

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 948 727**

51 Int. Cl.:

A23L 5/48

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2009** **E 21162137 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.05.2023** **EP 3868214**

54 Título: **Colorante azul natural estable**

30 Prioridad:

28.03.2008 US 4020808 P
06.03.2009 US 399223

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
18.09.2023

73 Titular/es:

WILD FLAVORS, INC. (100.0%)
1261 Pacific Avenue
Erlanger, KY 41018, US

72 Inventor/es:

WU, SHAOWEN;
FORD, CHAD y
HORN, GREGORY

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 948 727 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

Colorante azul natural estable

5 Campo técnico

Esta divulgación se refiere a productos de color estables naturales que pueden usarse en una amplia gama de aplicaciones incluyendo productos alimenticios, fármacos, complementos nutricionales, productos de higiene personal, cosméticos y piensos para animales, y a un procedimiento para preparar estos productos alimenticios y comestibles coloreados. Específicamente, la divulgación se refiere a los productos de color estables que se generan mediante el procesamiento de zumo de fruta de *Genipa americana* que contiene genipina, derivados de genipina o compuestos de pregenipina, junto con otros zumos o extractos comestibles que contienen aminoácidos, polipéptidos, proteínas y compuestos con uno o más grupos amina primaria.

15 Antecedentes

En la actualidad, cada vez menos personas están dispuestas a comer o beber productos alimenticios y usar productos cosméticos que están coloreados de manera sintética, lo que da como resultado un constante crecimiento del mercado de colorantes naturales. Por tanto, un color natural, especialmente un colorante azul natural que es estable a bajo pH y a las temperaturas usadas en el procesamiento, sería de gran interés comercial en todo el mundo. En la actualidad, los únicos colores azules naturales comercialmente factibles son los derivados de las frutas de la gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis). Sin embargo, el azul de gardenia no está disponible en la actualidad en los mercados de EE.UU. y Europa, sólo está disponible en algunos mercados asiáticos como producto de color seguro para aplicaciones alimentarias/farmacológicas.

La fruta de la gardenia contiene una gran cantidad de iridoides tales como genipósido, gardenósido, genipina-1-b-gentiobiósido, ácido geniposídico y genipina (Endo, T. y Taguchi, H. Chem. Pharm. Bull. 1973). Entre ellos, la genipina es un compuesto clave que contribuye al azul de gardenia siempre que reacciona con los aminoácidos (patente estadounidense n.º 4.878.921). En la actualidad, el azul de gardenia se prepara como producto de reacción química usando genipósido extraído a partir del zumo de gardenia, genipina purificada o derivados de genipina, con aminoácidos aislados.

El documento US 4 247 698 A da a conocer novedosos compuestos colorantes rojizos de tono variable y el método para su producción, obtenidos mediante la reacción entre los compuestos iridoides contenidos en sustancias biológicas.

El documento US 4 878 921 A da a conocer la reacción de genipina, que se deriva de la fruta de la gardenia mediante hidrólisis del glucósido iridoide genipósido bajo la acción de la beta-glucosidasa, con taurina para producir una composición de tinte azul estable.

El documento WO 2006/082922 A1 da a conocer un colorante azul de gardenia que tiene un color azul brillante o un color azul verdoso con un tono rojizo a violáceo suprimido.

YOUNG-SOOK PAIK *ET AL.*, "Physical stability of the blue pigments formed from geniposide of gardenia fruits: effects of pH, temperature, and light", JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY 49 (1) 430-432 2001, dan a conocer la transformación de genipósido a partir de las frutas de *Gardenia jasminoides* para dar pigmentos azules mediante una modificación sencilla.

MORITOME NOBUHARU *ET AL.*, "Properties of red pigments prepared from geniposidic acid and amino acids", JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE, (19990501), vol. 79, n.º 6, ISSN 0022-5142, páginas 810 - 814, dan a conocer pigmentos rojos formados a partir de genipósido y aminoácidos.

FUJIKAWA S *ET AL.*, "Brilliant skyblue pigment formation from gardenia fruits", JOURNAL OF FERMENTATION TECHNOLOGY, ELSEVIER, vol. 65, n.º 4, ISSN 0385-6380, (19870101), páginas 419-424, dan a conocer un pigmento azul formado mediante la reacción de aminoácidos con genipina.

HYE-HYUN YOON *ET AL.*, "Characteristics of model beverages with gardenia blue pigments", HAN'GUG SIGPUM YEONG'YANGGWAHAG HOEJI - JOURNAL OF THE KOREAN SOCIETY OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION, HAN'GUG YEONG'YANG SIGRYANG HAGHOE, PUSAN, KR, (20010101), vol. 30, n.º 6, ISSN 1226-3311, páginas 1147-1151, estudian la estabilidad de un pigmento azul extraído a partir de *Gardenia jasminoides* en diversas condiciones para comprobar su aplicabilidad para bebidas.

CHO Y J *ET AL.*, "One-step enzymatic synthesis of blue pigments from geniposide for fabric dyeing", BIOTECHNOLOGY AND BIOPROCESS ENGINEERING, (200605), vol. 11, n.º 3, ISSN 1226-8372, páginas 230-234, dan a conocer la transformación de genipósido en genipina y su posterior reacción con aminoácidos para generar un pigmento azul natural.

DATABASE WPI, 1, Derwent World Patents Index, vol. 1977, n.º 23, n.º de registro de Database 1977-40945Y, XP002535174 y JPS5253934 A, da a conocer una composición de pigmento azul obtenida mediante la acción de beta-glucosidato a partir de extracto de fruta de gardenia y una proteína de semilla de soja.

5

DATABASE WPI, 1, Derwent World Patents Index, vol. 1977, n.º 23, n.º de registro de Database 1977-40944Y, XP002535175 y JPS5253932 A, da a conocer un pigmento obtenido haciendo reaccionar una enzima con un extracto de fruta de gardenia y proteína o aminoácido comestible.

10

DATABASE WPI, 1, Derwent World Patents Index, vol. 2002, n.º 29, n.º de registro de Database 2002-233857, XP002535184 y KR20010096213 A, da a conocer un método para producir un pigmento azul a partir de *Gardenia jasminoides*.

