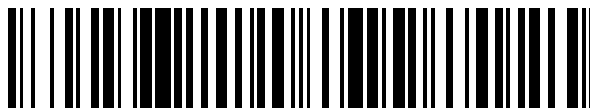


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 918 330**

21 Número de solicitud: 202130019

51 Int. Cl.:

A23B 7/16

(2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

14.01.2021

43 Fecha de publicación de la solicitud:

15.07.2022

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)**

C/ Serrano, nº 117

28006 Madrid (Madrid) ES

72 Inventor/es:

MUÑOZ ALMAGRO, Nerea;

VILLAMIEL GUERRA, María del Mar y

MONTILLA CORREDERA, Antonia

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **GEL DE PECTINAS DE BAJO NIVEL GLUCÉMICO PARA EL RECUBRIMIENTO ALIMENTICIO**

57 Resumen:

Gel de pectinas de bajo nivel glucémico para el recubrimiento alimenticio.

La invención se refiere a un gel de recubrimiento de frutos a partir de pectina de bajo nivel glucémico y calcio, donde dicho gel mantiene los niveles microbiológicos dentro de los límites establecidos y aumenta la vida útil durante el almacenamiento de los frutos, reduciendo así su deterioro. Además, el gel comprende un porcentaje reducido de endulzante, preferiblemente sacarosa, estevia y sacarina, obteniendo un gel con un menor nivel glucémico. Por tanto, la presente invención pertenece al campo técnico alimentario, concretamente a procesos de conservación de alimentos.

ES 2 918 330 A1

DESCRIPCIÓN

GEL DE PECTINAS DE BAJO NIVEL GLUCÉMICO PARA EL RECUBRIMIENTO ALIMENTICIO

5

La invención se refiere a un gel de recubrimiento de frutos a partir de pectina de bajo nivel glucémico y calcio, donde dicho gel mantiene los niveles microbiológicos dentro de los límites establecidos y aumenta la vida útil durante el almacenamiento de los frutos, reduciendo así su deterioro. Además, el gel comprende un porcentaje reducido de endulzante, preferiblemente sacarosa, estevia y sacarina, obteniendo un gel con un menor nivel glucémico. Por tanto, la presente invención pertenece al campo técnico alimentario, concretamente a procesos de conservación de alimentos.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

En los últimos años, el consumo elevado de azúcares en la alimentación de la población está asociado directamente con el incremento de la obesidad, de enfermedades cardiovasculares, de diabetes, de hipertensión y de algunos tipos de cáncer. La Organización Mundial de la Salud recomienda reducir la ingesta de azúcares libres o añadidos a menos de un 10% de la ingesta total. En consecuencia, se ha incrementado la preocupación de los consumidores por la influencia que tiene la alimentación en la salud, decantándose por los productos con bajo contenido en azúcar y grasas, elevando el consumo de productos saludables, ecológicos y sostenibles, como las frutas y verduras.

20

25

Según el Informe del Consumo de Alimentación en España del 2017, publicado por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, el consumidor está cada vez más interesado en alimentos preparados y listos para consumir. Algunos de los alimentos saludables con más demanda en el mercado de los “productos listos para su consumo” son las frutas. Estudios recientes revelan que se consume alrededor de un 40% más de fruta si está lavada y preparada, por lo que muchos supermercados están incorporando este tipo de productos. Una de las frutas “listas para consumir” con más demanda son los frutos del bosque o frutos rojos debido a su agradable sabor, su alto valor nutritivo y sus propiedades antioxidantes.

30

35

Sin embargo, por ser frutos con una elevada actividad metabólica y sin cubierta protectora,

son altamente perecederos por la pérdida de agua, lesiones mecánicas y/o infección por hongos (*Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*). Por ello, su vida útil es muy corta, siendo la refrigeración uno de los métodos más utilizados para mantener su calidad. Esto supone un reto, sobre todo cuando las entregas a los supermercados se alargan, como es el caso de las exportaciones. Durante la distribución, se registran hasta un 40% de pérdidas por deterioro, siendo necesario buscar alternativas de conservación más efectivas.

Una alternativa para disminuir las pérdidas por deterioro de los frutos es el recubrimiento con películas comestibles capaces de controlar la transferencia de oxígeno, reducir la producción de etileno, incrementar el contenido de dióxido de carbono interno y mejorar las propiedades mecánicas del fruto.

Gol et al., 2013, Postharvest Biology and Technology, 85, 185–195, encontraron que las fresas recubiertas con carboximetil celulosa, quitosano e hidroxipropilmetil celulosa perdieron menos peso a los 12 días de almacenamiento (6,9-9,5%) que su control, el cual a los 8 días alcanzó una pérdida del 14,3%. Similarmente, las fresas recubiertas con una combinación de goma arábica, proteína y glicerol y almacenadas 10 días tuvieron una pérdida de peso del 39,3%, mientras que en las muestras sin recubrir fueron del 49,2% (*Robles-Flores et al., 2018, Food and Bioprocess Technology, 11, 2172-2181*). *Dhital et al., 2018, LWT-Food Science and Technology, 97, 124-134*, observaron valores de pérdidas de peso notablemente más altos (~60%), tanto en fresas sin recubrir como en aquellas recubiertas con alginato y liposomas de limoneno.

Otro tipo de recubrimiento comestible para frutos es el que está compuesto por pectinas, que son fibras solubles alimentarias reconocidas como el aditivo (E-440). Por ejemplo, se ha visto que los geles de pectina de cítricos mejoran los parámetros de calidad físico-químicos de fresas frescas almacenadas a 4 °C durante 5 días respecto a fresas sin recubrir, sin embargo, no mejoran los parámetros microbiológicos y requieren al menos un 60% de sacarosa para gelificar (*Muñoz-Labrador et al., 2018, Journal of the Science of Food and Agriculture, 98, 4866-4875*).

Valores de pérdida de peso superiores a los indicados anteriormente, fueron encontrados por *Treviño-Garza et al., 2015, Journal of Food Science, 80, M1823-M1830*, quienes demostraron que fresas recubiertas con pectina de alto metoxilo, pululanos y quitosanos, alcanzaron pérdidas de un 40% frente a un 50% que mostraron las fresas control a los 15 días de

almacenamiento a 4 °C.

Barrazuela-Rojas et al., 2018, Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 71, 8631-8641, evaluaron la calidad de las fresas recubiertas con gelatina, pectina de alto metoxilo, cera de abejas y enriquecidas con aceite esencial, glicerina y carboximetilcelulosa. Excepto en el caso del recubrimiento elaborado con cera de abeja y pectina que presentó un 21%, todas las muestras, incluida las fresas control, perdieron el doble de peso (41%) a los 12 días de almacenamiento a 4 °C. Con respecto al recuento microbiano, ninguna de las fresas fue apta para el consumo a partir del día 9, con valores de mohos y levaduras superior al límite establecido (10^5 UFC/g). En almacenamientos más cortos, *Muñoz-Labrador et al., 2018, Journal of the Science of Food and Agriculture, 98, 4866-4875*, encontraron valores de pérdida de peso entre 4 y 10% en fresas recubiertas con soluciones viscosas de pectina de cítricos y almacenadas durante 5 días a 4 °C.

Guerreiro et al., 2016, Food Packaging and Shelf Life, 9, 20-28, desarrollaron diferentes recubrimientos combinando alginato de sodio y pectina de alto metoxilo con aceites esenciales (eugenol y citral), los cuales fueron aplicados en fresas. Dichas fresas, independientemente del tipo de recubrimiento utilizado, mostraron una pérdida de peso en torno al doble, en comparación con las fresas no tratadas, durante los 15 días de almacenamiento a 0,5 °C, un 7,3-8,6% de pérdida de peso en las fresas recubiertas frente a un 3,9% en las muestras sin recubrir, demostrando que no todos los geles de recubrimiento de frutas eran efectivos para evitar la pérdida de peso y el deterioro de las frutas durante su almacenamiento.

A pesar de la existencia de estos recubrimientos, tanto la pérdida de peso, como el recuento de mohos y levaduras, a los 12-15 días de almacenamiento sigue siendo superior a los límites de aceptación establecidos para frutos (6% de pérdida de peso y 10^5 UFC/g, respectivamente). Además, algunos de estos recubrimientos tienen un alto porcentaje de azúcar, por lo que no son recomendados para una alimentación saludable.

Por tanto, es necesario el desarrollo de geles de recubrimiento de frutos que aumenten la vida útil de estos frutos durante su almacenamiento entre 12 y 15 días (por debajo de un 6% de pérdida de peso), que ralentice el crecimiento microbiano durante su almacenamiento y que tengan bajo nivel glucémico.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los inventores han desarrollado un gel de recubrimiento de frutos que presenta un menor nivel glucémico en relación con los geles ya conocidos en el estado del arte, preparado a partir de una pectina con un grado de metoxilación de entre el 30-50%, una masa molecular de entre 400-800 kDa y un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, donde dicho gel mantiene los niveles microbiológicos dentro de los límites establecidos y aumenta la vida útil durante el almacenamiento de los frutos durante 12 días, reduciendo así su deterioro y, además, comprende un porcentaje reducido de sacarosa, estevia y/o sacarina.

Los inventores utilizaron los capítulos de girasol para obtener pectinas con un grado de metoxilación de entre el 30-50%, una masa molecular de entre 400-800 kDa y un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%.

De entre las ventajas que presentaron los geles de la invención destaca que:

- se redujo el porcentaje de pérdida de peso de las frutas recubiertas (fresas) con el gel de pectina de bajo índice glucémico de la invención a alrededor del 3,7-4,5%, en comparación con las frutas sin recubrir que presentaron una pérdida de peso de casi un 8,5%;
- la oxidación de la vitamina C en las frutas recubiertas (fresas) con el gel de pectina de bajo índice glucémico de la invención, varió desde 7 a 22%, mientras que, en las frutas sin recubrir, este valor se incrementó hasta un 55%;
- los geles mantuvieron tanto la firmeza de la fruta (fresa) como su pH durante los 12 días de almacenamiento;
- los parámetros microbiológicos se mantuvieron constantes en las frutas recubiertas (fresas) con el gel de pectina de bajo índice glucémico de la invención, ralentizando el crecimiento de mohos y levaduras durante los 12 días de almacenamiento.

Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un gel de recubrimiento alimenticio que comprende:

- (a) entre un 0,01 y 20% p/v de endulzante;
- (b) una pectina que tiene un grado de metoxilación entre el 30-50%, una masa molecular entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%.

En la presente descripción, el término “gel” o “hidrogel”, utilizados indistintamente a lo largo de la presente descripción y en adelante “gel de la invención”, se refiere a una composición, sustancia, material, solución acuosa, disolución, suspensión o dispersión que está formado por dos fases, una fase continua fluida o disolvente y otra fase dispersa en forma de partículas sólidas o soluto y una reología adecuada para formar un gel. En este sentido, los inventores han observado en el estudio viscoelástico de los geles de la invención que los valores óptimos del módulo de almacenamiento (G') para la aplicación de estos geles como recubrimientos está entre 1 y 100 Pa. Asimismo, se han observado los mejores resultados para valores de módulo de almacenamiento constante con una desviación de un máximo de ± 15 grados y donde la diferencia, expresada en unidades logarítmicas, entre el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') es de 1.

Por lo tanto, en una realización preferida que la G' del gel, tal y como se ha descrito anteriormente, esté comprendida entre 1 y 100 Pa, más preferiblemente entre 10 y 100 Pa; y más preferiblemente entre 10 y 80 Pa.

En otra realización preferida, el valor de G' es constante con una desviación de los puntos que representan G' de un máximo de ± 15 grados y donde la diferencia, expresada en unidades logarítmicas, entre G' y G'' es de 1.

En una realización preferida, el soluto está en menor proporción que el disolvente.

En la presente invención, el soluto de la fase sólida o soluto está compuesto por pectina. El término “pectina”, en la presente descripción, se refiere a un tipo de fibra de la lámina media de la pared celular que constituye hasta el 30% del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales. Las pectinas son heteropolisacáridos formados por cadenas lineales de unidades de ácido D-galacturónico, que puede comprender ramificaciones de azúcares compuestas de arabinanos, galactanos y/o arabinogalactanos. El ácido D-galacturónico puede encontrarse como ácido, con el grupo carboxilo libre, o bien con el carboxilo esterificado por un grupo metilo (metilesterificado o metoxilado). En función del porcentaje de residuos de ácido galacturónico esterificado, las pectinas se clasifican como “de alto metoxilo” cuando este porcentaje es superior al 50%, y “de bajo metoxilo” cuando el porcentaje es igual o inferior al 50%. No obstante, además de las características estructurales relacionadas con el grado de metoxilación, otras características adicionales son fundamentales para su uso como gel, como puede ser la masa molecular y el porcentaje de ácido galacturónico.

En una realización preferida el gel de recubrimiento alimenticio de la invención comprende:

(a) entre 0,01 y 20% p/v de endulzante;

(b) entre 0,1 y 2% p/v de la pectina tal y como se ha definido anteriormente, esto es, un grado de metoxilación entre el 30-50%, una masa molecular entre 400-800 kDa un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%;

(c) entre 0,001 y 0,15% p/v de un catión divalente o trivalente; y

(d) disolvente hasta completar el 100% p/v del gel,

donde el pH de dicho gel es de entre 2 y 6.

