

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 991 407**

21 Número de solicitud: 202330437

51 Int. Cl.:

A23B 7/154 (2006.01)

A01N 25/28 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

31.05.2023

43 Fecha de publicación de la solicitud:

03.12.2024

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

12.12.2025

Fecha de concesión:

26.02.2026

45 Fecha de publicación de la concesión:

05.03.2026

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA
(100,00%)
Plaza Cronista Isidoro Valverde, s/n Ed. La
Milagrosa
30202 CARTAGENA (Murcia) ES**

72 Inventor/es:

**LÓPEZ GÓMEZ, Antonio y
MARTÍNEZ HERNÁNDEZ, Ginés Benito**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

54 Título: **Composición para descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas**

57 Resumen:

Composición para descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas.

La presente invención se refiere a una composición en polvo para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas que comprende: aceites esenciales (AEs) encapsulados molecularmente en α -ciclodextrinas (α -CDs), formando complejos de inclusión, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%, α -CDs vacías, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%, AEs libres adsorbidos sobre las α -CDs, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 5 al 10 % y agua, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, inferior al 4%. Asimismo, esta invención contempla procedimientos para la descontaminación microbiana de frutas y hortalizas frescas mediante la aplicación de dicha composición, formulada en agua o en emulsiones en base agua, que contienen ceras u otros componentes poliméricos.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 991 407 B2

DESCRIPCIÓN

Composición para descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas

5 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se encuentra dentro del campo de la tecnología de la descontaminación microbiana superficial de alimentos sólidos. En particular, se refiere a una nueva composición que comprende aceites esenciales (AEs) y alfa-ciclodextrinas (α -CDs),
10 que se puede formular en agua potable o en emulsiones en base agua, que, una vez aplicada mediante baño o ducha, tiene una intensa e inmediata acción de descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas, y que presenta un efecto sostenido en el tiempo de carácter antimicrobiano, antioxidante, antigerminante y/o de inhibición enzimática, lo que permite una mejor conservación de las características de frescura de
15 frutas y hortalizas frescas almacenadas en cámara frigorífica.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

En el estado de la técnica se han propuesto diferentes soluciones para disminuir la carga
20 microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas y así controlar la patología postcosecha de estos alimentos frescos. Muchas de esas composiciones son de origen natural e incluyen AEs junto con agentes que mejoran la solubilidad en agua de los mismos, principalmente tensoactivos de uso alimentario.

25 En esta línea, la patente española ES2163999 B1 propone una composición consistente en AEs, no encapsulados, que incluye además un tensoactivo (elegido entre las diferentes familias aceptadas como aditivos alimentarios, tales como emulsionantes, polisorbatos, lecitinas, etc.), para mejorar la solubilidad en agua de los AEs, y un oligosacárido, procedente de cualquier tejido vegetal o de algas. En este caso, no se indica ni se pretende
30 que los AEs estén encapsulados o adsorbidos en estos oligosacáridos. De hecho, la proporción en peso para estos oligosacáridos, propuesta en este documento, es muy pequeña, ya que está comprendida entre el 1 y el 5%.

Otras composiciones similares del estado de la técnica proponen siempre el uso de agentes

de mejora de la solubilidad de los AEs. En dichas composiciones, normalmente, la proporción en peso de los AEs es relativamente alta, lo que puede dar lugar a efectos de fitotoxicidad grave en las frutas y hortalizas frescas tratadas. Es el caso de las patentes FR 2529755, US4978686, o CA2012288. Además, en la mayoría de los casos, las
5 composiciones se proponen para su aplicación foliar, en campo, pero no como tratamiento post-cosecha, para controlar las patologías microbianas de las frutas y hortalizas frescas cosechadas.

Existen otras patentes que proponen composiciones de AEs atrapados en adsorbentes
10 como gel de sílice, como es el caso de la patente ES2278052, que describe una formulación que incluye citral, junto con un antioxidante, e incluso un agente químico de síntesis, que es el imazalil. Lo mismo ocurre con la solicitud de patente US 2020214305A1, que propone una composición acuosa que incluye al menos un fosfolípido y un polisorbato, y que puede contener AEs y otros agentes químicos de síntesis con actividad fungicida, como el imazalil.

15 La solicitud de patente US2019037839A1 propone una composición para liberación controlada de agentes activos, para conservación de frutas y hortalizas frescas, que emplea β -ciclodextrinas para la encapsulación de agentes activos, que pueden ser AEs. Dicha patente también propone el uso de α -CDs como agente encapsulante del 1-MCP (1-
20 metilciclopropeno) que es un agente gaseoso químico de síntesis que bloquea o inhibe la acción del etileno, pero que no tiene una acción antimicrobiana. Esta composición está configurada para liberar el ingrediente activo de forma controlada, en la fase volátil o gaseosa, sin adición de humectación o hidratación externa.

25 Existen también diversas propuestas en la bibliografía científica relacionadas con la descontaminación superficial de frutas y hortalizas frescas usando AEs encapsulados en β -CDs o en otras ciclodextrinas. Dichas composiciones basan su acción antimicrobiana en una liberación controlada (modulada en el tiempo) de los AEs encapsulados en las beta-
30 ciclodextrinas (β -CDs). De esta forma, aunque dichas propuestas existentes controlan el crecimiento microbiano durante la etapa de conservación de las frutas y hortalizas frescas, no consiguen una alta reducción microbiana inicial, necesaria para que pueda ser mantenida después mediante la liberación controlada de los AEs.

En base a las limitaciones encontradas en las composiciones descritas en el estado de la

técnica, los autores de la presente invención han desarrollado una nueva composición basada en el uso combinado de AEs encapsulados en ciclodextrinas junto con AEs adsorbidos (no encapsulados) en partículas de aglomerados de moléculas de ciclodextrinas. Las características de esta nueva composición permiten llevar a cabo una acción
 5 descontaminante de mayor intensidad en el momento justo de la aplicación, lo que constituye un tratamiento antimicrobiano de choque inicial para reducir las altas cargas microbianas de las frutas y hortalizas frescas procedentes del campo.

En el artículo de *Barba, C., et al. (2015). Preparation and characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes as a tool of a controlled antimicrobial release in whey protein edible films. LWT-Food Science and Technology, 64(2), 1362-1369*, seleccionan la encapsulación de la mezcla de eugenol y carvacrol en β -CD, frente a la encapsulación en α -CD, porque la retención de eugenol y carvacrol es mayor en β -CDs que en α -CDs. No se analiza el efecto antimicrobiano del eugenol encapsulado en alfa-ciclodextrina, en comparación con el efecto
 15 antimicrobiano conseguido cuando se encapsula en beta-ciclodextrina, ni lo propone para la descontaminación superficial de frutas y hortalizas frescas, junto con AEs libres (no encapsulados) y ciclodextrinas vacías (jugando con la función de adsorción de los AEs no encapsulados).

En el artículo de *López-Miranda, S., Berdejo, D., Pagán, E., García-Gonzalo, D., & Pagán, R. (2021). Modified cyclodextrin type and dehydration methods exert a significant effect on the antimicrobial activity of encapsulated carvacrol and thymol. Journal of the Science of Food and Agriculture, 101(9), 3827-3835*, se compara la actividad antimicrobiana *in vitro* del carvacrol y el timol encapsulados en diferentes derivados de ciclodextrinas: HP- α -CDs, HP- β -CDs, y HP- γ -CDs (hidroxipropil-alfa-ciclodextrina, hidroxipropil-beta-ciclodextrina y hidroxipropil-gamma-ciclodextrina, respectivamente) y ponen de manifiesto que el timol encapsulado en HP- α -CDs da lugar a mayores halos de inhibición que cuando se usa encapsulado en HP- β -CDs. Sin embargo, no analizan el efecto antimicrobiano *in vivo* (descontaminación superficial directamente sobre frutas y hortalizas frescas) y su acción
 20 prolongada en el tiempo una vez bañadas en agua que incluya timol encapsulado en α -CDs. Tampoco proponen el uso combinado de los AEs encapsulados en ciclodextrinas junto con AEs adsorbidos (no encapsulados) en partículas de moléculas de ciclodextrinas. De hecho, no hay ningún trabajo en la bibliografía que analice o considere la composición objeto de
 25 esta invención.

