos se pueden reducir hasta en 3 log. Al mismo tiempo, su carácter sensorial mejora considerablemente, en comparación con las técnicas de procedimiento comunes. Sorprendentemente, el nuevo proceso no solo inhibe los efectos de oscurecimiento indeseados de los productos frescos, sino que también puede revertir el oscurecimiento hasta cierto punto, cuando se aplica a productos frescos, tales como frutas cortadas, verduras y hierbas, en particular. Con ello, sorprendentemente, el nuevo proceso terminó proporcionando un método de conservación muy eficaz que permite evitar el oscurecimiento indeseado debido a la decoloración causada por el daño tisular después del tratamiento de conservación. Las soluciones aplicadas en el nuevo proceso están específicamente diseñadas para realizar sus funciones específicas para maximizar la eficacia y no realizar múltiples efectos simultáneamente, como muchas otras soluciones individuales. Además, el nuevo proceso permite un uso más eficaz y seguro de las soluciones de conservación y un almacenamiento estable de las soluciones de conservación durante mucho tiempo sin deterioro, por ejemplo, debido

a la precipitación de los compuestos activos.

Descripción detallada de la invención

- 5 La presente invención se refiere a un método para conservar alimentos frescos, tal como productos frescos, en particular, que comprende las siguientes etapas:
- (a) proporcionar una solución acuosa (1), en la que la solución (1) es una solución alcalina con un valor de pH $\geq$ 11,5;
 - 10 (b) proporcionar una solución acuosa (2), que comprende del 0,5 % al 25 % p/p de iones ascorbato e/o isoascorbato;
 - (c) aplicar la solución (1) sobre el alimento fresco; y
 - (d) en una etapa posterior, aplicar la solución (2) sobre el mismo alimento fresco.
- 15 El alimento fresco de acuerdo con la presente invención es preferentemente un producto fresco.
- La solución (1) es una solución alcalina con un valor de pH $> 11,5$, preferentemente de $\geq 12,0$. La solución alcalina (1) se debe componer para que sea eficaz a fin de desinfectar los alimentos frescos tratados, en particular, los productos frescos y debe evitar una mayor contaminación microbiana, retrasar el crecimiento de microorganismos y hasta cierto
- 20 punto reducir la contaminación por microorganismos en los alimentos frescos. La solución alcalina (1) debe ser eficaz contra uno o más del grupo de bacterias, levaduras y hongos, en particular, es deseable la eficacia contra al menos bacterias y levaduras. Resultó que se puede lograr suficiente actividad contra las levaduras aplicando una solución alcalina que tenga un pH de $> 11,5$, preferentemente de $\geq 12,0$.
- 25 En el sentido de la presente invención, el valor de pH de las soluciones se mide con un medidor de pH de laboratorio común para soluciones acuosas a temperatura ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$), haciendo uso de la determinación electroquímica del valor de pH.
- Los compuestos alcalinos adecuados para preparar la solución alcalina (1) se pueden seleccionar de sales de metales alcalinos o alcalinotérreos o de una mezcla de los mismos. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos preferidas
- 30 utilizadas para preparar la solución (1) son sales de sodio, potasio, calcio y magnesio o de mezclas de los mismos. Más preferentemente se usan sales de sodio o de potasio o de mezclas de los mismos. Preferentemente, se utilizan hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos para preparar la solución (1).
- 35 Entre los compuestos alcalinos se prefieren los hidróxidos, tal como hidróxido de sodio y potasio, en particular, los cuales son las bases más fuertes, más estables y solubles de los hidróxidos entre los metales alcalinos. El uso de una base fuerte puede garantizar una infestación microbiana mínima en los alimentos procesados debido a su alto potencial antimicrobiano y desinfectante.
- 40 Una realización preferida de la invención se refiere a un método para conservar alimentos frescos, en donde la solución (1) comprende al menos un hidróxido, seleccionado del grupo que consiste en hidróxido de calcio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio o mezclas de los mismos, preferentemente hidróxido de sodio e hidróxido de potasio o mezclas de los mismos. Aunque la solución alcalina (1) puede comprender al menos un hidróxido mezclado con uno o más carbonatos, en una realización preferida, la solución (1) no comprende un compuesto de carbonato.
- 45 El al menos un hidróxido en la solución (1) se usa preferentemente en una concentración de al menos un 0,01 % p/p, preferentemente de al menos un 0,1 %, más preferentemente de al menos un 0,5 % p/p y lo más preferentemente de al menos un 1,0 % p/p.
- 50 El límite superior del al menos un hidróxido en la solución (1) es preferentemente un 5,0 % p/p, más preferentemente un 4,0 % p/p, más preferentemente un 3,0 % p/p y lo más preferentemente un 2,0 % p/p.
- En una realización preferida adicional, la solución (1) comprende al menos un hidróxido con una concentración de un 0,01 % a un 5,0 % p/p, preferentemente, con una concentración de un 0,1 % a un 4,0 % p/p, más preferentemente
- 55 con una concentración de un 0,5 % a un 3,0 % p/p y lo más preferentemente con una concentración de un 1,0 % a un 2,0 % p/p. Se puede seleccionar un intervalo adecuado entre los valores inferior y superior de acuerdo con las condiciones específicas del proceso, de la composición de la solución (2) y del alimento a tratar.
- Estos intervalos y límites de concentración permiten una reducción suficiente de las infestaciones microbianas en los
- 60 alimentos procesados, por un lado, sin causar daños irreversibles y un deterioro del sabor de los alimentos procesados, por otro.
- Los intervalos de concentración seleccionados proporcionan un buen equilibrio entre la actividad de conservación y la protección del alimento tratado contra el deterioro sensorial o textural.
- 65 Se prefiere además que las soluciones usadas en el método de la presente invención sean sin desinfectantes

