

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 751**

51 Int. Cl.:

**A23L 3/3535** (2006.01)

**A23L 3/3526** (2006.01)

**A23B 4/20** (2006.01)

**A23B 7/154** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2004 E 04789500 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2012 EP 1667540**

54 Título: **Conservantes de isotiocianato y métodos para su uso**

30 Prioridad:

**01.10.2003 US 507853 P**

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

**21.03.2013**

73 Titular/es:

**THE PROCTER & GAMBLE COMPANY (100.0%)  
ONE PROCTER & GAMBLE PLAZA  
CINCINNATI, OHIO 45202, US**

72 Inventor/es:

**EKANAYAKE, ATHULA;  
KESTER, JEFFREY, JOHN;  
LI, JIANJUN, JUSTIN;  
ZEHENTBAUER, GERHARD, NORBERT y  
BUNKE, PAUL, RALPH**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 398 751 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**

Conservantes de isotiocianato y métodos para su uso

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden conservantes de isotiocianato sensibles a la humedad que son especialmente útiles para conservar productos alimenticios. La invención también se refiere a los productos alimenticios tratados con dichas composiciones conservantes, así como a los métodos de conservar productos que comprenden utilizar los anteriores conservantes de isotiocianato.

**Antecedentes de la invención**

Los productos de consumo pueden constituir un entorno hospitalario para el rápido crecimiento microbiano. Dicha exposición puede, y frecuentemente lo hace, dar como resultado una inoculación microbiana inadvertida del producto durante la fabricación o el envasado. Los microorganismos degradadores, por ejemplo en los productos alimenticios, pueden posteriormente proliferar con rapidez alimentándose de los nutrientes suministrados por el producto.

Los conservantes, tales como sorbatos, benzoatos, ácidos orgánicos, y combinaciones de los mismos, se han usado en diferentes productos especialmente en alimentos y bebidas, para proporcionar alguna inhibición microbiana. Sin embargo, en los niveles que son eficaces para inhibir el crecimiento microbiano, algunos de estos conservantes pueden producir malos olores en el producto, convirtiendo el producto de este modo en no deseable para su objetivo previsto. Similarmente, se usan con frecuencia los conservantes naturales, como la nantamicina, en productos alimenticios y bebidas para inhibir el crecimiento microbiano. Desafortunadamente, aunque estos conservantes naturales pueden ser eficaces frente a levaduras o bacterias, pueden no serlo contra ambas.

Se ha descrito que el aceite esencial de las plantas de mostaza, que contiene isotiocianatos, presenta un efecto antibacteriano y antimicótico en tratamientos orales y en algunos alimentos. Véase p. ej., Sekiyama y col., US-5.334.373, concedida a Nippon Sanso Corp., otorgada el 2 de agosto de 1994; y Madaus y col., US-3.998.964, otorgada el 21 de diciembre de 1976. Los compuestos isotiocianato en los aceites esenciales de la mostaza son los principios activos que proporcionan el efecto antimicrobiano. El aceite esencial derivado de las plantas de la mostaza blanca o amarilla (*Sinapis alba* o *Brassica alba*), también proporciona las ventajas antibacterianas y antimicóticas anteriores, sin embargo, es conocido en la técnica que el aceite esencial de la mostaza blanca es un aceite viscoso que es, por tanto, difícil de dispersar de forma uniforme en productos alimenticios sólidos o sobre las superficies de productos alimenticios sólidos. Adicionalmente, los compuestos isotiocianato son agentes antimicrobianos eficaces a niveles de uso relativamente bajos. Por tanto, puede ser difícil distribuir uniformemente dichos bajos niveles dentro de una matriz de alimento sólido o sobre la superficie de un producto alimenticio sólido. Además, el principal isotiocianato presente en el aceite esencial de la mostaza blanca, isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo, es un compuesto sensible a la humedad que comienza a degradarse (es decir, a hidrolizarse) a las pocas horas de estar expuesto a la humedad. Cuando se degrada, el isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo forma, entre otros compuestos, el alcohol 4-hidroxi-bencilico.

En WO 98/3339 se describe una composición y método para producir un efecto antimicrobiano en productos alimenticios para controlar y reducir bacterias patógenas perniciosas en los productos alimenticios, de forma que se reducen los riesgos para la salud asociados.