15

DATABASE WPI, 1, Derwent World Patents Index, vol. 1989, n.º 34, n.º de registro de Database 1989-245897, XP002535176 y JPH01179690 A, da a conocer un colorante azul preparado haciendo reaccionar el glucósido iridoide de plantas de gardenia con un compuesto o una sustancia que contiene un grupo amina primaria en presencia de beta-glucosidasa o un microbio.

20

DATABASE WPI, 1, Derwent World Patents Index, vol. 1995, n.º 26, n.º de registro de Database 1995-196322, XP002535177 y JPH07111896 A, da a conocer la preparación de un pigmento azul a partir de *Gardenia jasminoides*.

25

DATABASE WPI, 1, Derwent World Patents Index, vol. 1992, n.º 04, n.º de registro de Database 1992-029816, XP002535178 y JPH03277663 A, da a conocer la preparación de una materia colorante roja de alta luminosidad.

En cambio, el procedimiento a partir del cual puede obtenerse el colorante de la presente invención utiliza zumo de la fruta del huito, *Genipa americana*, para proporcionar un concentrado o zumo de color azul natural.

30

La genipina y otros compuestos iridoide, tales como el ácido genípico, el gentiobiósido de genipina, el genipósido y el ácido geniposídico, también se encuentran en las frutas de *Genipa americana*, también conocida como genipap o huito, una planta salvaje del trópico latinoamericano. La población local ha usado habitualmente las frutas maduras de *Genipa americana* para preparar bebidas refrescantes, jaleas, sorbetes, helado, conservas dulces, jarabe, un refresco (genipapada), vino, un licor potente y extracto curtiente. Las frutas verdes o no maduras se usan como fuente de color para pintar caras y cuerpos como adorno, repeler insectos y teñir telas, cerámica, hamacas, utensilios y materiales de cestos de un violeta azulado. La fruta y los zumos también tienen propiedades medicinales, y los jarabes se usan como medicamento para el resfriado y la tos. Las flores y la corteza de *Genipa americana* también tienen propiedades medicinales.

40

Genipa americana también es una fuente natural de hierro, riboflavina y sustancias antibacterianas, aparte de los hidratos de carbono, el azúcar, las proteínas, la ceniza y el ácido málico en sus frutas. Los compuestos bioquímicos principales de *Genipa americana* incluyen: calcio, fósforo, vitamina C y cafeína, catequina, ácido genípico, genipina, gentiobiósido de genipina, ácido genipinaico, genipósido, ácido geniposídico, gardenósido, genamesidas A-D, gardendiol, éster metílico del ácido desacetilasperulosídico, shanzhisida, glicéridos, hidantoína, manitol, ésteres metílicos, ácido tánico y tartárico, y taninos.

45

La presente divulgación se refiere a la preparación de colorantes estables mezclando y procesando conjuntamente zumo de fruta, particularmente de *Genipa americana*, con otros extractos o zumos comestibles de frutas, verduras, materiales vegetales, cereales, legumbres, frutos secos, semillas, materiales animales incluyendo leche y huevos, materiales microbianos y de algas, que contienen aminoácidos o polipéptidos o proteínas. Los colores de producto no son los esperados a partir de un mezclado sencillo de pigmentos, y los productos de color tienen una gran estabilidad frente a la acidez y frente al calentamiento. El procesado conjunto de zumo de fruta de *Genipa americana* con otra(s) fruta(s) seleccionada(s) (definidas ampliamente tal como antes para incluir también cereales y materiales animales) para obtener el zumo compuesto es sencillo y eficaz. Los productos pueden usarse en una amplia gama de aplicaciones, tales como productos alimenticios, fármacos, complementos nutricionales, productos de higiene personal, cosméticos y pienso para animales.

50

Sumario de la invención

60

La presente divulgación proporciona un colorante azul natural estable que puede obtenerse a partir de un método en el que zumo de fruta de *Genipa americana* se procesa conjuntamente con otros zumos o extractos comestibles de frutas, verduras, materiales vegetales, cereales, legumbres, frutos secos, semillas, materiales animales incluyendo leche y huevos, materiales microbianos y de algas que contienen aminoácidos, polipéptidos y/o proteínas.

65

Los productos de color azul natural tienen propiedades organolépticas deseables y una excelente compatibilidad con alimentos y componentes alimenticios, son intrínsecamente aceptables por parte de los consumidores

debido a la naturaleza de sus materias primas y tienen determinados valores nutricionales, y que también tienen una estabilidad muy buena a lo largo de un amplio intervalo de pH y una buena resistencia en uso frente al calor y la luz. Por tanto, los productos son adecuados para su uso en diversas aplicaciones, tales como productos alimenticios, fármacos, complementos nutricionales, productos de higiene personal, cosméticos y piensos para animales. Específicamente, la invención reivindicada se refiere a un colorante azul natural estable que puede obtenerse a partir de un procedimiento que comprende las etapas de:

(a) formar una mezcla que comprende

(i) un primer componente, en el que dicho primer componente es el zumo de la fruta del huito, *Genipa americana*, en el que dicho zumo contiene suficiente genipina o derivados de genipina, incluyendo gentiobiósido de genipina, genipósido, ácido geniposídico y gardenósido, que puede reaccionar con otros compuestos para producir un producto coloreado;

(ii) un segundo componente, en el que dicho segundo componente es un material comestible seleccionado para proporcionar otros componentes que dan como resultado el color deseado, y en el que dicho segundo componente comprende compuestos nitrogenados seleccionados del grupo que consiste en aminoácidos, polipéptidos, proteínas, compuestos con uno o más grupos amina primaria, y combinaciones de los mismos;

(b) procesar conjuntamente dicha mezcla a un pH en el intervalo de 3 a 8; y

(c) aplicar un tratamiento térmico suficiente para estabilizar la mezcla frente a crecimiento microbiano, oxidación, deterioro organoléptico y proporcionar intensidad de color.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una representación de diagrama de flujo del procedimiento descrito en el ejemplo 3.