- agresivos y potencialmente dañinos y que el método no comprenda una etapa de desinfección usando tales desinfectantes indeseados. Los desinfectantes indeseados y evitados comprenden, en particular, desinfectantes a base de cloro, tal como el clorito de sodio y otras sales de ácido cloroso, hipocloritos, ácido hipocloroso y dióxido de cloro, pero también ácido peroxiacético, compuestos de amonio cuaternario, alcohol etílico, alcohol isopropílico, formaldehído y peróxido de hidrógeno. Tales desinfectantes indeseados son potencialmente dañinos para los alimentos o para el consumidor. Las soluciones utilizadas en la presente invención son preferentemente sin estos compuestos.
- La solución (2) comprende de un 0,5 % a un 25,0 % p/p de iones ascorbato e/o isoascorbato.
- Preferentemente, la solución (2) comprende al menos un 0,5, al menos un 0,75, al menos un 1,0, al menos un 1,5, al menos un 0,75, al menos un 2,0 % p/p de iones ascorbato e/o isoascorbato.
- El límite superior de los iones ascorbato e/o isoascorbato en la solución (2) es un 25,0 % p/p, preferentemente un 24,0 %, un 23,0, un 22,0, un 21,0, un 20,0, un 19,0, un 18,0, un 17,0, un 16,0, un 15,0, un 14,0, un 13,0, un 12,0, un 11,0, un 10,0, un 9,0, un 8,0, un 7,0, un 6,0 % p/p.
- Más preferentemente, la solución (2) comprende de un 1,0 % a un 15,0 % p/p, incluso más preferentemente de un 1,5 % a un 10 % p/p y lo más preferentemente, de un 2,0 % a un 6,0 % p/p de iones ascorbato e/o isoascorbato.
- Se puede seleccionar un intervalo adecuado entre los valores inferior y superior de acuerdo con las condiciones específicas del proceso, de la composición de la solución (1) y del alimento a tratar.
- En principio, los iones ascorbato e/o isoascorbato pueden derivar del ácido ascórbico y del ácido isoascórbico. Preferentemente, se usa una sal de ácido ascórbico y/o ácido isoascórbico para preparar las soluciones de la presente invención, tal como, preferentemente, una sal de metal alcalino o alcalinotérreo de ácido ascórbico o ácido isoascórbico o mezclas de los mismos. Las sales preferidas se seleccionan de ascorbato de calcio, isoascorbato de calcio, ascorbato de potasio, isoascorbato de potasio, ascorbato de sodio, isoascorbato de sodio, ascorbato de magnesio, isoascorbato de magnesio y mezclas de los mismos. Se prefiere particularmente, el uso de ascorbato de potasio, isoascorbato de potasio, ascorbato de sodio, isoascorbato de sodio o mezclas de los mismos. Específicamente, estos metales alcalinos y alcalinotérreos son necesarios como un nutriente esencial por los organismos para realizar las funciones necesarias para la vida, ya que no pueden ser sintetizados bioquímicamente por el cuerpo humano. Por tanto, el uso de estas sales de ascorbato e/o isoascorbato es beneficioso. Además, la acerola se puede utilizar como fuente de iones de ascorbato o cualquier otra fuente rica en ácido ascórbico (vitamina C) adecuada.
- También es posible utilizar derivados de ascorbato e/o isoascorbato, como ésteres o éteres de ascorbato, tales como palmitato de ascorbilo o éter etil ascórbico, en particular.
- La solución (2) tiene un valor de pH preferido de $\leq$ pH 8,0, preferentemente de $\leq$ pH 7,5, más preferentemente de $\leq$ pH 7,0, más preferentemente de $\leq$ pH 6,5, más preferentemente $\leq$ pH 6,0, más preferentemente de $\leq$ pH 5,5, más preferentemente de $\leq$ pH 5,0, más preferentemente de $\leq$ pH 4,5, aún más preferentemente $\leq$ pH 4,0 y lo más preferentemente, un valor de pH entre 3,0 y 5,0.
- La solución (2) efectúa la neutralización de la solución alcalina y de ese modo, detiene la actividad alcalina e impacta sobre los alimentos tratados. Sin embargo, al mismo tiempo, la solución (2) muestra propiedades de antioscurecimiento/antioxidantes sin deterioro de las propiedades sensoriales y ópticas del producto tratado.
- En un aspecto particular de la invención, la presencia de agentes quelantes, tales como, por ejemplo, EDTA, en cualquiera de las soluciones utilizadas (1) y/o (2) se excluye y no es necesaria para lograr los efectos deseados.
- La solución (1) y la solución (2) son generalmente soluciones acuosas y por tanto, se basan en agua como disolvente. En el sentido de la presente invención, el agua incluye el agua potable suministrada públicamente por las autoridades gubernamentales locales o de forma particular por la propia empresa alimentaria.
- Además, se pueden utilizar otros disolventes además del agua, siempre que sean miscibles en agua y adecuados como aditivos alimentarios, tal como los aprobados, por ejemplo, por las regulaciones gubernamentales, por ejemplo, en la Ordenanza alemana de aprobación de aditivos (ZZuIV, por sus siglas en alemán) de acuerdo con el Código de alimentos y piensos (LFGB, por sus siglas en alemán) o clasificados como sustancias alimentarias GRAS (del inglés, generalmente reconocidas como seguras) por la FDA. Ejemplos de tales disolventes adicionales son glicerol y propilenglicol, que son totalmente miscibles con agua.
- La solución (1) y la solución (2) pueden aplicarse independientemente por pulverización, aspersión, mojado, baño o inmersión o por combinaciones de los mismos, que se corresponde con las etapas (c) y (d) del método descrito anteriormente.

El término pulverización de acuerdo con la invención se refiere a cualquier proceso técnico en el que se crea un aerosol y se dirige a los productos frescos a conservar. Esto puede ser mediante un sistema de rociado por bomba o un sistema de rociado a base de propelente. El tamaño de gota de la solución (1) o la solución (2) no se limita a ningún intervalo de tamaños, pero preferentemente las gotas son de tamaño microscópico.

5 El término aspersión de acuerdo con la invención se refiere a cualquier proceso técnico en el que se asperjan gotas y/o gotitas de la solución (1) o de la solución (2) sobre el material, como un producto fresco, por ejemplo, mediante un sistema de rociadores.

10 El término mojado de acuerdo con la invención se refiere a cualquier proceso técnico en el que se moja o se vierte la solución (1) o la solución (2) sobre el material, como un producto fresco.

Los procesos técnicos denominados pulverización, aspersión o mojado, pueden aplicarse al producto fresco que se coloca en una rejilla, en una bandeja o en una cinta transportadora, pero de ninguna manera están restringidos por
15 estos modos de aplicación.

Los términos baño e inmersión, de acuerdo con la invención, se refieren a cualquier proceso técnico en el que un material, como un producto fresco, se introduce en un depósito de la solución (1) o de la solución (2) de manera que al menos partes, pero preferentemente toda la superficie, está(n) al menos temporalmente cubierta(s) por la solución
20 o de manera que el alimento fresco, como el producto fresco, está flotando en la superficie de la solución (1) o de la solución (2).

Además, cualquier otro medio adecuado para cubrir la superficie del alimento fresco, como el producto fresco, a conservar con la solución (1) o la solución (2), se puede aplicar en el método de acuerdo con la invención.

25 Preferentemente, la solución (1) y/o la solución (2) se aplican independientemente durante al menos 5 segundos. El tiempo de aplicación puede variar para la solución (1) y la solución (2) y/o dependiendo del alimento procesado. Preferentemente, la solución (1) y/o la solución (2) se aplican de independientemente durante menos de 60 segundos.

30 El tiempo entre la aplicación de la solución (1) y la solución (2) preferentemente no excede 1h, más preferentemente no supera los 30 minutos y lo más preferentemente, está entre 30 segundos y 10 minutos. Por un lado, las infestaciones microbianas en el alimento fresco disminuyen más cuanto más tiempo permanece la solución (1) en el alimento fresco, sin la aplicación de la solución (2). Por otro lado, el alimento fresco se puede grabar y se puede producir saponificación, dejando residuos desagradables en los alimentos tratados. Esto también puede provocar
35 efectos de oscurecimiento indeseados en los alimentos frescos, en particular, sobre los productos frescos. Estos efectos secundarios se eliminan o suprimen con la aplicación de la solución (2), que neutraliza la solución (1).

La solución que contiene ascorbato (2) elimina cualquier residuo de la solución de hidróxido (1) por neutralización. Además, forma derivados de la vitamina C con los iones de sodio y/o potasio restantes provenientes de la solución de hidróxido (1). Este proceso de neutralización da como resultado que solo queden sustancias inofensivas en los
40 alimentos como, por ejemplo, ascorbato de sodio y ácido ascórbico. Ambos son aditivos alimentarios ampliamente aceptados y utilizados. La solución (2) previene aún más la reacción de oscurecimiento, fortalece la estructura y sorprendentemente, incluso puede revertir posibles reacciones de oscurecimiento inducidas por la aplicación de la solución (1) en los alimentos, en particular, en los productos frescos. Aplicar solo la solución de ascorbato (2) puede
45 mejorar el color de los alimentos y evitar la decoloración, sin embargo, sin el tratamiento previo con la solución (1), la solución (2) por sí sola no logrará ninguna reducción logarítmica bacteriana. Los estudios internos y la bibliografía muestran que la sola aplicación de ácidos afrutados (pH 2,4) no conduce a ninguna reducción logarítmica de bacterias. Además, los ácidos dejan un sabor ácido en los productos frescos que se van a consumir y se prefiere evitar tal acidificación, no obstante manteniendo el sabor natural del alimento.

50 Preferentemente, la solución (2) se aplica durante al menos 5 segundos y puede variar según el alimento y la cantidad y composición de la solución (1) aplicada sobre el mismo alimento fresco. Esta duración mínima asegura un efecto antimicrobiano completo debido a la solución (1).