En una realización preferida la masa molecular de la pectina es de entre 450 y 800 kDa, y aún más preferiblemente, de entre 450 y 620 kDa.

En otra realización preferida el porcentaje de ácido galacturónico es superior a 80% y menor del 95%.

En una realización preferida, la pectina de bajo metoxilo está entre un 0,5-1,5% p/v; y aún más preferiblemente la pectina está en un porcentaje del 1% p/v.

En otra realización aún más preferida, la pectina además tiene un contenido de ramnosa de entre el 2,5 y 4,5% p/v.

En otra realización preferida la pectina es el único polisacárido presente en el gel.

En otra realización preferida el catión divalente o trivalente se selecciona de entre Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , y Al^{3+} . Más preferiblemente el catión es Ca^{2+} .

En otra realización preferida la cantidad de catión divalente o trivalente anterior es de entre un 0,025% y 0,075% p/v.

En otra realización aún más preferida, el gel de la invención comprende entre 0,001 y 0,15% p/v de Ca^{2+} , más preferiblemente entre 0,001 y 0,075%; y aún más preferiblemente entre 0,025 y 0,075% p/v de Ca^{2+} ; y aún más preferiblemente 0,025% p/v de Ca^{2+} .

El término “peso por volumen”, “masa por volumen”, “p/v” o “m/v”, utilizados indistintamente en la presente descripción, se refiere a la relación en porcentaje entre el peso o masa del soluto y/o del disolvente, y el volumen total de la disolución en la que se encuentra.

5 Es práctica de rutina para un experto en la materia determinar las unidades de medida de masa o volumen en función del soluto y del disolvente, y calcular el p/v del soluto y/o del disolvente de la disolución en base al volumen final del gel de la invención.

10 En una realización preferida, las unidades de medida del soluto son los gramos (g) y las unidades de medida del disolvente son los mililitros (mL).

15 El gel de la invención requiere cationes divalentes o trivalentes, preferiblemente iones de Ca^{2+} , para gelificar debido a que la unión entre cadenas se produce a través de iones de calcio, que forman puentes con las cargas negativas de los grupos carboxilos desesterificados o desmetoxilados que presenta el ácido D-galacturónico.

20 En una realización más preferida, el gel de la invención comprende un 1% p/v de pectina y entre 0,025 y 0,075% p/v de Ca^{2+} . Más preferiblemente, el gel de la invención comprende un 1% p/v de pectina y un 0,025% ó 0,050% ó 0,075% p/v de Ca^{2+} . Aún más preferiblemente, el gel de la invención comprende un 1% p/v de pectina y un 0,025% p/v de Ca^{2+} .

25 En la presente invención, la fase líquida del gel de la invención comprende un disolvente hasta completar el 100% p/v, que se selecciona de la lista que consiste en: agua y solución de sales mono, di y trivalentes.

30 El pH puede cambiar la carga neta de las moléculas que forman un gel y alterar las fuerzas de atracción y repulsión entre dichas moléculas, así como la interacción entre los iones de Ca^{2+} y los grupos carboxilo desesterificados o desmetoxilados. El pH influye en la presencia del anión carboxilato del ácido D-galacturónico, así como en la conformación de las pectinas, influyendo en la firmeza y la capacidad de gelificación del gel. Por ello, en el gel de la invención, el pH debe estar por debajo de 6 y por encima de 2.

35 Por lo tanto, el pH del gel de la invención está entre 2 y 6. Preferiblemente, el pH del gel de la invención está entre 2,5 y 5,5, más preferiblemente entre 3 y 5 y aún más preferiblemente entre 3 y 4,6. En una realización preferida, el pH del gel de la invención es 2,5; 2,6; 2,7; 2,8;

2,9; 3,0; 3,1; 3,2; 3,3; 3,4; 3,5; 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1; 4,2; 4,3; o 4,5; y aún más preferiblemente el pH es 3. A dicho pH, el gel de la invención se caracteriza por tener una gelificación y firmeza adecuada, independientemente del endulzante utilizado.

- 5 En una realización más preferida, el endulzante del gel de la invención se selecciona de entre sacarosa, estevia y sacarina.

El término “endulzante” en la presente descripción se refiere a cualquier sustancia o compuesto, natural o artificial, que forma un hidrogel junto a la pectina de bajo metoxilo y un
10 disolvente, mejorando sus características gelificantes, de firmeza y propiedades organolépticas de dicho gel. Un endulzante natural, sin limitarse, es la sacarosa o azúcar común.

Existen en el estado de la técnica otros endulzantes denominados edulcorantes. El término
15 “edulcorante” en la presente descripción se refiere a sustancias o compuestos, naturales o artificiales, que reemplazan y/o sustituyen el uso de la sacarosa y que requieren una menor concentración de los mismos para obtener el mismo poder endulzante de la sacarosa, lo que conlleva a una reducción significativa del aporte de azúcares y calorías al gel de la invención. Ejemplos de edulcorantes naturales incluyen, sin limitarse a, miel de abeja, jarabe de maple,
20 azúcar de coco, néctar de agave, extractos de hojas de *Stevia rebaudiana* (estevia), trehalosa, tagatosa, azúcar invertido, sirope de yacón, xilitol, mogrosido, sorbitol, extractos de frutas de *Siraitia grosvenorii* Swingle, melaza de cereales, y miel de manuka. Ejemplos de edulcorantes artificiales incluyen, sin limitarse a, sacarina, aspartamo, advantamo, sucralosa, ciclamato, neotamo y acesulfamo de potasio.

25 En otra realización aún más preferida, el endulzante se selecciona de entre sacarosa, estevia y sacarina, o cualquiera de sus combinaciones.

Cuando el endulzante es sacarosa, ésta se encuentra en un porcentaje de entre un 5 y un
30 20%, más preferiblemente en un 10% p/v.

Cuando el endulzante es estevia y/o sacarina se encuentran, independientemente, en un porcentaje de entre 0,01 y 0,05% p/v, más preferiblemente de entre 0,01% y 0,03% p/v, aún más preferiblemente en un 0,025% p/v.

35

En una realización preferida, el gel de la invención comprende:

- (a) un 1% p/v de pectina que tiene un grado de metoxilación entre el 30-50%, una masa molecular entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%,
 - (b) un 10% de sacarosa,
 - (c) un 0,025% p/v de Ca^{2+} , y
 - (d) agua hasta completar el 100% p/v del gel,
- donde el pH de dicho gel es 3.

En otra realización preferida, el gel de la invención comprende:

- (a) un 1% p/v de pectina que tiene un grado de metoxilación entre el 30-50%, una masa molecular entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%,
 - (b) un 0,025% p/v de estevia y/o sacarina,
 - (c) un 0,025% p/v de Ca^{2+} , y
 - (d) agua hasta completar el 100% p/v del gel,
- donde el pH de dicho gel es 3.

Por otro lado, los inventores han demostrado que, para la preparación de geles útiles como recubrimientos comestibles, es importante la diferencia que existe entre G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida), ya que cuando G' es próximo a G'' , el gel es débil. Además, los valores de G' mayores de 1 e inferiores a 100 y, preferiblemente 10 Pa son óptimos para esta aplicación, mientras que valores alrededor 100 podrían ser usados para otras aplicaciones como la elaboración de mermeladas dietéticas.

Por lo tanto, en una realización preferida el gel de la invención, tal y como se ha descrito anteriormente, que presenta en estudios de fuerza del gel una G' constante con una desviación de los puntos que representan G' de un máximo de +/-15 grados, ya que, cuando G' incrementa con el tiempo o frecuencia, el gel es débil.

En una realización aún más preferida la diferencia, expresada en unidades logarítmicas, entre G' y G'' es de 1.

Por otro lado, las pectinas del gel de la invención, tal y como se han definido anteriormente están presentes en gran variedad de vegetales. En una realización preferida, la pectina se extrae de, al menos, un material vegetal o un subproducto vegetal, preferiblemente pectina de girasol.

5 En otra realización preferida, la pectina tal y como se ha definido anteriormente se extrae del capítulo del girasol, el cual es pulverizado y a partir del mismo se extrae dicha pectina. Dicho pulverizado comprende, preferiblemente, partículas sólidas con un diámetro inferior o igual a 10^{-3} m, más preferiblemente un diámetro inferior o igual a 10^{-4} m y aún más preferiblemente
10 un diámetro comprendido entre 10^{-9} y 10^{-4} m.

Es práctica de rutina para un experto en la materia, conocer los métodos de extracción de pectina a partir de material o subproducto vegetal y, posteriormente, los métodos de purificación o precipitación.

15 Métodos de extracción de pectinas incluyen, sin limitarse a, hidrólisis ácida con ácidos orgánicos y minerales, microondas, ultrasonidos, agua subcrítica y métodos enzimáticos, y cualquiera de sus combinaciones.

20 En otra realización preferida, la pectina tal y como se ha definido anteriormente se extrae mediante ultrasonidos.

Métodos de purificación o precipitación de pectinas incluyen, sin limitarse a, microfiltración, nanofiltración, ultrafiltración, membranas de diálisis y precipitación alcohólica, y cualquiera de
25 sus combinaciones. Más preferiblemente, la pectina tal y como se ha definido anteriormente se purifica mediante precipitación alcohólica.

Otro aspecto de la presente descripción es un método de preparación de un gel según se ha descrito anteriormente para el recubrimiento de frutos, de aquí en adelante “el primer método
30 de la invención”, que comprende las siguientes etapas:

- (i) disolver entre un 0,1 y 2% p/v de pectina tal y como se ha definido anteriormente, esto es, con un grado de metoxilación de entre el 30-50%, una masa molecular de entre 400-800 kDa un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a
35 1,8% en un disolvente hasta completar, al menos, un 20% p/v del volumen total

de gel requerido;

- (ii) ajustar el pH entre 2 y 6 de la disolución obtenida en (i);
- (iii) añadir a la disolución obtenida en (ii) entre 0,001 y 0,15% p/v de un catión divalente o trivalente;
- 5 (iv) añadir entre un 0,01 y 20% p/v de endulzante en la etapa (i) o en la etapa (iii);
- (v) añadir a la disolución obtenida en (iv) disolvente hasta completar el 100% p/v del volumen requerido de gel.

10 En otra realización preferida, la pectina de la etapa (i) se extrae de, al menos, un material vegetal o un subproducto vegetal, preferiblemente pectina de girasol.

Métodos de extracción de pectinas incluyen, sin limitarse a, hidrólisis ácida con ácidos orgánicos y minerales, microondas, ultrasonidos, agua subcrítica y métodos enzimáticos.

15 En una realización preferida, la pectina de la etapa (i) se extrae mediante ultrasonidos.

Métodos de purificación o precipitación de pectinas incluyen, sin limitarse a, microfiltración, nanofiltración, ultrafiltración, membranas de diálisis y precipitación alcohólica, o cualquiera de sus combinaciones.

20 En una realización preferida, la pectina de la etapa (i) se purifica por precipitación alcohólica.

En otra realización preferida, en la etapa (i) se añade pectina en un porcentaje de entre un 0,5 y 1,5% p/v, y más preferiblemente en un 1% p/v.

25 La pectina de la etapa (i) debe disolverse parcialmente antes de añadir el catión divalente o trivalente para la correcta gelificación del gel. Por lo tanto, el método de la invención comprende una etapa (i) en la que se disuelve parcialmente la pectina con un disolvente hasta completar al menos un 20% p/v del volumen total de gel requerido.

30 En geles de pectina de bajo metoxilo, el pH debe estar por debajo de 6 y por encima de 2 para favorecer la presencia del anión carboxilato del ácido D-galacturónico, así como la conformación de las pectinas, influyendo en la firmeza y la capacidad de gelificación del gel.

35 En una realización preferida, en la etapa (ii) se ajusta el pH del gel entre 2 y 6 con ácido cítrico

o citrato sódico. Preferiblemente, el pH se ajusta entre 2,5 y 5,5, más preferiblemente entre 3 y 5 y aún más preferiblemente entre 3 y 4,5 o entre 3 y 4,6. En una realización preferida, el pH del gel de la invención es 2,5; 2,6; 2,7; 2,8; 2,9; 3,0; 3,1; 3,2; 3,3; 3,4; 3,5; 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1; 4,2; 4,3; o 4,5; y aún más preferiblemente el pH es 3.

5 En otra realización preferida el catión divalente o trivalente de la etapa (iii) se selecciona de entre Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , y Al^{3+} . Más preferiblemente el catión es Ca^{2+} .

10 En otra realización preferida, en la etapa (iii) se añade una cantidad de catión divalente o trivalente en un porcentaje de entre un 0,025% y 0,075% p/v. Más preferiblemente este catión es Ca^{2+} .

15 En otra realización preferida, el endulzante que se añade independientemente en la etapa (i) o (iii) se selecciona de entre sacarosa, estevia y sacarina.

En otra realización más preferida, la sacarosa se añade independientemente en la etapa (i) o (iii) en una cantidad de entre un 5% y 20% p/v, preferiblemente en un 10% p/v.

20 En otra realización más preferida, la estevia y/o sacarina se añaden independientemente en la etapa (i) o (iii) en un porcentaje de entre 0,01 y 0,05% p/v, preferiblemente en un 0,025% p/v.

En otra realización preferida el endulzante se añade en la etapa (i).