Descripción detallada de la invención

La presente divulgación proporciona un método de producción de productos de color estables naturales mediante el uso de zumo de fruta de *Genipa americana* con los diversos materiales comestibles añadidos, y la invención reivindicada se refiere a un colorante azul que puede obtenerse a partir del método dado a conocer. Se cree que se obtiene el color azul estable natural cuando la genipina y posiblemente el gentiobiósido de genipina, que existen de manera natural en la fruta de *Genipa americana*, reaccionan con aminoácidos, polipéptidos o proteínas, y otros compuestos con grupos amina primaria, en los diversos materiales comestibles. Todas las técnicas y operaciones de extracción de zumo conocidas y practicadas, y las tecnologías de procesamiento asociadas con los componentes distintos de zumo reivindicados, se consideran adecuados para preparar los zumos de color de esta invención

Materiales de partida

Los materiales de partida usados en el procedimiento a partir del cual puede obtenerse el colorante azul de la presente invención son frutas maduras de *Genipa americana* L.; también conocida por numerosos nombres informales: genipap, huito, jaguar, bilito, cafecillo denta, caruto, caruto rebalseo, confiture de singe, danipa, genipa, génipa, genipayer bitu, guaitil, guaricha, guayatil colorado, huitol, huitoc, huitu, irayol, jagua blanca, jagua amarilla, jagua colorado, jeipapeiro, juniper, maluco, mandipa, marmelade-box, nandipa, ñandipa genipapo, tapaculo, tapoeripa, taproepa totumillo, yagua, yanupa-i, yenipa-i, yenipapa bi, genipapo, huitoc, vito, chipara, guanapay, u otras variedades tales como jenipaporana o jenipapo-bravo. La fruta es óptima para la cosecha cuando es madura en cuanto a tamaño, firme y de color verde a marrón verdoso; las frutas demasiado maduras caen al suelo y se pudren.

El colorante azul de la presente invención puede obtenerse a partir de un procedimiento que emplea el zumo de la fruta del huito, *Genipa americana*. En la presente tecnología en general (no según la invención), los materiales pueden ser fruta entera, puré de fruta, concentrado de zumo de fruta, polvo seco a partir de frutas o zumo, y la parte insoluble en agua de frutas de *Genipa americana* L. o sus parientes cercanos que también contienen genipina, derivados de genipina o compuestos de pregenipina. Estos compuestos son un subgrupo de la clase de fitoquímicos iridoides que están ampliamente distribuidos, incluyendo en la familia *Rubiaceae*. Se ha prestado cierta atención a la comprensión de la biosíntesis de iridoides como elemento de la quimiosistemática (Sampaio-Santos y Kaplan, J. Braz. Chem. Soc. 12 (2001)), y estos datos ayudan a delinear el grupo de plantas que contienen genipina. De manera general, tales frutas incluirían miembros de la familia *Rubiaceae*, que contiene suficiente genipina o derivados de genipina, incluyendo gentiobiósido de genipina, genipósido, ácido geniposídico y gardenósido, para reaccionar con los otros compuestos definidos en el presente documento para producir un producto coloreado. Basándose en los datos de ADN (Andreason y Bremer, Am. J. Botany 87 1731-1748 (2000)), se ha notificado que *Genipa americana* comprende un clado junto con *Gardenia* y *Kailarsenia*.

Los materiales pueden ser extractos acuosos o de disolvente procedentes de las fuentes descritas. Los disolventes pueden ser aquellos de uso habitual en la técnica, incluyendo agua, disoluciones tampón acéticas, cítricas o de fosfato, metanol, etanol, isopropanol, o mezclas de los mismos en diferentes razones.

- 5 La amplia gama de materiales comestibles adecuados comprende frutas, verduras, cereales, legumbres, frutos secos, semillas, materiales vegetales, materiales animales incluyendo leche y huevos, materiales microbianos y de algas, y subproductos a partir de tales fuentes, que contienen aminoácidos, polipéptidos y proteínas. Estos materiales pueden procesarse conjuntamente con el zumo de fruta de *Genipa americana* para producir colorantes azules estables naturales.

- 10 Las frutas, el zumo de fruta, el puré, el concentrado de zumo, el polvo seco o los extractos de procesamiento conjunto pueden obtenerse a partir de frutas incluidas dentro de los grupos enumerados por la FDA (Formulario de la FDA 2438g (10/91) (cítricos, frutas de pepita, frutas de hueso, frutas tropicales/subtropicales, frutas de la vid y pequeñas frutas y bayas) tales como sandía, uva blanca, piña, lichi, cantalupo, plátano, naranja, manzana, pera, limón, fruta de la pasión, uva roja, arándano, tamarindo, melocotón, papaya, acaí, ciruela, guayaba, mandarina, borojó, copoazú, goji, kiwi, etc.; no se pretende que este listado limite las frutas que son adecuadas.

- 20 La verdura, el zumo de verdura, el puré, el zumo concentrado, el polvo seco o los extractos de procesamiento conjunto pueden obtenerse a partir de verduras incluidas dentro de los grupos enumerados por la FDA (Formulario de la FDA 2438g (10/91) (raíces y tubérculos, bulbos, hojas y tallos, verduras del género *Brassica*, legumbres, verduras de fruto y cucurbitáceas) tales como brotes de soja, repollo verde, apio, cebollas, cebollas dulces, espárragos, cualquier verdura de hoja, judías verdes, guisantes, coliflor, brócoli, zanahoria, calabazas, pimientos, patata, batata, tomate, etc.; no se pretende que este listado limite las verduras que son adecuadas.

- 25 Los polvos de cereales, las disoluciones de cereales, la pasta o los extractos de procesamiento conjunto pueden obtenerse a partir de cereales incluidos dentro de los grupos enumerados por la FDA (Formulario de la FDA 2438g (10/91) (cereales) tales como trigo, cebada, arroz, avena, maíz, sorgo, mijo, centeno, trigo sarraceno, triticale, fonio, y quinoa, etc.; no se pretende que este listado limite los cereales que son adecuados.