55 Preferentemente, no se aplica ninguna etapa adicional de lavado o de neutralización entre el tratamiento con la solución (1) y el tratamiento con la solución (2) de la invención. Esto significa que se prefiere un tratamiento de dos etapas.

La duración de la aplicación de la solución (1) puede prolongarse mediante la adición de iones ascorbato/isoascorbato a la solución (1), como se describe a continuación con más detalle, así como por el posterior uso de la solución (2).
60

La composición de la solución (2), que comprende iones ascorbato e/o isoascorbato, se controla para tener una concentración de ascorbato/isoascorbato lo suficientemente alta como para neutralizar todos los hidróxidos de la solución (1). La neutralización, por el contrario, enfrenta el sabor agrio de la solución de ascorbato e/o isoascorbato.
65

Opcionalmente, la solución (1) y/o la solución (2) de acuerdo con la invención contienen además uno o más excipientes

aptos para su uso en alimentos, en particular en productos frescos, seleccionados del grupo de los antiadherentes, aglutinantes, colorantes, aromas, lubricantes, conservantes, edulcorantes, tales como, los enumerados, en particular, en las reglamentaciones gubernamentales, por ejemplo, en la Ordenanza alemana de aprobación de aditivos (ZZuIV) de acuerdo con el Código de alimentos y piensos (LFGB) o clasificados como sustancias alimentarias GRAS por la FDA. Dependiendo de los excipientes adicionales, el tiempo de aplicación de la(s) solución(ones) se puede acortar o prolongar o se puede mejorar el efecto de reducción microbiana.

En una realización preferida de la invención, la solución (1) y/o la solución (2) contienen menos de un 30 % en peso de un excipiente o excipientes, más preferentemente menos de un 20 % en peso, incluso más preferentemente menos de un 10 % en peso y lo más preferentemente, menos de un 5 % en peso de excipientes.

En otra realización, la solución (1) también puede contener, además, iones ascorbato e/o isoascorbato. Mediante la adición de pequeñas cantidades de iones de ascorbato e/o isoascorbato previamente a la solución alcalina (1), el proceso de grabado y la reacción de oscurecimiento en alimentos frescos, en particular en productos frescos, pueden sorprendentemente retrasarse de forma considerable, al tiempo que el pH de la solución (1) no varía debido al efecto tampón de los iones ascorbato e/o isoascorbato. Se esperaba que una solución alcalina (1) que además contuviera iones de ascorbato e/o isoascorbato dejaría grabados los alimentos frescos, en particular los productos frescos, en el mismo tiempo que en el caso de utilizar una solución (1) sin iones ascorbato e/o isoascorbato. El sorprendente retraso del grabado mejora considerablemente la idoneidad del proceso, debido a la posibilidad de aumentar el tiempo de aplicación de la solución alcalina (1) hasta superar el tiempo de desinfección.

En las realizaciones, en donde se añaden iones ascorbato e/o isoascorbato a la solución alcalina (1), se prefiere que la solución (1) comprenda iones ascorbato e/o isoascorbato en una concentración entre un 0,1 % y un 10,0 % p/p.

En tales realizaciones, la solución (1) comprende preferentemente al menos un 0,2, al menos un 0,3, al menos un 0,4, al menos un 0,5, al menos un 0,75, al menos un 1,0, al menos un 1,5, al menos un 2,0, al menos un 2,5, al menos un 3,0, al menos un 3,5, al menos un 4,0, al menos un 4,5, al menos un 5,0, al menos un 5,5 %, al menos un 6,0, al menos un 6,5, al menos un 7,0, al menos un 7,5, al menos un 8,0, al menos un 8,5, al menos un 9,0, al menos un 9,5 % p/p de iones ascorbato e/o isoascorbato.

En tales realizaciones, el límite superior de los iones ascorbato e/o isoascorbato en solución (1) es un 10,0 % p/p, preferentemente un 9,5, un 9,0, un 8,5, un 8,0, un 7,5, un 7,0, un 6,5, un 6,0, un 5,5, un 5,0, un 4,5, un 4,0, un 3,5, un 3,0, un 2,5, un 2,0, un 1,5 o un 1,0 % p/p.

Más preferentemente, cuando se añaden iones ascorbato e/o isoascorbato a la solución alcalina (1), se prefiere que la solución (1) comprenda iones ascorbato e/o isoascorbato en una concentración entre un 0,5 % y un 5,0 % p/p, incluso más preferentemente de un 1,0 % a un 2,0 % p/p.

Se puede seleccionar un intervalo adecuado entre los valores inferior y superior de acuerdo con las condiciones específicas del proceso, de la composición de la solución (1) y del alimento a tratar.

Como se ha mencionado anteriormente, en general, las condiciones del proceso y la composición y las concentraciones de las soluciones (1) y (2) de la presente invención pueden seleccionarse y controlarse dentro de los intervalos reivindicados para lograr los efectos deseados. Por ejemplo, cuando se utiliza una solución (1) con valores de pH más altos, por ejemplo, $\text{pH} \geq 12,0$, debe seleccionarse una concentración de iones ascorbato/isoascorbato en la solución (2) que sea capaz de lograr la neutralización deseada. En los casos de utilizar una solución alcalina (1) con un $\text{pH} \geq 12,0$ y sin adición de iones ascorbato/isoascorbato en la solución (1), el límite inferior de los iones ascorbato e/o isoascorbato en la solución (2) es preferentemente de al menos un 0,75, al menos un 1,0, al menos un 1,5, al menos un 0,75, al menos un 2,0 % p/p. Sin embargo, en las realizaciones, en donde la solución alcalina (1) también contiene iones ascorbato/isoascorbato, la concentración de los iones ascorbato e/o isoascorbato en la solución (2) se puede seleccionar de todo el intervalo definido en el presente documento, es decir, de un 0,5 % a un 25 % p/p.

Los valores de pH de la solución (1) y de la solución (2) deben seleccionarse en dependencia uno del otro. La solución (2) debe tener un pH lo suficientemente bajo (ácido) para revertir el pH de los productos alimentarios tratados con la solución alcalina (1) a un pH neutro o inferior. Si no se logra una neutralización o una acidificación suficiente del alimento tratado con la solución (2) y en caso de que los productos alimentarios tratados permanezcan con un pH alcalino, por ejemplo de $\text{pH} > 8,0$, después del tratamiento de conservación esto puede conducir a un deterioro indeseado, tal como decoloración y oscurecimiento de los alimentos debido al daño tisular. Por tanto, es deseable controlar el pH de las soluciones (1) y (2), de manera que en la etapa de tratamiento con la solución (2) o después, el pH no se vuelva alcalino, pero preferentemente será $\leq \text{pH} 8,0$, preferentemente de $\leq \text{pH} 7,5$, más preferentemente de $\leq \text{pH} 7,0$, más preferentemente de $\leq \text{pH} 6,5$, más preferentemente $\leq \text{pH} 6,0$, más preferentemente de $\leq \text{pH} 5,5$, más preferentemente de $\leq \text{pH} 5,0$, más preferentemente de $\leq \text{pH} 4,5$, aún más preferentemente $\leq \text{pH} 4,0$ y lo más preferentemente, un valor de pH entre 3,0 y 5,0.

El método de conservación de los alimentos, en particular de los productos frescos, de acuerdo con la invención, se lleva a cabo preferentemente a temperatura ambiente/en condiciones normales. En cualquier caso, la temperatura de

la solución (1) y/o de la solución (2) no debe exceder la temperatura de ebullición y debe controlarse para evitar la ebullición o la cocción o de lo contrario, el deterioro de los alimentos frescos tratados, en particular, de los productos frescos, inducido por la temperatura. La temperatura de las soluciones aplicadas es preferentemente $\leq 50,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, más preferentemente es $\leq 40,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, aún más preferentemente es $\leq 30,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y lo más preferentemente es temperatura ambiente ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). También es posible realizar el proceso a temperatura inferior a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ con alimentos frescos refrigerados, en particular con productos frescos refrigerados, sin embargo, debe evitarse la congelación de la(s) solución(ones).