25 En otra realización preferida, el endulzante se añade en la etapa (iii) donde a la disolución obtenida en la etapa (i), ajustada de pH en la etapa (ii) se añade entre un 0,01 y 20% p/v de endulzante.

30 En otra realización preferida, el primer método de la invención comprende las siguientes etapas:

(i) añadir un 1% p/v de pectina de girasol con un grado de metoxilación de entre el 30%-50%, una masa molecular de entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%;

35 (ii) añadir a (i) un disolvente hasta completar un 50% p/v del volumen total de gel requerido;

- (iii) añadir a (ii) 0,025% p/v de Ca^{2+} ;
- (iii') añadir a (iii) un 10% p/v de sacarosa;
- (iv) añadir a la composición obtenida en (iii') un disolvente hasta completar el 100% p/v del gel; y
- 5 (v) ajustar el pH a 3.

En otra realización preferida, el primer método de la invención comprende las siguientes etapas:

- 10 (i) añadir un 1% p/v de pectina de girasol con un grado de metoxilación de entre el 30-50%, una masa molecular de entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%;
- (ii) añadir a (i) un disolvente hasta completar un 50% p/v del volumen total de gel requerido;
- (iii) añadir a (ii) 0,025% p/v de Ca^{2+} ;
- 15 (iii') añadir a (iii) un 0,025% p/v de estevia y/o sacarina;
- (iv) añadir a la composición obtenida en (iii') un disolvente hasta completar el 100% p/v del gel; y
- (v) ajustar el pH a 3.

- 20 Otro aspecto de la invención, es el producto obtenido por el primer método de la invención que es el gel de la invención, tal y como se ha definido anteriormente.

- Otro aspecto de la presente invención es un método de recubrimiento de alimentos, preferiblemente frutos, de aquí en adelante “el segundo método de la invención”, que
- 25 comprende aplicar el gel de la invención tal y como se ha descrito anteriormente al fruto por un método que se selecciona de entre esprayado, inmersión, etc.

En una realización preferida, el gel se aplica como una película homogénea.

- 30 En una realización preferida, previamente a la etapa de recubrimiento, el fruto se lava con una solución que comprende preferentemente un compuesto higienizante que se selecciona de entre ácido cítrico, aceites esenciales y bioconservantes.

- En la presente descripción, el término “fruto” se refiere a la parte, al producto o al órgano de
- 35 una planta que contiene las semillas, y que tras su maduración se separa de la planta para

diseminar dichas semillas.

En la presente invención, el término “película homogénea” se refiere a una capa donde la pectina se distribuye de forma continua donde no se diferencien grumos en su estructura.

5 Este segundo método de la invención permite aumentar la vida útil del fruto durante el almacenamiento y mantener los niveles microbiológicos bajos, evitando el deterioro del mismo, mediante el recubrimiento de dicho fruto con el gel de la invención.

10 El término “recubrimiento” tal como se usa en la presente descripción, se refiere a la acción de cubrir, envolver, adherir, forrar, rodear o revestir, parcialmente o en su totalidad, la superficie o epicarpio de un fruto con el gel de la invención para mejorar sus propiedades físico-químicas (aspecto, firmeza, dureza) y cualidades organolépticas (textura, sabor, aroma, color).

15 En una realización preferida el recubrimiento del fruto está en, al menos, un 60% de la totalidad de su superficie. En otra realización más preferida, el recubrimiento está en al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de la totalidad de su superficie. En otra realización aún más preferida, el recubrimiento está en un
20 100% de la superficie del fruto.

Es práctica de rutina para un experto en la materia conocer los métodos de recubrimiento de alimentos. Ejemplos de métodos de recubrimiento de alimentos incluyen, sin limitarse a, inmersión en líquido o gel, pulverización o recubrimiento mediante spray, deposición en vacío,
25 premoldeado o casting y extrusión.

En una realización preferida, los frutos del segundo método de la invención son frutos del bosque o frutos rojos, términos utilizados indistintamente en la presente descripción.

30 El fruto del bosque o fruto rojo se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.

El segundo método de la invención puede aplicarse para el recubrimiento de otros alimentos
35 que, sin limitarse, se seleccionan de la lista que consiste en: tomate, pimiento, berenjena,

calabacín, pepino, manzana, pera, uva, ciruela, higo, melocotón, albaricoque, níspero, caqui, zanahoria, patata, espárrago, champiñón, setas, chirimoya, mango, frutos secos, snacks, mermeladas, confituras, jaleas, productos lácteos sólidos como quesos, productos lácteos fermentados como yogures y productos cárnicos frescos y procesados.

5

Opcionalmente, estos alimentos son higienizados antes del recubrimiento con el gel de invención. En la presente invención, el término “compuesto higienizante” o “compuesto desinfectante”, utilizados indistintamente en la presente descripción, se refiere a un elemento, molécula, sustancia, disolución, mezcla, que puede ser natural o artificial, y que se caracteriza
 10 por su capacidad de desinfectar, limpiar, esterilizar, diseminar, eliminar o reducir los patógenos de la superficie de un alimento, preferiblemente de frutos y vegetales, para evitar daños nocivos y de salud y mejorar la calidad de dichos alimentos y permitir su consumo directo. Estos compuestos higienizantes se seleccionan de la lista que consiste en: compuestos químicos con cloro, yodo, aldehído, amonio cuaternario, peracetatos, soluciones
 15 ácidas, soluciones alcalinas, aceites esenciales y bioconservantes. Una solución ácida es, sin limitarse, el ácido cítrico. El aceite esencial se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: ésteres, aldehídos, cetonas, terpenos y compuestos fenólicos.

Un experto en la materia conoce otros métodos de desinfección de alimentos, diferentes al
 20 uso de compuestos higienizantes, que se seleccionan de la lista que, sin limitarse, consiste en: desinfección por radiación ultravioleta, desinfección por rayos gamma, entre otros.

En una realización preferida, el compuesto higienizante del segundo método de la invención se selecciona de entre ácido cítrico, aceites esenciales, y bioconservantes.

25

Otro aspecto de la presente invención es el uso del gel de la invención para el recubrimiento de un alimento, preferiblemente de un fruto, de aquí en adelante “primer uso de la invención”.

El término “fruto” y “recubrimiento” se han descrito anteriormente en la presente descripción y
 30 son utilizados de igual forma en el primer uso de la invención.

En una realización preferida, el alimento del primer uso de la invención se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora,
 35 mora, saúco y maqui.

En otra realización preferida, el alimento del primer uso de la invención se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: tomate, pimiento, berenjena, calabacín, pepino, manzana, pera, uva, ciruela, higo, melocotón, albaricoque, níspero, caqui, zanahoria, espárrago, alcachofa, chirimoya, patata, champiñón, setas y mango.

Otro aspecto de la presente invención es el uso del gel de la invención para aumentar la vida útil de un alimento, preferiblemente de un fruto, de aquí en adelante el “segundo uso de la invención”.

El término “fruto” se ha descrito anteriormente en la presente descripción y es utilizado de igual forma en el segundo uso de la invención.

El término “vida útil” tal como se usa en la presente descripción, se refiere a la duración temporal que permite consumir el fruto sin que haya perdido sus propiedades organolépticas o cualidades físico-químicas, y que los parámetros microbiológicos se mantengan en los límites establecidos aptos para el consumo humano.

En una realización preferida, el alimento del segundo uso de la invención, se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.

En otra realización preferida, el alimento del segundo uso de la invención, se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: tomate, pimiento, berenjena, calabacín, pepino, manzana, pera, uva, ciruela, higo, melocotón, albaricoque, níspero, caqui, zanahoria, espárrago, alcachofa, chirimoya, patata, champiñón, setas y mango, frutos secos, snacks, mermeladas, confituras, jaleas, productos lácteos sólidos como quesos, productos lácteos fermentados como yogures y productos cárnicos frescos y procesados.

Otro aspecto de la presente invención es un alimento, preferiblemente un fruto que comprende un gel de la invención.

El término “fruto” se ha descrito anteriormente en la presente descripción y es utilizado de igual forma en este aspecto de la invención.

En una realización preferida el recubrimiento del fruto está en, al menos, un 60% de la totalidad de su superficie. En otra realización más preferida, el recubrimiento está en al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de la totalidad de su superficie. En otra realización aún más preferida, el recubrimiento está en un 100% de la superficie del fruto.

Es práctica de rutina, para un experto en la materia, los métodos de recubrimiento de alimentos. Los métodos de recubrimiento de alimentos incluyen, sin limitarse a, inmersión en líquido o gel, pulverización o recubrimiento mediante spray.

En otra realización preferida, el alimento de la invención se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.

En otra realización preferida, el alimento de la invención se selecciona de la lista que, sin limitarse, consiste en: tomate, pimiento, berenjena, calabacín, pepino, manzana, pera, uva, ciruela, higo, melocotón, albaricoque, níspero, caqui, zanahoria, espárrago, alcachofa, chirimoya, patata, champiñón, setas y mango, frutos secos, snacks, mermeladas, confituras, jaleas, productos lácteos sólidos como quesos, productos lácteos fermentados como yogures y productos cárnicos frescos y procesados.

Otro aspecto de la presente invención es un método de conservación del alimento de la invención que comprende envasarlo o almacenarlo en una atmósfera modificada o atmósfera controlada.

El término “atmósfera modificada” o “atmósfera controlada”, utilizados indistintamente en la presente descripción, se refiere a la atmósfera, el medio o entorno gaseoso o al aire contenido en el envase de almacenamiento o conservación de los alimentos, que se caracteriza por estar modificado intencionadamente para mejorar su calidad y vida útil, disminuyendo la actividad metabólica de los mismos y el crecimiento de microorganismos. Dicha atmósfera modificada comprende al menos uno de los gases que se selecciona de la lista que consiste en: nitrógeno, oxígeno, dióxido de carbono y cualquier combinación de los mismos.

En una realización más preferida, la atmosfera modificada además comprende al menos un

gas que se selecciona de la lista que consiste en: argón, dióxido de nitrógeno, helio, monóxido de carbono, óxido nitroso, ozono, hidrogeno, dióxido de azufre, cloro y vapor de agua.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y la figura se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIGURA 1: Influencia de las diferentes concentraciones de Ca^{2+} : (a) Control, ausencia de Ca^{2+} , (b) una concentración de Ca^{2+} de 25 mg/g de pectina, (c) una concentración de Ca^{2+} de 50 mg/g de pectina y (d) una concentración de Ca^{2+} de 75 mg/g de pectina (pH=3, concentración de pectina 1% (w/v)), sobre G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida) de los geles obtenidos con pectina 1, 2 y 3.

FIGURA 2: Influencia de las diferentes concentraciones de sacarosa (pH=3, concentración de pectina 1% (w/v)) sobre G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida) de los geles obtenidos con (a)) Pectina 1: Extracción con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, 64 °C durante 24 min; (b) Pectina 2: Extracción con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, en un baño de ultrasonidos a 64 °C durante 24 min; (c) Pectina 3 obtenida según el proceso descrito en Muñoz-Almagro, N., et al. (Structural and technological characterization of pectin extracted with sodium citrate and nitric acid from sunflower heads. Electrophoresis, 2018, 39(15), 1984-1992): Extracción con 0,70% de citrato sódico a pH 3,2, 52 °C durante 184 min.

FIGURA 3: Influencia de la presencia de diferentes edulcorantes, estevia y sacarina (concentración de pectina 1% (w/v)) a valores de pH de 3,0 y 4,6, sobre G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida) de los geles obtenidos (a)) Pectina 1: Extracción con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, 64 °C durante 24 min; (b) Pectina 2: Extracción con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, en un baño de ultrasonidos a 64 °C durante 24 min; (c) Pectina 3 obtenida según el proceso descrito en Muñoz-Almagro, N., et al. (Structural and technological characterization of pectin extracted with sodium citrate and nitric acid from sunflower heads. Electrophoresis, 2018, 39(15), 1984-1992): Extracción con 0,70% de citrato sódico a pH 3,2, 52 °C durante 184 min.

EJEMPLOS

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

5

MATERIALES Y MÉTODOS

Para obtener la pectina de girasol, los inventores utilizaron los capítulos de girasol remanentes tras la recolección de las pipas para la producción de aceite procedentes de Albacete (España) y proporcionados por Syngenta (Madrid, España). Estos capítulos de girasol se secaron, se trituraron y se tamizaron, recogiendo las partículas de tamaño $\leq 100 \mu\text{m}$.

10

El citrato tribásico dihidratado y el ácido cítrico monohidratado se adquirieron en Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

15

La viscoelasticidad de los geles (módulo de almacenamiento (G') y módulo de pérdida (G'')) se midieron en un reómetro AR 2000 (TA Instruments Ltd., Crawley, U.K.) en el rango 0,05-10 Hz usando un plato paralelo de aluminio y un espacio de $85 \mu\text{m}$ a 25°C .

20

Las fresas utilizadas por los inventores procedían de Palos de la Frontera (Huelva, España) y se adquirieron directamente de mayoristas en *MercaMadrid* el mismo día en el que se empezaron a realizar los tratamientos. Las fresas seleccionadas presentaban un calibre de 15 y estaban exentas de defectos, según se indica en las normas del *Codex Alimentarius* que se refieren a esta fruta (CODEX STAN 62-1981 y 52-1981).