En EP-0557946 se describe una composición antimicrobiana que comprende isotiocianato de alilo y un alcohol polihidroxilado para tratar microorganismos.

En US-6.361.812 se describen productos que proporcionan un efecto antimicrobiano comprendiendo un sistema conservante.

En EP-1252827 se describe un conservante alimenticio que contiene una sustancia antibacteriana que tiene una elevada seguridad y que potencia la conservabilidad de un alimento sin ejercer una influencia perjudicial sobre el gusto y sabor del alimento.

En la actualidad, la industria de procesamiento de mostaza utiliza el grano molido fino de mostaza blanca principalmente, mientras que el aceite esencial se ignora en gran medida. De hecho, para utilizar el grano molido fino de mostaza blanca sin la sensación de 'calentamiento' de la mostaza, el grano molido fino de mostaza se somete a una etapa de desactivación térmica. Aquí, la enzima mirosinasa, que cataliza la formación del isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo a partir de su precursor 4-hidroxi-bencilglucosinolato, se desactiva a propósito de manera que no se forma el aceite esencial cuando el grano molido fino se mezcla con productos alimenticios húmedos, tales como la carne y las salchichas. De forma adicional, debido a su inestabilidad, el isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo no se comercializa de forma habitual, ni como producto natural ni como compuesto químico puro.

Por tanto, por todas las razones anteriores, el aceite esencial de mostaza blanca no ha sido muy conocido o muy usado en la técnica por su efecto antibacteriano y antimicótico. Esto es especialmente cierto para los productos alimenticios sólidos, en los que la dispersión uniforme del aceite esencial de mostaza blanca puede ser difícil y cuando se precisan periodos prolongados de almacenamiento, es decir, periodos prolongados de exposición a la humedad.

Sin embargo, los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que generando el aceite esencial de mostaza blanca añadiendo agua a mostaza triturada, extrayendo el aceite esencial de mostaza blanca utilizando disolventes o fluidos supercríticos, secando rápidamente el aceite esencial retirando la humedad residual, y posteriormente mezclando a fondo el aceite esencial de mostaza blanca resultante con un vehículo higroscópico, los compuestos isotiocianato sensibles a la humedad contenidos en el mismo quedan estabilizados. Así, la mezcla del aceite esencial de mostaza blanca con un vehículo higroscópico es, por tanto, capaz de usarse como un agente antibacteriano y antimicótico eficaz para los productos alimenticios sólidos.

### Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un producto alimenticio sólido que contiene una composición para conservar productos alimenticios sólidos, en donde dicha composición para conservar productos alimenticios sólidos contiene:

- a. un compuesto isotiocianato sensible a la humedad que es isotiocianato de 4-hidroxibencilo; y
- b. un vehículo higroscópico;

en donde la composición comprende menos de 0,0005% en peso de ácido sórbico, ácido benzoico, y sales de los mismos.

Finalmente, la presente invención se refiere a un método para conservar un producto alimenticio sólido caracterizado por las etapas de:

- a) proporcionar un producto alimenticio sólido;
- b) agregar al producto alimenticio sólido una composición conservante que comprende un compuesto isotiocianato sensible a la humedad que es isotiocianato de 4-hidroxibencilo y un vehículo higroscópico, en donde dicha composición conservante comprende menos de 0,0005% en peso de ácido sórbico, ácido benzoico y sales de los mismos;
- c) en las aproximadamente 2 horas siguientes a agregar la composición conservante al producto alimenticio sólido, manteniendo la temperatura del producto alimenticio sólido a una temperatura no superior a aproximadamente 10 °C durante al menos 12 horas.

### Descripción detallada de la invención

A lo largo de esta descripción se hace referencia a publicaciones y patentes. Todas las menciones en la presente memoria se incorporan como referencia.

Todos los porcentajes, relaciones y proporciones usadas en la presente memoria son en peso, salvo que se indique lo contrario.

En la descripción de la invención se incluyen varias realizaciones y/o características individuales. Como resultará evidente para el técnico en la materia puede realizarse cualquier combinación de estas realizaciones y características para obtener realizaciones preferidas de la invención.