Se prefiere una temperatura por debajo del punto de ebullición, dado que de este modo, la retención agua de los alimentos, en particular de los productos frescos, no destruye la estructura del alimento tratado. Se prefieren temperaturas aún más bajas, tal como por debajo de $40\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$, porque por un lado, dependiendo de la temperatura, las proteínas y/o vitaminas en los alimentos frescos, en particular en frutas y verduras, pueden desnaturalizarse o destruirse a temperaturas más altas y el alimento tratado puede ser, por tanto, menos nutritivo y por otro lado, la estructura del alimento fresco puede reblandecerse a esa temperatura y perder su estructura crujiente, como con manzanas o nectarinas, por ejemplo. A una temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y especialmente a una temperatura de alrededor de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos, en general, se puede asegurar que el tratamiento tiene poco o ningún efecto con respecto a la estructura de los alimentos, en particular de los productos frescos, especialmente con respecto al tratamiento alcalino y al tratamiento ácido. Además, la temperatura más baja del tratamiento, especialmente de la solución (1), pero también de la solución (2), permite un período de tratamiento más largo, dado que el grabado, la reacción de oscurecimiento y la degradación de la estructura se producen más tarde. El tiempo de tratamiento más largo permite que la infestación microbiana se reduzca aún más sin tener un impacto negativo en la estructura de los alimentos frescos, en particular, de los productos frescos.

Es conocido el uso de soluciones alcalinas para el tratamiento de frutas y verduras. Sin embargo, los tratamientos alcalinos conocidos tienen como objetivo el pelado químico de frutas y verduras y normalmente se llevan a cabo con concentraciones considerablemente más altas del compuesto alcalino y con vapor o altas temperaturas. Por el contrario, el método de la presente invención no se usa ni es adecuado para dicho proceso de pelado alcalino/químico. El presente método difiere en las condiciones de procesamiento, tales como temperaturas más bajas y concentraciones de álcali más bajas.

En el proceso de la presente invención no es necesario una etapa final de lavado, dado que la solución alcalina (1) y la solución ácida (2) se neutralizan entre sí. Esta es una clara ventaja de procedimiento respecto al ahorro de tiempo y recursos.

El proceso de conservación de alimentos, en particular, de productos frescos, descrito en el presente documento puede comprender una o más etapas adicionales seleccionadas de la etapa (e) de secado, cribado, centrifugado, soplado de aire, drenaje, envasado o confección y combinaciones de los mismos.

En el sentido de la presente invención, el término "alimento" se refiere a cualquier alimento que pueda ser propenso a la oxidación. El término "alimento" comprende alimentos procesados como verduras o frutas cortadas, hechas rodajas o peladas. La invención se refiere particularmente a alimentos frescos, más particularmente a productos frescos. Sin embargo, también es posible aplicar el método de la invención a frutas y verduras secas o semisecas.

Los productos frescos, en el sentido de la invención, se refieren a alimentos frescos, tales como verduras, frutas y hierbas. En el sentido de la invención, los alimentos frescos se refieren a alimentos que no se han procesado con medidas de conservación químicas o físicas, tales como, en particular, con los métodos de conservación química excluidos anteriormente o con los métodos de conservación de calor o vapor. En el sentido de la presente invención, los productos frescos pertenecientes taxonómicamente a los hongos, tales como champiñones, mu err (oreja de Judas), boletos, rebozuelos y cualquier otra seta, se consideran comprendidos por el término verduras.

En el sentido de la presente invención, la expresión "productos frescos" en particular, comprende frutas y verduras frescas. Principalmente, pero no exclusivamente, tales frutas y verduras frescas se cultivan en granjas.

En el sentido de la presente invención, la expresión "productos frescos" comprende además frutas y verduras que se encuentran en el mismo estado en que se cosecharon o en que se pelaron, se hicieron rodajas, se picaron o se sometieron por cualquier medio para reducir el tamaño o proporcionar porciones de frutas y verduras del tamaño de un bocado, tal como mediante corte en rodajas, picado, corte o pelado. Las hierbas también pueden estar presentes en forma cortada.

En una realización preferida, el método de conservación de los alimentos, en particular de los productos frescos, se aplica a productos frescos cortados. Especialmente, los productos frescos cortados son propensos a que resulten grabados y/o se oscurezcan. El tratamiento de productos frescos cortados con la solución (1) y la solución (2) de acuerdo con el proceso de la presente invención protege estos productos cortados en particular.

Los productos frescos y/o los productos frescos cortados a conservar con el método de la presente invención se pueden seleccionar del grupo de frutas frescas que comprende manzanas, aguacates, ruibarbo, melones, piña,

cerezas, fresas, nectarinas, melocotones, kiwi, limones, naranjas, albaricoque, coco, uvas o pitahaya;

- 5 los productos frescos y/o los productos frescos cortados del grupo de las verduras frescas se pueden seleccionar del grupo que comprende nopales, patatas, zanahorias, lechuga, puerros, cebollas, nabo sueco, col rizada, champiñones, ajo, pimientos, tomates, hinojo, espárrago, judías, guisantes, brócoli, coliflor, coles de Bruselas, col, apio, acelga, maíz, endivia, verduras de hoja verde, quingombó, chiles, remolacha roja, nabo, jengibre, rábano, calabazas, calabacita, calabaza, alcachofa, batata, jengibre, cúrcuma, berenjena o calabacín, así como hongos (tal como se han definido anteriormente);
- 10 los productos frescos y/o productos frescos cortados del grupo de las hierbas frescas se pueden seleccionar de albahaca, perejil, menta, eneldo, salvia, romero, tomillo, cilantro, hinojo, camomila, hierba luisa, orégano, cebollino o berros.

El método de conservación de productos frescos cortados se aplica preferentemente a:

- 15 productos frescos cortados seleccionados de frutas que consisten en manzana, ruibarbo, melón, piña, coco, fresas, uvas o kiwi;
- productos frescos cortados seleccionados de verduras consistentes en zanahorias, tomates, pimientos, calabacín, verduras de hoja verde, champiñones o berenjena;
- 20 productos frescos cortados seleccionados de hierbas consistentes en albahaca, perejil, menta, cilantro o cebollino.

El método de conservación de productos frescos cortados se aplica preferentemente a:

manzanas, melón, piña, fresas, coco, uvas o verduras de hoja verde.

- 25 La invención se refiere además a una combinación de una composición sólida (1) y de una composición sólida (2), listas para disolverse en un disolvente adecuado, preferentemente agua o mezclas de agua con otros disolventes miscibles en agua como se ha definido anteriormente, para proporcionar la solución (1) y/o la solución (2) como se define en el presente documento. Como alternativa, la invención cubre una combinación de las soluciones listas para usar (1) y (2) para llevar a cabo el proceso descrito en el presente documento.

- 30 Otro aspecto de la invención se refiere a una combinación de un kit de piezas (producto de kit de piezas) que comprende:

- 35 a) la solución (1) como se ha definido anteriormente;
- b) la solución (2) como se ha definido anteriormente;
- en una disposición separada especial; y opcionalmente uno o más de
- c) un folleto de instrucciones y/o
- d) contenedor para las partes a tratar, como una caja o una bolsa, por ejemplo, de plástico o cualquier otro recipiente adecuado fabricado con cualquier otro material adecuado o dispositivos de un solo uso para llevar a
- 40 cabo el proceso de la invención, como tubos, tubos de centrifugado (Falcon), cubetas, botellas, jeringas, dispensador, ampollas, etc. hechas de plástico, vidrio u otro material adecuado
- e) opcionalmente un contenedor para envasar y/o almacenar las partes a tratar o las partes después del tratamiento.