25

Ejemplo 1. Extracción y purificación de las pectinas de bajo índice glucémico

Se obtuvieron tres pectinas de girasol siguiendo el siguiente proceso: i) Pectina 1: Extracción con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, 64°C durante 24 min; ii) Pectina 2: Extracción con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, en un baño de ultrasonidos a 64°C durante 24 min; iii) Pectina 3 obtenida según el proceso descrito en Muñoz-Almagro, N., et al. (Structural and technological characterization of pectin extracted with sodium citrate and nitric acid from sunflower heads. *Electrophoresis*, 2018, 39(15), 1984-1992): Extracción con 0,70% de citrato sódico a pH 3,2, 52°C durante 184 min. Todas las pectinas se purificaron mediante precipitación alcohólica. Estas pectinas las disolvieron en agua MilliQ, en un 1% del volumen

30

35

total (1% p/v) de la disolución, con un homogeneizador de alta velocidad Ultra-Turrax T25 (IKA® England LTD, Oxford, UK) a una velocidad de 10.000 rpm durante 2 minutos.

Caracterización estructural de las pectinas

5

Para la preparación del gel de recubrimiento de las fresas, los inventores en primer lugar, extrajeron las pectinas de girasol con 0,74% de citrato sódico a pH 3,2, sin (Pectina 1) y con la asistencia de ultrasonidos (Pectina 2) a 64 °C durante 24 min, las purificaron mediante precipitación alcohólica y las caracterizaron estructuralmente mediante cromatografía de gases, de líquidos y espectroscopía de infrarrojo. Con respecto al estudio de la composición monomérica mediante cromatografía de gases, ambas pectinas se hidrolizaron previamente con TFA 2 M a una concentración de 20 mg/mL. Se tomaron 500 µL (10 mg de pectina) de las muestras hidrolizadas y se evaporaron en rotavapor a 40 °C, hasta eliminar el ácido, para evitar que el patrón interno, añadido a continuación (400 µL de β-fenil-glucósido, 0,5 mg/mL), pudiera hidrolizarse, volviéndose a evaporar hasta sequedad. Para la derivatización, se añadieron 250 µL piridina con 2,5% de cloruro de hidroxilamina y se mantuvieron durante 30 minutos a 70 °C agitando en el punto intermedio y en el final de la reacción. Para la reacción de sililación, se añadieron 250 µL de hezametilidisilazano (HMDS) y 25 µL de TFA y la mezcla se dejó reaccionar durante otros 30 minutos a 50 °C. Por último, las muestras se centrifugaron durante 2 minutos a 10000 rpm recogiendo el sobrenadante para su posterior análisis. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases (GC7890A) equipado con un detector de ionización de llama (FID), un inyector automático 7693A (Agilent Technologies Ing., Palo Alto, CA) y una columna capilar de sílice fundida DB-5HT (30 m x 0,32 mm x 0,10 µm) (J&W Scientific, Folson, California, USA). La temperatura inicial del horno fue 150 °C con la siguiente rampa de temperatura: incremento de 1 °C/min hasta 165 °C, manteniendo esta temperatura 17 min, seguido de un incremento de 10 °C/min hasta 200 °C, y por último una rampa de 50 °C/min hasta 350 °C manteniéndose a esta temperatura durante 2 minutos. La temperatura del inyector y del detector fue de 280 °C y 385 °C, respectivamente. La inyección de la muestra se realizó en modo Split 1:30. El gas portador utilizado fue N₂ a un flujo de 1 mL/min. El análisis cuantitativo se realizó mediante el método del patrón interno calculando los factores de respuesta de los distintos monosacáridos presentes (L-arabinosa, D-xilosa, L-ramnosa, D-galactosa, D-manosa, D-glucosa, ácido galacturónico), previamente inyectados a concentraciones conocidas (de 0,01 a 2 mg/mL) y 0,2 mg/mL de β-fenil-glucósido, utilizado como patrón interno. El tratamiento de resultados se realizó con el software Agilent ChemStation en todos los casos.

10
15
20
25
30
35

Por otra parte, el estudio de la distribución de la masa molecular de los carbohidratos presentes en las muestras de pectinas (1 mg/mL) se realizó mediante HPSEC-ELSD en un equipo Agilent 1200 Infinity LC System 1260 acoplado a un Detector Evaporativo de Dispersión de Luz (ELSD, Agilent 1260) utilizando dos columnas en serie, una TSKgel G5000PW_{XL} (7,8 mm x 30 cm) y una columna TSKgel G2500PW_{XL} (6,0 mm x 4,0 cm) con un tamaño de partícula de 10 y 6 μm , respectivamente, procedentes de Tosoh Bioscience (Stuttgart, Alemania). Como fase móvil se utilizó acetato amónico 0,01 M con un flujo de 0,5 mL/min y el análisis de los resultados se llevó a cabo utilizando el software integrado Agilent ChemStation (Agilent Technologies, Boeblingen, Alemania).

La determinación del grado de metilesterificación (DM) de las pectinas se realizó utilizando un espectrómetro FTIR Bruker IFS66v. Se pesaron 0,5 mg de cada pectina y se preparó una pastilla de KBr. Las medidas en transmisión se realizaron en un intervalo espectral de 5000-550 cm^{-1} , una resolución de 4 cm^{-1} y una apertura de 1,0 mm.

La siguiente Tabla 1 muestra las características intrínsecas de las dos pectinas obtenidas, y su comparativa con respecto a la pectina 3 obtenida según el proceso descrito en Muñoz-Almagro, N., y col (Structural and technological characterization of pectin extracted with sodium citrate and nitric acid from sunflower heads. Electrophoresis, 2018, 39(15), 1984-1992).

Tabla 1. Caracterización estructural de diferentes pectinas extraídas mediante diferentes métodos y purificadas por precipitación con alcohol.

		Extracción Convencional	Extracción ultrasonidos	Extracción Convencional
		24min, 64°C, 0,74% citrato		184min, 52°C, 0,70% citrato
		Precipitación con EtOH		Precipitación con EtOH
		Pectina 1	Pectina 2	Pectina 3 (Muñoz-Almagro, 2018)
Parámetros Intrínsecos	GalA	84,2 $\pm$ 0,6	88,0 $\pm$ 0,9	85,4
	Rha	3,8 $\pm$ 0,1	4,0 $\pm$ 0,2	2,1
	Gal	3,9 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,1	2,5
	Man	1,2 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,2	5,2
	Glc	1,6 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,3	
	DM (%)	42 $\pm$ 0,5	35 $\pm$ 0,2	37
	Mw (kDa)	776	500	464

Como se puede observar en la Tabla 1, el ácido galacturónico (GalA) fue el monosacárido más abundante en todas las pectinas, siendo significativamente superior en la pectina 2, extraída por ultrasonidos y similar en éstas obtenidas convencionalmente (pectinas 1 y 3), independientemente de las condiciones de extracción. Es importante destacar que el contenido de ramnosa en las pectinas 1 y 2 es dos veces superior al de la pectina 3 (4 vs 2,1%). Por el contrario, la pectina 3 presentó un contenido de impurezas (glucosa y manosa) considerablemente superior al encontrado en la pectina 1 y especialmente, en la pectina 2. A diferencia de la pectina 1, las pectinas 2 y 3 presentaron una masa molecular (M_w) alrededor de los 500 kDa. Mientras que todas las pectinas mostraron un grado de metoxilación (DM) entre el 35 y 42%.

Ejemplo 2. Preparación del gel de la invención y estudio de sus propiedades reológicas G' y G''

A continuación, se estudió el efecto de los diferentes componentes sobre la gelificación de las pectinas:

- la concentración de Ca^{2+} , en forma de $CaCl_2$, variando la concentración final desde 25 a 75 mg por cada gramo de pectina utilizado en la disolución;
- el edulcorante empleado, la sacarosa (10-20% (p/v) y la estevia y sacarina para obtener geles de bajo índice glucémico. La cantidad de estevia y sacarina adicionada a la disolución fue 400 veces inferior al contenido de sacarosa, con el objetivo de mantener el dulzor de acuerdo a los límites establecidos por la FDA.

Para ello, los inventores disolvieron las pectinas en agua MilliQ, en un 1% del volumen total (1% p/v) de la disolución, con un homogeneizador de alta velocidad Ultra-Turrax T25 (IKA® England LTD, Oxford, UK) a una velocidad de 10.000 rpm durante 2 minutos. Seguidamente, se añadieron el endulzante y el calcio a la disolución de pectina. Los geles se almacenaron a 4 °C durante 24 horas en vasos de vidrio tapados.

A continuación, los inventores estudiaron las propiedades reológicas (G' y G'') de los geles obtenidos usando un AR 2000 reómetro (TA Instruments Ltd., Crawley, U.K.) con un plato de aluminio paralelo (60 mm diámetro y un espacio de 85 μ m) a 25 °C. Los datos fueron analizados con el software Rheology Advantage (TA Instruments, Waters Co., Ltd) en el rango de 0,05-10 Hz.

Como se observa en la Figura 1, independientemente de la concentración de calcio, los geles elaborados con la pectina 2 fueron más fuertes que los formados con las otras dos. Además, cabe destacar que la concentración de calcio, a la cual se alcanzó la mayor firmeza, fue 25, 50 y 75 mg para la pectina 2, 1 y 3, respectivamente. Para evaluar la influencia de la sacarosa (10 y 20%) en los geles elaborados se utilizó la concentración de Ca^{2+} más preferida para cada pectina. Como representa la Figura 2, los geles formados con la pectina 2 y un 10% de sacarosa fueron 10 veces más firmes que los geles elaborados con las pectinas 1 y 3 con un 20% de sacarosa.

La tabla 2 muestra un resumen de los parámetros reológicos en función de la concentración de calcio, endulzantes y pH, así como su influencia en la formación o no de geles adecuados para el recubrimiento comestible de frutos.

Tabla 2. Influencia de las diferentes concentraciones de calcio y endulzantes en las propiedades reológicas (G' y G'') de los geles obtenidos con las pectinas 1, 2 y 3.

Parámetros Extrínsecos	Concentración Ca (% p/v)	Concentración (S) estevia (E) ó sacarina (SR) (% p/v)	Valores G' (Pa)	Distancia entre G' y G''	Inclinación G' (°)	Descripción de la gelación
Pectina 1 Solo Ca ²⁺ pH 3,0	0,001-0,025 0,050-0,075	-	0,1->1	0,2	14	Geles débiles
			~1	0,4	15	
			0,1->1	0,5	15	
			0,1	0,5	25	
Ca ²⁺ pH 3,0 + sacarosa, estevia ó sacarina	0,050	10 S 0,05 E 0,05 SR 20 S	0,1->1	0,5	17	Geles débiles
			1	0,5	11	
			-	-	>15	
			-	-	-	
Pectina 2 Solo Ca ²⁺ pH 3,0	0,001 0,025-0,075	-	0,1->1	0,2	15	Geles débiles
			1	0,7	11	
			10	10	6	
			-	-	6	
Ca ²⁺ pH 3,0 + sacarosa, estevia ó sacarina	0,025	10 S 0,025 E 0,025 SR 20 S	10	10	6	Geles con una reología adecuada para su aplicación como recubrimiento comestible
			-	-	6	
			-	-	6	
			-	-	6	
Ca ²⁺ pH 4,6 + sacarosa, estevia ó sacarina	0,025	10 S 0,025 E 0,025 SR	0,1	0,1	25	Geles débiles
			-	-	26	
			-	-	28	
			-	-	-	
Pectina 3 Solo Ca ²⁺ pH 3,0	0,001-0,050 0,075	-	0-1	0,3	40	No se forma gel Geles débiles
			0,1-<1	0,3	34	
Ca ²⁺ pH 3,0 + sacarosa	0,075	10 S 20 S	<1-<10	0,3	33	Geles débiles
			0,1->1	0,5	36	

Ejemplo 3. Efecto de los geles de la invención elaborados con las pectinas 1 y 2 como recubrimiento comestible de fresas para alargar su vida útil

Posteriormente, los inventores llevaron a cabo el recubrimiento de las fresas. En primer lugar, lavaron las fresas con ácido cítrico (0,1% p/v) y las secaron por convección en un prototipo de secador de bandejas (SBANC, *Edibon Technical Teaching Units*, España) con corriente de aire a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, recubrieron las fresas por inmersión en los correspondientes geles elaborados con las pectinas 1 y 2 con diferentes endulzantes durante 2 minutos y de nuevo se secaron en el secador de bandejas durante 35 min. Los inventores almacenaron las fresas en cajas de plástico de polipropileno (perforadas para permitir su respiración) con separadores para crear compartimentos donde depositar las fresas. En total, los inventores seleccionaron 150 fresas, 6 fresas para cada uno de los 5 tratamientos y para cada día de medida (0, 3, 5, 8 y 12 días) donde los 5 tratamientos fueron: fresas sin recubrir (control), fresas recubiertas con calcio únicamente, fresas recubiertas con calcio + sacarosa 10%, fresas recubiertas con calcio + estevia 0,025% y fresas recubiertas con calcio + sacarina 0,025%.

