

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 201**

51 Int. Cl.:

A23L 2/02 (2006.01)

A23L 2/44 (2006.01)

A23F 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07777250 .7**

96 Fecha de presentación: **23.05.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2034856**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.03.2009**

54 Título: **Composiciones de bebidas que comprenden un sistema conservante**

30 Prioridad:
26.05.2006 US 441220

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.04.2012

73 Titular/es:
**THE COCA-COLA COMPANY
ONE COCA-COLA PLAZA N.W.
ATLANTA, GA 30313, US**

72 Inventor/es:
SAFKO, Paula

74 Agente/Representante:
Linage González, Rafael

ES 2 379 201 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

Composiciones de bebidas que comprenden un sistema conservante

5 Esta solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de Patente de los EE. UU. N.º 11/441.220, presentada el 26 de mayo de 2006.

10 La presente invención se refiere a composiciones de bebidas que comprenden un sistema conservante que comprende ácido cinámico y al menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o ácido sórbico, y mezclas de estos; un componente de bebida que comprende un zumo; y agua; donde la composición presenta un pH que oscila entre aproximadamente 2.4 y aproximadamente 4.5, con la condición de que la composición no incluya polvos, extractos ni concentrados de té.

15 Hoy en día la degradación microbiana de las bebidas sigue siendo una preocupación reconocida en la industria de las bebidas. Las bebidas presentan diferentes grados de sensibilidad frente a la degradación microbiana, que dependen de factores intrínsecos de la bebida tales como el pH, contenido de nutrientes (p. ej., zumo, vitaminas o contenido de micronutrientes), nivel de carbonatación, Brix y calidad del agua (p. ej., alcalinidad y/o dureza). Los casos de degradación ocurren cuando los microorganismos son capaces de superar los factores intrínsecos de la bebida y crecer. La capacidad de los microorganismos para superar estas dificultades se puede ver influenciada, entre otras cosas, por el nivel inicial de contaminación, la temperatura, la integridad del envase final de la bebida frente a pérdidas de carbonatación, es decir, en el caso de bebidas no alcohólicas carbonatadas.

20 La degradación microbiológica puede proceder de una o más levaduras, bacterias y/o microorganismos de tipo moho. Por ejemplo, las levaduras y bacterias son capaces de degradar bebidas carbonatadas y no carbonatadas tales como bebidas de frutas, tés, cafés, aguas enriquecidas, etc. Habitualmente, la degradación debida a las levaduras se manifiesta en sí como una fermentación con producción de etanol y gas, así como sedimentación, malos olores y sabores y pérdida de la estabilidad de emulsión o de turbidez. Las bacterias tienen tendencia a producir malos olores y sabores con sedimentación asociada. Por otro lado, los mohos pueden sobrevivir, pero generalmente no son capaces de crecer en entornos con poco oxígeno y, por lo tanto, no degradan las bebidas no alcohólicas carbonatadas, excepto cuando la carbonatación ha disminuido. Sin embargo, la degradación debida a los mohos puede ocurrir en bebidas no carbonatadas y puede hacerse evidente tras el crecimiento micelial de los mohos mediante glóbulos flotantes, grumos o películas superficiales.

25 Aunque las levaduras, tales como *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida* y *Dekkera* spp., suelen ser las responsables de los casos de degradación de las bebidas comunes, las bacterias acidofílicas, tales como *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Gluconobacter* y *Zymomonas* spp., y los mohos, tales como *Penicillium* y *Aspergillus* spp., también pueden degradar las bebidas envasadas en frío. Las esporas de bacterias termofílicas acidofílicas, tales como *Alicyclobacillus* spp., y las esporas de mohos resistentes al calentamiento de *Bysochlamys* y *Neosartoria* spp. pueden sobrevivir la pasteurización y pueden degradar productos no carbonatados envasados en caliente tales como las bebidas deportivas y los tés. El agua envasada también puede desarrollar crecimiento de mohos.

30 La protección contra la degradación microbiológica de las bebidas se puede lograr empleando conservantes químicos y/o técnicas de procesamiento tales como el envasado en caliente, túnel de pasteurización, temperatura ultra elevada (UHT) o pasteurización seguida de envasado aséptico y/o pasteurización seguida de refrigeración de la bebida. Generalmente, las bebidas con un pH < 4.6 se pueden conservar químicamente, procesar con calentamiento e introducir en los envases de manera que el producto no se vuelva a contaminar. Por ejemplo, para conservar este tipo de bebidas, se pueden emplear técnicas de procesamiento tales como el envasado en frío seguido de la adición de conservantes químicos o la pasteurización con envasado en frío. De forma similar, esta misma bebida se puede procesar empleando técnicas no conservantes, tales como el envasado en caliente, túnel de pasteurización, pasteurización seguida de envasado aséptico, o incluso que requieran que la bebida se refrigere, es decir, en unas condiciones de refrigeración tras el paso de pasteurización. Las bebidas con un pH ≥ 4.6 se deben procesar de manera que las esporas se destruyan empleando temperaturas ultra elevadas seguidas de envasado aséptico o empleando una retorta.

35 Los sistemas conservantes actuales para las bebidas no alcohólicas ácidas, de larga duración, carbonatadas o no carbonatadas se basan en conservantes de tipo ácido débil (p. ej., ácido benzoico y/o sórbico). Los ácidos benzoico y sórbico (y sus sales) inhiben eficazmente las levaduras, bacterias y mohos, con algunas excepciones. En las bebidas, los ácidos débiles existen en equilibrio entre su forma disociada y su forma no disociada, que depende de la constante de disociación del ácido (pKa) y del pH de la bebida. El pKa del ácido benzoico es de 4.19 y el pKa del ácido sórbico es de 4.76. Un pH de la bebida inferior al pKa del ácido implicado desplaza el equilibrio hacia la forma no disociada. La forma no disociada es más eficaz contra los microorganismos y, por consiguiente, los conservantes de tipo ácido débil pueden ser más eficaces a pHs bajos. Las propiedades conservantes de los ácidos débiles se pueden mejorar añadiendo compuestos quelantes a la bebida. Por ejemplo, los compuestos quelantes habituales

que se añaden a las bebidas incluyen la sal disódica/cálcica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o uno o más de los polifosfatos, tal como el hexametáfosfato de sodio (SHMP). En productos no carbonatados con un elevado contenido de nutrientes, tales como las bebidas que contienen zumo, vitaminas y/o minerales, es más probable que los ácidos débiles ejerzan la inhibición cuando se emplean junto con potenciadores de los conservantes.

A modo de ejemplo, la Patente de los EE. UU. N.º 5.431.940 describe una bebida no carbonatada que contiene de 900 a 3000 ppm de un polifosfato, de 400 a 1000 ppm de un conservante seleccionado entre ácido sórbico, ácido benzoico, sales de metales alcalinos de estos, de un 0.1% a un 10% de zumo de frutas, y de un 80% a un 90% de agua. Esta bebida se puede almacenar a temperatura ambiente durante al menos 10 días sin obtener una proliferación microbiana sustancial en la bebida después de exponerla a microorganismos de degradación de bebidas.

Sin embargo, los sistemas conservantes de tipo ácido débil presentan limitaciones. Uno de los mayores problemas consiste en la adaptación genética y posterior resistencia de los microorganismos. Remítase a Piper, P. *et al.*, *Weak Acid Adaptation: The Stress Response that Confers Yeasts with Resistance to Organic Acid Food Preservatives*, 147 *Microbiol.* 2635-2642 (2001). Ciertas levaduras, tales como *Z. bailii*, *Z. bisporus*, *C. Krusei* y *S. Cerevisiae*, contienen genes específicos que les otorgan resistencia a los conservantes de tipo ácido débil y les permiten crecer, a pesar de la presencia de dichos conservantes y sin tener en cuenta la copresencia de EDTA o SHMP. También se cree que algunas bacterias, tales como *Gluconobacter* spp., son resistentes a los conservantes. Se ha demostrado que los niveles de ácidos débiles necesarios para contrarrestar esta resistencia están muy por encima de los límites reglamentarios para los niveles que se pueden emplear. En la mayoría de los casos, la degradación de tés, bebidas que contienen zumos y bebidas carbonatadas conservadas es debida a levaduras resistentes a los conservantes.