- 30 El polvo, la disolución, la pasta, los extractos o derivados de semillas oleaginosas, de frutos secos y de semillas de procesamiento conjunto pueden obtenerse a partir de tales materiales incluidos dentro de los grupos enumerados por la FDA (Formulario de la FDA 2438g (10/91) (legumbres, semillas oleaginosas, frutos de cáscara) tales como semilla de soja, frijoles rojos, judías de Lima, lentejas, garbanzos, guisantes de ojo negro, judías negras, habas, judías adzuki, judías anasazi, cacahuete, almendras, hayuco, nueces de Brasil, nueces, avellanas, pistacho, anacardos, nueces de macadamia, castañas, pacana, cocos, piñones, semillas de calabaza, semillas de sésamo, semillas de girasol, semillas de algodón, etc.; no se pretende que este listado limite las legumbres, las semillas y los frutos secos que son adecuados.

- 40 Los materiales vegetales de procesamiento conjunto pueden ser extracto de planta de cebada, extractos de pasto, té y extractos de té, algas marinas y extractos, etc.; no se pretende que este listado limite los materiales vegetales que son adecuados.

- 45 Los materiales animales de procesamiento conjunto pueden ser músculo esquelético, órganos distintos de músculos, pieles o extractos de caparazones de animales mamíferos, aves de corral, marisco, reptiles, y leche y huevos; no se pretende que este listado limite los materiales animales que son adecuados.

- 50 Los materiales de procesamiento conjunto pueden ser diversos materiales microbianos incluyendo levadura o extractos de levadura, hongos y extractos de hongos incluyendo champiñones, y algas y extractos de algas, etc.; no se pretende que este listado limite los materiales microbianos que son adecuados.

- 55 Los materiales de procesamiento conjunto pueden ser los extractos procedentes de cualquiera de las fuentes anteriores y, en el procedimiento descrito a partir de cual puede obtenerse el colorante reivindicado, comprenden aminoácidos, polipéptidos, proteínas, compuestos con uno o más grupos amina primaria, o combinaciones de los mismos. Los disolventes de extracción pueden seleccionarse de los habituales en la técnica, tales como agua desionizada; disoluciones tampón de fosfato o citrato o acetato o carbonato, etc., disoluciones alcohólicas, o mezclas de los extractantes anteriores en diferentes razones.

Procedimiento de preparación de colorantes estables

- 60 Con el fin de producir los colorantes de la presente divulgación, la *Genipa americana* madura se procesa conjuntamente con otras frutas tales como sandía mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica con el fin de extraer el zumo a partir de la fruta. Después del lavado y/o escaldado, se pela la fruta y se corta en trozos, luego se tritura o licua con materiales de procesamiento conjunto, se extrae con o sin calentamiento, se separan el material de la pulpa, las semillas y la piel mediante filtración, centrifugación o prensado y se recoge el zumo clarificado. El procesamiento puede tener lugar durante hasta aproximadamente 8 horas, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 4 horas y más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 1

horas, a una temperatura de aproximadamente 20-45 °C. El zumo compuesto obtenido se somete a un calentamiento posterior a una temperatura más alta de aproximadamente 50-95 °C durante de aproximadamente 1 a 4 horas con mezclado adecuado (por ejemplo, mediante sacudidas, agitación o aireación) y se concentra de aproximadamente 2 a 10 veces usando evaporación a baja presión; el procesamiento tiene la ventaja de proporcionar el tratamiento de APPCC de zumo requerido para la estabilidad microbiana. La concentración también puede realizarse en un evaporador instantáneo, mediante ósmosis inversa o ultrafiltración con una membrana adecuada, proporcionando de ese modo un concentrado (normalmente un factor de concentración de dos a diez veces con respecto al zumo expulsado) adecuado para el envío comercial, y la normalización del color resultante a un tono y una intensidad de color estables y deseados que pueden ajustarse seleccionando la razón de las frutas de *Genipa americana* con respecto a los materiales de procesamiento conjunto. Posteriormente puede secarse el color resultante mediante secado por pulverización, secado por congelación o secado a vacío. Alternativamente, el procedimiento de fabricación de color puede comenzar con un zumo o concentrado de huito previamente preparado al que se le añade el material de procesamiento conjunto.

Esta razón de frutas de *Genipa americana* con respecto a los materiales de procesamiento conjunto puede variarse desde aproximadamente 1:0,2 hasta aproximadamente 1:30 (en peso) dependiendo de la cantidad de aminoácidos y proteínas en los materiales de procesamiento conjunto y también del tipo o perfil de los aminoácidos. Específicamente, cuando la fruta de *Genipa americana* se procesa conjuntamente con sandía fresca, la razón de fruta con respecto a sandía es de desde aproximadamente 1:1 hasta aproximadamente 1:24, y preferiblemente desde aproximadamente 1:2 hasta aproximadamente 1:12 y más preferiblemente desde aproximadamente 1:3 hasta aproximadamente 1:6.

El calentamiento en el procedimiento se refiere a reacciones enzimáticas, desarrollo de color y estabilidad de color. Sin querer especificar un mecanismo de reacción, se cree que la genipina, o el gentiobiosido de genipina y el ácido geniposídico que se hidrolizan para dar genipina y derivados de genipina mediante calentamiento o la acción de beta-glucosidasas que existen de manera natural en las frutas de *Genipa americana*, reacciona con las proteínas y los aminoácidos en las frutas para producir el color resultante (Paik, Y.; Lee, C.; Cho, M.; y Hahn, T. en J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 403-432). La reacción global avanza lentamente a temperatura baja o ambiental. Para acelerar la reacción, la presente divulgación usa dos etapas de calentamiento. En primer lugar, se ejecuta calentamiento a baja temperatura a de aproximadamente 4 a aproximadamente 50 °C, y preferiblemente a de aproximadamente 20 a aproximadamente 45 °C. La mayoría de las enzimas son activas en este intervalo de temperatura, incluyendo proteasas que degradan la proteína para dar aminoácidos libres, pectinasas y celulasas que descomponen la pectina y la celulosa. El calentamiento a baja temperatura facilita la liberación de compuestos químicos a partir de las células en la disolución acuosa. En segundo lugar, el calentamiento a alta temperatura es preferiblemente a de aproximadamente 50 a aproximadamente 95 °C, más preferiblemente a de aproximadamente 55 a aproximadamente 90 °C y lo más preferiblemente a de aproximadamente 60 a aproximadamente 85 °C, con mezclado. Durante esta etapa, la actividad de beta-glucosidasa es máxima, y la velocidad de la reacción química de la genipina con los grupos amina primaria en aminoácidos, polipéptidos o proteínas también es alta. Puede observarse un cambio de color significativo. El calor también puede controlar las reacciones no deseadas. Por ejemplo, las enzimas endógenas polifenol oxidasa y peroxidasa, que provocan cambios de color y de sabor no deseados en las frutas y verduras después de la cosecha y durante el procesamiento, pueden desnaturalizarse mediante un calentamiento juicioso. En el presente procedimiento, el régimen de calentamiento contribuye a un color resultante reproducible, estable y deseado.