En efecto, no hay ningún trabajo en la bibliografía que proponga la aplicación de AEs encapsulados con ciclodextrinas junto con AEs sin encapsular, para conseguir un efecto intenso de descontaminación superficial inicial en las frutas y hortalizas frescas. El efecto antimicrobiano de los AEs se produce al entrar en contacto éstos (en forma libre, no encapsulada) con la pared celular de los microorganismos, donde provoca alteraciones que dan lugar a la inactivación microbiana inmediata. Si el AE está en forma totalmente encapsulada, como su liberación es lenta, la cantidad de AE "libre" (no encapsulado) es relativamente pequeña en solución acuosa, muy inferior a la que se necesita para una eficaz descontaminación superficial inicial de las frutas y hortalizas frescas procedentes del campo.

Por todo lo anterior, y como consecuencia de los sorprendentes resultados experimentales obtenidos por los autores de la presente invención en la descontaminación superficial de frutas y hortalizas frescas, la presente invención propone una nueva composición en forma de polvo que se caracteriza por incluir una combinación de AEs, una parte encapsulados dentro de α -CDs y otra parte adsorbidos sobre la superficie de las α -CDs, que permite una liberación inicial de AEs más intensa (de aquellos adsorbidos sobre la superficie de las α -CDs) seguida de una liberación controlada en el tiempo (de los AEs encapsulados dentro de las α -CDs).

La composición propuesta sólo incluye ingredientes de uso alimentario, denominados aromas alimentarios y alfa-ciclodextrinas (fibra alimentaria). Por tanto, la aplicación de esta nueva composición podría no hacer necesario el uso de ceras o recubrimientos a base de compuestos poliméricos, y evitaría el uso de agentes químicos de síntesis (fungicidas) que presentan efectos perjudiciales para la salud, como es el caso de los tiabendazoles, el ortofenilfenol, el imazalil, y el benomilo, por ejemplo. Del mismo modo, no tiene límites legales de consumo, como en el caso de las composiciones que incluyen beta-ciclodextrinas como agente de encapsulación, ni de ingestión, por lo que una vez aplicada sobre las frutas y hortalizas frescas éstas pueden ser consumidas sin que se produzcan efectos negativos sobre la salud del consumidor.

OBJETO DE LA INVENCION

Es objeto de la invención una composición en polvo para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas que comprende: aceites esenciales (AEs)

- encapsulados molecularmente en α -ciclodextrinas (α -CDs), formando complejos de inclusión, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%; α -CDs vacías, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%, AEs libres adsorbidos sobre la superficie de las α -CDs (vacías o formando complejos de inclusión con los AEs), en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 5 al 10%; y agua, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, inferior al 4% (contenido de humedad en base seca de la composición objeto de esta invención) (de aquí en adelante, composición de la invención).
- 5
- 10 Es también objeto de la invención un procedimiento para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas (de aquí en adelante, procedimiento de la invención) que comprende las etapas de:
- a. Disolver la composición en polvo de la invención en agua potable o en una emulsión en base agua, agitando hasta la completa disolución de la composición,
 - b. Aplicar la disolución acuosa preparada en a) sobre las frutas y/u hortalizas frescas, y
 - c. Secar las frutas y/u hortalizas tratadas en b).
- 15

Finalmente, es objeto de la invención el empleo de la composición de la invención para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas.

20

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Evolución del recuento superficial de microorganismos aerobios mesófilos totales (AMT) en pepinos snack, que han sido bañados en solución acuosa con concentraciones del 2, 3 y 4% de la composición objeto de esta invención, y conservados en refrigeración (10°C y HR del 85%) durante 11 días.

25

Figura 2. Evolución del recuento superficial de mohos en pepinos snack, que han sido bañados en solución acuosa con concentraciones del 2, 3 y 4% de la composición objeto de esta invención, y conservados en refrigeración (10°C y HR del 85%) durante 11 días.

30

Figura 3. Evolución del recuento superficial de **(A)** microorganismos psicrófilos (PSIC) y **(B)** enterobacterias (ENT) en pepinos snack, que han sido bañados en solución acuosa con

concentraciones del 2, 3 y 4% de la composición objeto de esta invención, y conservados en refrigeración (10°C y HR del 85%) durante 11 días.

5 **Figura 4.** Evolución de la firmeza en pepinos snack, que han sido bañados en solución acuosa con concentraciones del 2, 3 y 4% de la composición objeto de esta invención, y conservados en refrigeración (10°C y HR del 85%) durante 7 días.

10 **Figura 5.** Recuento superficial de **(A)** microorganismos aerobios mesófilos totales (AMT), **(B)** enterobacterias (ENT) y **(C)** bacterias ácido-lácticas (BAL) para los días 0 y 4 de conservación refrigerada de los dientes de ajos pelados descontaminados en baño con agua que incluye la composición objeto de esta invención. Las barras blancas son del control y las barras negras son del producto descontaminado.

15 **Figura 6.** Recuento superficial de mohos para el día 0 y 4 de conservación refrigerada de los dientes de ajos pelados descontaminados en baño con agua que incluye la composición objeto de esta invención. Las barras blancas son del control y las barras negras son del producto descontaminado.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

20

Para superar las limitaciones encontradas en el estado de la técnica en relación con la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas, la presente invención proporciona una nueva composición que incluye una combinación de AEs, una parte encapsulados dentro de α -CDs y otra parte adsorbidos sobre la superficie de α -CD (vacías o formando complejos de inclusión con los AEs), que permite una liberación inicial de AEs más intensa (de aquellos adsorbidos sobre la superficie de las α -CDs) seguida de una liberación controlada en el tiempo (de los AEs encapsulados dentro de las α -CDs).

25 Así, en un aspecto principal de la invención, se contempla una composición en polvo para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas que comprende:

30

- AEs encapsulados molecularmente en α -CDs, formando complejos de inclusión, en una proporción en peso respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%, preferiblemente, del 40 al 50%,

- α -CDs vacías (sin encapsular AEs), en una proporción en peso respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%, preferiblemente, del 40 al 50%,
- AEs no encapsulados en α -CDs, que estarían en forma adsorbida sobre las α -CDs, bien vacías o bien formando complejos de inclusión con los AEs, en una proporción en peso, respecto al peso total de la composición, del 5 al 10%, preferiblemente del 6 al 8%, y
- Agua, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, inferior al 4% (contenido de humedad en base seca de la composición objeto de esta invención).

10

Los AEs empleados en la composición de la invención pueden ser AEs puros de origen vegetal, seleccionados de entre los que proceden de brotes o yemas, flores, hojas, tallos, ramas, semillas, frutos, raíces, o la madera o corteza, o una mezcla de los mismos. Por ejemplo, puede ser AE de cítricos, de naranja, limón, mandarina, lima, pomelo, bergamota, citronela, o de orégano, romero, tomillo, hierba de limón, canela, albahaca, hierbabuena, eneldo, árbol de té, clavo, hinojo, pimienta, entre otros muchos. También se pueden utilizar uno de los componentes, principales o no, de estos AEs conocidos por su probado efecto antimicrobiano. Por ejemplo, en una realización particular los componentes de AEs útiles en el contexto de la presente invención se seleccionan de entre los que son terpenos, o terpenoides, o constituyentes aromáticos o alifáticos, o una mezcla de los mismos. Otra realización posible contempla el uso de una mezcla de los componentes de AEs mencionados anteriormente con uno o más AEs puros. Es decir, se pueden utilizar mezclas de los AEs puros, con o sin la adición de uno o más de sus componentes mayoritarios (como por ejemplo timol, carvacrol, entre muchos otros). Dependiendo de cada aplicación (a un tipo u otro de fruta u hortaliza) y del tipo de microorganismos cuyo crecimiento se quiera inhibir, se hará más apropiado un determinado AE o una combinación determinada de AEs, incluyendo, o no, uno o más de sus componentes principales (como, por ejemplo, timol, carvacrol, entre otros).

15

20

25

30

En una realización particular de la composición de la invención, las α -CDs empleadas presentan las siguientes características:

- número de unidades de glucosa: 6;
- Peso molecular: 972;

- Número de moléculas de agua en la cavidad: 6;
 - Solubilidad en agua a 25 °C (%w/v): 14,5;
 - Diámetro de la cavidad central (nm): 0,5–0,6;
 - Diámetro exterior (nm): 1,4–1,5; y
- 5 - Altura de la forma toroidal (nm): 0.8.