Además, los ácidos débiles pueden provocar quemazón en la boca y la garganta cuando se emplean niveles elevados. Aunque existen ciertas bebidas de larga duración en las que se puede aceptar esto, a menudo se considera que esta percepción sensorial es negativa. De forma similar, los polifosfatos pueden presentar algunas limitaciones. Por ejemplo, los polifosfatos pueden conferir mal sabor a una bebida. Además, los polifosfatos se pueden unir a minerales e inactivarlos, tales como el calcio, hierro y magnesio, que se pueden emplear para reforzar una bebida. Por lo tanto, se evita el uso de estos minerales cuando los polifosfatos forman parte del sistema conservante de una bebida o cuando constituyen el propio sistema conservante.

Además, las otras técnicas de procesamiento para bebidas con un contenido bajo de ácidos (es decir, un pH \geq 4.6) presentan limitaciones. Dichas bebidas con un contenido bajo de ácidos se deberían tratar térmicamente de forma tal que fuera suficiente para destruir las esporas de *Glostridium botulinum* y *Bacillus cereus*. Los ejemplos de dichos procesos incluyen UHT y la retorta. Incluso después de dichos procesamientos, las bebidas se deben manipular de manera que se evite la contaminación después del procesamiento. Sin embargo, los trabajos de investigación realizados sugieren que todavía puede haber varias cepas de microorganismos que sobrevivan estas técnicas de procesamiento diferentes. En este sentido, puede ser que estas técnicas de procesamiento no eliminen el potencial de degradación. Por consiguiente, sería deseable resolver al menos una de las limitaciones de la técnica mencionadas anteriormente.

El inventor de la presente ha descubierto que una composición de bebida que comprende al menos un componente de bebida seleccionado entre zumos, edulcorantes y mezclas de estos, agua y un sistema conservante que comprende ácido cinámico y al menos un ácido débil adicional seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o sórbico, y mezclas de estos puede ser útil para resolver al menos una de las limitaciones de la técnica mencionadas anteriormente. Por ejemplo, al eliminar los polifosfatos, las composiciones de bebidas de la presente invención reducen los malos sabores y permiten la adición de ingredientes nutritivos que no sería posible con los polifosfatos, a la vez que siguen manteniendo la estabilidad microbiana. Además, se pueden emplear niveles aceptables de ácido sórbico y/o benzoico combinados con ácido cinámico, lo que minimiza los malos sabores.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a una composición de bebida que comprende: un sistema conservante que comprende de 20 ppm a 400 ppm de ácido cinámico y de 100 ppm a 500 ppm de al menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o sórbico, y mezclas de estos; un componente de bebida que comprende un zumo; y de un 60% a un 99% de agua en peso con relación a la composición total, donde la composición presenta un pH que oscila entre 2.4 y 4.5, con la condición de que la composición no comprenda polvos, extractos ni concentrados de té.

En una realización, la composición de bebida comprende además de 10 ppm a 40 ppm de EDTA.

Se sobreentenderá que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada a continuación son solamente explicativas y a modo de ejemplo, y que no restringen la presente invención, según se reivindica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un gráfico de los valores enumerados en la Tabla 1 del Ejemplo 1.
 La Figura 2 es un gráfico de los valores enumerados en la Tabla 2 del Ejemplo 1.
 La Figura 3 es un gráfico de los valores enumerados en la Tabla 4 del Ejemplo 2.
 La Figura 4 es un gráfico de los valores enumerados en la Tabla 5 del Ejemplo 1.
 La Figura 5 es un gráfico de los valores enumerados en la Tabla 7 del Ejemplo 3.
 La Figura 6 es un gráfico de los valores enumerados en la Tabla 8 del Ejemplo 3.

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a una composición de bebida que comprende un sistema conservante que comprende ácido cinámico y al menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o ácido sórbico, y mezclas de estos; un componente de bebida que comprende un zumo; y agua; donde la composición presenta un pH que oscila entre aproximadamente 2.4 y 4.5, con la condición de que la composición no incluya polvos, extractos ni concentrados de té. El sistema conservante comprende cantidades antimicrobianas de ácido cinámico y al menos un ácido débil. Se ha descubierto de forma inesperada y sorprendente que la presente invención presenta estabilidad microbiana. La estabilidad microbiana se puede lograr mediante la combinación de los compuestos que comprenden el sistema conservante, el pH de la composición, el agua y dicho componente de bebida. Como resultado, las composiciones de bebidas de la presente invención no requieren la adición de polifosfatos, los cuales pueden añadir malos sabores, ni el uso de técnicas de procesamiento tales como el envasado aséptico, envasado en caliente, pasteurización con envasado en frío o túnel de pasteurización para mantener la estabilidad microbiana.

Según se emplea en la presente, la “estabilidad microbiana” o “estabilidad microbiológica” se refiere a una reducción de al menos 2.0 del log ufc/ml para microorganismos tales como levaduras y bacterias en un periodo de 14-28 días, en comparación con una bebida sin conservantes. Por lo que se refiere a los mohos, la expresión se evalúa a alrededor de 4 semanas o 30 días, para determinar la presencia o ausencia de expresión.

Según se emplea en la presente, el término “bebida” o “composición de bebida” se refiere a una bebida líquida adecuada para el consumo animal o humano. Se pueden mencionar bebidas, sin carácter limitante, como, por ejemplo, bebidas energéticas, agua con sabores, batidos de frutas, bebidas deportivas, zumos de frutas (p. ej., bebidas que son zumos y zumos de frutas puros, según se describe en 21 C. F. R. Parte 101.30), soda/zumos carbonatados, batidos, bebidas proteicas (p. ej., lácteos, soja, arroz y demás), sustitutivos de comida, yogures lácteos líquidos, yogures de soja líquidos, cafés, bebidas de cola, agua reforzada, bebidas con un contenido bajo de ácidos, según se define en 21 C. F. R. Parte 113, bebidas acidificadas, según se define en 21 C. F. R. Parte 114, jarabes, bebidas medicinales, productos diluibles tales como zumos concentrados, bebidas dietéticas, bebidas funcionales (p. ej., bebidas nutraceuticas), néctares, tónicas, horchata (es decir, componentes del arroz y/o vegetales convertidos en bebida), bebidas carbonatadas congeladas y bebidas no carbonatadas congeladas, con la condición de que se excluyan las bebidas de tipo té preparadas a partir de polvos, extractos o concentrados de té.

Sistema conservante

De acuerdo con la presente invención, el sistema conservante comprende ácido cinámico y al menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o sórbico, y mezclas de estos. El sistema conservante comprende de 20 ppm a 400 ppm de ácido cinámico y al menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o sórbico, y mezclas de estos.

Existe constancia de que cada uno de los componentes del sistema conservante actúa como conservante de manera individual, del mismo modo que lo hace el mecanismo mediante el cual cada conservante inhibe el crecimiento microbiano. Sin embargo, el inventor de la presente ha descubierto que estos conservantes particulares combinados con los niveles de estos conservantes y otros parámetros pueden alcanzar y mantener una estabilidad microbiana, y pueden mantener el sabor de la composición de bebida, para obtener una bebida estable desde el punto de vista microbiológico en condiciones ambientales.

Por ejemplo, el ácido cinámico, o ácido 3-fenil-2-propenoico, es un ácido cristalino blanco procedente de la canela o de bálsamos tales como el estoraque, o bien se puede preparar sintéticamente. El ácido cinámico se emplea habitualmente como aditivo alimentario y existe constancia de que posee actividad antimicrobiana como ácido débil. Debido a su relación con la canela, el ácido cinámico tiene tendencia a conferir una nota de sabor a madera o especia cuando se añade a una composición de bebida. Unos niveles bajos de ácido cinámico, tales como de aproximadamente 10 ppm, confieren dicho sabor y unos niveles más elevados, tales como de aproximadamente 30 ppm, confieren un sabor incluso más intenso. Remítase, p. ej., a la Patente de los EE. UU. N.º 6.599.548. Este sabor intenso puede enmascarar los malos sabores de otros ingredientes tales como otros conservantes, pero también

puede enmascarar otros sabores deseables. Por lo tanto, el ácido cinámico se suele encontrar en bebidas de tipo té, ya que complementa el sabor natural de las bebidas basadas en té, pero no existe constancia de su uso en otras composiciones que no sean tés, debido a su sabor.