- 45 El kit de piezas que se describe en el presente documento está diseñado para usarse en un método para conservar alimentos frescos, en particular, productos frescos como se describe en el presente documento.

Ejemplos

- 50 La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, sin limitarse a los mismos.

A. Prueba de reducción logarítmica microbiana y evaluación sensorial

La reducción logarítmica microbiana se puede llevar a cabo con las siguientes condiciones de prueba:

- 55 I. Preparación de placas de agar (sólidas) de acuerdo con el documento de instrucciones (si es necesario, adaptar al valor de pH con NaOH o HCl):

- 60 1. Agar VRBD:
agua destilada 41,5 g/l; esterilización 118 °C durante 15 min.
2. Agar YGC:
agua destilada 40,2 g/l; esterilización 121 °C durante 15 min.
3. Agar LB:
triptona 10 g/l
- 65 NaCl 5 g/l
extracto de levadura 5 g/l

glucosa 2,5 g/l
 agar 15 g/l
 pH 7,5
 agua destilada; esterilización 121 °C durante 21 min.

II. Pesaje de productos (frutas/verduras); añadir la cantidad preferida de medio líquido y majar hasta obtener una mezcla homogénea. Lo más fácil es usar 1 ml por gramo de producto, dado que, a continuación, el título es directamente ufc/g de producto. Si no hay suficiente líquido presente, utilizar una mayor cantidad de medio. Asegurarse de ajustar el título adecuadamente.

III. Preparación de diluciones seriadas (0, -1, -2, -3...; dependiendo de la biocarga esperada)

IV. Siembra del contenido de tubos de reacción de 1,5 ml (por ejemplo) en placas de agar (sólido) transfiriendo 100 µl de una mezcla homogénea medida de la muestra de prueba (por ejemplo, frutas/verduras) sobre la superficie del agar; si se van a detectar Enterobacteriaceae, la preparación de una nueva solución de agar VRBD es necesaria, es decir, que se va a verter encima (entre 45° y 50 °C) para crear una capa anaeróbica que asegure un proceso de fermentación.

V. Después de 18-24 horas (VRBD)/ 48 horas (LB)/ (3-7 días (YGC) a 37 °C (VRBD), respectivamente, se cuentan las unidades formadoras de colonias a temperatura ambiente (LB, YGC) por ml (UFC/ml); se determina el título. LB proporciona el recuento total de bacterias aerobias mesófilas, VRBD el de Enterobacterias y YGC el recuento total de hongos. Para YGC, la diferenciación entre levaduras y hongos debe hacerse ópticamente. Para VRBD, ignorar las colonias que crecen en la superficie. Las colonias violetas en el agar sugieren producción de ácido, las colonias claras no producen ácido.

Las pruebas se basan en el procedimiento oficial para la evaluación de la contaminación bacteriana. Las diferencias son el medio utilizado para el recuento bacteriano total y la temperatura de incubación para LB y YGC (temperatura ambiente en lugar de 25 °C).

Ejemplo A-1: Control

El control lo constituyen rodajas de piña sin ningún tratamiento durante cinco días.

⇒ Después de cinco días se detectó un crecimiento considerable de bacterias, levaduras y hongos y un deterioro sensorial.

Ejemplo comparativo A-2: Tratamiento con solución de ácido ascórbico (pH 2,4)

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de ácido ascórbico (pH 2,4) con una concentración de un 6 % p/p.

⇒ Se detectó un crecimiento considerable de bacterias, levaduras y hongos, pero menor deterioro sensorial.

Ejemplo comparativo A-3: Tratamiento con solución de ClO₂ de 0,4 ppm

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de ClO₂ de 0,4 ppm (6 % p/v). El cociente corresponde al valor permitido determinado por la Ordenanza de Agua Potable (TrinkwV) de la República Federal de Alemania y que se usa comúnmente como desinfectante.

⇒ Se detectó una reducción logarítmica de 0,5 de la infestación de bacterias, levaduras y hongos, pero con deterioro sensorial después de 5 días.

Ejemplo comparativo A-4: Tratamiento con solución de ácido peroxiacético de 80 ppm

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de ácido peroxiacético de 80 ppm. El cociente corresponde al valor permitido determinado por la limitación de la FDA de EE. UU. para el lavado de frutas y verduras y se usa comúnmente como un desinfectante en el área de uso.

⇒ Se detectó una reducción logarítmica de 1 de la infestación de bacterias, levaduras y hongos, pero con deterioro sensorial después de 5 días.

Ejemplo comparativo A-5: Tratamiento con solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p)

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [correspondiente a la solución (1) de la presente invención].

⇒ Se detectó una reducción logarítmica de 1-2 de la infestación de bacterias, levaduras y hongos, pero sin un deterioro

sensorial considerable.

Ejemplo comparativo A-6: Tratamiento con solución de ClO₂ de 0,4 ppm y posterior tratamiento con solución de ácido ascórbico (pH 2,4)

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de ClO₂ de 0,4 ppm (6 % p/v) y a continuación, se aplicó una solución de ácido ascórbico (pH 2,4) con una concentración de 6 % p/p [correspondiente a la solución (2) de la presente invención] sobre el mismo material de prueba.

⇒ Se detectó una reducción logarítmica de 0,5 de la infestación de bacterias, levaduras y hongos, pero menor deterioro sensorial.

Ejemplo comparativo A-7: Tratamiento con solución de ácido peroxiacético de 80 ppm y posterior tratamiento con solución de ácido ascórbico (pH 2,4)

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de ácido peroxiacético de 80 ppm y a después, se aplicó una solución de ácido ascórbico (pH 2,4) con una concentración de 6 % p/p [correspondiente a la solución (2) de la presente invención] sobre el mismo material de prueba.

⇒ Se detectó una reducción logarítmica de 1 de la infestación de bacterias, levaduras y hongos, pero menor deterioro sensorial.

Ejemplo A-8: Tratamiento con solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [solución (1)] y posterior tratamiento con solución de ácido ascórbico (pH 2,4) [solución (2)]

Se trataron rodajas de piña, similares al ejemplo A-1, mediante la aplicación de una solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [correspondiente a la solución (1) de la presente invención] sobre el material de prueba y después se aplicó solución de ácido ascórbico (pH 2,4) respectivamente con una concentración de 6 % p/p [correspondiente a la solución (2) de la presente invención] sobre el mismo material de prueba.

⇒ Se detectó una reducción logarítmica de 2 de la infestación de bacterias, levaduras y hongos y mejor carácter sensorial hasta por 8 días.

Efecto revertido de productos frescos descoloridos:

Ejemplo comparativo B-1.1: Tratamiento de cebollas con solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [solución (1)]

Se aplicó una solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [correspondiente a la solución (1) de la presente invención] sobre rodajas de cebollas que causaron una decoloración inmediata durante todo el tiempo de almacenamiento de 14 días.

Ejemplo B-1.2: Tratamiento de cebollas con solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [solución (1)] y posterior tratamiento con solución de ácido ascórbico (pH 2,4) [solución (2)]

El material de prueba se trató con la solución de hidróxido (1) de acuerdo con el ejemplo B-1.1 y posteriormente, se aplicó una solución de ácido ascórbico (2) (pH 2,4) con una concentración del 6 % p/p [solución (2)] sobre el mismo material de prueba inmediatamente después. Sorprendentemente, la decoloración no solo se detuvo sino que incluso se revirtió y el material de prueba tomó el aspecto original que tenía antes del tratamiento con hidróxido. Este aspecto se mantuvo durante todo el tiempo de almacenamiento de 14 días.