Como la cavidad interior de las alfa-ciclodextrinas es hidrófoba, estas moléculas son capaces de albergar moléculas hidrófobas más pequeñas (como las moléculas de los distintos componentes de los AEs) para formar complejos de inclusión “anfitrión-huésped”, en los que la molécula huésped queda encapsulada por la ciclodextrina. De esta forma, moléculas insolubles en agua, como las de los componentes de los AEs, pueden llegar a ser completamente solubles.

Debido a que la capacidad de encapsulación de las α -CDs es inferior a las β -CDs, y que la composición objeto de esta invención se prepara de manera que se incorpora mayor cantidad de AEs del que puede ser encapsulado en las α -CDs, una parte de los AEs queda sin encapsular y es adsorbida sobre partículas de agregados de moléculas de α -CDs. Este AE es adsorbido sobre la superficie de las partículas de α -CDs mediante unas uniones más débiles que las que se tienen entre la cavidad interna de las α -CDs y las moléculas del AE. En efecto, las α -CDs y las moléculas huésped interactúan mediante diferentes fuerzas para formar complejos de inclusión, como interacciones dipolo-dipolo e interacciones hidrofóbicas; mientras que la adsorción superficial es un fenómeno reversible que se produce mediante fuerzas más débiles que las anteriores. De esta forma, en el momento del tratamiento de descontaminación microbiana de las frutas y hortalizas frescas, se consigue una liberación más rápida e intensa de los AEs adsorbidos superficialmente, consiguiendo una reducción intensa de la carga microbiana superficial de las frutas y hortalizas tratadas con la solución acuosa que incluye la composición objeto de esta invención. La liberación controlada posterior de los AEs encapsulados en el interior de las α -CDs consiguen que el efecto de descontaminación se prolongue durante el tiempo de conservación de estas frutas y hortalizas frescas así tratadas.

Para la nanoencapsulación o preparación del complejo de inclusión (como complejo sólido en forma de polvo) entre el AE o combinación de AEs (o uno de sus componentes, o una combinación de AEs con uno o más de sus componentes) y las α -CDs se puede utilizar

- Número de moléculas de agua en la cavidad: 6;
 - Solubilidad en agua a 25 °C (%w/v): 14,5;
 - Diámetro de la cavidad central (nm): 0,5–0,6;
 - Diámetro exterior (nm): 1,4–1,5; y
- 5 - Altura de la forma toroidal (nm): 0.8.

Como la cavidad interior de las alfa-ciclodextrinas es hidrófoba, estas moléculas son capaces de albergar moléculas hidrófobas más pequeñas (como las moléculas de los distintos componentes de los AEs) para formar complejos de inclusión “anfitrión-huésped”, en los que la molécula huésped queda encapsulada por la ciclodextrina. De esta forma, moléculas insolubles en agua, como las de los componentes de los AEs, pueden llegar a ser completamente solubles.

10

Las α -CDs y las moléculas huésped interactúan mediante diferentes fuerzas para formar complejos de inclusión, como interacciones dipolo-dipolo e interacciones hidrofóbicas; mientras que la adsorción superficial es un fenómeno reversible que se produce mediante fuerzas más débiles que las anteriores. De esta forma, en el momento del tratamiento de descontaminación microbiana de las frutas y hortalizas frescas, se consigue una liberación más rápida e intensa de los AEs adsorbidos superficialmente, consiguiendo una reducción intensa de la carga microbiana superficial de las frutas y hortalizas tratadas con la solución acuosa que incluye la composición objeto de esta invención. La liberación controlada posterior de los AEs encapsulados en el interior de las α -CDs consiguen que el efecto de descontaminación se prolongue durante el tiempo de conservación de estas frutas y hortalizas frescas así tratadas.

15

20

Para la nanoencapsulación o preparación del complejo de inclusión (como complejo sólido en forma de polvo) entre el AE o combinación de AEs (o uno de sus componentes, o una combinación de AEs con uno o más de sus componentes) y las α -CDs se puede utilizar cualquiera de los métodos siguientes: método del amasado, método de coprecipitación, método de calentamiento en un envase o recipiente sellado, método de interacción gas (o vapor)-líquido, método de liofilización, método de atomización, o usando tecnología de fluidos supercríticos (tal como describe con detalle en Marques, H. M. C. (2010). *A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. Flavour and fragrance journal*, 25(5), 313-326). Después, la composición objeto de esta invención se obtendrá simplemente

25

30

mezclando, en las proporciones indicadas, el AE encapsulado en las α -CDs, con AE no encapsulado, y con α -CDs vacías (en una mezcladora de harinas, hasta conseguir una total homogeneidad).

5 En otro aspecto principal de la invención, se contempla un procedimiento para la descontaminación superficial de frutas y hortalizas frescas, que comprende las siguientes etapas:

- 10
- a) Disolver la composición de la invención en agua potable o en una emulsión en base agua, agitando hasta que quede perfectamente disuelta la composición,
 - b) Aplicar la disolución acuosa obtenida en a) sobre las frutas y/u hortalizas, y
 - c) Secar las frutas y/u hortalizas tratadas en b).

15 En realizaciones particulares, la disolución de la composición (etapa a) se puede llevar a cabo en:

- agua potable, en una proporción en peso no superior al 2% (2 g de la composición en polvo/100 g de agua potable o 20 g de la composición en polvo/kg agua potable) o bien,
- 20 - en una emulsión en base agua, en una proporción en peso no superior al 4% (4 g de la composición en polvo/100 g de emulsión acuosa o 40 g composición en polvo/kg de emulsión acuosa), alcanzando tras la agitación un contenido final de sólidos inferior al 12% en la emulsión.

25 La aplicación de la disolución acuosa, ya sea en agua potable o en emulsión acuosa, (etapa b) se puede realizar:

- 30
- bañando (sumergiendo) las frutas y/u hortalizas frescas en la disolución obtenida en a) durante un tiempo de 0,5 a 15 minutos, preferiblemente de 0,8 a 1,2 minutos, o bien
 - aplicando la disolución acuosa obtenida en a) a las frutas y/u hortalizas mediante duchas, a razón de 1 a 1,2 litros de disolución por cada 1000 kg de frutas y/u hortalizas.

El secado de las frutas y/o hortalizas en la etapa c) del procedimiento de la invención se puede llevar a cabo:

- 5 - mediante enfriamiento a vacío (*vacuum cooling*), consiguiendo secar y enfriar al mismo tiempo las frutas y/u hortalizas, o bien,
- Mediante túnel de aire a una temperatura inferior a 55°C, preferiblemente a una temperatura entre 25 y 35°C.

10 Los ingredientes particulares de la composición de la invención, en las proporciones indicadas, garantizan una buena dispersión y una adecuada disolución en el agua, lo que es fundamental para conseguir una buena eficacia de descontaminación microbiana de la superficie de las frutas y hortalizas frescas, tal como se detalla a continuación. Así, por ejemplo, si la composición de la invención incluyera β -CDs, en lugar de α -CDs, con la disolución al 2% indicada anteriormente no se conseguiría una adecuada solubilidad en
15 agua, y esto daría lugar a un menor efecto antimicrobiano sobre la superficie de las frutas y hortalizas frescas a descontaminar.

La composición, y la forma de aplicación de la composición de la invención sobre la superficie de las frutas y/o hortalizas frescas, mediante el procedimiento de la invención,
20 permite que los AEs encapsulados no se evaporen durante el secado posterior, aunque sí se evaporan los AEs que no están encapsulados y que simplemente estaban adsorbidos en las α -CDs. De esta manera, una vez que estas frutas y hortalizas frescas se envasan y se almacenan en cámaras frigoríficas a baja temperatura y humedad relativa alta (normalmente por encima del 80%), se produce un cierto intercambio de vapor de agua con los complejos
25 de inclusión que tienen en superficie estas frutas y hortalizas frescas envasadas, y tiene lugar la liberación de los vapores de AEs desde dichas superficies (por descomposición de los complejos de inclusión formados entre los AEs y las ciclodextrinas). Estos AEs liberados en fase vapor ejercen una acción antimicrobiana y de otro tipo (antioxidante, antigerminante, o de inhibición enzimática) sobre los microorganismos y enzimas presentes principalmente
30 en la superficie, o en las zonas internas próximas a la superficie, de las frutas y hortalizas frescas.