Los productos de la presente invención pueden comprender, consistir prácticamente o consistir en cualesquiera de los elementos descritos en la presente memoria.

#### I. Definición y uso de los términos

A continuación se incluye una lista de las definiciones y expresiones utilizadas en la presente memoria:

En la presente memoria, la expresión “efecto antimicrobiano” significa que el producto inhibe el crecimiento de, elimina y/o de cualquier otra forma disminuye la presencia de microorganismos tales como, por ejemplo, levaduras, bacterias, mohos, y/u hongos, preferiblemente levaduras y/o bacterias.

En la presente memoria, “aceite esencial” se refiere al conjunto de todos los compuestos que se pueden destilar o extraer de la planta de la que se deriva el aceite y que contribuyen al aroma característico de dicha planta. Véase p. ej., H. McGee, On Food and Cooking, Charles Scribner's Sons, págs. 154 - 157 (1984). De acuerdo con la presente

invención, el aceite esencial preferiblemente se origina de la planta de mostaza blanca o amarilla (*Sinapis alba* o *Brassica alba*), que es capaz de producir un compuesto isotiocianato sensible a la humedad y más específicamente, isotiocianato de 4-hidroxibencilo.

5 En la presente memoria, la expresión “vehículo higroscópico” indica una sustancia que es capaz de atraer, absorber y enlazar la humedad. Dicha sustancia puede estar en forma líquida, pulverulenta o granulada.

10 En la presente memoria, la expresión “sensible a la humedad” significa que el compuesto isotiocianato se degrada en presencia de agua. Esta degradación transcurre mediante una reacción de hidrólisis, conduciendo de esta forma a una reducción en el nivel de agente antimicrobiano de isotiocianato activo con el tiempo de almacenamiento en la presencia de agua. El método para determinar la sensibilidad a la humedad se ha definido más adelante en la sección Métodos de ensayo. Los isotiocianatos sensibles a la humedad se caracterizan por una reducción en la concentración del compuesto isotiocianato de al menos aproximadamente 20% de la concentración inicial, cuando se suspenden en un tampón fosfato acuoso que tiene un pH de aproximadamente 3,6, y una temperatura de 20 °C a 23 °C, en un periodo de 24 horas.

15 En la presente memoria, la expresión “componente natural” en referencia al correspondiente aceite esencial, se refiere a un componente utilizado en la presente invención que se obtiene a partir del aceite esencial natural.

20 En la presente memoria, la expresión “producto alimenticio sólido”, se refiere a una composición comestible que se puede ingerir que no fluye fácilmente bajo la fuerza de la gravedad a una temperatura que es típica para el almacenamiento de dicho producto. Los ejemplos de productos alimenticios sólidos incluyen, aunque no de forma limitativa, frutas, verduras, carnes (como ternera, cerdo, aves de corral, y pescado), quesos naturales y procesados, mercancías horneadas, aperitivos, margarinas, untables, y composiciones alimenticias gelificadas. Las composiciones conservantes descritas en la presente invención también se pueden usar en productos fluidos que están previstos para combinarse, mezclarse, inyectarse o incorporarse de cualquier otra forma a un producto alimenticio sólido acabado, o aplicarse a la superficie de un producto alimenticio sólido. Los ejemplos incluyen marinadas, soluciones de salmuera, soluciones de ablandado, aliños, salsas, concentrados de carne y similares que están previstos para añadirse a productos alimenticios sólidos, tales como carnes, aves de corral, pescado y verduras.

25 En la presente memoria, la expresión “prácticamente exento de sorbato, benzoato y sales de los mismos” significa que las composiciones conservantes comprenden menos de 0,0005% en peso de sorbato, benzoato, y sales de los mismos (es decir menos de 5 partes por millón).

35 II. Composiciones de la presente invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden el siguiente sistema conservante para usar en o sobre un producto alimenticio sólido:

- 40 a. un compuesto isotiocianato sensible a la humedad; siendo isotiocianato de 4-hidroxibencilo y
- b. un vehículo higroscópico;
- 45 en donde la composición comprende menos de 0,0005% en peso de ácido sórbico, ácido benzoico, y sales de los mismos.