Pueden añadirse aditivos de procedimiento en el procedimiento. Enzimas tales como la beta-glucosidasa o las proteasas aceleran el desarrollo de color; otras enzimas, como la celulasa, la hemicelulasa y la pectinasa, aumentan los rendimientos de masa total del zumo.

El pH en el procedimiento de la invención afecta al desarrollo de color. Para producir un color azul estable (según la invención), el pH adecuado del zumo de fruta de *Genipa americana* y los materiales de procesamiento conjunto, por ejemplo, zumo de sandía, puede ser desde ácido hasta básico, en el intervalo de pH de desde aproximadamente 3 hasta aproximadamente 8, preferiblemente un pH de desde aproximadamente 3,5 hasta aproximadamente 7 y más preferiblemente un pH de desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 6. Para producir un color rojizo estable (no es según la invención), el pH del zumo de fruta de *Genipa americana* se ajusta a un pH mayor de aproximadamente 10, preferiblemente un pH mayor aproximadamente 12. En condiciones alcalinas, los compuestos iridoides se hidrolizan y pierden el grupo metilo del grupo -COOCH₃ en la posición C-4, lo que da como resultado un grupo -COO⁻ en la posición C-4 (documento US 4247698, "Red coloring composite and the method for its production", Toyama, *et al.*). Después de mantener en condiciones alcalinas durante un periodo suficiente y a una temperatura adecuada, se ajusta nuevamente el pH a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 6, y el zumo se procesa conjuntamente con otros materiales que contienen aminoácidos, polipéptidos o proteínas para generar un color rojizo o violeta rojizo (no es según la invención).

Otros componentes en los materiales de procesamiento conjunto, tales como antioxidantes, metales de múltiples iones, azúcares reductores, compuestos que contienen azufre y polifenoles, pueden participar en reacciones

secundarias durante el procedimiento. Por tanto, el color de los colorantes estables naturales varía según el cambio de materiales de procesamiento conjunto y procedimientos, con una absorción máxima a una longitud de onda de desde 400 hasta 800 nm. Más específicamente, un azul brillante generado por la fruta de *Genipa americana* con sandía tiene una absorción máxima a una longitud de onda de 585-600 nm, mientras que un color verde (no es según la invención) generado por la fruta de *Genipa americana* con zumo de piña tiene una absorción máxima a 590-610 nm y 400-420 nm.

Los sólidos coloreados o materiales insolubles en agua que se obtienen durante las etapas de filtración o centrifugación también pueden utilizarse como colorantes valiosos.

Propiedades de los colorantes estables naturales

Los colorantes naturales que se producen mediante el uso de *Genipa americana* y materiales comestibles procesados conjuntamente tienen absorciones máximas que van desde 360 hasta 800 nm. Específicamente, los colorantes azulados brillantes que se producen a partir de zumo de fruta de *Genipa* y zumo de sandía tienen una absorción máxima en un espectrofotómetro (espectrofotómetro UV/Vis de Perkin Elmer, Lambda 20, EE.UU.) en el intervalo de longitud de onda de desde 585 hasta 600 nm, dependiendo de la concentración de los reactivos. Los valores Lab que se determinaron en un colorímetro Hunter Color Lab (Color Quest XE, EE.UU.) son L de desde 20 hasta 40; valor a de desde 5 hasta -2; y valor b de desde -5 hasta -25 para colorantes concentrados con un índice de color de 2,0-10,0.

La estabilidad térmica de los colorantes alimentarios habitualmente usados es muy crítica para las aplicaciones. Los colorantes naturales generados a partir de esta divulgación resisten muy bien el calor. Después de hervir a pH 3 durante 30 minutos, el color azul de *Genipa* obtenido con zumo de sandía o sandía fresca no muestra cambios visuales significativos.

Alimentos y productos de bebida que contienen materiales de color

Los colorantes naturales a base de *Genipa*, especialmente el color azul, tienen una estabilidad frente a pH ácido y térmica excelentes y, por tanto, son particularmente adecuados para aplicaciones de productos alimenticios, fármacos, complementos nutricionales, productos de higiene personal, cosméticos y piensos para animales de color para reemplazar a los pigmentos o tintes sintéticos.

Los colorantes naturales derivados de *Genipa* pueden usarse en alimentos y aplicaciones farmacológicas después de concentrarse de manera apropiada o después de diluirse o bien con líquidos acuosos o bien con disolventes aprobados adecuados, incluyendo alcohol. Dependiendo del uso específico, los colorantes naturales derivados de *Genipa*, o bien solos o bien mezclados con otros tintes o pigmentos, pueden usarse en una amplia gama de aplicaciones de productos alimenticios, incluyendo, pero sin limitarse a, diversas bebidas, cereales para el desayuno, productos de panadería, pasta/fideos, productos de confitería, productos lácteos, carne procesada, productos de aves de corral y marisco, diferentes aderezos, helados, encurtidos, galletas, y etc.

Los siguientes ejemplos se proporcionan con el propósito de ilustrar adicionalmente la presente divulgación, pero no deben interpretarse como limitativos en sentido alguno.

Ejemplo n.º 1

Se pelaron y cortaron en trozos pequeños varias frutas del huito congeladas y descongeladas. Una parte de la fruta, 116,0 g, se mezcló con dos partes de agua desionizada, 232,0 g, y se licuaron usando una licuadora de laboratorio de alta velocidad (Waring® Commercial) durante 2 periodos de 40 segundos cada uno. Luego se filtró el puré de fruta mezclada a través de un papel de filtro Whatman n.º 4 y se recogió el líquido filtrado. Se añadió beta-glucosidasa (Enzyme Development Corp.) al filtrado en una cantidad de 0,10 g por 60,0 g de disolución.