Ejemplo comparativo B-2.1: Tratamiento de rodajas de manzana con una solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [solución (1)]

Se aplicó una solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [correspondiente a la solución (1) de la presente invención] sobre rodajas de manzana que causaron una decoloración considerable en 1-2 minutos durante todo el tiempo de almacenamiento de 21 días.

Ejemplo comparativo B-2.2: Tratamiento de rodajas de manzana con solución de ascorbato (pH 2,4) [solución (2)]

Se aplicó una solución de ascorbato (pH 2,4) con una concentración del 6 % p/p [correspondiente a la solución (2) de la presente invención] sobre las rodajas de manzana, lo que solo evitó la decoloración hasta cierto punto, ya que algunas rodajas de manzana todavía se volvieron marrones.

Ejemplo B-2.3: Tratamiento de rodajas de manzana con solución de hidróxido de sodio al 1 % (p/p) [solución (1)] y tratamiento posterior con solución de ácido ascórbico (pH 2,4) [solución (2)]

El material de prueba se trató de acuerdo con el Ejemplo B-2.1 y se aplicó una solución de ácido ascórbico (2) (pH 2,4) con una concentración del 6 % p/p [solución (2)] sobre el mismo material de prueba inmediatamente después. La decoloración se evitó de manera más eficaz. Este aspecto se mantuvo durante todo el tiempo de almacenamiento de 21 días. Los iones de sodio de la solución de hidróxido de sodio mejoraron considerablemente el efecto de antioscurecimiento y previnieron la decoloración de manera más eficaz.

Los resultados se resumen en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1:

Experimento		Ejemplo B-1.1	Ejemplo B-1.2	Ejemplo B-2.1	Ejemplo B-2.2	Ejemplo B-2.3
Solución (1)	NaOH al 1 % (p/p)	+	+	+	-	+
Solución (2)	Ácido ascórbico (pH 2,4 / 6 % p/p)	-	+	-	+	+
Disolvente		agua	agua	agua	agua	agua
Deterioro/Grabado Decoloración/Oscurecimiento		++	Revertido			
		++	Revertido Conservado hasta 14 días	++	+	-- Conservado hasta 21 días

B. Pruebas comparativas

Se han llevado a cabo experimentos comparativos con composiciones descritas en la técnica anterior de los documentos US 6.500.476 y US 5.919.507 (Tabla 1) para mostrar las mejoras y efectos sorprendentes que se pueden lograr con el nuevo método de la presente invención sobre el intervalo reivindicado (Tablas 2 y 3).

Condiciones de ensayo:

Almacenamiento:	5-8 °C
Tipo de embalaje:	Bandejas de plástico
Tamaño de la pieza:	Rodajas muy finas, corte a maquina
Duración del ensayo:	6 días

Se tratan trozos de zanahorias recién cortadas con las diferentes soluciones de prueba y se evalúan respecto a su reducción logarítmica como se ha descrito en el Ejemplo A anterior.

Además, la apariencia óptica se examinó mediante una evaluación visual (óptica) de las piezas de prueba tratadas y la tasa de antioscurecimiento se determinó de acuerdo con la siguiente fórmula

$$100 - (\text{número de piezas de prueba afectadas por el oscurecimiento} / \text{número total de piezas de prueba}) \times 100 = \text{tasa de antioscurecimiento} [\%].$$

En este sentido, la tasa de antioscurecimiento (%) indica la proporción de piezas de ensayo sin oscurecimiento. Esto significa que una mayor tasa de antioscurecimiento se correlaciona con un mejor rendimiento antioscurecimiento.

Las Figuras 1, 2 y 3 ilustran los resultados de las siguientes Tablas 1 a 3.

Tabla 1

Solución / Composición	1		2		3	
	%	g/Solución	%	g/Solución	%	g/Solución
Solución (1)	100,00 %	2000	0,42 %	8	4,20 %	84
			0,08 %	2	pH 11	NaOH al 50 %
Solución (2)	100,00 %	2000	0,60 %	12	0,60 %	12
					2,40 %	Ácido isoascórbico
Solución (3)			0,80 %	16	0,10 %	48
						Isoascorbato de Na
					0,10 %	2
					0,10 %	EDTA
Comentario			2,00 %	40	0,10 %	2
			0,10 %	2	0,10 %	2
						CaCl ₂
Tiempo de baño	2 baños, 1 minuto cada uno		1°: 30 s; 2°: 15 s; 3°: 15 s		1° d: 120 s; 2° d: 60 s	
	0		7,1		1 d 53 2 d: 8,25	
Conductividad b. [mS]	0,60		6,05		1 d: 49,5 2 d: 12,5	
Conductividad a. [mS]	7,55		10,38		1 d: 11,0 2 d: 4,69	
Valor de pH antes	7,25		10,3		1 d 11,22 2 d: 8,96	
Valor de pH después						
Resultados Mibi Ø n=4	Día 0	Día 3	Día 6	Día 3	Día 6	Día 6
Enterobacteriales	3,25E+03	4,99E+03	4,51E+04	2,19E+03	1,86E+04	8,77E+02
tasa antioscurecimiento	100 %	70 %	65 %	100 %	82 %	100 %
					80 %	65 %
					5,23E+04	50 %

Tabla 2

Solución / Composición	4			5			6		
	FF-1 6 % Asc.			FF-1 0,5 % pH 12			FF-1 25 % Asc.		
	%	g/Solución		%	g/Solución		%	g/Solución	
Solución (1)	1,00 %	40 ml	NaOH al 50 %	pH 12	5,5 ml	NaOH al 50 %	1,00 %	40 ml	NaOH al 50 %
Solución (2)	6,00 %	120	Ácido ascórbico	0,50 %	10	Ácido ascórbico	25,00 %	500	Ácido ascórbico
Comentario	Mitad inferior del intervalo reivindicado en la Solución (2)			Presente invención Límite inferior del intervalo reivindicado en la Solución (2) y la Solución (1) con pH 12,0			Presente invención Límite superior del intervalo reivindicado en la Solución (2)		
Tiempo de baño	2 baños, 1 minuto cada uno			2 baños, 1 minuto cada uno			2 baños, 1 minuto cada uno		
Conductividad b. [mS]	1 d: 140 2 d: 1,45			1 d: 4,5 2 d: 0,6			1 d: 140 2 d: 2,0		
Conductividad a. [mS]	1 d: 65 2 d: 1,4			1 d: 4,2 2 d: 0,622			1 d: 65 2 d: 2,28		
Valor de pH antes	1 d: 12,9 2 d: 2,66			1 d: 12,0 2 d: 3,38			1 d: 12,9 2 d: 2,35		
Valor de pH después	1 d: 12,5 2 d: 3,05			1 d: 11,96 2 d: 3,61			1 d: 12,5 2 d: 3,11		
Resultados Mibi Ø n=4	Día 0	Día 3	Día 6	Día 0	Día 3	Día 6	Día 0	Día 3	Día 6
Enterobacteriales	3,83E+01	2,88E+02	8,95E+03	4,30E+02	1,66E+03	2,02E+04	<10	<10	1,60E+02
tasa antioscurcimiento	100 %	90 %	85 %	100 %	75 %	70 %	100 %	100 %	95 %