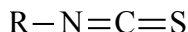
a. El compuesto isotiocianato

50 De acuerdo con la presente invención, los productos comprenden una composición para conservar productos alimenticios sólidos que comprende un compuesto isotiocianato sensible a la humedad (*es decir*, un compuesto que contiene un resto -N=C=S), tal como, por ejemplo, el compuesto isotiocianato de 4-hidroxibencilo, que se encuentra en el aceite esencial de mostaza blanca. Aunque dichos compuestos se habían identificado previamente por tener una acción antimicrobiana beneficiosa en productos alimenticios, a menudo se emplean junto con los conservantes conocidos ácido benzoico, ácido sórbico o sales de los mismos. Un posible motivo para esto es la inherente sensibilidad a la degradación hidrolítica inducida por la humedad que no se ha reconocido totalmente, de aquí la necesidad de un conservante adicional. Sin embargo, al combinar el compuesto isotiocianato sensible a la humedad, tal como isotiocianato de 4-hidroxibencilo en el aceite esencial de mostaza blanca, con un vehículo higroscópico que atrae, absorbe, y enlaza la humedad, los solicitantes han descubierto que se puede estabilizar durante el almacenamiento el isotiocianato sensible a la humedad. Por consiguiente, el isotiocianato está presente y activo con el uso de la composición conservante para conservar productos alimenticios. De forma importante, el vehículo higroscópico también actúa como un diluyente que ayuda a la distribución uniforme del isotiocianato sensible a la humedad a través de la matriz de alimento sólido, o sobre la superficie de un producto alimenticio sólido. Esta función diluyente del vehículo higroscópico es especialmente importante porque el isotiocianato sensible a la humedad es un agente antimicrobiano eficaz a niveles de uso relativamente bajos, y puede ser difícil de distribuir de forma uniforme a dichos bajos niveles dentro o sobre la superficie de un producto alimenticio sólido sin el uso de un diluyente.

Aunque se pueda usar cualquier isotiocianato sensible a la humedad en las presentes composiciones, el uso de isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo es especialmente preferido.

5 Independientemente del isotiocianato sensible a la humedad utilizado, los presentes inventores han descubierto que niveles relativamente bajos del compuesto producen el efecto antimicrobiano deseado en las presentes composiciones y métodos. A este respecto, se prefiere que el compuesto isotiocianato esté presente en la composición conservante en una cantidad de 0,0025% a 10%, más preferiblemente de 0,005% a 8%, aún más preferiblemente de 0,01% a 6%, y aún más preferiblemente de 0,1% a 4%, en el peso total de la composición.

10 En la presente invención se puede utilizar cualquier compuesto isotiocianato sensible a la humedad que tenga un resto  $-N=C=S$ . Preferiblemente, el compuesto isotiocianato utilizado en las presentes composiciones tiene la estructura:



15 en donde R es el resto 4-hidroxi-bencilo o para-hidroxi-bencilo. Esta estructura se conoce normalmente como isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo o isotiocianato de *p*-hidroxi-bencilo, y se puede obtener por síntesis o de forma alternativa obtenerse de forma natural a partir de, por ejemplo, la mostaza blanca.

20 De acuerdo con la presente invención, se prefiere que el constituyente que comprende el compuesto isotiocianato sensible a la humedad sea un aceite esencial, componente natural de un aceite esencial, o componente sintético de un aceite esencial (todos descritos con más detalle posteriormente en la presente memoria) de la familia de la mostaza blanca o amarilla (*Sinapis alba* o *Brassica alba*). Como es conocido, la familia de plantas Brassica es una familia pequeña que agrupa aproximadamente 2000 especies y más de 300 géneros (véase, p. ej. Natural Food Antimicrobial Systems, editado por A.S. Naidu, CRC Press LLC, págs. 399-416, 2000). De forma alternativa, el constituyente que comprende el compuesto isotiocianato sensible a la humedad puede ser un aceite esencial, componente natural de un aceite esencial, o componente sintético de un aceite esencial de cualquier otra familia de plantas que pueda producir un compuesto isotiocianato sensible a la humedad. Véase p. ej., Food Chemistry, Edited by O.R. Fennema, Marcel Dekker, Inc., págs. 602 - 603 (1985) y Naturally Occurring Antimicrobials in Food, Council for Agricultural Science and Technology, págs. 31 - 32 (1998).