A cinco gramos de la disolución anterior en un tubo de ensayo (25 ml) se le añadieron cinco gramos de materiales líquidos o en polvo de frutas, verdura, leche, soja y carne en el tubo de ensayo y se mezclaron bien. Se dejaron reposar las muestras a temperatura ambiente durante 16 horas, y luego se calentaron hasta 80 °C durante de 0,5 a 2,5 horas hasta que el color fue estable. Se clarificaron las muestras mediante filtración, en caso de ser necesario, para eliminar el material insoluble.

Se midieron los cambios de color de los materiales procesados conjuntamente antes y después de la incubación en un colorímetro Hunter Lab (Color Quest XE, EE.UU.), y los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1.

Materiales de procesamiento conjunto	Antes de la reacción			Horas de calentamiento	Después de la reacción			Color visual
	L	a	b		L	a	b	
Concentrado de sandía, 65 Brix	26,83	7,13	2,92	2,0	24,67	0,11	-1,38	Azul oscuro
Zumo de piña	34,46	5,41	10,16	2,5	25,96	-0,35	-1,14	Verde bosque*
Concentrado de zumo de lichi, 29 Brix	59,94	0,53	8,29	2,0	24,70	0,04	-1,40	Azul vibrante
Fruta de la pasión clarificada, 50 Brix	25,90	6,15	1,61	2,0	24,65	0,19	-0,95	Marrón oscuro*
Concentrado de zumo de melocotón, 68 Brix	23,55	0,62	-0,60	2,0	24,54	0,13	-1,04	Negro*
Zumo de cantalupo	33,66	5,24	6,48	0,5	24,58	0,03	-1,09	Violeta/azul oscuro
Puré de plátano				2,5	31,39	-0,35	-1,51	Azul grisáceo
Disolución de brotes de soja verde	44,53	0,64	7,79	0,5	24,59	0,06	-1,22	Violeta/azul oscuro
Zumo de apio	29,69	9,22	5,30	1,0	24,62	0,04	-1,24	Azul oscuro
Polvo de repollo verde				2,0	24,56	0,04	-1,14	Azul violáceo
Disolución de cebolla amarilla dulce	40,00	-1,46	7,17	1,0	25,33	0,18	-1,38	Violeta grisáceo
Leche, 2 %	87,80	-2,13	7,37	2,0	29,00	-1,12	-6,96	Azul brillante cremoso
Leche de soja	79,17	0,13	8,33	2,0	27,92	-0,97	-4,44	Azul verdoso cremoso
Suspensión de carne de pollo	74,96	0,62	9,22	2,0	24,59	0,09	-1,03	Azul violáceo brillante
* no es según la invención								

Ejemplo n.º 2

Se mezclaron 150,0 g de fruta del huito pelada y cortada en cubos con 1200,0 g de sandía fresca cortada en cubos y se hicieron puré durante un minuto en una licuadora. Luego se calentó el puré/zumo en un baño de agua a 40 °C durante una hora. Luego se centrifugó el puré/zumo a 2800 rpm durante 20 min y se filtró el sobrenadante a través de un papel de filtro de pliegues. A continuación, se calentó el filtrado en un baño de agua caliente (80 °C) durante 1,5 horas; después de eso la disolución era de color azul. Luego se concentró la disolución azul en un evaporador rotatorio (Buchi, Suiza) a una presión de 40 mmHg y 50 °C y rotación a 100 rpm. La muestra final que se obtuvo después de una concentración 7,5X tenía un Brix aparente de 75-78 y una absorción máxima de 0,13366 a 595,79 nm en un espectrómetro (espectrómetro UV/Vis de Perkin Elmer, Lambda 20, EE.UU.) después de una dilución 1000X con agua desionizada.

Ejemplo n.º 3

El producto de color azul se preparó a partir de 2.931 g de frutas del huito peladas con 11.305 g de sandía fresca y se hicieron puré durante un minuto en una licuadora. Se agitó el puré/zumo en un hervidor de 20 l a aproximadamente 37-40 °C durante una hora, tras lo cual se filtró para eliminar los sólidos mediante el paso a través de un tamiz de tamaño de malla número #20 y un filtro de 5 µm a una velocidad de bomba de 1,0 litro por minuto. Se devolvió el filtrado al hervidor limpio y se calentó hasta aproximadamente 75-80 °C durante 1,5 horas con agitación vigorosa. Se concentró la disolución azul resultante en un evaporador rotatorio (Buchi, Suiza) a una presión de 40 mmHg y 50 °C y rotación a 100 rpm. La muestra final tenía una concentración aparente de 63,25 Brix y una absorción máxima de 0,57124 a una longitud de onda de 591,76 nm en un espectrómetro (espectrómetro UV/Vis de Perkin Elmer, Lambda 20, EE.UU.) después de una dilución 1000X con agua desionizada. El procedimiento se representa como diagrama en la figura 1.

Ejemplo n.º 4

Ensayo de estabilidad 1 para aplicaciones de bebida de pH bajo. Se realizó un ensayo de estabilidad de vida útil en anaquel en condiciones aceleradas de 8 semanas en tres formulaciones de bebidas típicas: una bebida a base de lácteos, agua potenciada con vitaminas y una bebida de limonada que contienen aproximadamente el 10 % de zumo. El pH de las formulaciones estaba entre 2,8 y 3,2, y la tasa de uso de la preparación de color del ejemplo 3 fue del 0,05 %. Las condiciones aceleradas eran una caja caliente a 90 °F, mientras que una muestra de caja fría a 40 °F refrigerada sirvió como control. Las muestras se evaluaron y monitorizaron visualmente para determinar el cambio de color usando un colorímetro Hunter Color Lab (Color Quest XE, EE.UU.). Los valores de DEcmc calculados representan el cambio de color en comparación con el control basándose en los datos de L a b.

Después de 8 semanas, la fórmula a base de lácteos mostró un desvanecimiento de color aproximado del 20-25 % con un cambio de azul claro a un azul más grisáceo. La fórmula de limonada mostró un desvanecimiento de color aproximado del 30-35 % con un pardeamiento del 20-25 % y un cambio de azul grisáceo a verde. Lo más probable es que esto se deba al pardeamiento de los zumos que, cuando se combinan con el color azul, dieron como resultado un tono verde.