Para estudiar la calidad de las fresas, los inventores llevaron a cabo diferentes medidas analíticas en los días 0, 3, 5, 8 y 12 del almacenamiento. La pérdida de peso fue determinada gravimétricamente como la diferencia entre el peso inicial (día 0, W_i) y el peso de la fruta en cada día de análisis (W_n), siendo los resultados expresados como porcentaje de pérdida de peso (%WL) mediante la siguiente ecuación:

$$WL (\%) = \frac{W_i - W_n}{W_i} \times 100$$

Para medir el color de las fresas, los inventores usaron un equipo *Chroma Meter CM-508i* (Minolita Co. Ltd, Japón) con la escala CIELab (L^* , a^* and b^*) donde L^* representa la luminosidad (0 = negro, 100 = blanco), donde a^* representa la cromaticidad relativa a la rojez [(-) verde a (+) rojo] y donde b^* representa la cromaticidad relativa a la amarillez [(-) azul a (+) amarillo].

La determinación del pH, la llevaron a cabo utilizando un pH-metro Mettler Toledo durante el almacenamiento de las fresas utilizando fruta homogéneizada en agua MilliQ a una concentración del 10% (p/v).

Para determinar el contenido de vitamina C, añadieron a 25 mg de las fresas liofilizadas, 12,5 mL de ácido oxálico al 4%, homogeneizándose durante 1 minuto a 13.500 rpm en un homogeneizador Ultra-Turrax T-35 (IKA Labortechnik, Janke & Kunkel, Saufen, Alemania).

5 Después adicionaron 2,5 mL de una solución de 5 mg/mL de D, L-ditiotreitol, para reducir el ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico, manteniendo las muestras a temperatura ambiente y en oscuridad durante 30 minutos y se enrasó a 25 mL con agua. Finalmente, los inventores centrifugaron las muestras tratadas a 3.200 g durante 5 minutos y el sobrenadante se filtró a través de filtros de jeringa de 0,45 µm para su posterior análisis cromatográfico. Realizaron el
10 análisis de vitamina C por cromatografía líquida de alta eficacia y detector de UV de fotodiodos alineados (Diodo Array) (RP-HPLC-DAD) en un sistema LC 1220 Infinity de Agilent Technologies - 1260 DAD (Boeblingen, Alemania). La separación cromatográfica de la vitamina C la realizaron con una columna ACE 5 C18 (ACE®, UK) (250 mm de longitud x 4,6 mm de diámetro interno, 5 µm de diámetro de partícula), a 25 °C, usando tampón KH₂PO₄ 5
15 mM (pH 3,0) como fase móvil. Los inventores realizaron la elución en condiciones isocráticas a un flujo de 1 mL/min durante 10 minutos. El volumen de inyección fue de 20 µL y la adquisición y el procesamiento de datos la realizaron mediante el software Agilent ChemStation (Agilent Technologies, Alemania). Los inventores cuantificaron la pérdida de vitamina C en el transcurso del tiempo de almacenamiento, comparando la cantidad encontrada
20 en el día 0 con la del día 14 y expresándose como porcentaje de vitamina C perdida.

Los inventores determinaron otro parámetro relacionado con la calidad de estos frutos perecederos, la dureza, mediante un *Fruit Pressure Tester FT 327* (Facchini srl, Alfonsine, Italy).

25 En los análisis microbiológicos, los inventores determinaron el contenido en mohos y levaduras por triplicado de todas las muestras recubiertas y sin recubrir almacenadas a 0, 5, 8 y 12 días mediante la homogenización de 10 g de cada tipo de fresa almacenada y 90 mL de agua de peptona (2,5% p/v), en un *stomacher* durante 1 min a 230 rpm y analizaron las
30 diluciones seriadas que sembraron en placas de agar triptona-sulfito-cicloserina (TSC). Finalmente, los inventores incubaron dichas placas durante 5 días a 37 °C y llevaron a cabo el recuento de microorganismos.

35

Efecto sobre la pérdida de peso

La respiración y la pérdida de humedad de la fresa son las principales causas de pérdida de peso de esta fruta durante su almacenamiento, lo cual influye negativamente en su dureza, con la consiguiente pérdida de frescura. Así, la Tabla 2 muestra una comparativa entre las fresas sin recubrir y las fresas recubiertas con los geles de pectina 1 y 2 con diferentes endulzantes a lo largo de los 12 días de almacenamiento. Como se puede observar, en todas las fresas recubiertas se redujo la pérdida de peso, llegando a ser la mitad en el caso de los recubrimientos con los endulzantes (aproximadamente entre un 3,5 y 5% de pérdida de peso), en comparación con las fresas sin recubrir (8,5% de pérdida de peso), estando esta pérdida de peso en las fresas sin recubrir por encima del límite de aceptación establecido para la fresa que es un 6% de pérdida de peso. Por tanto, los geles elaborados con endulzantes fueron significativamente mejores que aquellos que sólo contenían calcio, concluyendo que la presencia de pequeñas cantidades de endulzantes mejora la firmeza del gel. Comparando los geles elaborados con ambas pectinas, en líneas generales, la pérdida de peso fue mayor en la pectina 1 que en la pectina 2, presentando una pérdida de peso superior a los límites establecidos en todos los recubrimientos, excepto éstos elaborados con sacarina. Atendiendo a los tratamientos de las fresas con recubrimiento de geles formados con la pectina 2 además de, con endulzantes, observaron que el tratamiento con calcio + sacarina, con aproximadamente una pérdida de peso del 3,8%, fue significativamente mejor que con los tratamientos de calcio + sacarosa y calcio + estevia, con aproximadamente una pérdida de peso del 4,7% en ambos casos, tal como se puede observar en la Tabla 3.

Tabla 3. Pérdida de peso de las fresas sin recubrir y recubiertas con los diferentes geles de pectinas 1 y 2 durante el almacenamiento a 4 °C.

	Tipo de pectina	Día 3	Día 5	Día 8	Día 12
Sin recubrir		2,2 ± 0,1 ^a	2,7 ± 0,1 ^b	3,4 ± 0,2 ^c	8,4 ± 0,3 ^d
Recubiertas sólo con Ca	Pectina 1	1,8 ± 0,2 ^a	2,5 ± 0,2 ^b	3,6 ± 0,1 ^c	7,4 ± 0,1 ^d
	Pectina 2	1,7 ± 0,2 ^a	1,9 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,2 ^b	5,6 ± 0,1 ^c
Ca + sacarosa	Pectina 1	1,9 ± 0,1 ^a	2,8 ± 0,3 ^b	2,5 ± 0,1 ^b	5,9 ± 0,2 ^c
	Pectina 2	1,9 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,2 ^a	2,0 ± 0,2 ^a	4,9 ± 0,3 ^b
Ca + estevia	Pectina 1	2,9 ± 0,2 ^a	3,5 ± 0,1 ^b	3,4 ± 0,2 ^b	6,1 ± 0,1 ^c
	Pectina 2	1,6 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,2 ^b	4,9 ± 0,1 ^c
Ca + sacarina	Pectina 1	2,2 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,2 ^a	4,4 ± 0,1 ^b	5,3 ± 0,1 ^c
	Pectina 2	1,8 ± 0,1 ^b	1,5 ± 0,1 ^a	3,1 ± 0,2 ^c	4,1 ± 0,2 ^d

Los datos son presentados como media ± SD de los análisis de los frutos recubiertos o sin recubrir en los diferentes días de almacenamiento. Las referencias "a-d" indican la comparación en una misma fila cuando los valores son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre ellos.

Análisis microbiológico

Actualmente, no existe ninguna legislación de frutas enteras, listas para el consumo, en la cual se indique el recuento microbiano máximo que debe presentar cada fruta para que sea apta para el consumo. Sin embargo, según el criterio establecido en el Reglamento 2073/2005 destinado a frutas y hortalizas troceadas, listas para el consumo, el límite microbiano se encuentra en 5 UFC/g.

Atendiendo al recuento de mohos y levaduras (Tabla 4), todos los geles elaborados con pectina 1 presentaron valores similares a las encontradas en las fresas sin recubrir, sobrepasando el nivel máximo permitido en la legislación a los 12 días. Por el contrario, los porcentajes correspondientes a los recubrimientos obtenidos a partir de pectina 2, apenas alcanzaron alrededor del 4,3 UFC/g. Con respecto a las fresas recubiertas con geles de pectina 2, éstos elaborados con endulzantes (sacarosa, estevia o sacarina) mantuvieron constante la carga microbiana, ralentizando, por tanto, el crecimiento de mohos y levaduras durante los 12 días de almacenamiento. Sin embargo, las fresas con recubrimientos elaborados sólo con calcio mostraron un aumento en el crecimiento de mohos y levaduras al final del almacenamiento, en el día 12. Por el contrario, la fresa sin recubrir sufrió un aumento de la carga microbiana desde el día 8, no siendo apta para el consumo el día 12. Estos resultados demuestran que los recubrimientos de pectina 2 frenan el crecimiento microbiano en las fresas durante su almacenamiento.

Tabla 4. Crecimiento microbiológico en las fresas sin recubrir y recubiertas con los diferentes geles de pectinas 1 y 2 durante el almacenamiento a 4 °C.

	Tipo de pectina	Día 0	Día 3	Día 5	Día 8	Día 12
Sin recubrir		3,8 ± 0,2 ^a	3,5 ± 0,1 ^a	3,4 ± 0,2 ^a	4,4 ± 0,3 ^b	5,7 ± 0,2 ^c
Recubiertas sólo con Ca	Pectina 1	3,5 ± 0,1 ^a	4,3 ± 0,3 ^b	4,5 ± 0,1 ^b	4,5 ± 0,2 ^b	5,5 ± 0,2 ^c
	Pectina 2	3,0 ± 0,1 ^a	3,2 ± 0,2 ^a	3,4 ± 0,2 ^b	3,0 ± 0,2 ^a	4,6 ± 0,1 ^c
Ca + sacarosa	Pectina 1	3,8 ± 0,1 ^a	4,7 ± 0,1 ^b	5,1 ± 0,2 ^c	5,1 ± 0,2 ^c	5,6 ± 0,2 ^d
	Pectina 2	3,7 ± 0,2 ^a	4,1 ± 0,2 ^a	4,0 ± 0,3 ^{ab}	3,8 ± 0,1 ^a	4,3 ± 0,05 ^b
Ca + estevia	Pectina 1	3,8 ± 0,1 ^a	4,6 ± 0,2 ^b	4,8 ± 0,2 ^b	4,7 ± 0,2 ^b	5,6 ± 0,1 ^c
	Pectina 2	3,9 ± 0,2 ^{bc}	3,8 ± 0,0 ^{bc}	3,6 ± 0,1 ^b	3,1 ± 0,2 ^a	4,0 ± 0,0 ^c
Ca + sacarina	Pectina 1	3,9 ± 0,1 ^a	4,5 ± 0,1 ^b	4,6 ± 0,2 ^b	4,9 ± 0,2 ^b	5,4 ± 0,2 ^c
	Pectina 2	4,1 ± 0,2 ^b	3,9 ± 0,3 ^b	3,5 ± 0,2 ^a	3,4 ± 0,3 ^a	3,7 ± 0,1 ^a

Los datos son presentados como media ± SD de los análisis de los frutos recubiertos o sin recubrir en los diferentes días de almacenamiento. Las referencias "a-d" indican la comparación en una misma fila cuando los valores son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre ellos.

Estudio sobre la firmeza

La pérdida de firmeza constituye uno de los factores principales para determinar la calidad de la fruta, la cual podría estar asociada con la pérdida de agua.

Atendiendo al estudio de firmeza (Tabla 5), todas las fresas, incluso éstas que no fueron recubiertas, mantuvieron la firmeza hasta el día 8. Cabe destacar que la firmeza de las fresas recubiertas con los geles elaborados sólo con calcio, independientemente de la pectina usada, fue inferior a la de las fresas recubiertas con los geles elaborados con la adición de algún endulzante. Con respecto a los recubrimientos formados con endulzantes, en general, la firmeza de las fresas recubierta con geles elaborados con pectina 1 fueron inferiores que éstos correspondientes a las fresas con recubrimientos elaborados con pectina 2 a los 12 días. Además, estos datos coinciden con los comportamientos descritos anteriormente en la pérdida de peso y el análisis microbiano.

Tabla 5. Estudio de la firmeza en las fresas control y recubiertas con los diferentes geles de pectinas 1 y 2 durante el almacenamiento a 4 °C.

	Tipo de pectina	Día 0	Día 5	Día 8	Día 12
Sin recubrir		2,0 ± 0,0 ^c	1,8 ± 0,1 ^b	2,1 ± 0,1 ^c	0,2 ± 0,0 ^a
Recubiertas sólo con Ca	Pectina 1	1,9 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,1 ^b	1,2 ± 0,1 ^a
	Pectina 2	1,9 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,1 ^b	1,8 ± 0,0 ^b	1,1 ± 0,1 ^a
Ca + sacarosa	Pectina 1	1,9 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,1 ^{ab}	1,5 ± 0,1 ^a
	Pectina 2	1,8 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,0 ^a	1,9 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,1 ^a
Ca + estevia	Pectina 1	1,9 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,1 ^{ab}	1,4 ± 0,1 ^a
	Pectina 2	1,9 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,0 ^a	1,9 ± 0,0 ^a	1,7 ± 0,2 ^a
Ca + sacarina	Pectina 1	1,9 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,1 ^b	1,7 ± 0,1 ^{ab}	1,4 ± 0,1 ^a
	Pectina 2	1,9 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,0 ^a	1,7 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,2 ^a

Los datos son presentados como media ± SD de los análisis de los frutos recubiertos o sin recubrir en los diferentes días de almacenamiento. Las referencias "a-b" indican la comparación en una misma fila cuando los valores son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre ellos.