30 De acuerdo con la presente invención, se prefiere utilizar un aceite esencial, o con máxima preferencia, un componente natural del mismo, como constituyente de las presentes composiciones, que se pueden utilizar fácilmente en productos alimenticios. Si se usa un aceite esencial, o un componente natural del mismo, como el constituyente de los presentes productos, el aceite se deriva preferiblemente de una planta que sea un miembro de la familia Brassica; siendo un ejemplo preferido no limitante el isotiocianato de 4-hidroxi-bencilo. En la presente memoria, "aceite esencial" se refiere al conjunto de todos los compuestos que se pueden destilar o extraer de la planta de la que se deriva el aceite y que contribuyen al aroma característico de dicha planta. Véase p. ej., H. McGee, On Food and Cooking, Charles Scribner's Sons, págs. 154 - 157 (1984). De acuerdo con la presente invención, el aceite esencial preferiblemente se origina a partir de un compuesto de glucosinolato que es capaz de producir un compuesto isotiocianato (por ejemplo, mediante hidrólisis catalítica de uno o más glucosinolatos con la enzima mirosinasa) en donde la planta que contiene el tejido precursor y la enzima se homogeniza, tritura, aplasta, presiona, o se daña de cualquier otra forma. El aceite esencial derivado de una planta de la familia Brassica se obtiene usando procedimientos que son normalmente conocidos en la técnica.

45 Tal cual es conocido en la técnica, las semillas y/o flores (preferiblemente las semillas) de cualquiera de, por ejemplo, una especie de Brassica, pueden homogeneizarse, triturarse, aplastarse, presionarse o dañarse de cualquier otra forma para activar uno o más precursores (p. ej., glucosinolatos) del correspondiente aceite esencial. Se sabe que la producción del compuesto isotiocianato a partir del aceite se produce por catálisis enzimática tras, por ejemplo, homogeneizar, triturar, aplastar, presionar o dañar de cualquier otra forma la planta, sus semillas y/o sus flores. Véase p. ej., Concannon, WO 94/01121, publicada el 20 de enero de 1994 y Brown y col., "Glucosinolate-Containing Plant Tissues as Bioherbicides", *Journal of Agricultural Food Chemistry*, vol. 43, págs. 3070 - 3074 (1995). La enzima habitualmente conocida por participar en la producción del compuesto isotiocianato por la interacción con un glucosinolato es la mirosinasa, también conocida como tioglucósido glucohidrolasa (y que tiene el número de clasificación enzimática EC 3.2.3.1). Se sabe que la mirosinasa no es específica para diferentes glucosinolatos.

50 El aceite esencial se puede obtener por cualquiera de una variedad de métodos conocidos. Por ejemplo, la planta usada se puede homogeneizar, triturar, aplastar, presionar o dañar de cualquier otra forma (p. ej., cortar); el aceite esencial se puede extraer a continuación mediante un disolvente orgánico, por ejemplo, un alcohol (p. ej., etanol) o dietil éter o acetato de etilo, o un compuesto como propilenglicol. Véase p. ej., Ono y col., "6-Methylsulfinylhexyl Isothiocyanate and Its Homologues as Food-originated Compounds with Antibacterial Activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 62(2), págs. 363 - 365 (1998). De forma alternativa, el aceite esencial se puede obtener por destilación (por ejemplo, destilación con vapor dependiendo de la volatilidad del compuesto isotiocianato presente en el mismo) tras homogeneizar, triturar, aplastar, presionar o dañar de cualquier otra forma la planta, semillas, flores, y/o cualquier otro componente de la misma. Véase p. ej., Isshiki y col., "Preliminary Examination of

Allyl Isothiocyanate Vapor for Food Preservation”, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 56(9), págs. 1476 - 1477 (1992).