5 El documento WO01/87095 describe bebidas de tipo té y bebidas no alcohólicas sintéticas que contienen de 1 a 175 ppm de ácido cinámico, de 10 a 200 ppm de ácido sórbico o ácido benzoico y al menos un aceite esencial.

10 El artículo *Journal of Food Sciences*, vol. 69, n.º 4, 2004, páginas FSM102-FSM106, Ceylan *et al.* describe una mezcla sinérgica de canela y benzoato de sodio o sorbato de potasio para controlar la actividad microbiana en el zumo de manzana.

15 Según se emplea en la presente, la expresión “ácido cinámico” se refiere al ácido cinámico natural y al preparado sintéticamente, a los isómeros del ácido cinámico, a sus sales y sus derivados. Por ejemplo, en la industria alimentaria existen varios derivados del ácido cinámico, tales como el ácido hidroxicinámico, aldehído cinámico, *p*-dimetilaminocinamato, acetato de cinamilo, alcohol cinámico, benzoato de cinamilo, cinamato de cinamilo, formiato de cinamilo, isobutirato de cinamilo, isovalerato de cinamilo y fenilacetato de cinamilo. Además, existe constancia en la materia de que otros compuestos polifenólicos, tales como el ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido cumárico, ácido sinápico, ácido siríntrico, ácido gálico, ácido clorogénico, ácido vanílico, ácido hidroxibenzoico, ácido elágico, sus sales y sus derivados, son equivalentes al ácido cinámico. En al menos una realización, el sistema conservante
20 comprende ácido cinámico racémico, es decir, los isómeros *cis* y *trans*.

25 Al tener un pKa de aproximadamente 4.44, el ácido cinámico se encuentra generalmente en su forma no disociada en una bebida que tenga un pH comprendido entre 2.4 y 4.5; esta forma suele ser más eficaz contra los microorganismos. El ácido cinámico del sistema conservante está presente en una cantidad que oscila entre 20 ppm y 400 ppm. Por ejemplo, el ácido cinámico puede estar presente en una cantidad que oscila entre 50 ppm y 300 ppm y, como ejemplo adicional, entre 100 ppm y 200 ppm. En al menos una realización, el ácido cinámico puede estar presente en el sistema conservante en una cantidad comprendida entre 50 ppm y 225 ppm. Aunque el ácido cinámico confiere ciertos sabores a las composiciones de bebidas en estos niveles mencionados, el inventor de la presente ha descubierto sorprendentemente que, cuando se combina con los demás componentes de la presente
30 invención, dicho impacto es mínimo y no se percibe negativamente.

35 Además del componente de ácido cinámico del sistema conservante, también se incluye al menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido benzoico y/o sórbico, tales como potasio, calcio y sodio, y mezclas de estos. Existe constancia de que los ácidos débiles, tales como el ácido benzoico y sórbico, del mismo modo que el ácido cinámico, son aditivos alimentarios y agentes antimicrobianos.

40 Dicho ácido débil está presente en la composición de la presente invención en una cantidad que oscila entre 100 ppm y 500 ppm, dependiendo de si se emplea un ácido débil solo o combinado. Por ejemplo, cuando se emplea una combinación de ácido benzoico y ácido sórbico, estos pueden estar presentes en la bebida en una cantidad que oscila entre 100 ppm y 500 ppm y, como ejemplo adicional, entre 150 ppm y 350 ppm. Como alternativa, cuando dicho ácido débil es ácido benzoico o ácido sórbico solo, el ácido débil puede estar presente en la bebida en una cantidad que oscila entre 125 ppm y 500 ppm. En al menos una realización, dicho ácido débil es ácido sórbico o una de sus sales en una cantidad que oscila entre 200 ppm y 450 ppm.

45 Agua

50 De acuerdo con la presente invención, la composición comprende agua. El agua puede ser “agua tratada”, “agua purificada”, “agua desmineralizada” y/o “agua destilada”. El agua debe ser adecuada para el consumo humano y la composición no se debe ver afectada de forma perjudicial o sustancialmente perjudicial por la inclusión del agua. Este agua añadida a la composición se considera a parte del agua contenida en o con otros componentes de la presente invención, p. ej., el o los componentes de zumo.

55 El agua de la presente invención está presente en una cantidad que oscila entre un 60% y un 99% y, como ejemplo adicional, entre un 80% y un 99% en peso con relación a la composición total. El componente de agua añadida también debe cumplir con ciertos estándares de calidad tales como criterios biológicos, de nutrientes y sedimentos.

60 La dureza del agua del componente de agua añadida puede oscilar entre 55 ppm y 250 ppm, como entre 60 ppm y 180 ppm. La dureza del agua se refiere a la cantidad de cationes, p. ej., carbonato de calcio, presentes en el agua. Según se proporciona en la presente invención, la dureza del agua se determina de acuerdo con los estándares de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC), descritos en los Métodos Oficiales de Análisis, publicados por la AOAC (William Horwitz, 18.^a ed. 2005), cuyos contenidos relevantes se incorporan a la presente a modo de referencia.

Componente de bebida

La composición de bebida de la presente invención comprende un componente de bebida que comprende un zumo. El componente de bebida puede comprender además un edulcorante.

5 Por ejemplo, el zumo y el edulcorante opcional pueden proporcionar a la composición de la presente invención características beneficiosas tales como sabor y nutrientes. Aunque el zumo y el edulcorante confieren propiedades beneficiosas a las composiciones, cada uno de ellos también puede representar una fuente alimentaria para los microorganismos que hayan infectado la composición. Como resultado, el uso de la presente invención proporciona la incorporación del zumo y edulcorante sin comprometer la estabilidad microbiana.

10 El componente de zumo puede proceder, sin carácter limitante, de frutas cítricas y no cítricas, verduras, productos botánicos o mezclas de estos. Entre las frutas cítricas y no cítricas, se pueden mencionar, sin carácter limitante, melocotones, nectarinas, peras, membrillos, cerezas, albaricoques, manzanas, ciruelas, higos, kiwis, clementinas, quinotos, minneolas, mandarinas, naranjas, satsumas, tangerinas, tangelos, limones, limas, pomelos, bananas, aguacates, dátiles, jobos, mangos, grosellas blancas, carambolas, caquis, guayabas, frutas de la pasión, papayas, granadas, higos chumbos, arándanos, moras, frambuesas, uvas, bayas del saúco, melones cantalupos, piñas, sandías, pasas, fresas, arándanos rojos y mezclas de estos.

20 Entre las verduras, se pueden mencionar, sin carácter limitante, zanahorias, tomates, espinacas, pimientos, coles, coles de Bruselas, brócoli, patatas, apio, anís, pepinillos, perejil, remolachas, pasto de trigo, espárragos, calabacines, ruibarbo, nabo, colinabo, chirivías, rábanos y mezclas de estos.

25 Se pueden emplear zumos botánicos y se suelen obtener a partir de, por ejemplo, sin carácter limitante, alubias, frutos secos, cortezas, hojas y raíces de una planta, es decir, cualquier cosa que no sea el fruto de la planta. Por ejemplo, los zumos botánicos pueden conferir sabores tales como vainilla, café, cola, cacao y mezclas de estos, con la excepción de té sólido (p. ej., polvos, extractos o concentrados de té). Estos sabores se pueden obtener de forma natural o sintéticamente.

30 El o los zumos pueden estar presentes en la composición de bebida de la presente invención en una cantidad comprendida entre un 0.1% y un 50% en peso con relación a la composición total. Por ejemplo, el o los zumos pueden estar presentes en una cantidad que oscila entre un 0.5% y un 25% y, como ejemplo adicional, entre un 1% y un 10% en peso con relación a la composición total.