Así, la composición de la presente invención, que se puede formular en agua potable o en emulsiones en base agua, empleadas para recubrimiento superficial de hortalizas y frutas

como cítricos, como p.ej. emulsiones de ceras o de otros componentes poliméricos, presenta actividad en dos fases: una que tiene lugar durante el baño o ducha de las frutas y hortalizas frescas, que tiene una intensa acción de descontaminación microbiana superficial de las mismas, y otra, que tiene lugar posteriormente durante la conservación de estas
5 frutas y hortalizas frescas así tratadas, que tiene una acción antioxidante, y/o antigerminante y/o de inhibición enzimática, y que permite una mejor conservación de las características de frescura de estas frutas y hortalizas frescas tratadas con la composición objeto de esta invención.

10 En base a lo anterior, otro aspecto de la invención se refiere a una formulación que comprende una disolución acuosa de la composición de la invención.

En una realización particular de la formulación, la disolución acuosa de la composición es en agua potable, en una proporción en peso no superior al 2%.

15

En otra realización particular de la formulación, la disolución acuosa de la composición es en una emulsión en base agua, en una proporción en peso no superior al 4%.

Finalmente, en otro aspecto principal de la invención se contempla el uso de la composición
20 de la invención para la descontaminación microbiana superficial de frutas y/u hortalizas frescas.

De forma sorprendente y novedosa, el empleo de la composición de la invención, una vez aplicada a las frutas y/o hortalizas frescas con el procedimiento de la invención, mediante
25 baño o ducha, permite conseguir una reducción de la carga microbiana superficial (de microorganismos aerobios mesófilos totales) de entre 2 y 4 unidades logarítmicas, en las frutas y hortalizas frescas tratadas. Además, el efecto de descontaminación se prolonga posteriormente en el tiempo, consiguiendo controlar el crecimiento microbiano en superficie en las frutas y hortalizas frescas, conservadas en refrigeración, tal como se detalla a
30 continuación en los ejemplos de realización de esta invención.

EJEMPLOS

A continuación, se recogen ejemplos, como modos no exclusivos, de realización de la

invención.

Encapsulación de los AEs en α -CDs:

5 Se preparó un complejo de inclusión de AEs con α -CDs siguiendo cualquiera de los métodos propuestos por Marques (2010). El complejo de inclusión se obtuvo mediante la combinación de AEs con las α -CD según una relación equimolar. El AE usado fue una combinación de eugenol y timol en una proporción 1:1 (peso/peso).

10 *Ejemplo 1: Fabricación y aplicación de la composición objeto de esta invención, para descontaminación microbiana superficial y mejora de la conservación refrigerada de pepinos snack frescos.*

Se llevaron a cabo las siguientes etapas:

15

1. Fabricación y obtención del complejo de inclusión α CD-AEs en forma de polvo, con la composición descrita anteriormente, y usando una combinación de AEs de eugenol y timol.

20

2. Mezcla del complejo de inclusión obtenido en (1) (en una proporción del 43,60% sobre peso seco) con el resto de ingredientes en las siguientes proporciones: 48,55% (sobre peso seco) de α -CD vacía, y 7,84% de la combinación de AEs indicada anteriormente, en una mezcladora de harinas, hasta conseguir una buena homogeneidad.

25

3. Disolución de esta composición en agua potable, en una proporción en peso del 2% (2 g/100 g de agua o 20 g/kg de agua), 3% (3 g/100 g de agua o 30 g/kg de agua) y 4% (4 g/100 g de agua o 40 g/kg de agua), agitando hasta que quede perfectamente disuelta esta composición.

30

4. Baño de los pepinos snack frescos en estas disoluciones acuosas preparadas en 3) durante un tiempo de 1,0 minuto.

5. Secado de los pepinos bañados en las soluciones anteriores mediante aire caliente a una temperatura de 30 °C.

A continuación, los pepinos fueron envasados en barquetas de plástico (tipo *clamshell*, con un cuerpo y una tapa, unida o no al cuerpo del envase) macroperforadas, de 250 g de peso

cada una, y se conservaron en cámara frigorífica a 10 °C y humedad relativa del 85%, durante 11 días. Periódicamente, sobre muestras de pepinos snack conservados refrigerados, se llevaron a cabo los siguientes análisis:

- 5 - Análisis de la microbiología superficial (microorganismos aerobios mesófilos totales, psicrófilos, enterobacterias y mohos) de los pepinos snack.
- Análisis sensorial de los pepinos snack
- Análisis de la firmeza de los pepinos snack, en texturómetro (modelo TA-XT Plus TA Instruments; Surrey, Reino Unido), determinando la fuerza requerida (en Newton, N)
- 10 para penetrar 2 mm la superficie del pepino entero con una probeta cilíndrica de 4 mm de diámetro. Cada ensayo se realizó con una velocidad de 1 mm s⁻¹, y se analizaron 6 pepinos de cada tratamiento.

Para llevar a cabo el análisis de la microbiología superficial de los pepinos durante la conservación refrigerada, se muestrearon e introdujeron dos mitades de pepinos snack (de cada tratamiento) en agua de peptona, durante una hora, a una temperatura de refrigeración de 4 °C. A continuación, se realizaron las diluciones seriadas apropiadas y se sembraron en los medios de cultivo adecuados para cada microorganismo:

- 20 • Microorganismos Aerobios Mesófilos Totales (AMT): se sembraron en profundidad en agar PCA (Plate Count Agar) y se incuban a 31 °C durante 48 horas.
- Microorganismos Aerobios Psicrófilos Totales: se sembraron en profundidad en agar PCA (Plate Count Agar) y se incuban a 7° C durante 7 días.
- 25 • Enterobacterias: se sembraron en profundidad en agar VRBD (Violet Red Bile Dextrose), se incuban a 37 °C durante 24 horas.
- Mohos: se sembraron en superficie en Rosa de Bengala y se incuban a 28 °C durante 5-7 días.

Los resultados de los recuentos microbianos se expresaron como logaritmo de unidades formadoras de colonias (UFC) por cm², midiendo para ello la superficie de cada pepino mediante su longitud y diámetro ecuatorial.

Con el tratamiento de los pepinos snack en baño con una solución de la composición objeto de esta invención al 2% durante 1 minuto, se observó que las características sensoriales

visuales de los pepinos no se deterioraron. Es más, este tratamiento favoreció el mantenimiento de su frescura con el paso del tiempo en conservación refrigerada. Sin embargo, en otros ensayos donde se trataron estos pepinos en baños con una concentración mayor (del 3% y 4%) sí que se vio un efecto negativo sobre el aspecto visual de los pepinos. Se observó que provocaba una coloración más oscura en la piel y un aumento de las rugosidades. Por tanto, las concentraciones superiores al 2% son consideradas como excesivas y no adecuadas para este tipo de tratamientos de descontaminación.

10 En la **FIG.1** se puede observar que en el día 0 de análisis, el recuento inicial de Aerobios Mesófilos Totales (AMT) fue de 6,5 log UFC / cm² en los pepinos control (sin baño desinfectante). Las poblaciones de AMT se redujeron en 2,5-4,5 log UFC/cm² cuando se descontaminaron los pepinos con la composición objeto de esta invención. Cuanto mayor fue la concentración de AEs encapsulados, más grande fue la reducción de AMT. Después de tres días de conservación, los recuentos fueron 1,2, 1,6 y 4,4 log UFC / cm² inferiores en los pepinos descontaminados en baños con concentraciones del 2%, 3% y 4%, respectivamente, si se compara con el control, que ya alcanzó en este tercer día de conservación el límite de 7 log UFC/cm² en AMT. En los días de análisis posteriores, el recuento en las muestras descontaminadas fue elevándose, pero siempre se mantuvo por debajo de la muestra control, y no se alcanzó el valor de 7, excepto en la concentración del 4%. De esta manera, se obtuvo que la descontaminación en baño de agua con la composición objeto de esta invención al 2% era suficiente para reducir y controlar el recuento de AMT en los pepinos snack conservados a 10 °C y 85% de HR.

25 Tal como se aprecia en la **FIG.2**, la reducción de la carga superficial de mohos que se consigue con la descontaminación superficial de los pepinos, mediante baño con esta solución al 2-4%, es muy importante. La diferencia de carga fue de 2,5 log UFC/cm² prácticamente durante toda la conservación. A la vista de los resultados, se concluye también que la concentración más adecuada del baño debe ser del 2% o inferior.