Tabla 3

Solución / Composición	7			8			9		
	FF-1 pH 11,5			FF-1 Iso-Asc.			FF-1 Iso-Asc. 2		
	%	g/Solución		%	g/Solución		%	g/Solución	
Solución (1)	pH 11,5	0,64 ml	NaOH al 50 %	1,00 %	40 ml	NaOH al 50 %	1,00 %	40 ml	NaOH al 50 %
Solución (2)	6,00 %	120	Ácido ascórbico	0,60 %	12	Ácido isoascórbico	0,10 %	2	Ácido isoascórbico
				2,40 %	48	Isoasc. de Na	2,90 %	58	Isoasc. de Na
Comentario	Presente invención Solución (1) pH 11,5			Presente invención Solución (2) como en la Composición 3 (US 5.919.507)			Presente invención Solución (2) como en la Composición 3 (US 5.919.507), ligeramente ácida		
Tiempo de baño	2 baños, 1 minuto cada uno			2 baños, 1 minuto cada uno			2 baños, 1 minuto cada uno		
Conductividad b. [mS]	1 d: 2,0 2 d: 1,45			1 d: 140 2 d: 6,35			1 d: 140 2 d: 7,21		
Conductividad a. [mS]	1 d: 1,3 2 d: 1,4			1 d: 65 2 d: 8,75			1 d: 65 2 d: 9,93		
Valor de pH antes	1 d: 11,5 2 d: 2,66			1 d: 12,9 2 d: 5,1			1 d: 12,9 2 d: 6,04		
Valor de pH después	1 d: 11,0 2 d: 3,05			1 d: 12,5 2 d: 10,7			1 d: 12,5 2 d: 11,3		
Resultados Mibi Ø n=4	Día 0	Día 3	Día 6	Día 0	Día 3	Día 6	Día 0	Día 3	Día 6
Enterobacteriales	5,59E+02	1,15E+03	3,05E+04	9,17E+01	5,50E+01	3,37E+03	1,75E+01	8,00E+01	3,25E+03
tasa antioscurecimiento	100 %	95 %	90 %	100 %	70 %	60 %	100 %	40 %	30 %

Discusión de los resultados:

Las Figuras 1, 2 y 3 ilustran además los resultados en el intervalo de prueba de 0 a 6 días.

5 Evaluación microbiana:

Las soluciones de acuerdo con la técnica anterior (US 6.500.476 y US 5.919.507; soluciones de prueba 2 y 3 en la Tabla 1) muestran una mayor carga microbiana de enterobacterias en comparación con las soluciones de prueba ("FF") de acuerdo con la invención (soluciones de prueba 4 a 9) durante el período de prueba de 6 días.

10 La Tabla 1 muestra además que la carga microbiana de las soluciones de la técnica anterior (US 6.500.476 y US 5.919.507; soluciones de prueba 2 y 3) es similar a la de un simple lavado con agua (Control) o incluso peor que con agua.

15 Una comparación de las soluciones de prueba 4 y 7 muestra, que un valor de pH más alto proporciona efectos antimicrobianos aún mayores.

La solución de prueba 8 confirma además la relevancia del valor de pH. Aunque la solución de prueba comparativa 3 es casi idéntica a la solución de prueba 8 de acuerdo con la invención, la solución de prueba comparativa 3 proporciona resultados microbianos considerablemente peores, lo que lleva a la conclusión de que el valor de pH más alto de la solución 8 es el factor decisivo aquí.

20 Los resultados se ilustran en las Figuras 1 y 2, en donde la Figura 1 compara los resultados los días 0, 3 y 6, mientras que la Figura 2 muestra los resultados finales el día 6. La superioridad de los tratamientos de conservación de acuerdo con la invención es particularmente evidente a partir de este resultado final en la Figura 2.

Evaluación óptica:

30 De nuevo, la mayoría de las soluciones de prueba de acuerdo con la invención (muestras "FF") son superiores a las soluciones de prueba de acuerdo con la técnica anterior (US 6.500.476 y US 5.919.507; soluciones de prueba 2 y 3 en la Tabla 1).

La solución de prueba 5 proporciona un ejemplo de acuerdo con la invención con las soluciones (1) y (2) que tienen una concentración de componentes activos que cubre los límites inferiores de la invención como se define en el presente documento y tienen un valor de pH considerablemente más alto (pH 12) en comparación con las soluciones de la técnica anterior (US 6.500.476 y US 5.919.507; soluciones de prueba 2 y 3 en la Tabla 1). Este ejemplo, de acuerdo con la invención, muestra que el aumento del pH proporciona una eficacia antimicrobiana superior pero, sin embargo, permite mantener una tasa aceptable de antioscurecimiento, que es aún mejor que los resultados logrados con la solución de la técnica anterior de acuerdo con el documento US 5.919.507 (solución de prueba 3).

40 En conjunto, la solución de la técnica anterior de acuerdo con el documento US 5.919.507 (solución de prueba 3) no proporciona ningún buen resultado óptico y es incluso peor que el control de agua (solución de prueba 1 en la Tabla 1).

45 Los resultados de la evaluación óptica se ilustran en la Figura 3 comparando los resultados los días 0, 3 y 6.

Descripción de las figuras

50 Figura 1 Carga microbiológica de soluciones conservantes comparativas y de soluciones, de acuerdo con la invención, el día 0, 3 y 6.

Figura 2 Carga microbiológica de soluciones conservantes comparativas y soluciones, de acuerdo con la invención, el día 6.

Figura 3 Evaluación óptica (evaluación antioscurecimiento) de soluciones conservantes comparativas y soluciones, de acuerdo con la invención, los días 0, 3 y 6.

55

REIVINDICACIONES

1. Un método para conservar alimentos frescos que comprende las siguientes etapas:

- 5 (a) proporcionar una solución acuosa (1), en donde la solución (1) es una solución alcalina con un valor de pH > 11,5;
- (b) proporcionar una solución acuosa (2), que comprende del 0,5 % al 25 % p/p de iones ascorbato e/isoascorbato;
- (c) aplicar la solución (1) sobre el alimento fresco; y
- 10 (d) en una etapa posterior, aplicar la solución (2) sobre el mismo alimento fresco.

2. El método para conservar alimentos de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la solución (1) es una solución alcalina con un valor de pH $\geq 12,0$.

15 3. El método para conservar alimentos de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la solución (1) comprende al menos un hidróxido, que se selecciona preferentemente del grupo que consiste en hidróxido de calcio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio o mezclas de los mismos, preferentemente hidróxido de sodio e hidróxido de potasio o mezclas de los mismos.

20 4. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la solución (1) comprende al menos un hidróxido con una concentración de 0,01 % a 5 % p/p.

5. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la solución (1) comprende adicionalmente de 0,1 % a 10 % p/p de iones ascorbato o isoascorbato.

25 6. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la solución (2) tiene un valor de $\leq$ pH 8, más preferentemente $\leq$ pH 6, aún más preferentemente $\leq$ pH 4 y lo más preferentemente un valor de pH de 3,0 a 5,0.

30 7. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la temperatura de la solución (1) y de la solución (2) es $\leq 30^\circ\text{C}$, y/o en donde la solución (1) y/o la solución (2) contienen además uno o más excipientes adecuados para el uso en alimentos.

35 8. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la solución (1) y/o la solución (2) se aplica(n) durante al menos 5 segundos.

9. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el tiempo entre la aplicación de la solución (1) y de la solución (2) no excede de 1 h.

40 10. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la solución (1) y/o la solución (2) se aplica(n) al producto fresco mediante pulverización, aspersión, mojado, baño o inmersión o combinaciones de los mismos y/o en donde el método comprende una etapa adicional (e) de secado, cribado, centrifugado, soplado de aire, drenaje, envasado o confección y combinaciones de los mismos.

45 11. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde no se aplica ninguna etapa adicional de lavado o neutralización entre la aplicación de la solución (1) y de la solución (2).

50 12. El método para conservar alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde se excluye la presencia de un agente quelante.

13. El método de conservación de alimentos frescos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el producto fresco es un producto recién cortado, preferentemente seleccionado del grupo consistente en frutas frescas, verduras frescas y hierbas frescas.

55 14. Producto de kit de piezas para la conservación de alimentos frescos que comprende

- (a) una solución (1) o los compuestos, en particular sales, para preparar una solución (1) como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y
- 60 (b) una solución (2) o los compuestos, en particular sales, para preparar una solución (2) como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores;

en una disposición espacial separada.

65 15. Uso del kit de piezas de acuerdo con la reivindicación 14 para conservar alimentos frescos, en particular, productos frescos.