35 El o los edulcorantes se pueden seleccionar entre edulcorantes nutritivos, edulcorantes no nutritivos y mezclas de estos. El o los edulcorantes pueden ser naturales, artificiales o mezclas de estos. Entre los edulcorantes nutritivos (es decir, calóricos), las composiciones de la presente pueden incluir, por ejemplo, edulcorantes carbohidratados tales como monosacáridos y/o disacáridos. Entre los edulcorantes calóricos, se pueden mencionar, sin carácter limitante, fructosa, sacarosa, glucosa, alcoholes de azúcares, jarabe de maíz, zumo de caña de azúcar evaporado, jarabes de arroz, jarabe de arce, jarabes de malta negra, concentrado de zumo de fruta, miel, agave, jarabe de tapioca, jarabe de raíces de endivia y mezclas de estos. Los edulcorantes no nutritivos pueden incluir, sin carácter limitante, luo han guo, stevia y derivados de estos, eritritol, acesulfama de potasio, aspartamo, neotame, sacarina, sucralosa, tagatosa, alitame, ciclamato y mezclas de estos. En la presente se contemplan mezclas de edulcorantes nutritivos y no nutritivos. El o los edulcorantes pueden estar presentes en una cantidad empleada convencionalmente en composiciones de bebidas y se pueden ajustar dependiendo de la composición de bebida deseada.

pH

50 Las composiciones de la presente invención, p. ej., las bebidas, presentan un pH que oscila entre 2.4 y 4.5. Existe constancia en la materia de que el pH de una bebida puede ser un factor importante a la hora de conservar una bebida de larga duración, ya que el crecimiento de algunos microorganismos se puede ver impedido en condiciones ácidas. Sin embargo, este no es el caso para ciertos microorganismos tales como *Saccharomyces* y *Candida*, los cuales crecen en un entorno tan ácido. El uso de la presente invención hace posible que la composición mantenga la estabilidad microbiana incluso frente a estos microorganismos.

60 Además, las composiciones de la presente invención pueden comprender frutas y verduras que proporcionan sabores muy ácidos y agrios. Generalmente, una bebida que contiene al menos un carbohidrato en una cantidad que oscila entre un 0% y un 15% en peso con relación a la composición total, y al menos un ácido que oscila entre un 0% y un 0.7% en peso con relación a la composición total, puede contrarrestar dichos sabores ácidos y agrios. Puede ser que este intervalo sea adecuado no solo para bebidas, sino también para jarabes cuando se diluyen adecuadamente para obtener una bebida de concentración natural.

Para una bebida ácida (pH < 4.6), se puede ajustar la acidez de la bebida y mantenerla dentro del intervalo

mencionado empleando métodos convencionales y de uso común en la materia. Por ejemplo, se puede ajustar el pH empleando un acidulante o más acidulantes. Además, el uso de acidulantes puede facilitar la inhibición microbiana, a la vez que mantiene el pH de la bebida. Sin embargo, las composiciones de la presente invención pueden presentar un pH deseable de forma inherente, sin el uso de ningún acidulante ni otros componentes para modificar el pH. De este modo, la incorporación de al menos un acidulante es opcional en las composiciones de la presente invención.

Entre los posibles acidulantes, se pueden mencionar, sin carácter limitante, ácidos orgánicos e inorgánicos para emplear con el fin de ajustar el pH de una composición de la presente invención tal como una bebida. Los acidulantes también pueden estar en su forma no disociada o en su forma salina respectiva tal como las sales de potasio, sodio o clorhidrato. Los acidulantes empleados en la presente composición pueden ser, sin carácter limitante, los siguientes: ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido málico, ácido benzoico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido adípico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido propiónico, ácido sórbico o mezclas de estos. En una realización, el acidulante es el ácido cítrico.

Además, las cantidades del o de los acidulantes que pueden estar presentes en la composición de acuerdo con la presente descripción son las empleadas convencionalmente en las composiciones de bebidas. Por ejemplo, puede haber al menos un acidulante en una cantidad que oscila entre un 0% y un 1% en peso con relación a la composición.

Componentes opcionales

Las composiciones de la presente invención pueden comprender además componentes opcionales, que se encuentran habitualmente en bebidas convencionales. Dichos componentes opcionales se pueden dispersar, solubilizar o mezclar en o con la composición de la presente invención. Por ejemplo, se pueden mencionar bebidas convencionales, tales como, sin carácter limitante, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), conservantes adicionales, agentes colorantes, agentes saborizantes, flavonoides, vitaminas, minerales, proteínas, emulsionantes, componentes de carbonatación, espesantes, es decir, modificadores de la viscosidad y agentes que dan cuerpo, antioxidantes, agentes antiespumantes y mezclas de estos.

EDTA

El sistema conservante también puede comprender ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Según se emplea en la presente, el "EDTA" se refiere al EDTA natural y al preparado sintéticamente y a sus sales, tales como la sal cálcica/disódica del ácido etilendiaminotetraacético o la sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético. El EDTA es un agente quelante que ha sido admitido por la FDA como generalmente reconocido como seguro (GRAS) y se puede emplear como aditivo alimentario. Remítase a 21 C.F.R. secciones 172.0135 y 173.315. Debido a su estructura química, el EDTA puede, entre otras cosas, secuestrar metales y estabilizar vitaminas. Se ha postulado que, al secuestrar metales, el EDTA elimina estos metales que son necesarios para las enzimas de los microorganismos y esencialmente privan de comida a los microorganismos.

El EDTA puede estar presente en la composición de la presente invención en una cantidad que oscila entre 10 ppm y 40 ppm, tal como entre 10 ppm y 30 ppm y, como ejemplo adicional, entre 15 ppm y 25 ppm. En al menos una realización, el EDTA está presente en la composición de bebida en una cantidad que oscila entre 15 ppm y 30 ppm.

Conservantes adicionales

La composición de la presente invención puede comprender además al menos un conservante adicional, además del sistema conservante. Según se emplea en la presente, el término "conservante" incluye todos los conservantes aprobados para ser utilizados en composiciones de productos alimentarios y/o de bebidas, con la condición de que dicho conservante adicional no puede ser un polifosfato tal como el hexametáfosfato de sodio. Entre los conservantes adicionales, se pueden mencionar, sin carácter limitante, conservantes químicos (p. ej., citratos y sus sales), ácidos grasos libres, ésteres y sus derivados, péptidos, arginato láurico, dextrosa cultivada, aceite de nim, eugenol, *p*-cimeno, timol, carvacrol, linalool, natamicina, aceite del árbol del té, extracto de *Boersenbergia rotunda*, asaí en polvo, isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo y/o aceite esencial de semillas de mostaza blanca, ácido ferúlico y mezclas de estos. Además, los conservantes adicionales pueden incluir, sin carácter limitante, agentes lacto-antimicrobinaos tales como lactoferrina, lactoperoxidasa, lactoglobulinas y lactolípidos, agentes ovo-antimicrobinaos tales como lisozima, ovotransferrina, ovoglobulina IgY y avidina, agentes fito-antimicrobianos tales como fitofenoles, flavonoides, tiosulfatos, catequinas, glucosinolatos y agar, agentes bacto-antimicrobianos tales como probióticos, nisina, pediocina, reuterina y sakacinas, agentes antimicrobianos ácidos tales como el ácido láctico, ácido acético y ácido nítrico, agentes antimicrobianos del medio tales como cloruro de sodio, polifosfatos, clorocidas y ozono. Dicho conservante adicional puede estar presente en una cantidad que no exceda los niveles máximos permitidos, según establece la Administración de Fármacos y Alimentos de los EE. UU. u otros órganos rectores de bebidas y alimentos.

Agentes colorantes

5 Las composiciones de la presente invención pueden comprender además al menos un agente colorante. Entre los colorantes, se pueden mencionar, sin carácter limitante, los tintes de FD&C, tintes lago de FD&C y mezclas de estos. Se puede emplear cualquier otro colorante utilizado en bebidas y/o productos alimentarios. Por ejemplo, se puede emplear una mezcla de tintes de FD&C o un tinte lago de FD&C combinado con otros colorantes convencionales de bebidas y/o alimentos. Además, se pueden emplear otros agentes colorantes naturales, que incluyen, por ejemplo, extractos de frutas, verduras y/o plantas tales como uva, grosella negra, zanahoria, remolacha, col lombarda e hibiscos.

Agentes saborizantes

15 La presente composición puede comprender además al menos un agente saborizante, donde dicho agente saborizante excluye el té en polvo. Dicho agente saborizante puede incluir, sin carácter limitante, aceites, extractos, resinas oleosas, cualquier otro agente saborizante conocido en la materia y mezclas de estos. Por ejemplo, los sabores adecuados incluyen, sin carácter limitante, sabores de frutas, sabores de cola, sabores de café, sabores de chocolate, sabores lácteos, café, nuez de cola, ginseng, fruto de cacao y mezclas de estos. Los aceites y extractos adecuados pueden incluir, sin carácter limitante, el extracto de vainilla, extracto y aceite cítrico y mezclas de estos.