Medida del color

El color es una característica importante utilizada para evaluar la calidad y madurez del fruto, que además influye considerablemente en la aceptación del consumidor. Las modificaciones producidas en el color externo de las fresas durante el almacenamiento se analizaron, como se ha descrito en párrafos anteriores, utilizando la escala CIELab, que corresponde a la luminosidad (L^*), rojez (a^*) y amarillez (b^*). En la Tabla 6 se puede observar que los parámetros de luminosidad, rojez y amarillez de las fresas sin recubrir fueron significativamente diferentes en comparación a éstos correspondientes a las fresas

recubiertas. Por otro lado, no se observaron cambios significativos en las fresas recubiertas independientemente de la pectina utilizada.

Tabla 6. Parámetros de luminosidad (L^*), rojez (a^*) y amarillez (b^*) en las fresas control y recubiertas con los diferentes geles de pectinas 1 y 2 con calcio y/o endulzantes durante el almacenamiento a 4 °C.

Parámetros de color	Tratamientos	Tipo de pectina	Día 0	Día 5	Día 8	Día 12
L^*	Sin recubrir		$40,3 \pm 1,1^b$	$37,6 \pm 3,6^{ab}$	$35,4 \pm 3,4^{ab}$	$35,1 \pm 1,0^a$
	Recubiertas sólo con Ca	Pectina 1	$41,1 \pm 1,9^a$	$38,8 \pm 3,1^a$	$38,4 \pm 1,9^a$	$38,5 \pm 2,5^a$
		Pectina 2	$39,2 \pm 1,4^a$	$39,1 \pm 2,7^a$	$40,4 \pm 1,4^a$	$37,3 \pm 1,0^a$
	Ca + sacarosa	Pectina 1	$38,5 \pm 1,2^b$	$34,8 \pm 1,7^a$	$36,1 \pm 1,6^{ab}$	$36,6 \pm 1,8^{ab}$
		Pectina 2	$40,8 \pm 0,5^a$	$37,6 \pm 2,3^a$	$38,1 \pm 1,2^a$	$39,4 \pm 1,2^a$
	Ca + estevia	Pectina 1	$38,4 \pm 2,3^a$	$38,2 \pm 3,4^a$	$40,1 \pm 2,7^a$	$37,5 \pm 3,7^a$
		Pectina 2	$39,1 \pm 1,8^a$	$38,6 \pm 1,2^a$	$39,1 \pm 2,3^a$	$40,5 \pm 2,5^a$
	Ca + sacarina	Pectina 1	$41,2 \pm 3,8^{ab}$	$35,6 \pm 2,8^a$	$43,9 \pm 2,6^b$	$38,2 \pm 2,0^{ab}$
		Pectina 2	$38,9 \pm 2,5^a$	$35,1 \pm 1,3^a$	$38,4 \pm 1,8^a$	$36,5 \pm 3,3^a$
	Sin recubrir		$34,1 \pm 1,1^a$	$33,6 \pm 0,6^a$	$33,2 \pm 2,1^a$	$32,9 \pm 1,3^a$
	Recubiertas sólo con Ca	Pectina 1	$31,1 \pm 1,3^a$	$35,6 \pm 1,4^b$	$37,1 \pm 1,5^b$	$36,9 \pm 3,2^b$
		Pectina 2	$30,7 \pm 0,9^a$	$31,8 \pm 1,1^a$	$30,6 \pm 1,4^a$	$30,9 \pm 1,7^a$
a^*	Ca + sacarosa	Pectina 1	$35,7 \pm 2,9^a$	$36,4 \pm 2,2^a$	$36,5 \pm 3,6^a$	$34,5 \pm 2,6^a$
		Pectina 2	$34,0 \pm 1,5^a$	$33,2 \pm 2,5^a$	$35,8 \pm 0,9^a$	$34,3 \pm 0,9^a$
	Ca + estevia	Pectina 1	$34,7 \pm 3,4^a$	$35,6 \pm 3,3^a$	$37,5 \pm 1,2^a$	$37,4 \pm 1,6^a$
		Pectina 2	$32,8 \pm 2,1^a$	$33,8 \pm 1,3^a$	$32,4 \pm 0,9^a$	$31,8 \pm 0,9^a$
	Ca + sacarina	Pectina 1	$32,9 \pm 1,7^b$	$34,9 \pm 1,6^b$	$35,5 \pm 1,8^b$	$28,2 \pm 0,7^a$
		Pectina 2	$31,5 \pm 1,8^a$	$32,8 \pm 1,5^a$	$33,3 \pm 0,5^a$	$32,4 \pm 0,9^a$

Tabla 6 (Cont.)

b*	Sin recubrir		26,3 ± 1,2 ^b	24,1 ± 0,8 ^b	23,6 ± 1,6 ^b	18,7 ± 1,4 ^a
	Recubiertas sólo con Ca	Pectina 1	24,3 ± 0,6 ^b	23,7 ± 1,7 ^{ab}	22,3 ± 2,2 ^{ab}	19,8 ± 1,8 ^a
		Pectina 2	22,0 ± 1,8 ^a	21,5 ± 2,2 ^a	21,5 ± 2,2 ^a	20,8 ± 1,2 ^a
	Ca + sacarosa	Pectina 1	22,7 ± 1,1 ^b	16,4 ± 1,8 ^a	16,3 ± 1,6 ^a	20,5 ± 2,3 ^b
		Pectina 2	23,4 ± 1,5 ^a	22,0 ± 1,8 ^a	24,9 ± 1,2 ^a	23,9 ± 1,3 ^a
	Ca + estevia	Pectina 1	21,9 ± 2,6 ^{ab}	21,2 ± 1,0 ^a	23,7 ± 0,5 ^b	22,8 ± 2,1 ^{ab}
		Pectina 2	20,6 ± 1,6 ^a	19,1 ± 1,6 ^a	19,9 ± 0,9 ^a	18,9 ± 1,2 ^a
	Ca + sacarina	Pectina 1	28,1 ± 1,7 ^b	20,3 ± 1,7 ^a	24,7 ± 2,3 ^{ab}	17,9 ± 2,6 ^a
		Pectina 2	19,8 ± 1,0 ^a	18,4 ± 0,9 ^a	20,4 ± 2,1 ^a	21,0 ± 1,5 ^a

Los datos son presentados como media ± SD de los análisis de los frutos recubiertos o sin recubrir a los diferentes días de almacenamiento. Las referencias "a-b" indican la comparación en una misma fila cuando los valores son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre ellos.

Variación del pH de la fruta

El ácido cítrico es el que se presenta en mayor concentración en las fresas seguido del ácido málico y el ácido ascórbico. Es durante la fase de senescencia cuando la producción de ácido málico aumenta. Cabe destacar (Tabla 7) que las fresas no recubiertas sufrieron la mayor variación de pH al finalizar el almacenamiento, seguidas de la recubiertas con geles elaborados sólo con calcio. Sin embargo, el pH de las fresas recubiertas con geles elaborados con pectina 2 y endulzantes (sacarosa, estevia y sacarina) no sufrieron variaciones significativas. Por tanto, atendiendo a la evolución del pH las fresas recubiertas con geles formados con pectina 2 en la presente invención, presentaron una menor senescencia que las que no se encontraban recubiertas con los geles de pectina de girasol.

En la Tabla 7 se observan las variaciones de los valores del pH durante el almacenamiento en las fresas sin recubrir y recubiertas con geles elaborados con la pectina 2.

Tabla 7. Variaciones de los valores del pH durante el almacenamiento en las fresas recubiertas y sin recubrir.

	Día 0	Día 5	Día 8	Día 12
Sin recubrir	4,5 ± 0,1 ^c	3,7 ± 0,1 ^b	3,5 ± 0,3 ^{ab}	3,2 ± 0,2 ^a
Recubiertas sólo con Ca	4,3 ± 0,1 ^b	3,8 ± 0,1 ^a	3,8 ± 0,1 ^a	3,7 ± 0,1 ^a
Ca + sacarosa	3,8 ± 0,1 ^a	4,0 ± 0,1 ^a	3,8 ± 0,1 ^a	4,0 ± 0,1 ^a
Ca + estevia	3,9 ± 0,0 ^a	3,8 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,1 ^a	3,8 ± 0,1 ^a
Ca + sacarina	4,1 ± 0,2 ^a	3,9 ± 0,1 ^a	4,1 ± 0,2 ^a	4,1 ± 0,1 ^a

Las referencias "a-b" indican la comparación en una misma fila cuando los valores son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre ellos.

Determinación de la pérdida de vitamina C

Para la determinación de la pérdida de vitamina C, los inventores calcularon el porcentaje de vitamina que perdían las fresas, comparando el día 12 con el día 0. Como se indica en la siguiente tabla (Tabla 8) la pérdida de vitamina C alcanzó un 54,6% en el caso de las fresas sin recubrir. Por el contrario, este valor fue la mitad en el caso de los recubrimientos elaborados con edulcorantes (~22%). Cabe destacar que las fresas recubiertas con geles elaborados únicamente mediante la adición de calcio fueron las que menor oxidación de vitamina C presentaron (7,9%).

Tabla 8. Porcentaje de pérdida de vitamina C de las muestras de fresas sin recubrir y recubiertas con geles elaborados con la pectina 2 durante 12 días de almacenamiento.

		Día 5	Día 8	Día 12
	Sin recubrir	29,5 ± 3,1 ^a	38,9 ± 4,8 ^b	54,6 ± 2,1 ^c
	Recubiertas sólo con Ca	0,0 ± 0,0 ^a	9,6 ± 1,8 ^b	7,9 ± 1,1 ^b
	Ca + sacarosa	0,0 ± 0,0 ^a	2,3 ± 0,1 ^b	24,4 ± 1,1 ^c
	Ca + estevia	1,5 ± 0,1 ^a	13,5 ± 1,9 ^b	21,2 ± 0,9 ^c
	Ca + sacarina	4,7 ± 0,3 ^a	6,4 ± 1,1 ^b	27,0 ± 2,2 ^c

Las referencias "a-c" indican la comparación en una misma fila cuando los valores son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre ellos.

Como conclusión, considerando los distintos parámetros de calidad analizados (pérdida de peso, calidad microbiológica, firmeza y color) las fresas que presentaban una mayor vida útil (hasta 12 días de almacenamiento), manteniendo constante la carga microbiana, la firmeza y con una menor pérdida de peso, son aquellas recubiertas con geles elaborados con pectina de bajo metoxilo de girasol y calcio, en combinación con estevia o sacarina.

REIVINDICACIONES

1. Un gel de recubrimiento alimenticio que comprende:
 - (a) entre un 0,01 y 20% p/v de endulzante;
 - 5 (b) una pectina que tiene un grado de metoxilación entre el 30-50%, una masa molecular entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%.
2. Un gel según la reivindicación anterior que comprende:
 - 10 (a) entre un 0,01 y 20% p/v de endulzante;
 - (b) entre 0,1 y 2% p/v de la pectina según la reivindicación 1;
 - (c) entre 0,001 y 0,15% p/v de un catión divalente o trivalente; y
 - (d) disolvente hasta completar el 100% p/v del gel,
 - 15 donde el pH de dicho gel es de entre 2 y 6.
3. Un gel según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la masa molecular de la pectina es de entre 450 y 620 kDa.
4. Un gel según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la pectina se encuentra
20 en un porcentaje de entre un 0,5 y un 1,5% p/v.
5. Un gel según la reivindicación anterior donde la pectina está en un porcentaje del 1% p/v.
6. Un gel según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la pectina además
25 tiene un contenido de ramnosa de entre el 2,5 y 4,5% p/v.
7. Un gel según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, donde el catión divalente es Ca^{2+} .
- 30 8. Un gel según la reivindicación anterior donde el Ca^{2+} se encuentra en un porcentaje de entre 0,025 y 0,075% p/v.
9. Un gel según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7 donde el pH es 3.
- 35 10. Un gel según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el endulzante se selecciona de entre sacarosa, estevia y sacarina, o cualquiera de sus combinaciones.

11. Un gel según la reivindicación 9 donde la cantidad de sacarosa se encuentra en un porcentaje de entre 5 y 20% p/v, preferiblemente en un 10% p/v.
- 5 12. Un gel según la reivindicación 9 donde la cantidad de estevia y/o sacarina se encuentra en un porcentaje de entre 0,01 y 0,05% p/v, preferiblemente en un 0,025% p/v.
13. Un gel según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde, en los estudios de fuerza del gel, G' es constante con una desviación de los valores que representan G' de un
10 máximo de +/-15 grados.
14. Un gel según la reivindicación anterior donde la diferencia, expresada en unidades logarítmicas, entre G' y G'' es de 1.
- 15 15. Un gel según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde la pectina es pectina de girasol.
16. Un método de preparación de un gel según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 que comprende las siguientes etapas:
20 (i) disolver entre un 0,1 y 2% p/v de pectina con un grado de metoxilación de entre el 30-50%, una masa molecular de entre 400-800 kDa, un porcentaje de ácido galacturónico igual o superior al 80%, y un contenido de impurezas de manosa y glucosa cuya suma es inferior a 1,8%, en un disolvente hasta completar al menos un 20% p/v del volumen total de gel requerido;
25 (ii) ajustar el pH entre 2 y 6 de la disolución obtenida en (i);
(iii) añadir a la disolución obtenida en (i) entre 0,001 y 0,15% p/v de un catión divalente o trivalente;
(iv) añadir entre un 0,01 y 20% p/v de endulzante en la etapa (i) o en la etapa (iii);
(v) añadir a la disolución obtenida en (iv) disolvente hasta completar el 100% p/v del
30 volumen requerido de gel.
17. El método según la reivindicación anterior donde la pectina de la etapa (i) previamente se extrae mediante ultrasonidos.
- 35 18. El método según la reivindicación 17 donde la pectina de la etapa (i) previamente se purifica por precipitación alcohólica.