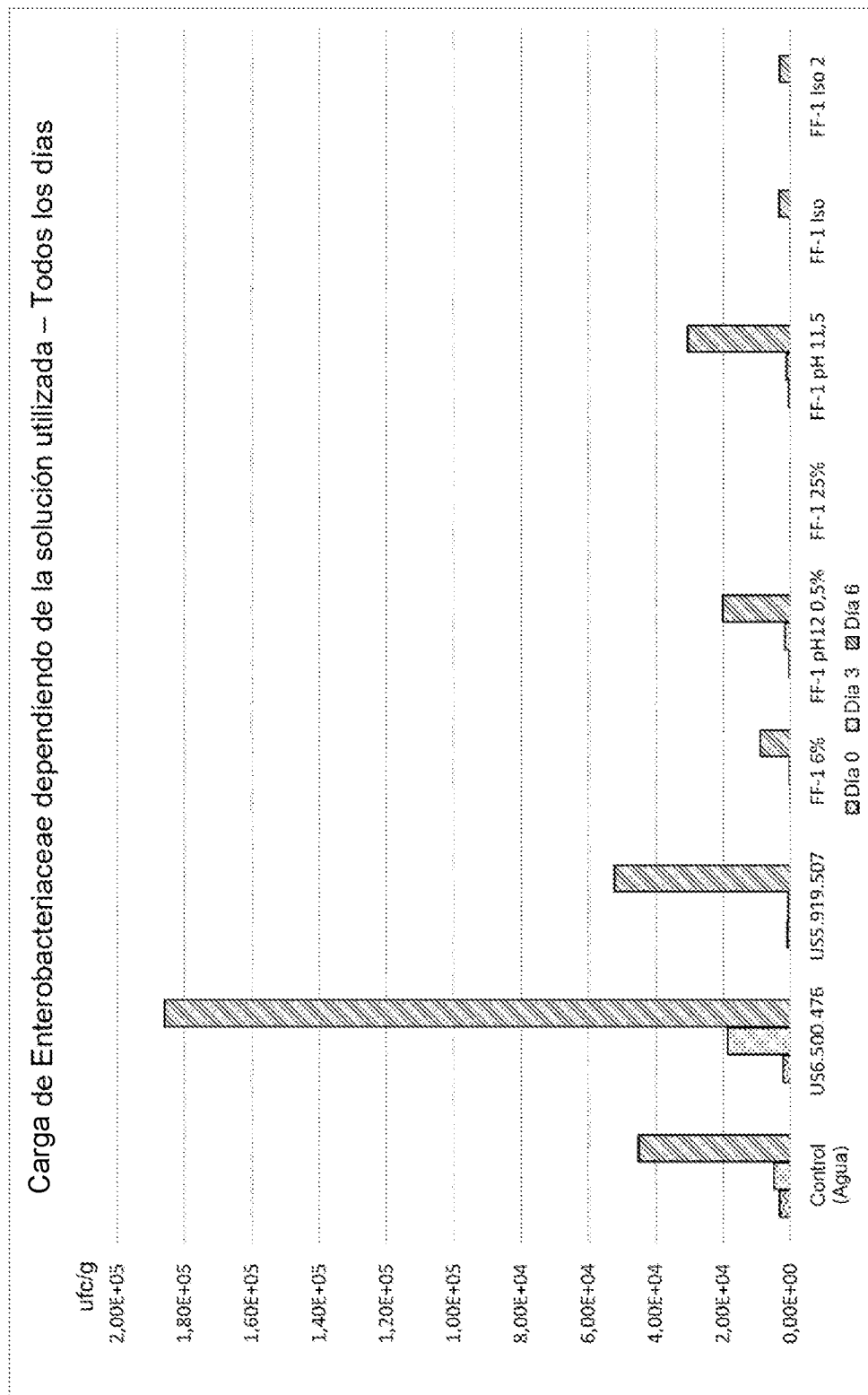


FIG. 1

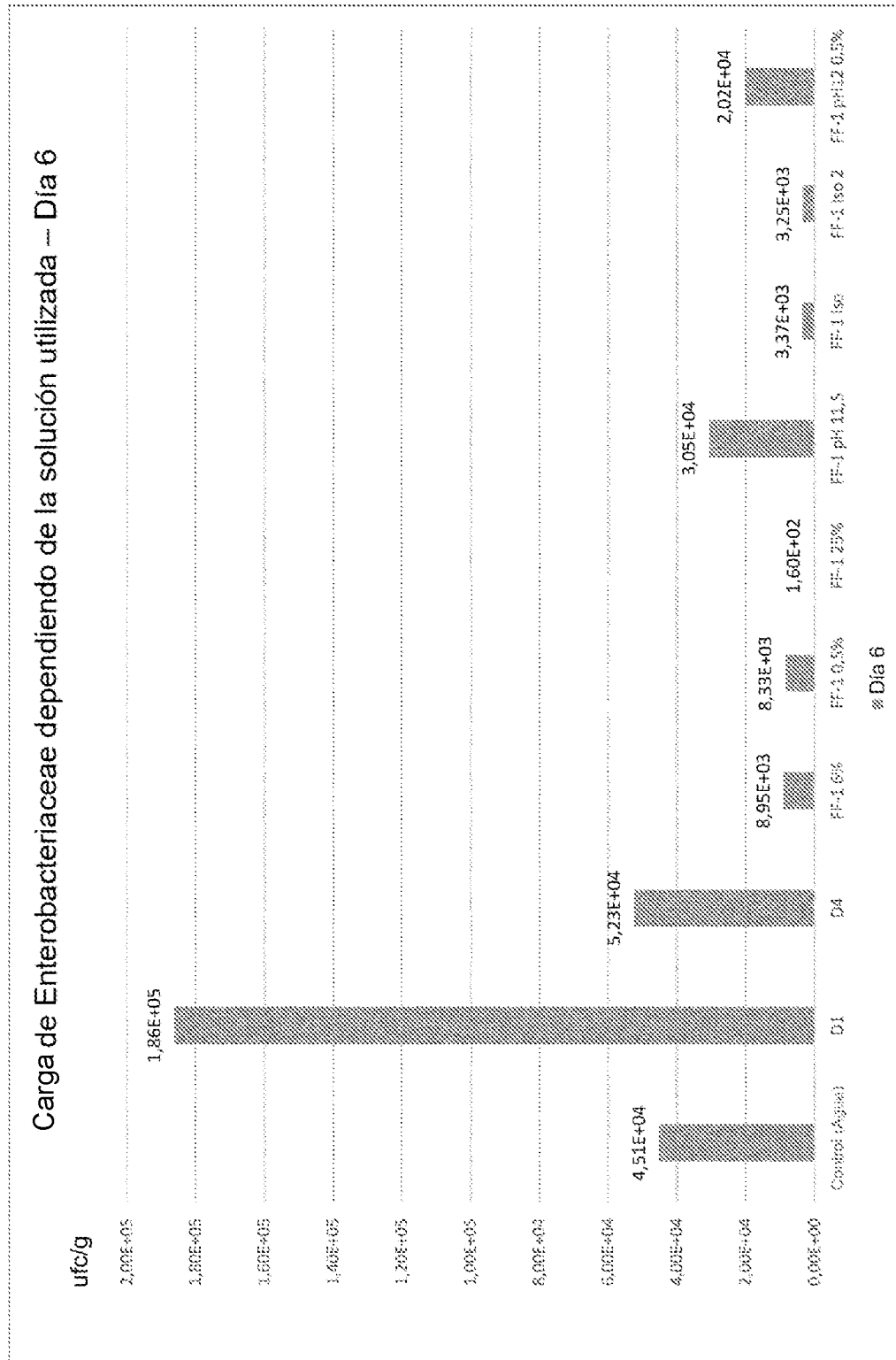


FIG. 2