30 Según se puede observar en la **FIG. 3**, la carga microbiana superficial de enterobacterias (ENT) (**Fig. 3B**) y microorganismos psicrófilos (PSIC) (**Fig. 3A**) también se vio reducida de forma significativa con la descontaminación superficial de los pepinos mediante baño en solución objeto de esta invención, siendo adecuadamente efectiva la concentración del 2%.

Por tanto, las concentraciones del 3 y 4% se deben descartar porque afectan negativamente la calidad del producto.

La aplicación de un baño descontaminante con soluciones que incluyen la composición objeto de esta invención al 2% y 3% (p/v) no comprometió la firmeza de los pepinos snack, tal como se aprecia en la **FIG.4**. Incluso mejoró los valores de firmeza frente al control (pepinos que no sufrieron el baño de descontaminación superficial). Sin embargo, los pepinos snack bañados con una solución con concentración mayor (del 4%) vieron afectada negativamente su textura. Al tacto los pepinos se notaron más blandos.

En cuanto al análisis sensorial, se observó que, conforme avanzaba el tiempo de conservación refrigerada, las muestras fueron perdiendo calidad global, sobre todo a partir del día 7 de conservación. Sin embargo, el baño con una concentración del 2% retardó el deterioro sensorial de los pepinos, manteniendo unas mayores características de frescura que los pepinos control (no tratados). Además, al cortar en rodajas los pepinos controles y los bañados en solución al 2%, en el día 9 de conservación), se observó que los pepinos bañados (con la solución al 2%) estaban menos maduros. Se observó que la frescura estaba mejor conservada cuando se llevó a cabo esta descontaminación superficial en baño en solución al 2%. En conclusión, se pone de manifiesto que el baño con una solución que incluye la composición objeto de esta invención al 2% influye positivamente en la apariencia, proporcionando a los frutos una mayor luminosidad, brillo, suavidad y frescura, que además se conserva mejor durante el almacenamiento refrigerado.

Ejemplo 2: Fabricación y aplicación de la composición objeto de esta invención, para descontaminación microbiana superficial y mejora de la conservación refrigerada de dientes de ajos frescos pelados.

Se llevaron a cabo las siguientes etapas:

1. Fabricación y obtención del complejo de inclusión α CD-AEs en forma de polvo, con la composición descrita anteriormente, y usando una combinación de AEs de eugenol y timol.
2. Mezcla del complejo de inclusión obtenido en (1) (en una proporción del 43,60% sobre peso seco) con el resto de ingredientes en las siguientes proporciones: 48,55% (sobre peso seco) de α -CD vacía, y 7,84% de la

combinación de AEs indicada anteriormente, en una mezcladora de harinas, hasta conseguir una buena homogeneidad.

3. Disolución de esta composición en agua potable, en una proporción en peso del 2% (2 g/100 g de agua o 20 g/kg de agua), agitando hasta que quede perfectamente disuelta esta composición.
4. Baño de los dientes de ajos frescos pelados en esta disolución acuosa preparada en 1) durante un tiempo de 1,0 minuto.
5. Secado de los dientes de ajos frescos pelados bañados en la solución anterior mediante aire caliente a una temperatura de 30 °C.

A continuación, los dientes de ajos frescos pelados fueron envasados en barquetas de plástico termoselladas de 250 g de peso cada una, y se conservaron en cámara frigorífica a 2 °C y humedad relativa del 85%, durante 4 días. Periódicamente, sobre muestras de dientes de ajos frescos pelados conservados refrigerados se llevaron a cabo los siguientes análisis:

- Análisis de la microbiología superficial (microorganismos aerobios mesófilos totales, bacterias ácido-lácticas, enterobacterias y mohos) de los dientes de ajos frescos pelados.
- Se utilizó la misma metodología descrita en el ejemplo 1 anterior. Los resultados se expresan como log UFC/g de diente de ajo pelado fresco.
- Análisis sensorial de los dientes de ajos frescos pelados

Con este tratamiento de descontaminación de los dientes de ajos frescos pelados (baño en una solución con la composición objeto de esta invención al 2% durante 1 minuto) se observó que la reducción de la carga microbiana superficial es muy significativa: casi 2 log UFC/g en AMT (**FIG. 5A**), 1,5 log UFC/g en enterobacterias (**FIG. 5B**) y casi 3 log UFC/g en reducción de bacterias ácido-lácticas (**FIG. 5C**). En mohos, el efecto de la descontaminación fue también significativo, reduciendo el recuento en casi 2 log UFC/g tal como se ve en la **FIG. 6**. En el día 0 la diferencia de recuento de hongos fue casi de 2 log UFC/g menor que en el control. Y esta diferencia de recuento de hongos se mantuvo prácticamente en el día 4 de análisis (que es del orden de 1,5 log UFC/g menor que en el control).

El tratamiento de dientes de ajos frescos pelados en baño con agua que incluye la

composición objeto de esta invención afecta significativa y positivamente a la calidad global. Los dientes de ajos pelados tratados con este baño presentaron un color más blanco. La calidad sensorial se conservó mejor con este tratamiento. El baño de los dientes de ajos pelados frescos en una solución al 2% de la composición objeto de esta invención influyó positivamente en el aspecto del producto, que se presentó como más fresco que el producto no tratado.

REIVINDICACIONES

1) Composición en polvo para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas que comprende:

5

- Complejos de inclusión formados por alfa-ciclodextrinas que contienen AEs encapsulados molecularmente, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 35 al 55%,
- α -CDs vacías, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la

10

- composición, del 35 al 55%,
- AEs adsorbidos sobre las α -CDs en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 5 al 10 %, y
- Agua, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, inferior al 4%

15

2) Composición, según la reivindicación 1, que comprende:

- Complejos de inclusión, formados por alfa-ciclodextrinas que contienen AEs encapsulados molecularmente, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 40 al 50%,
- α -CDs vacías, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la

20

- composición, del 40 al 50%,
- AEs adsorbidos sobre las α -CDs, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la composición, del 6 al 8%, y
- Agua, en una proporción en peso, respecto al peso seco total de la

25

- composición, inferior al 4%.

3) Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, donde las α -CDs presentan las siguientes características:

30

- Número de unidades de glucosa: 6,
- Peso molecular: 972,
- Número de moléculas de agua en la cavidad: 6;

- Solubilidad en agua a 25 °C: 145 g/L;
- Diámetro de la cavidad central (nm): 0,5–0,6;
- Diámetro exterior (nm): 1,4–1,5; y
- Altura de la forma toroidal (nm): 0,8.

5

4) Composición, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde los AEs encapsulados en α -CDs se seleccionan de entre timol, eugenol y su combinación.

10

5) Procedimiento para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas que comprende las etapas de:

15

- a. Disolver la composición, de acuerdo a las reivindicaciones 1-4, en agua potable o en una emulsión acuosa, agitando hasta que quede perfectamente disuelta la composición,
- b. Aplicar la disolución acuosa obtenida en a) sobre las frutas y/u hortalizas, y
- c. Secar las frutas y/u hortalizas tratadas en b).

20

6) Procedimiento según la reivindicación 5, donde en la etapa a) la composición se disuelve en agua potable, en una proporción en peso no superior al 2%.

25

7) Procedimiento según la reivindicación 5, donde en la etapa a) la composición se disuelve en una emulsión en base agua, en una proporción en peso no superior al 4%, con un contenido final de sólidos en la emulsión tras la agitación inferior al 12%.

30

8) Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, donde en la etapa b), las frutas y/u hortalizas frescas se bañan en la disolución acuosa preparada en a), durante un tiempo de 0,5 a 1,5 minutos.

9) Procedimiento, según la reivindicación 8, donde las frutas y/u hortalizas frescas se bañan en la disolución acuosa durante un tiempo de 0,8 a 1,2 minutos.

10) Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, donde en la etapa

b), la disolución acuosa se aplica sobre las frutas y/u hortalizas frescas mediante duchas, a razón de 1 a 1,2 litros de disolución por cada 1.000 kg de fruta y/u hortalizas.