20 Estos sabores se pueden obtener a partir de fuentes naturales tales como zumos, extractos y aceites esenciales, o se pueden preparar sintéticamente. Además, dicho agente saborizante puede ser una mezcla de varios sabores tales como frutas y/o verduras, que excluyen el té sólido (p. ej., polvos, extractos o concentrados de té).

Flavonoides

25 La presente invención puede comprender opcionalmente al menos un flavonoide, que consiste en una sustancia natural que pertenece a una clase de metabolitos vegetales secundarios. Existe constancia de que los flavonoides poseen actividad antioxidante, antimicrobiana y anticancerígena. Los flavonoides se pueden encontrar en plantas, verduras, frutas, flores y cualquier otra fuente natural conocida por los expertos en la materia. Los flavonoides se pueden obtener a partir de estas fuentes mediante métodos convencionales conocidos en la materia. La obtención no se limita a una única fuente de flavonoides, sino que también puede incluir una mezcla de fuentes, tal como la extracción a partir de una única verdura o una mezcla de verduras. Además, los flavonoides se pueden preparar sintéticamente o mediante otro método químico adecuado e incorporar a la composición de la presente. Se pueden mencionar flavonoides tales como, sin carácter limitante, quercetina, kaempferol, miricetina, isohammetina, catequina y derivados o mezclas de estos.

Vitaminas y minerales

40 De acuerdo con la presente invención, se puede incorporar al menos una vitamina y/o mineral complementarios a las composiciones de la presente invención. De forma similar al o a los componentes de zumo, la(s) vitamina(s) y/o mineral(es) también pueden actuar como una fuente de alimento para los microorganismos. Tradicionalmente, las vitaminas y minerales, tales como calcio, hierro y magnesio, no se podían añadir como reforzantes a una composición de bebida porque los conservantes, tales como los polifosfatos, se unían a ellos e inactivaban la vitamina y/o mineral. Esto se puede evitar con las composiciones de bebidas de la presente invención.

45 Entre las vitaminas, se pueden mencionar, sin carácter limitante, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, cobalaminas, bitartrato de colina, niacinamida, tiamina, ácido fólico, D-pantotenato de calcio, biotina, vitamina A, vitamina C, una o más vitaminas del complejo B, tales como el clorhidrato de vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₃, clorhidrato de vitamina B₆ y vitamina B₁₂, vitamina D, acetato de vitamina E, vitamina K y derivados y mezclas de estas. Entre los minerales, se pueden mencionar, sin carácter limitante, calcio, zinc, hierro, magnesio, manganeso, cobre, yodo, fluoruro, selenio y mezclas de estos. Las vitaminas y minerales sintéticos también se contemplan en el alcance de las composiciones de la presente invención. La adición de vitaminas y minerales opcionales se debe llevar a cabo cuidadosamente, de manera que el sabor de la composición de la presente no se vea significativamente perjudicado. Dichas vitaminas y/o minerales complementarios también se pueden añadir para facilitar que el consumidor cumpla con la ingesta diaria recomendada (RDI) en los EE. UU. de vitaminas y minerales.

Proteína

60 Además, las composiciones de la presente invención pueden comprender adicionalmente al menos un componente proteico, p. ej., un extracto proteico de soja. Dicho componente proteico puede proceder, por ejemplo, pero sin carácter limitante, de proteínas lácteas tales como caseína (caseinato), proteínas del lactosuero, claras de huevo, gelatina, colágeno y mezclas de estos.

Emulsionante

La presente invención comprende opcionalmente al menos un emulsionante. Para estabilizar una emulsión, se puede emplear cualquier emulsionante de uso alimentario y/o de uso en bebidas. Se pueden mencionar emulsionantes tales como, sin carácter limitante, goma acacia, almidones alimentarios modificados (p. ej., almidones alimentarios modificados con alquenilsuccinato), polímeros aniónicos derivados de la celulosa (p. ej., carboximetilcelulosa), goma ghatti, goma ghatti modificada, goma xantana, éster glicérico de la colofonia de madera (goma de éster), goma tragacanto, goma guar, goma garrofin, pectina, lecitina y mezclas de estos. Por ejemplo, una bebida puede comprender una emulsión turbia o una emulsión de sabor.

Para las emulsiones turbias, el agente que proporciona turbidez puede comprender al menos una grasa o un aceite estabilizado como una emulsión de aceite en agua empleando un emulsionante de uso alimentario adecuado. Se pueden emplear diferentes grasas o aceites como agentes que proporcionan turbidez, siempre que la grasa o aceite sea adecuado para emplear en composiciones tales como bebidas. Se puede emplear cualquier emulsionante adecuado de uso alimentario y/o de uso en bebidas que pueda estabilizar el agente que proporciona turbidez, el cual es una grasa o aceite, como una emulsión de aceite en agua.

Las emulsiones de sabores útiles en las composiciones, p. ej., las bebidas, de la presente invención comprenden al menos un aceite, extracto, oleoresina, aceite esencial de sabores adecuados y análogos, conocidos en la materia por su uso como saborizantes en bebidas.

Carbonatación

De acuerdo con la presente invención, se puede añadir carbonatación (p. ej., dióxido de carbono) adicional basándose en técnicas de uso común para los expertos en la materia. Por ejemplo, se puede añadir dióxido de carbono al agua introducida en la bebida o al concentrado de la bebida. La cantidad de carbonatación introducida en las composiciones de la presente invención dependerá de la naturaleza de la bebida y del nivel deseado de carbonatación.

Espesantes

Las composiciones de la presente invención pueden comprender opcionalmente al menos un espesante. Entre los espesantes, se pueden mencionar, p. ej., modificadores de la viscosidad y/o agentes que dan cuerpo, tales como, sin carácter limitante, compuestos de celulosa, goma ghatti, goma ghatti modificada, goma guar, goma tragacanto, goma arábica, pectina, goma xantana, carragenano, goma garrofin, pectina, lecitina y mezclas de estos.

Antioxidantes

Las composiciones de la presente invención pueden comprender además al menos un antioxidante. Dicho antioxidante puede incluir, sin carácter limitante, ácido ascórbico, goma guar; sales de metabisulfito, sulfito y propilgalato; ácido tiodipropiónico y ésteres de este; extractos de especias; semillas de uvas; extractos de té; y mezclas de estos.

Aminoácidos

De acuerdo con la presente invención, las composiciones de la presente invención pueden comprender además al menos un aminoácido. Dicho aminoácido puede incluir, sin carácter limitante, alanina, arginina, asparagina, cisteína, glutamina, glicina, histidina, leucina, lisina, metionina, ornitina, prolina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina y mezclas de estos.

Agentes antiespumantes

La presente invención puede comprender además al menos un agente antiespumante. Dicho agente antiespumante puede incluir, sin carácter limitante, alginato de calcio, polímeros de silicona tales como polidimetilsiloxano, y ésteres de ácidos grasos tales como ésteres de ácidos grasos y propilenglicol, ésteres de ácidos grasos y glicerina, ésteres de ácidos grasos y sorbitán, y mezclas de estos.

Las cantidades de estos componentes adicionales mencionados anteriormente, los cuales pueden estar presentes en las composiciones de acuerdo con la invención, son las empleadas convencionalmente en las composiciones de bebidas. Además, la cantidad de estos componentes adicionales dependerá de las composiciones de bebidas deseadas.

Preparación

Las composiciones de bebidas de la presente se pueden preparar de acuerdo con métodos de uso común para los expertos en la industria de las bebidas. Por ejemplo, la composición de bebida se puede preparar dispersando, disolviendo, difundiendo o mezclando todos los ingredientes simultáneamente o añadiendo los ingredientes secuencialmente en función de la solubilidad o cualquier otro parámetro con adición de agua, cuando sea necesario. Esto se puede llevar a cabo con un agitador mecánico o mediante técnicas de homogeneización de uso común en la materia. Además, la composición de la presente invención se puede transformar en un concentrado de bebida seco o líquido.