19. El método según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18 donde la pectina de la etapa (i) se añade en un porcentaje de entre un 0,5 y 1,5% p/v, preferiblemente en un 1% p/v.
- 5 20. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 16 o 19 donde se añade el catión divalente o trivalente en un porcentaje de entre un 0,025 y 0,075% p/v.
21. El método según la reivindicación anterior donde el catión divalente es Ca^{2+} .
- 10 22. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 21 donde el endulzante de la etapa se selecciona de entre sacarosa, estevia y sacarina.
23. El método según la reivindicación 22 en donde el endulzante es la sacarosa y se añade independientemente en la etapa (i) o (iii) en un porcentaje de entre un 5 y 20% p/v, 15 preferiblemente en un 10% p/v.
24. El método según la reivindicación 22 en donde el endulzante es la estevia o sacarina y se añaden independientemente en la etapa (i) o (iii) en un porcentaje de entre un 0,01 y 0,05% p/v, preferiblemente en un 0,025% p/v.
- 20 25. El método según cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24 donde el endulzante se añade en la etapa (i).
26. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 25 donde la pectina es pectina 25 de girasol.
27. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 26 donde el pH de la etapa (ii) se ajusta a 3.
- 30 28. Un método de recubrimiento de alimentos que comprende aplicar el gel de recubrimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 al alimento por un método que se selecciona de entre esprayado e inmersión.
29. El método según la reivindicación anterior donde el gel de recubrimiento se aplica como 35 una película homogénea.
30. El método según cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29 donde el alimento es un fruto.
31. El método según la reivindicación anterior que comprende una etapa previa al

recubrimiento del fruto que consiste en el lavado de la misma.

32. El método según la reivindicación anterior donde la solución de lavado comprende un compuesto higienizante que se selecciona de entre ácido cítrico, aceites esenciales y bioconservantes.
33. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 29 a 31 donde el fruto se selecciona de entre arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.
34. Uso del gel según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para el recubrimiento de un alimento, preferiblemente de un fruto.
35. El uso según la reivindicación anterior donde el fruto se selecciona de entre arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.
36. El uso del gel según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para aumentar vida útil de un alimento, preferiblemente de un fruto.
37. El uso según la reivindicación anterior donde el fruto se selecciona de entre arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.
38. Un alimento, preferiblemente un fruto, que comprende un gel de recubrimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
39. Un alimento, preferiblemente un fruto, según cualquiera la reivindicación anterior, que se selecciona de entre arándano azul, arándano rojo, calafate, agraz silvestre, cereza, endrina, frambuesa, fresa, madroño, murta, muscadinia, grosella, guinda, zarzamora, mora, saúco y maqui.

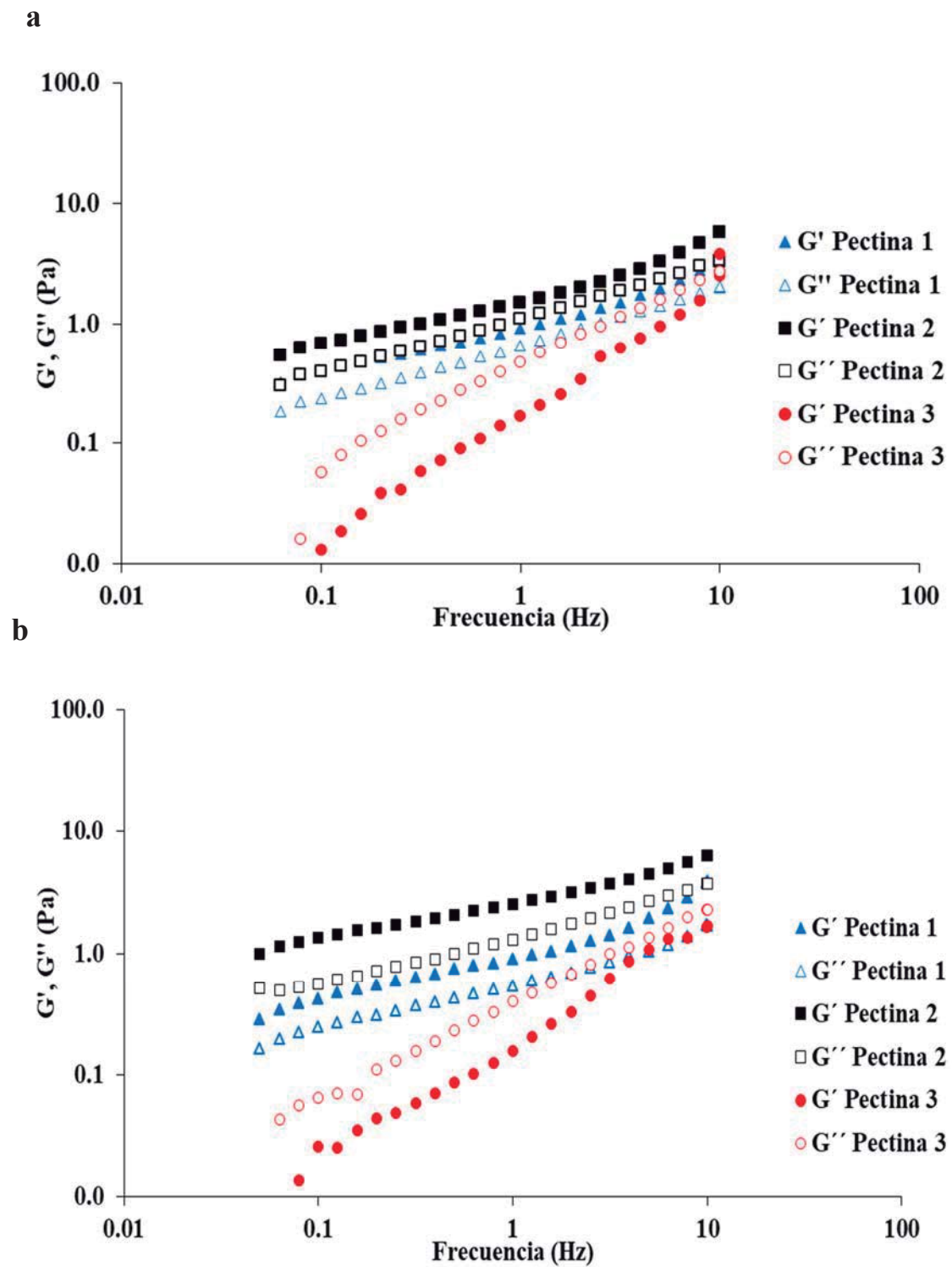


FIG. 1

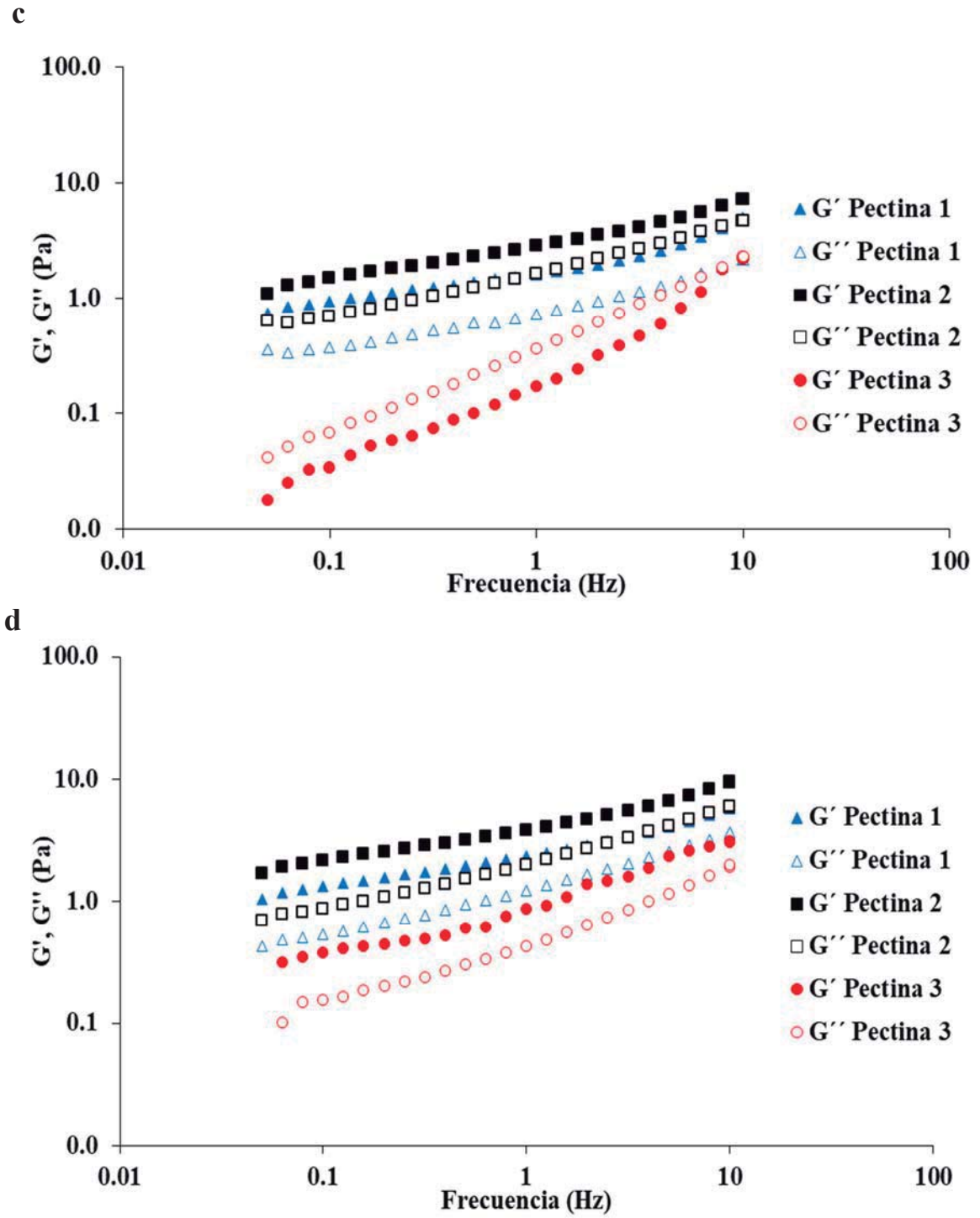
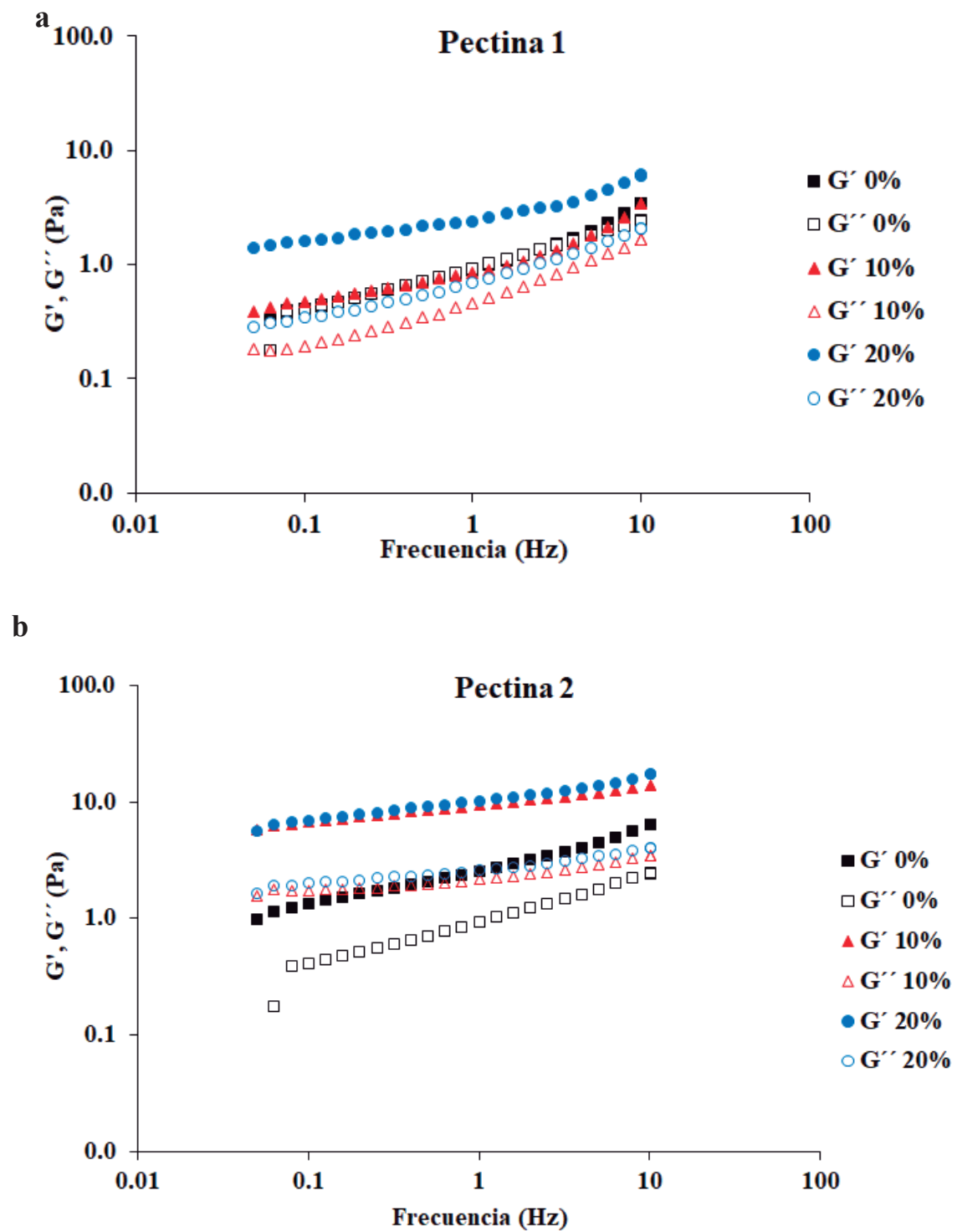