- 5 11) Procedimiento, según una de las reivindicaciones 5 a 10, donde en la etapa c), el secado se lleva a cabo mediante enfriamiento a vacío, secando y enfriando al mismo tiempo.
- 10 12) Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, donde en la etapa c) el secado se lleva a cabo con aire a una temperatura inferior a 55 °C.
- 13) Procedimiento, según la reivindicación 12, donde el secado se lleva a cabo con aire a una temperatura comprendida entre 25 y 35°C.
- 15 14) Uso de una composición según las reivindicaciones 1-4 para la descontaminación microbiana superficial de frutas y hortalizas frescas

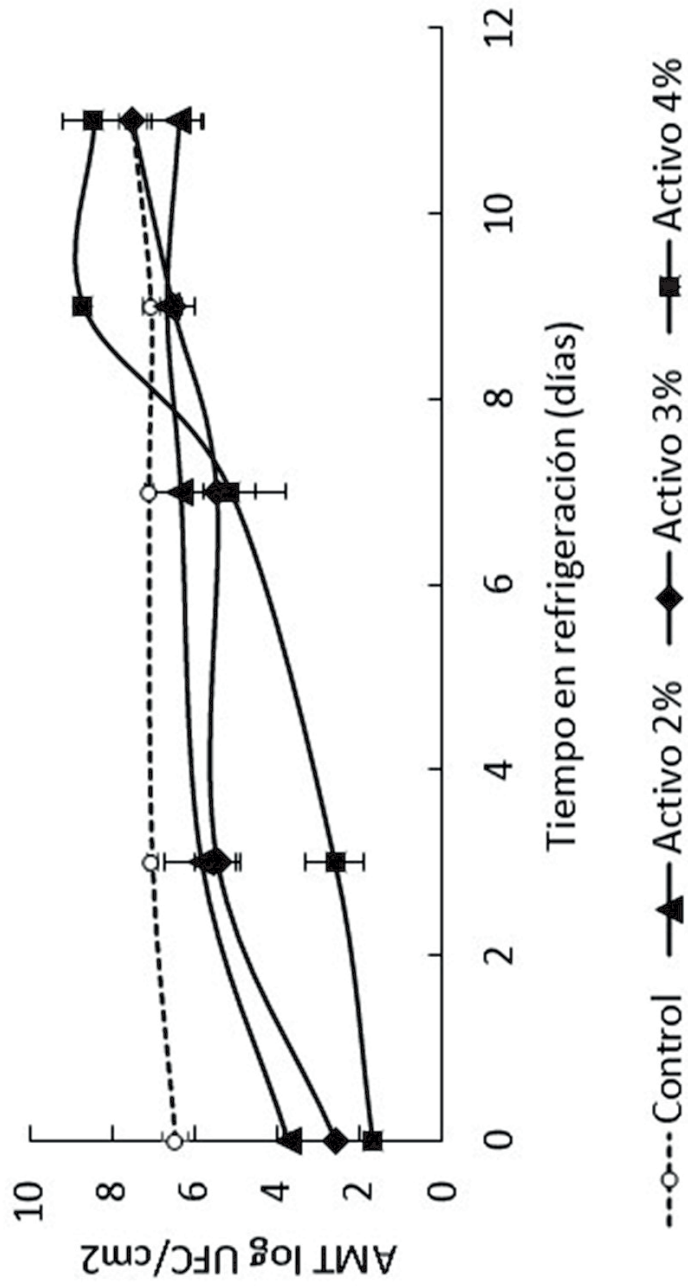


FIG. 1

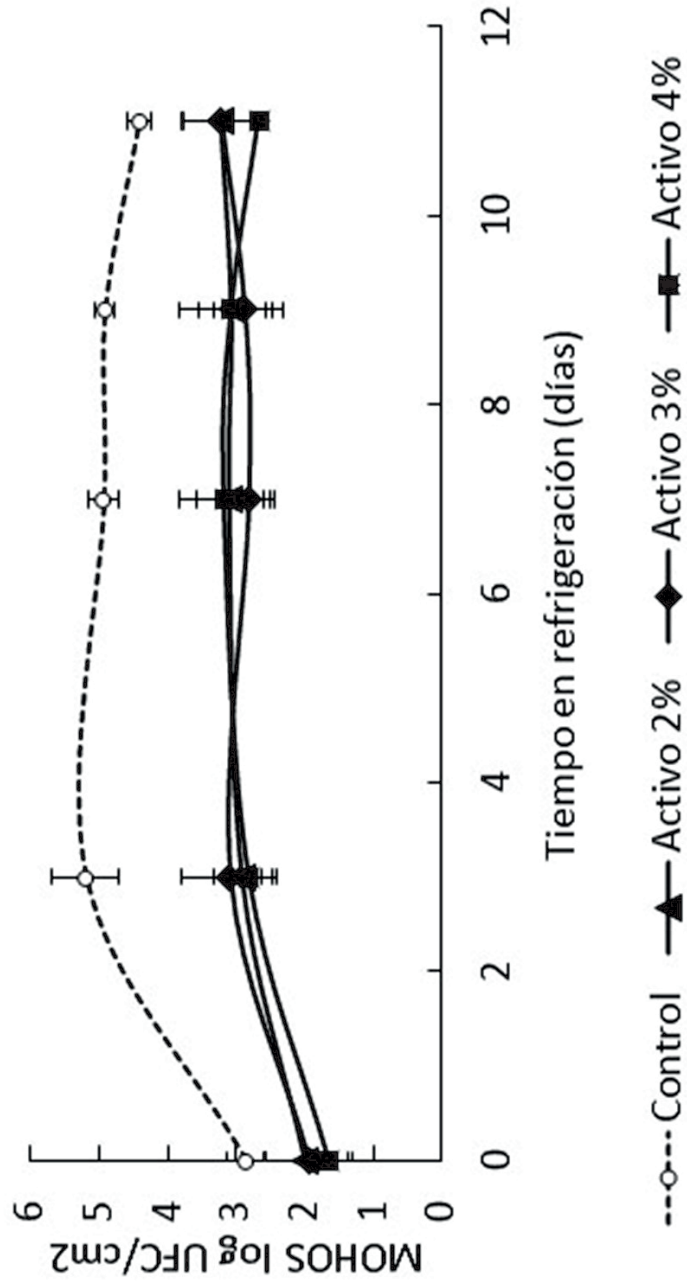


FIG. 2