Después de 8 semanas, la fórmula de agua potenciada demostró un desvanecimiento de color aproximado del 20-25 % con un pardeamiento del 20 % y un ligero cambio a verde. El ensayo de estabilidad frente a la luz (Atlas Suntester XLS+, filtro de vidrio de ventana, E 765 w/m²) que consiste en una exposición a la luz en condiciones aceleradas de 6 h usando luz diurna simulada mostró menos del 30 % de desvanecimiento en las tres formulaciones de bebida.

Tabla 2.

Bebida	Estabilidad en condiciones aceleradas de 8 semanas	Estabilidad frente a la luz de 6 horas	
	DEcmc (Modo RSIN)		DEcmc (Modo RSIN)
A base de lácteos	2,90		0,93
Limonada	4,81		1,22
Agua potenciada	4,00		2,39

Ensayo de estabilidad 2 para aplicaciones de bebida de pH bajo. Se realizó un ensayo en condiciones aceleradas adicional en una bebida que contenía el color azul preparada a partir de un lote de zumo de color más concentrado. La bebida fue una disolución con sabor a ácido-azúcar simple. Esta bebida sólo experimentó un ligero desvanecimiento de aproximadamente el 5 % después de 8 semanas. El ensayo de estabilidad frente a la luz mostró muy poco cambio de color.

Tabla 3.

Bebida	Estabilidad en condiciones aceleradas de 8 semanas	Estabilidad frente a la luz de 6 horas	
	DEcmc (Modo RSIN)		DEcmc (Modo RSIN)
Disolución con sabor a ácido-azúcar	1,30		0,43

Ensayo de estabilidad 3 para aplicaciones de bebida de pH bajo. Se estableció una escala piloto del color azul usando materiales obtenidos a partir de fuentes locales en una disolución con sabor a ácido-azúcar simple. Después de 8 semanas, se observó un desvanecimiento del aproximadamente 20 %. El ensayo de estabilidad frente a la luz mostró un cambio de color de aproximadamente el 25-30 %.

Tabla 4.

Bebida	Estabilidad en condiciones aceleradas de 8 semanas	Estabilidad frente a la luz de 6 horas	
	DEcmc (Modo TTRAN)		DEcmc (Modo TTRAN)
Disolución con sabor a ácido-azúcar	3,37		4,17

Ensayo de estabilidad 4 para aplicaciones de bebida de pH bajo. Se estableció una preparación comercial más grande del color azul en una bebida de agua potenciada. Esto se estableció con y sin ácido ascórbico (aproximadamente 100 % de RDI de vitamina C). Después de 8 semanas, se observó un desvanecimiento de

aproximadamente el 30-35 % en la muestra con vitamina C. Esto también produjo un cambio de color a un verde-azul verdoso. La muestra sin vitamina C mostró un desvanecimiento de aproximadamente el 20-25 % con un cambio de color a un azul más violáceo. El efecto de la vitamina C sobre la estabilidad del color es similar a lo que se esperaría para otros colores de la naturaleza, tales como los basados en antocianinas. El ensayo de estabilidad frente a la luz mostró un cambio de color de aproximadamente el 30 % en la formulación sin vitamina C y menor del 30 % en la formulación con vitamina C. En general, en los ensayos de estabilidad, el desvanecimiento de color y los cambios de tono estuvieron dentro de los límites aceptables para los productos comerciales y fueron de magnitudes similares a los habitualmente conocidos para los colorantes alimentarios de antocianina.

Tabla 5.

Bebida	Estabilidad en condiciones aceleradas de 8 semanas	Estabilidad frente a la luz de 6 horas	
	DEcmc (Modo TTRAN)		DEcmc (Modo TTRAN)
Agua potenciada con vitamina C	7,85		3,13
Agua potenciada sin vitamina C	3,53		5,21

Ejemplo n.º 5

Ensayo de aplicación 1. Se añadió el color azul a una base típica de helado. El color resultante en la aplicación fue un tono azul claro.

Ensayo de aplicación 2. Se añadió el color azul a una base de galletas y luego se horneó en un horno. El color resultante en la aplicación fue un color azul medio con un ligero tinte marrón/verdoso. El color azul también se añadió a una base típica de cereales. Después de someterse a un procedimiento de extrusión comercial, el color resultante fue un azul grisáceo. Se examinaron estos colores después de 6 meses de almacenamiento ambiental y mostraron poco desvanecimiento.

Ensayo de aplicación 3. Se añadió el color azul a una base gomosa así como a una base de pectina. El color resultante fue un azul profundo atractivo. Se redujo la tasa de uso en la base gomosa para proporcionar un tono de azul más claro. El mezclado con colores adicionales de la naturaleza proporcionó tonos de verde y violeta atractivos en las gominolas.

Ejemplo n.º 6

Ensayo de aplicación. Se añadió el color azul a una base de galletas y luego se horneó en un horno. El color resultante en la aplicación fue un color azul medio con un ligero tinte marrón/verdoso. El color azul también se añadió a una base de cereales. Después de someterse a un procedimiento de extrusión comercial, el color resultante fue un azul grisáceo.

Ejemplo n.º 7 (no es según la invención)

El zumo de fruta del huito filtrado se obtuvo mediante el procedimiento del ejemplo n.º 1, pero sin la adición de beta-glucosidasa. Se mezclaron 20,0 g del zumo con 5,0 g de una disolución de NaOH al 10 %. Se calentó la mezcla hasta 35-40 °C y se dejó reposar a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 horas. Se ajustó el pH de la mezcla a pH 4,3 mediante la adición de 2,08 g de ácido cítrico, y luego se añadieron a la disolución y se mezclaron bien 0,04 gramos de beta-glucosidasa.

Se añadieron cinco gramos de la disolución anterior a un tubo de ensayo (25 ml), y se añadieron al tubo de ensayo y se mezclaron bien otros cinco gramos de materiales de ensayo líquidos a partir de frutas, verduras o agua desionizada. Se calentaron las muestras hasta 80-90 °C durante 2 horas hasta que el color fue estable. Todas las muestras mostraron colores que van desde rojizo hasta marrón. En caso de ser necesario, se filtraron las muestras.