Evaluación microbiana

Las composiciones de la presente invención se pueden evaluar para determinar la estabilidad microbiana, basándose en técnicas conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, una manera de determinar la estabilidad microbiana consiste en sembrar una matriz de bebida de la presente invención para su evaluación con un grupo de microorganismos tales como mohos, levaduras y bacterias. Estos microorganismos pueden ser los identificados previamente en las bebidas como causantes de problemas de degradación, tales como los mencionados más adelante en los Ejemplos o cualquier otro tipo de levadura, moho, bacteria y/o mezclas de estos. Una vez que se ha sembrado el medio, se pueden realizar recuentos periódicos de la placa para determinar el crecimiento de los microorganismos. Basándose en los recuentos de la placa, se puede determinar el grado de crecimiento de los microorganismos en la composición sembrada, por ejemplo, la bebida. Los inventores de la presente emplearon métodos estándar de enumeración en microbiología de bebidas y alimentos, por ejemplo, tales como los descritos en Ito & Pouch-Downes, *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (4.^a ed. Amer. Pub. Health Assoc. 2001) y los descritos en Notermans *et al.*, *A User's Guide to Microbiological Challenge Testing for Ensuring the Safety and Stability of Food Products*, 10 *Food Microbiology* 145-57 (1993), cuyos contenidos se incorporan a la presente a modo de referencia.

Además, también se puede emplear la citometría de flujo para determinar el crecimiento de los microorganismos. Remítase a Jay, J. M., *Modern Food Microbiology* (Aspen Publishers, Inc., 2000). La citometría de flujo se basa en los principios de dispersión de la luz, excitación y emisión de luz de fluorocromos para identificar y contar los microorganismos. Por ejemplo, se inyecta una muestra de la composición sembrada en el centro de una corriente envolvente. Cuando el microorganismo intercepta la fuente luminosa, dispersa la luz y los fluorocromos se excitan a un estado de energía superior. El estado de energía superior se relaja emitiendo un fotón de luz con propiedades específicas. La luz se convierte esencialmente en pulsos eléctricos que se transmiten a continuación a un formato de lectura fácil tal como un gráfico de recuento celular variable.

Otras realizaciones de la invención resultarán evidentes para los expertos en la materia a partir de la consideración de la descripción y la práctica de la invención descritas en la presente. Se pretende que la descripción y los ejemplos se consideren solamente a modo de ejemplo, y el alcance y la naturaleza reales de la invención se indican en las reivindicaciones más adelante.

Excepto en los ejemplos de aplicación o cuando se especifique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción y demás empleados en la descripción y las reivindicaciones se deben interpretar como si estuvieran modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". Por consiguiente, a menos que se especifique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en esta descripción y en las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretenden obtener con la presente descripción. Por último, en las reivindicaciones cada parámetro numérico se debe interpretar teniendo en cuenta el número de dígitos significativos y las aproximaciones de redondeo ordinarias.

A pesar de que los intervalos y parámetros numéricos que definen el amplio alcance de la presente descripción son aproximaciones, los valores numéricos definidos en los ejemplos específicos se describen de la forma más precisa posible. Sin embargo, todos los valores numéricos contienen inherentemente ciertos errores que provienen necesariamente de la desviación estándar determinada en sus medidas de evaluación respectivas.

EJEMPLOS

El siguiente ejemplo incluye realizaciones de composiciones de bebidas que comprenden la presente invención. Estas composiciones se prepararon y se evaluaron para determinar la estabilidad microbiana, es decir, la inhibición y/o reducción del crecimiento microbiano y/o la muerte de los microorganismos cuando se sembraron con varios microorganismos.

Se considera que los siguientes ejemplos son realizaciones de la presente invención y de ninguna manera se deben interpretar como limitaciones de la presente invención.

Para examinar la estabilidad microbiana de las composiciones de bebidas consideradas dentro de la presente invención, se emplearon los siguientes organismos para preparar los diferentes inóculos de levaduras, bacterias y mohos:

Tipo de microorganismo	Cepa
Levadura	<i>Saccharomyces</i> spp.
	<i>Zygosaccharomyces</i> spp.
	<i>Candida</i> spp.
	<i>Rodotorula</i> spp.
Bacteria	<i>Lactobacillus</i> spp.
	<i>Leuconostoc</i> spp.
	<i>Gluconobacter</i> spp.
Moho	<i>Byssochlamys</i> spp.
	<i>Penicillium</i> spp.
	<i>Paecilomyces</i> spp.

5 Los ejemplos que se describen a continuación emplearon al menos uno de los microorganismos mencionados anteriormente y en algunos casos tres o más de estos con el fin de preparar un cóctel para el análisis. El inóculo para cada tipo de microorganismo se preparó como se indica a continuación:

10 Inóculo bacteriano y de levadura:

Se preparó un cultivo compuesto de microorganismos colocando un bucle lleno de cada tipo de microorganismo en un medio de inóculo estéril. El medio se incubó a temperatura ambiente durante aproximadamente 72 horas para permitir que los microorganismos crecieran. Los microorganismos se cultivaron en placas y se contaron para determinar los niveles de ufc/ml. Un cultivo bacteriano o de levadura sano puede presentar aproximadamente 1×10^7 ufc/ml.

Inóculo de moho:

20 Se sembraron en un punto con cada de tipo de moho cápsulas de Petri que contenían agar suero de naranja. Las placas se incubaron durante aproximadamente dos semanas. Las esporas se retiraron de las placas mediante un lavado y se volvieron a suspender en un tampón de fosfato. La población de esporas se contó esparciéndola en la placa de cultivo con agar suero de naranja. Las placas se incubaron a 25 °C durante de aproximadamente 3 a 5 días.

25 **EJEMPLO 1**

Se formuló una matriz de bebida no carbonatada. La formulación de bebida no carbonatada y los detalles del procesamiento se proporcionan a continuación.

30 Se preparó una matriz de bebida no carbonatada. La matriz de bebida no carbonatada incluía:

<u>Ingredientes</u>	<u>Cantidad</u>
Saborizante	0.114% (v/v)
Colorante	0.005% (v/v)
Edulcorante	10.9% (v/v)
Agente que proporciona turbidez	0.0016% (v/v)
Agua	cantidad suficiente

35 Se examinaron los siguientes sistemas conservantes con la matriz de bebida anterior:

Composición de bebida	Ácido sórbico (ppm)	Ácido benzoico (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	% de zumo	% de calcio	pH	Brix	Ácido
Control	0	0	0	10	0	3.17	11.85	0.31
A	250	150	50	10	0	3.17	11.85	0.31
B	150	200	50	10	0	3.17	11.85	0.31
C	250	150	125	10	10	3.71	11.79	0.29
D	150	250	125	10	10	3.71	11.79	0.29
E	150	200	125	10	10	3.71	11.79	0.29

Se mezcló la matriz de bebida. A continuación, se dividió para incorporar el sistema conservante designado, es decir, el Control y desde A hasta E, y se pasteurizó a 97 °C durante aproximadamente 20 segundos. Se rellenaron botellas con la matriz de bebida, se taparon y se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente, es decir, aproximadamente 25 °C. La matriz de bebida se almacenó a aproximadamente 4 °C hasta su uso. A continuación, se prepararon los cultivos de los microorganismos de acuerdo con los protocolos enumerados anteriormente. Las botellas de bebidas con y sin conservantes se sembraron con microorganismos (se prepararon botellas por duplicado para cada cepa), es decir, 1×10^4 ufc/ml de levaduras, bacterias y mohos. Las botellas se agitaron aproximadamente 25 veces. Se tomó una muestra inicial de cada envase para representar el tiempo 0. Los microorganismos se incubaron en las botellas sembradas a 25 °C. En los intervalos de tiempo designados, las muestras de cada envase se esparcieron en placas de cultivo, agitando las botellas justo antes de tomar las muestras.

Las Tablas 1-3 resumen los resultados y las composiciones de bebidas examinadas. En las tablas siguientes, un valor de 0.50 representa un nivel indetectable de microorganismos en la composición de bebida. La Figura 1 ilustra gráficamente los resultados de la Tabla 1 y la Figura 2 ilustra gráficamente los resultados de la Tabla 2.