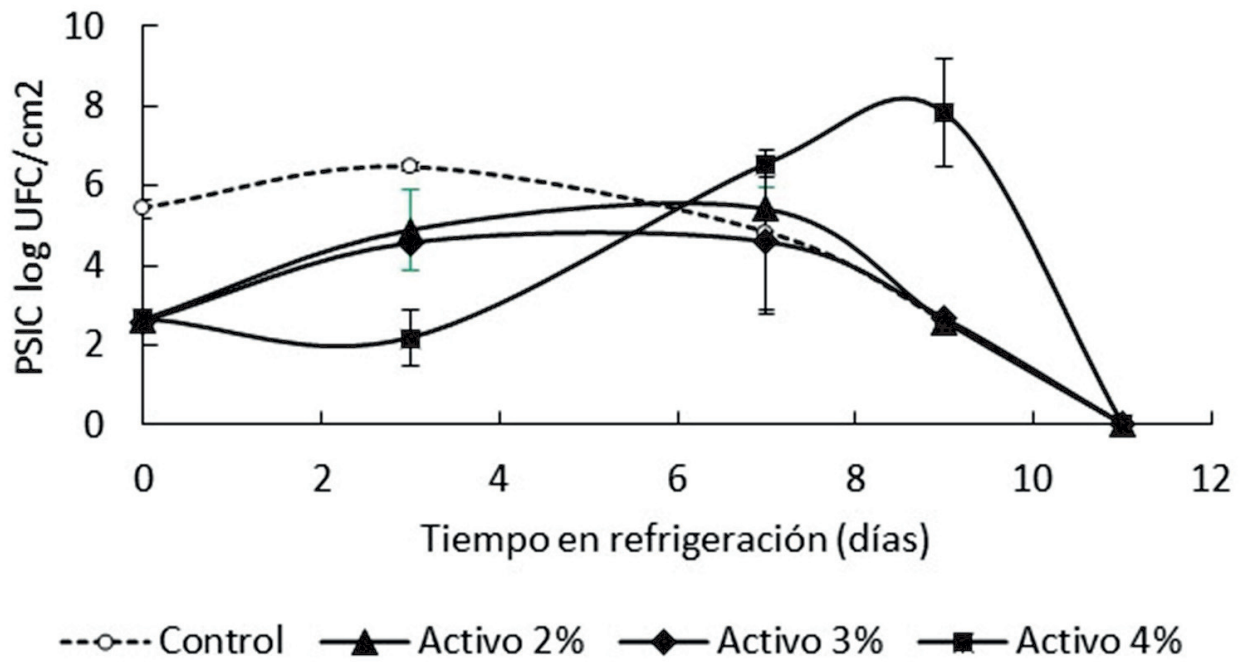


FIG. 3A

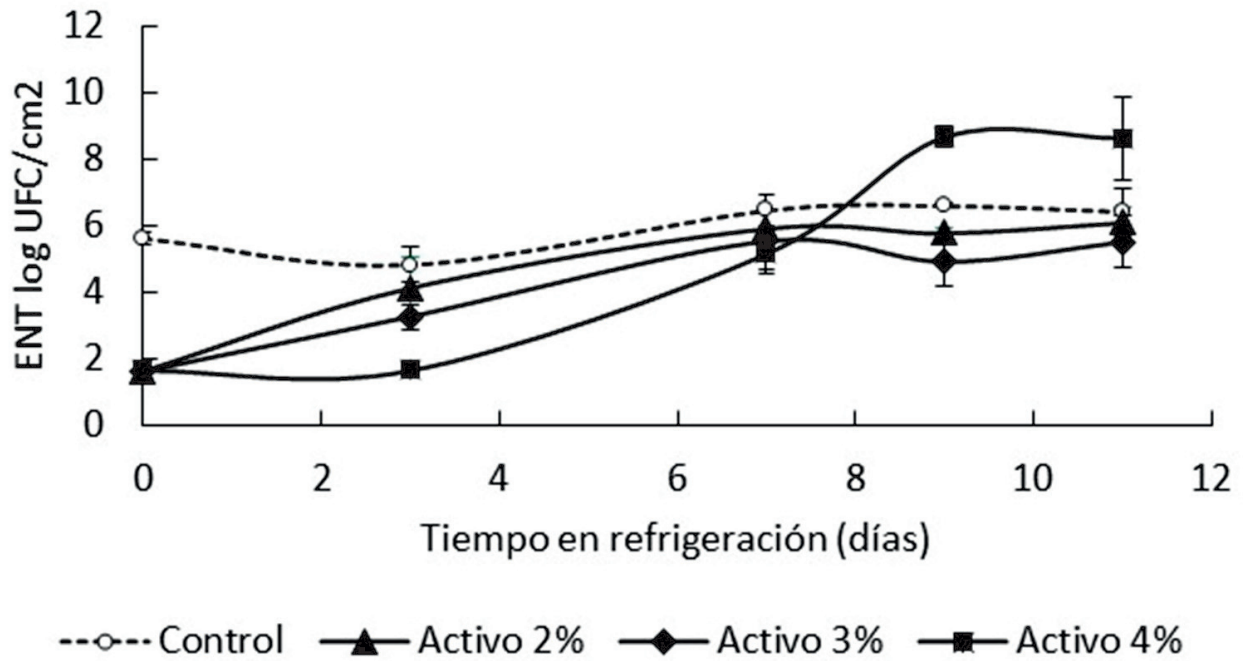


FIG. 3B

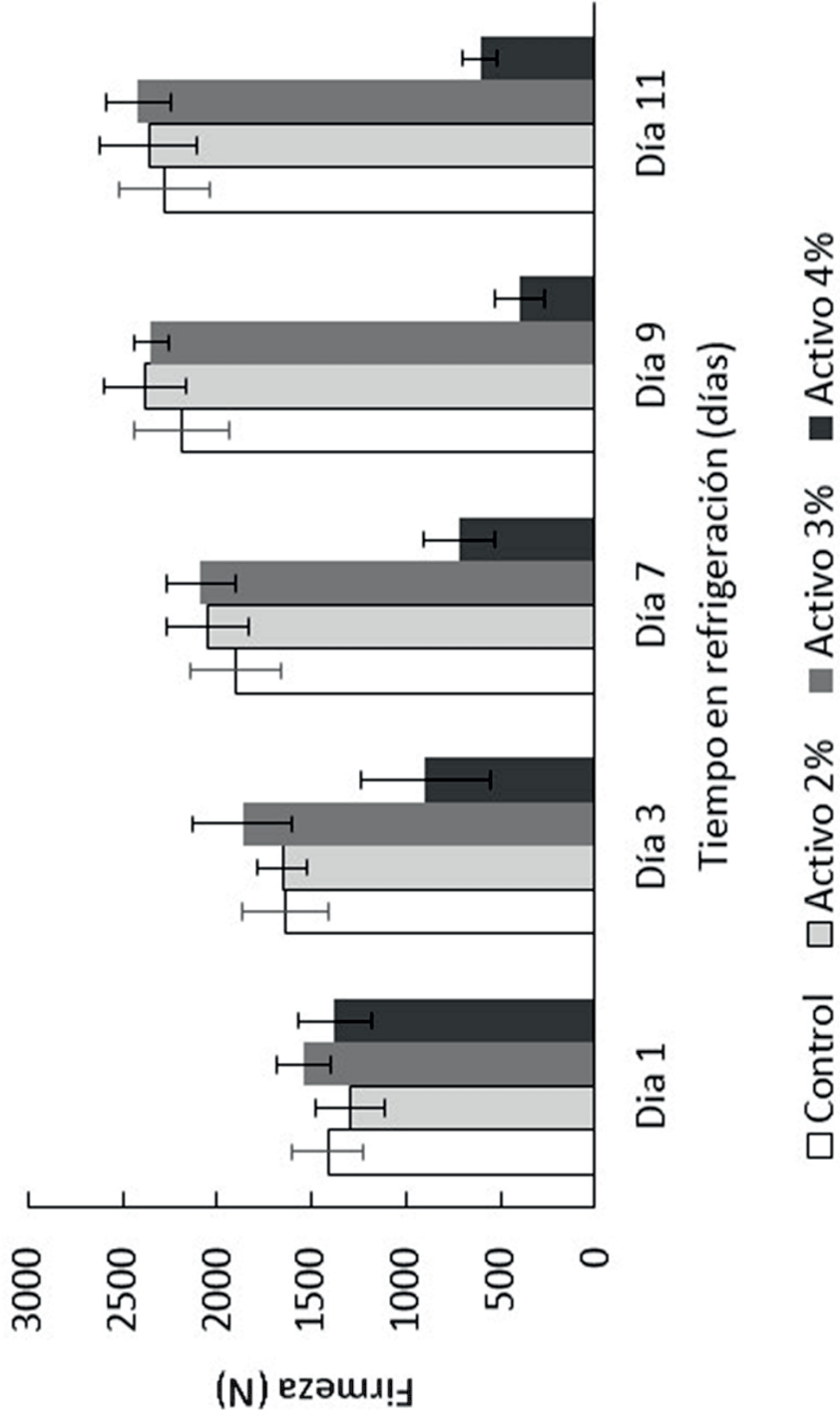


FIG. 4

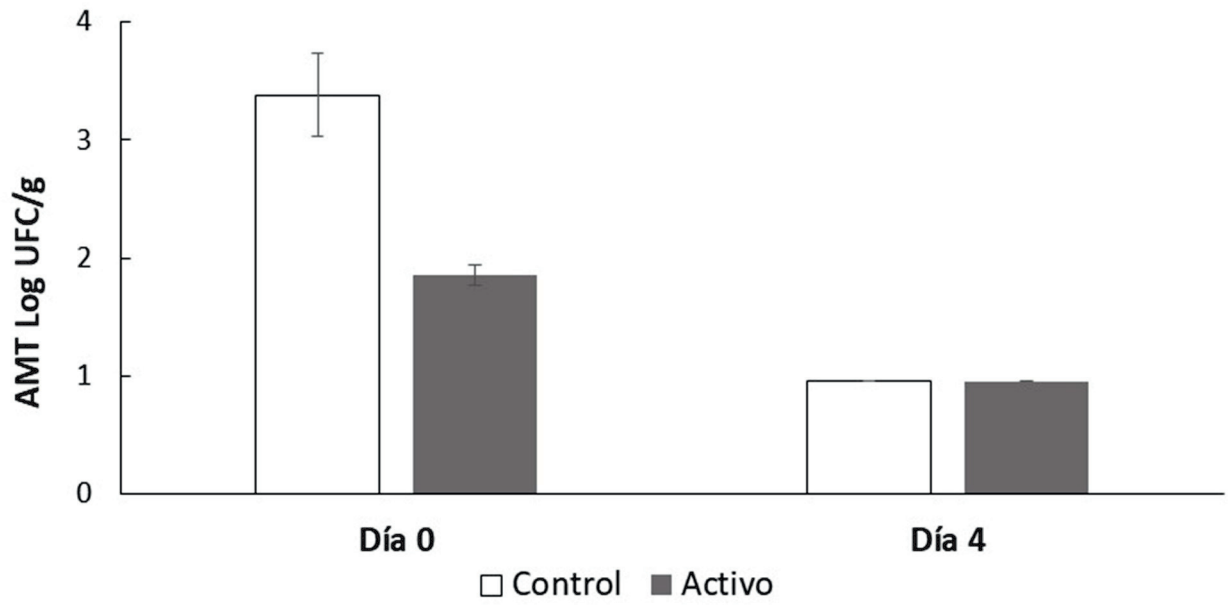


FIG. 5A

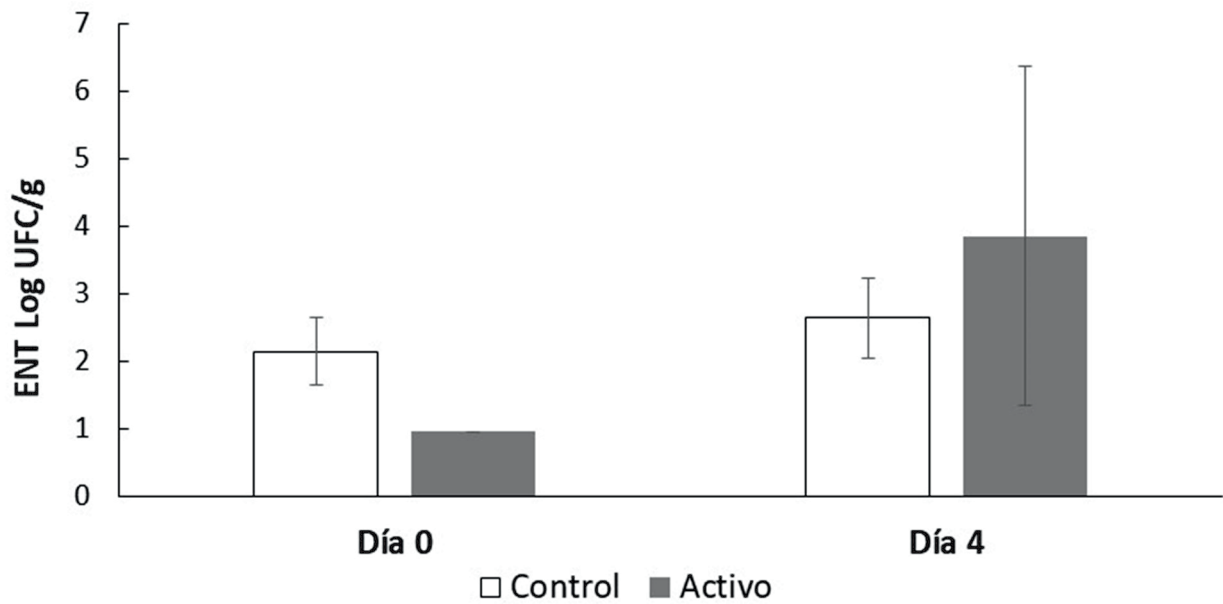


FIG. 5B

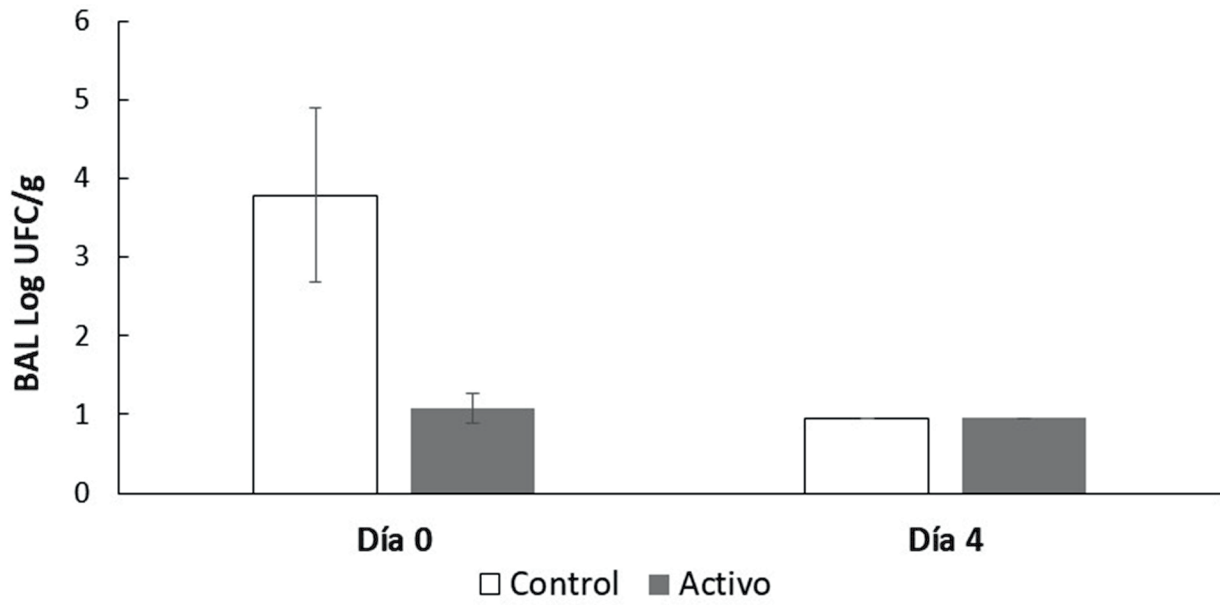


FIG. 5C

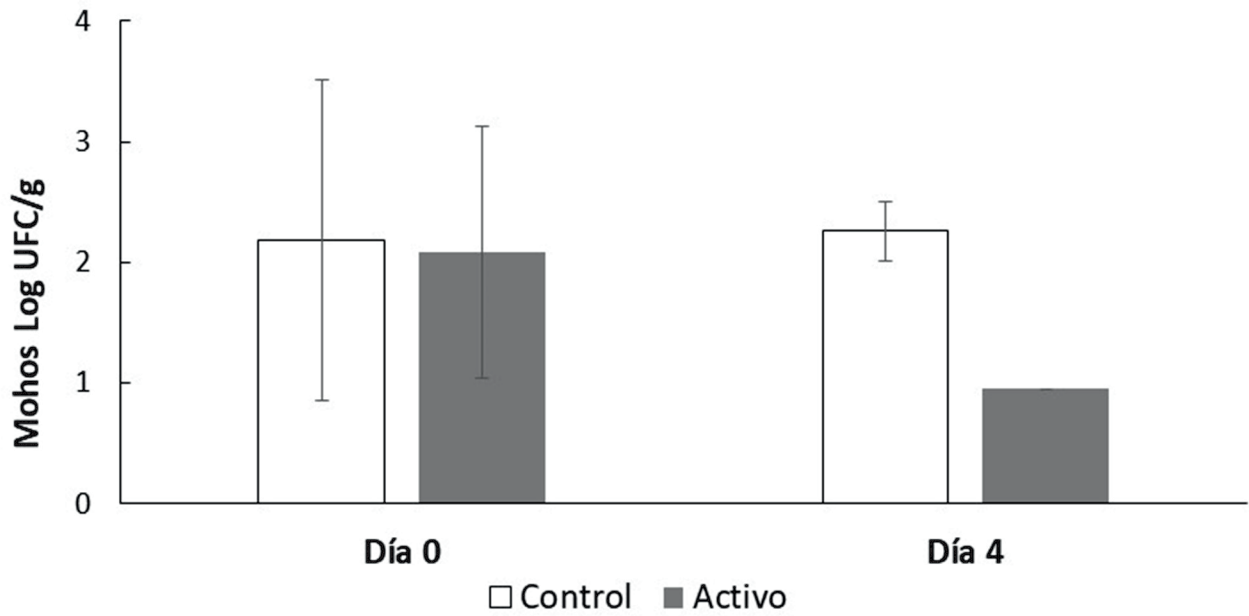


FIG. 6