Se midió la longitud de onda máxima de absorción para cada uno de los colorantes anteriores en un espectrómetro (espectrómetro UV/Vis de Perkin Elmer, Lambda 20, EE.UU.), y los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6.

Materiales de ensayo añadidos	λ máx.	Color visual
Concentrado de sandía, 65 Brix	531,82	Marrón rojizo
Zumo de cantalupo	540,32	Marrón rojizo
Disolución de brotes de soja verde	528,66	Marrón rojizo
Zumo de apio	538,03	Marrón rojizo
Disolución de cebolla amarilla dulce	534,17	Marrón rojizo
Agua desionizada (control)	576,06	Marrón rojizo

Ejemplo n.º 8 (no es según la invención)

Se añadieron seis gramos de zumo de gardenia a un tubo de ensayo (25 ml). Luego se añadieron al tubo de ensayo y se mezclaron bien 0,20 g de beta-glucosidasa y 0,10 g de disolución de NaOH al 10 % p/p. De ese modo, se ajustó el pH desde 3,99 hasta 4,60. Se calentó el zumo de gardenia obtenido en un baño de agua a 60 °C durante una hora, luego se añadieron y mezclaron bien cinco gramos de concentrado de sandía. Se calentó la muestra de mezcla hasta 70 °C y se mantuvo durante 1 hora. El color de la muestra se convirtió de rojo a verde.

Ejemplo n.º 9

Se preparó un concentrado de zumo de color azul mezclando 49,4 g de fruta del huito cortada en cubos con 50,0 g de concentrado de zumo de calabaza (Diana Naturals) y 150 g de agua desionizada. Se licuó la mezcla a alta velocidad durante 60 segundos 2x. Luego se calentó el puré/zumo en una placa calefactora hasta una temperatura de 42 °C y se mantuvo durante 30 minutos, y luego se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min, y se filtró el sobrenadante a través de un papel de filtro Whatman n.º 4. A continuación, se calentó el filtrado en una placa calefactora a una temperatura de 60 °C y se mantuvo durante una hora y media. Se generó un color azul deseable con un valor L de 25,68, un valor a de 0,09 y un valor b de -3,26, medidos en un colorímetro Hunter. Luego se concentró la disolución azul en un evaporador rotatorio (Buchi, Suiza) a una presión de 40 mmHg y 50 °C y rotación a 100 rpm. La muestra final que se obtuvo después de una concentración 7,3X tenía un Brix aparente de 67,13.

Ejemplo n.º 10

Se preparó un zumo de color azul/verde con fruta del huito y concentrado de zumo de pimiento amarillo. Se mezclaron cincuenta gramos de concentrado de zumo de pimiento amarillo (Diana Naturals) con 250 g de agua desionizada. Se calentó la disolución hasta ebullición y se filtró para eliminar el floculado a través de un papel de filtro Whatman n.º 4. Luego se mezcló el filtrado con 64,5 g de fruta del huito cortada en cubos y se licuó la mezcla a alta velocidad (licuadora Waring) durante 60 segundos 2x. Tuvo lugar una etapa de calentamiento previo en una placa calefactora a 42 °C durante 30 minutos. Después de la eliminación del material insoluble mediante centrifugación a 3500 rpm durante 15 min y filtración a través de un papel de filtro Whatman n.º 4, se calentó el filtrado en una placa calefactora a un ajuste de temperatura de 62 °C durante una hora. Se generó un color azul/verde con un valor L de 15,87, un valor a de -2,85 y un valor b de -6,26, medidos con un colorímetro Hunter. Luego se concentró la disolución azul/verde en un evaporador rotatorio (Buchi, Suiza) a una presión de 40 mmHg y 50 °C y rotación a 100 rpm. La muestra final que se obtuvo después de una concentración 10X tenía un Brix aparente de 65,2.

Documentos citados

Endo, T. y Taguchi, H. The constituents of *Gardenia jasminoids*: Geniposide and genipin-gentiobioside. Chem. Pharm. Bull. 1973

Patente estadounidense n.º 4.878.921, Kogu *et al.*, concedida el 7 de noviembre de 1989

Sampaio-Santos y Kaplan, J. Braz. Chem. Soc. 12 (2001)

Andreason y Bremer, Am. J. Botany 87 1731-1748 (2000)

Formulario de la FDA 2438g (10/91)

Paik, Y.; Lee, C.; Cho, M.; y Hahn, T. en J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 403-432

Patente estadounidense n.º 4.247.698, Toyama *et al.*, 27 de enero de 1981

REIVINDICACIONES

1. Colorante azul natural estable que puede obtenerse a partir de un procedimiento que comprende las etapas de:
- 5 (a) formar una mezcla que comprende
- (i) un primer componente, en el que dicho primer componente es el zumo de la fruta del huito, *Genipa americana*, en el que dicho zumo contiene suficiente genipina o derivados de genipina, incluyendo gentiobiósido de genipina, genipósido, ácido geniposídico y gardenósido, que puede reaccionar con otros compuestos para producir un
- 10 producto coloreado;
- (ii) un segundo componente, en el que dicho segundo componente es un material comestible seleccionado para proporcionar otros componentes que dan como resultado el color deseado, y en el que dicho segundo
- 15 componente comprende compuestos nitrogenados seleccionados del grupo que consiste en aminoácidos, polipéptidos, proteínas, compuestos con uno o más grupos amina primaria, y combinaciones de los mismos;
- (b) procesar conjuntamente dicha mezcla a un pH en el intervalo de 3 a 8; y
- 20 (c) aplicar un tratamiento térmico suficiente para estabilizar la mezcla frente a crecimiento microbiano, oxidación, deterioro organoléptico y proporcionar intensidad de color.
2. Colorante azul natural estable según la reivindicación 1, en el que el segundo componente comprende aminoácidos.
- 25 3. Colorante azul natural estable según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la mezcla se procesa conjuntamente a un pH en el intervalo de 3,5 a 7.
4. Colorante azul natural estable según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la mezcla se
- 30 procesa conjuntamente a un pH en el intervalo de 4 a 6.

Figura 1 - Procedimiento de zumo de huito del ejemplo 3