TABLA 1: Análisis de las bacterias (media de ufc/ml) en las composiciones de bebidas a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida					
	Control	A	B	C	D	E
0 horas	1300	1300	810	680	1200	580
48 horas	590	100	270	100	85	47
1 semana	42, 100	3.00	26	21	11	3.00
2 semanas	9.2×10^6	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
2 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
3 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
4 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
5 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
6 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

20

25

TABLA 2: Análisis de las levaduras (media de ufc/ml) en las composiciones de bebidas a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida					
	Control	A	B	C	D	E
0 horas	1000	860	1100	1000	1200	1000
48 horas	640	86	53	100	55	64
1 semana	31, 600	0.50	1.00	6.00	1.00	3.00
2 semanas	3.5 x 10 ⁶	0.50	1.00	0.50	0.50	0.50
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
2 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
3 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
4 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
5 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
6 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

TABLA 3: Análisis del moho en las composiciones de bebidas a 25 °C. Los resultados del moho se muestran por duplicado como Moho 1 y Moho 2.

5

Composición de bebida	Moho 1	Moho 2
Control	3	3
A	0	0
B	0	0
C	0	0
D	0	0
E	0	0

Los datos de las Tablas 1-3 muestran que una composición de bebida de la presente invención exhibe estabilidad microbiana en un periodo de 14-28 días después de sembrarla con levaduras y bacterias, en comparación con una bebida sin conservantes, y no exhibe expresión de moho. También se consiguió estabilidad microbiana en una composición de bebida de la presente invención con un 10% del valor diario de calcio.

10

EJEMPLO 2

15 Se preparó una matriz de bebida no carbonatada y se evaluó como se ha detallado en el Ejemplo 1, pero con los siguientes sistemas conservantes:

Composición de bebida	% de contenido de zumo	Ácido sórbico (ppm)	Ácido benzoico (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	EDTA (ppm)	Brix	Ácido	pH
Control	10	0	0	0	0	11.8	0.29	3.19
A	20	150	250	125	0	11.91	0.28	3.51
B	32	150	250	125	0	11.96	0.28	3.56

Composición de bebida	% de contenido de zumo	Ácido sórbico (ppm)	Ácido benzoico (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	EDTA (ppm)	Brix	Ácido	pH
C	50	150	250	125	0	11.88	0.28	3.76
D	75	150	250	125	0	11.95	0.28	3.83

Las Tablas 4-6 resumen los resultados de los experimentos. La Figura 3 ilustra gráficamente los resultados mostrados en la Tabla 4 y la Figura 4 ilustra gráficamente los resultados mostrados en la Tabla 5.

5 **TABLA 4:** Análisis de las bacterias (media de ufc/ml) en las composiciones de bebidas a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida				
	Control	A	B	C	D
0 horas	15 000	12 000	14 300	12 000	11 700
1 semana	2.3 x 10 ⁶	8000	5000	74 000	10 400
2 semanas	-	700	126	3100	3600
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50
2 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
3 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
4 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
5 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
6 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50

TABLA 5: Análisis de las levaduras (media de ufc/ml) en las composiciones de bebidas a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida				
	Control	A	B	C	D
0 horas	11 400	10 000	12 700	7900	15 000
1 semana	1.7 x 10 ⁶	3400	5100	6900	7400
2 semanas	-	1700	870	-	5100
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50
2 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
3 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
4 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
5 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
6 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50

10

TABLA 6: Análisis del moho en las composiciones de bebidas a 25 °C. Los resultados del moho se muestran por duplicado como Moho 1 y Moho 2.

Composición de bebida	Moho 1	Moho 2
Control	3	3
A	0	0
B	0	0
C	0	0
D	0	0
E	0	0

Basándose en los datos de las Tablas 4-6, la presente invención pone de manifiesto la conservación, es decir, la estabilidad microbiana de las composiciones de bebidas con porcentajes de zumo superiores a un 10%.

5

EJEMPLO 3

Se preparó una matriz de bebida no carbonatada y se evaluó como se ha detallado en el Ejemplo 1, pero con los siguientes sistemas conservantes:

10

Composición de bebida	% de contenido de zumo	Ácido sórbico (ppm)	Ácido benzoico (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	EDTA (ppm)	% del valor diario de calcio
Control	10	0	0	0	0	0
A	10	250	150	125	25	10
B	10	150	250	125	25	10
C	10	150	200	125	25	10
D	10	200	150	0	25	10
E	3	250	150	0	25	0
F	3	150	250	0	25	0
G	3	250	250	0	25	0
H	10	150	250	0	0	0

Las Tablas 7-9 resumen los resultados de los experimentos. La Figura 5 ilustra gráficamente los resultados mostrados en la Tabla 7 y la Figura 6 ilustra gráficamente los resultados mostrados en la Tabla 8.

15

TABLA 7: Análisis de las bacterias (media de ufc/ml) en una composición de bebida a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida								
	Control	A	B	C	D	E	F	G	H
0 horas	1500	11 000	1900	1700	11 000	1200	1700	1200	1500
48 horas	2300	720	190	440	8000	1440	2000	1000	950
1 semana	6100	8	11	42	58 000	940	1090	860	760
2 semanas	3.5 x 10 ⁴	0.50	0.50	0.50	23 000	120	150	360	120
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	5000	52	42	189	56
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00	0.50	0.50	0.50

TABLA 8: Análisis de las levaduras (media de ufc/ml) en una composición de bebida a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida							
	Control	A	B	C	E	F	G	H
0 horas	3200	1200	860	840	930	1100	1500	950
48 horas	4100	101	110	150	1300	1200	1200	1200
1 semana	7800	4	3	22	960	860	1300	830
2 semanas	2.2 x 10 ⁴	0.50	0.50	0.50	490	600	200	100
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	170	190	160	50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	1.0	0.5	0.50	0.50

5

TABLA 9: Análisis del moho en una composición de bebida a 25 °C. Los resultados del moho se muestran por duplicado como Moho 1 y Moho 2.

Composición de bebida	Moho 1	Moho 2
Control	3	3
A	0	0
B	0	0
C	0	0
10% de zumo 250 ppm de ácido sórbico 150 ppm de ácido benzoico 25 ppm de EDTA 50 ppm de ácido cinámico	0	0
10% de zumo 250 ppm de ácido sórbico 200 ppm de ácido benzoico 25 ppm de EDTA 50 ppm de ácido cinámico	0	0

10 Basándose en los datos de las Tablas 7-9, las composiciones de bebidas de la presente invención se compararon con bebidas que quedan fuera de la presente invención. Las composiciones de bebidas de la presente invención exhibieron estabilidad microbiana en un periodo de 14-28 días después de sembrarlas (para levaduras y bacterias), en comparación con una bebida sin conservantes (control) y con bebidas que no pertenecen a la invención.

EJEMPLO 4

15 Se preparó una matriz de bebida no carbonatada y se evaluó como se ha detallado en el Ejemplo 1, pero con los siguientes sistemas conservantes:

Composición de bebida	Ácido sórbico (ppm)	EDTA (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	% de zumo	pH	Ácido	Brix
Control	0	0	0	5	3.28	0.32	11.83
A	200	30	125	3	3.38	0.29	11.79
B	250	30	125	3	3.38	0.29	11.79

Composición de bebida	Ácido sórbico (ppm)	EDTA (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	% de zumo	pH	Ácido	Brix
C	300	30	125	3	3.38	0.29	11.79
D	0	30	125	3	3.38	0.29	11.79
E	0	30	200	3	3.38	0.29	11.79
F	200	30	125	5	3.42	0.29	11.75
G	250	30	125	5	3.42	0.29	11.75
H	300	30	125	5	3.42	0.29	11.75
I	0	30	125	5	3.42	0.29	11.75
J	0	30	200	5	3.42	0.29	11.75

La Tabla 10 resume los resultados de los experimentos.

TABLA 10: Análisis de las levaduras (media de ufc/ml) en una composición de bebida a 25 °C.

5

Tiempo	Composición de bebidas										
	Control	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
0 horas	3.2 x 10 ⁴	9000	48	20 000	12 000	8000	16 000	26 000	23 200	13 000	13 000
1 semana	8.0 x 10 ⁷	240	60	20	6300	1.00	200	100	120	7600	5.00
2 semanas	-	0.50	0.50	0.50	112	0.50	0.50	0.50	0.50	67	0.50
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

Basándose en los datos de la Tabla 10, se evaluaron diferentes niveles de ácido sórbico y ácido cinámico en bebidas con unos niveles de zumo de un 3% y un 5%. Las composiciones de bebidas de la presente invención exhiben estabilidad microbiana en un periodo de 14-28 días después de sembrarlas, en comparación con una bebida sin conservantes (control) y con bebidas que no pertenecen a la invención.