FIG. 1 (Continuación)



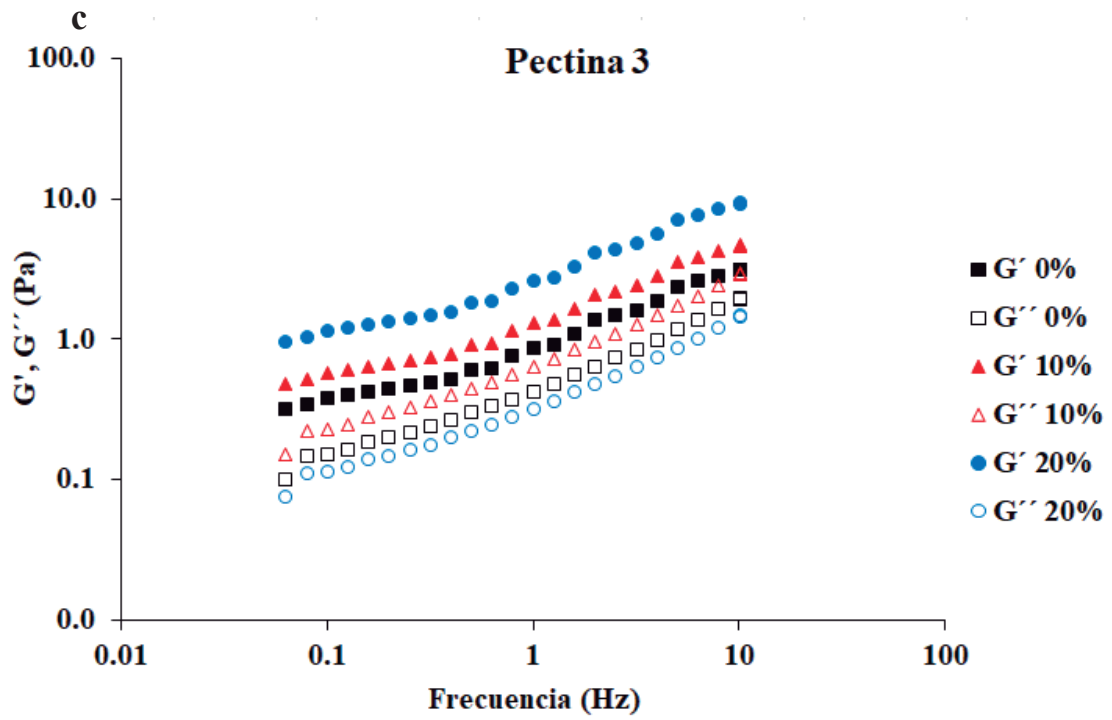


FIG. 2 (Continuación)

a) Pectina 1

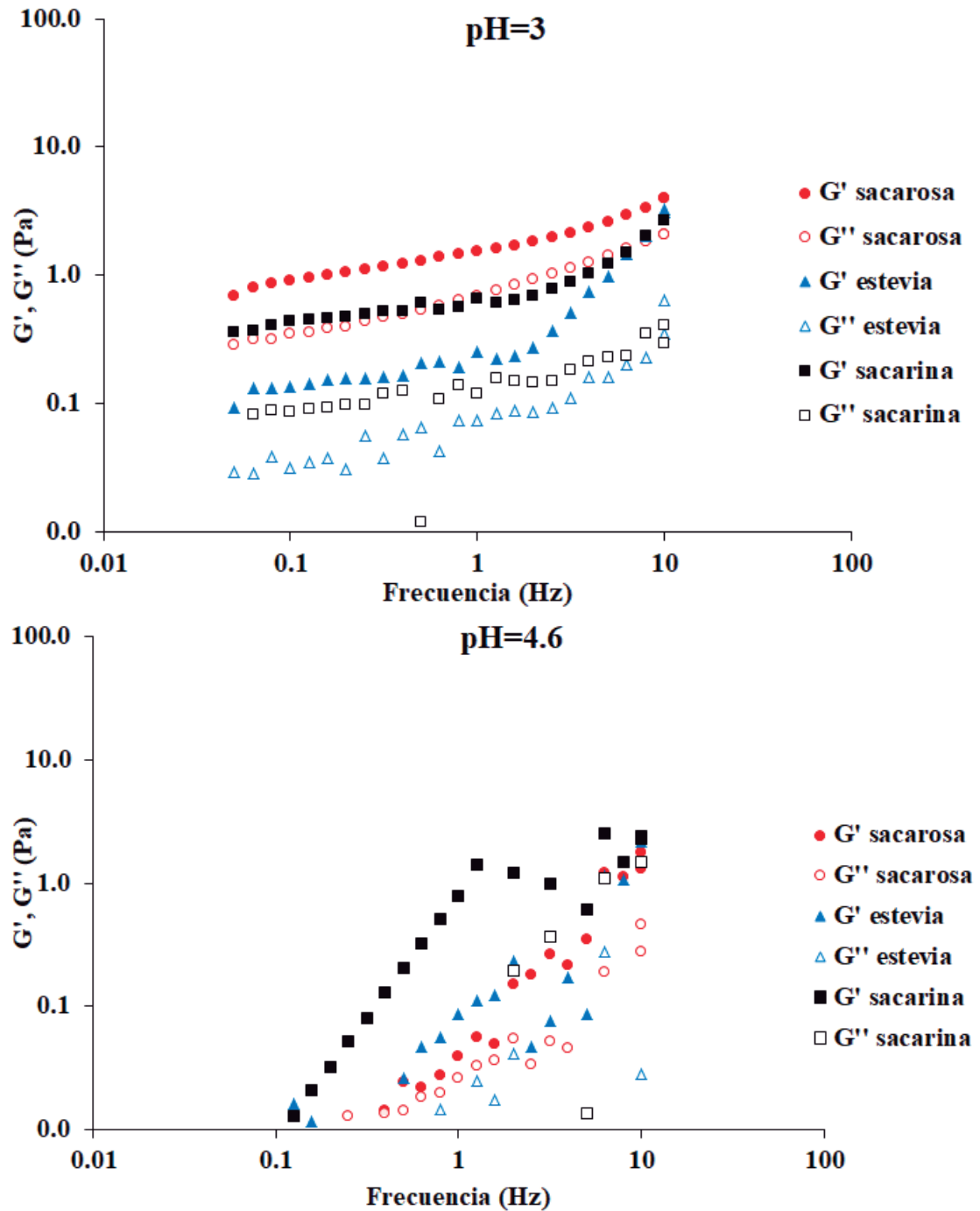


FIG. 3

b) Pectina 2

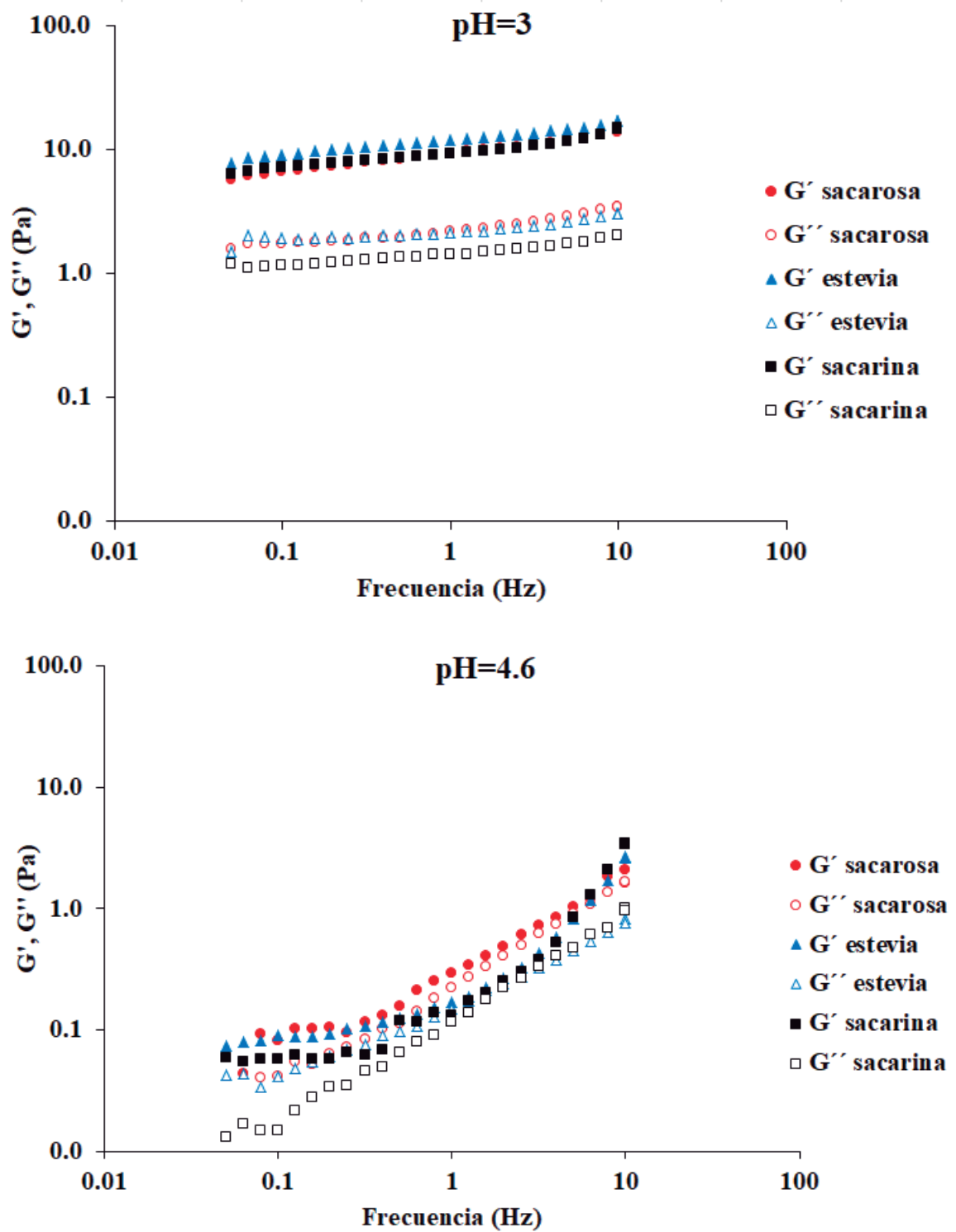


FIG. 3 (Continuación)



- ②① N.º solicitud: 202130019
②② Fecha de presentación de la solicitud: 14.01.2021
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **A23B7/16** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	MUNOZ-ALMAGRO NEREA et al. Structural and technological characterization of pectin extracted with sodium citrate and nitric acid from sunflower heads. Electrophoresis AUG 2018. 31/07/2018, Vol. 39, Páginas 1984-1992, ISSN 0173-0835(print) ISSN 1522-2683(electronic), <DOI: doi:10.1002/elps.201800130>. tabla 2, punto 3.2.2, figura 3.	1-27
A	WO 2015097335 A1 (PRODUCTION AND INNOVATION ON EDIBLE COATINGS S L) 02/07/2015, ejemplo 4, reivindicación 3.	1-39
A	ES 8404603 A1 (NESTLE SA) 01/08/1984, ejemplos1, reivindicaciones.	1-39
A	WO 2018187314 A1 (SENSIENT COLORS LLC) 11/10/2018, ejemplo 1.	1-39
Categoría de los documentos citados X: de particular relevancia Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría A: refleja el estado de la técnica O: referido a divulgación no escrita P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud		
El presente informe ha sido realizado ☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:		
Fecha de realización del informe 15.11.2021	Examinador J. Manso Tomico	Página 1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A23B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, EMBASE, BIOSIS, INTERNET SEARCH