10

EJEMPLO 5

Se preparó una matriz de bebida no carbonatada y se evaluó como se ha detallado en el Ejemplo 1, pero con los siguientes sistemas conservantes:

15

Composición de bebida	Ácido sórbico (ppm)	Ácido benzoico (ppm)	EDTA (ppm)	Cinamato de potasio (ppm)	% de zumo	pH	Brix	Ácido
Control	0	0	0	0	20	3.34	11.78	0.28
A	150	250	25	88	20	3.34	11.78	0.28
B	150	250	25	88	32	3.36	11.91	0.28
C	150	250	25	88	50	3.69	12.01	0.28
D	150	250	25	88	75	3.71	12.06	0.32

Las Tablas 12-14 resumen los resultados de los experimentos.

20

TABLA 12: Análisis de las bacterias (media de ufc/ml) en una composición de bebida a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida				
	Control	A	B	C	D
0 horas	820	1300	1500	910	800
1 semana	5.6×10^7	230	210	760	540
2 semanas	-	0.50	1.00	103	26
3 semanas	-	0.50	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50
2 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
3 meses	-	0.50	0.50	-	0.50
4 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
5 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50

TABLA 13: Análisis de las levaduras (media de ufc/ml) en una composición de bebida a 25 °C.

5

Tiempo	Composición de bebida				
	Control	A	B	C	D
0 horas	950	1300	920	840	1300
1 semana	1.11×10^8	260	150	1000	770
2 semanas	-	160	3	120	38
3 semanas	-	1	0.50	0.50	0.50
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50
2 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
3 meses	-	0.50		0.50	0.50
4 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50
5 meses	-	0.50	0.50	0.50	0.50

TABLA 14: Análisis del moho en una composición de bebida a 25 °C.
Los resultados del moho se muestran por duplicado como Moho 1 y Moho 2.

Composición de bebida	Moho 1	Moho 2
Control	3	3
A	0	0
B	0	0
C	0	0
D	0	0

10

Basándose en los datos de las Tablas 12-14, se examinaron diferentes niveles de zumo en una bebida. Las composiciones de bebidas de la presente invención exhiben estabilidad microbiana en un periodo de 14-28 días después de sembrarlas, en comparación con una bebida sin conservantes (control) y con bebidas que no

pertenecen a la invención.

EJEMPLO 6

5 Se preparó una matriz de bebida no carbonatada y se evaluó como se ha detallado en el Ejemplo 1, pero con los siguientes sistemas conservantes:

Composición de bebida	Ácido sórbico (ppm)	EDTA (ppm)	Ácido cinámico (ppm)	% de zumo	pH	Brix	Ácido
Control	0	0	0	5	3.20	0.30	11.84
A	350	30	125	10	3.43	11.87	0.28
B	400	30	125	10	3.43	11.87	0.28
C	450	30	125	10	3.43	11.87	0.28
D	500	30	125	10	3.43	11.87	0.28
E	550	30	125	10	3.43	11.87	0.28
F	500	30	0	10	3.36	11.66	0.28
G	550	30	0	10	3.36	11.66	0.28

La Tabla 15 resume los resultados de los experimentos.

10

TABLA 15: Análisis de las levaduras (media de ufc/ml) en una composición de bebida a 25 °C.

Tiempo	Composición de bebida							
	Control	A	B	C	D	E	F	G
0 horas	1000	27 000	14 000	20 000	180	100	-	-
1 semana	8.0 x 10 ⁶	24	28	10	0.50	36.00	13 500	19 000
2 semanas		0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	3500	5400
3 semanas	-	0.50	1.00	0.50	0.50	0.50	18	40
1 mes	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50

15

Basándose en los datos de la Tabla 15, se evaluaron diferentes niveles de ácido ascórbico, junto con la presencia o ausencia de ácido cinámico. Las composiciones de bebidas de la presente invención exhiben estabilidad microbiana en un periodo de 14-28 días después de sembrarlas, en comparación con una bebida sin conservantes (control) y con bebidas que no pertenecen a la invención.

EJEMPLO 7

20

Se preparó una matriz de bebida no carbonatada y se evaluó como se ha detallado en el Ejemplo 1, pero con los siguientes sistemas conservantes:

Composición de bebida	Ácido sórbico (ppm)	Ácido benzoico (ppm)	EDTA (ppm)	SHMP (ppm)	ácido cinámico (ppm)	% de zumo	pH	Brix	Ácido
Control	0	0	0	0	0	3	3.46	11.90	0.31
A	150	250	25	250	0	3	3.47	11.84	0.31
B	150	250	25	0	50	3	3.47	11.84	0.31

C	150	250	25	0	125	3	3.47	11.84	0.31
---	-----	-----	----	---	-----	---	------	-------	------

La Tabla 16 resume los resultados de los experimentos.

TABLA 16: Análisis de *Z. bailii* (media de ufc/ml) en composiciones de bebidas a 25 °C.

5

Tiempo	Composición de bebida			
	Control	A	B	C
0 horas	2.2 x 10 ⁴	26 000	10 000	15 000
48 horas	3.4 x 10 ⁴	16 000	21 000	9000
1 semana	1.0 x 10 ⁶	7.3 x 10 ⁵	41 000	2100
2 semanas		2.7 x 10 ⁶	1.19 x 10 ⁵	3300
3 semanas				1400

Basándose en los datos de la Tabla 16, la presente invención presenta la capacidad de proporcionar actividad bacteriostática cuando se incorporan 125 ppm de ácido cinámico en una composición de bebida. Por ejemplo, la presente invención puede resultar más eficaz en la prevención del crecimiento de microorganismos resistentes a los conservantes que una combinación de conservantes de, p. ej., ácido sórbico/ácido benzoico/EDTA/hexametafosfato de sodio.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición de bebida que comprende:
un sistema conservante que comprende de 20 ppm a 400 ppm de ácido cinámico y de 100 ppm a 500 ppm de al
menos un ácido débil seleccionado entre ácido benzoico, ácido sórbico, sales de metales alcalinos del ácido
benzoico y/o sórbico, y mezclas de estos;
un componente de bebida que comprende un zumo; y
de un 60% a un 90% de agua en peso con relación a la composición total;
10 donde la composición presenta un pH que oscila entre 2.4 y 4.5,
con la condición de que la composición no comprenda polvos, extractos ni concentrados de té.
- 15 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, donde el ácido cinámico está presente en un intervalo
de 50 ppm a 300 ppm.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde dicho ácido débil es ácido sórbico.
- 20 4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, donde el ácido sórbico está presente en un intervalo de
200 ppm a 450 ppm.
5. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el agua está presente en una
cantidad que oscila entre un 80% y un 99% en peso con relación a la composición total.
- 25 6. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el agua presenta un valor de
dureza que oscila entre 55 ppm y 250 ppm y, opcionalmente, el agua presenta un valor de dureza que oscila entre
60 ppm y 180 ppm.
- 30 7. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el zumo está presente en una
cantidad que oscila entre un 0.1% y un 50% en peso con relación a la composición total y, opcionalmente, el zumo
está presente en una cantidad que oscila entre un 0.5% y un 25% en peso con relación al peso total de la
composición.
- 35 8. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde el zumo se selecciona entre zumos
de frutas, verduras, productos botánicos y mezclas de estos.
9. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el componente de bebida
comprende además un edulcorante.
- 40 10. La composición de acuerdo con la reivindicación 9, donde el edulcorante se selecciona entre edulcorantes
nutritivos, edulcorantes no nutritivos y mezclas de estos.
11. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende además de 10 ppm a 40
ppm de EDTA.
- 45 12. La composición de acuerdo con la reivindicación 11, donde el EDTA está presente en un intervalo de 10
ppm a 30 ppm.
- 50 13. La composición de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende además al menos un
ingrediente opcional seleccionado entre conservantes adicionales, agentes colorantes, agentes saborizantes,
flavonoides, vitaminas, minerales, proteínas, emulsionantes, componentes de carbonatación, espesantes,
antioxidantes, agentes antiespumantes y mezclas de estos.