De forma alternativa, el aceite esencial se puede extraer con un fluido supercrítico como dióxido de carbono, tras homogeneizar, triturar, aplastar, presionar o dañar de cualquier otra forma la planta, semillas, flores, y/o cualquier otro componente de la misma. Estos procesos se han descrito en US-5.017.397 y US-5.120.558. Tras la extracción del aceite esencial, los extractos preferiblemente se estabilizan eliminando el agua residual del extracto por centrifugación, decantación, paso por un tamiz molecular, exposición a una sal anhidra, o secado al vacío.

El propio aceite esencial, que contiene uno o más compuestos isotiocianato sensibles a la humedad, preferiblemente el isotiocianato de 4-hidroxibencilo, puede usarse a continuación en las composiciones y métodos de la presente invención.

De forma alternativa, se puede utilizar un componente natural del aceite esencial, en donde el aceite esencial se ha derivado preferiblemente de una planta de la familia Brassica. Como se ha indicado anteriormente en la presente memoria, el componente natural del aceite esencial deberá comprender uno o más compuestos isotiocianato sensibles a la humedad (es decir, un compuesto que contiene un resto  $-N=C=S$ ), preferiblemente isotiocianato de 4-hidroxibencilo.

El método por el cual se obtiene el componente natural a partir del aceite esencial no es crítico para la presente invención. Según la presente invención, el componente natural deberá comprender un compuesto isotiocianato sensible a la humedad y puede comprender componentes adicionales derivados del aceite esencial. Para ilustrar, el componente natural del aceite esencial se puede obtener por purificación convencional del propio aceite esencial para obtener uno o más compuestos isotiocianato usando, por ejemplo, extracción, cromatografía, o destilación. Por ejemplo, se pueden usar técnicas cromatográficas habituales (p. ej., HPLC) para obtener un componente natural del aceite esencial. Véase p. ej., Ono y col., “6-Methylsulfinylhexyl Isothiocyanate and Its Homologues as Food-originated Compounds with Antibacterial Activity against *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*”, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 62(2), págs. 363 - 365 (1998). Como ejemplo adicional, un aceite esencial una vez destilado o extraído (el propio aceite esencial) puede destilarse o extraerse nuevamente para eliminar componentes volátiles sin interés o para retirar el compuesto isotiocianato de interés. Es una realización preferida de la presente invención utilizar un componente natural del aceite esencial.

Como alternativa a usar el aceite esencial o componente natural del mismo en la presente invención, se puede usar un componente sintético de un aceite esencial, preferiblemente un aceite esencial de Brassica. En la presente memoria, la expresión “componente sintético” en referencia al correspondiente aceite esencial se refiere a un componente utilizado en la presente invención que se encuentra naturalmente en un aceite esencial que ha sido activado mediante la mirosinasa, pero que se ha obtenido por técnicas sintéticas sin extracción o purificación del aceite esencial natural. Como se ha indicado anteriormente en la presente memoria, el componente sintético del aceite esencial deberá comprender uno o más compuestos isotiocianato sensibles a la humedad (es decir, un compuesto que contiene un resto  $-N=C=S$ ), preferiblemente isotiocianato de 4-hidroxibencilo.

Diferentes compuestos isotiocianato sintéticos se pueden obtener comercialmente, por ejemplo, de Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, EE. UU.; Fluka Chemical Co., Milwaukee, WI, EE. UU.; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.; y Lancaster Synthesis Inc., Windham, NH, EE. UU. De forma adicional, los métodos sintéticos para preparar compuestos isotiocianato son bien conocidos en la técnica. Véase p. ej., J. March, *Advanced Organic Chemistry*, John Wiley & Sons (1992). De forma adicional, la producción natural de los compuestos de isotiocianato se puede imitar por síntesis obteniendo comercialmente uno o más compuestos glucosinolato e introduciendo mirosinasa, que se puede aislar de cualquier planta que produzca mirosinasa (como se ha descrito anteriormente) u obtenerse comercialmente (por ejemplo, la mirosinasa se comercializa como tioglucosidasa por Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.). De forma alternativa, la producción natural de los compuestos de isotiocianato se puede imitar por síntesis aislando un compuesto glucosinolato de cualquier planta productora de glucosinolato e introduciendo mirosinasa obtenida comercialmente.

#### b. El vehículo higroscópico

Como se ha indicado anteriormente, las composiciones de isotiocianato utilizadas en la presente invención son sensibles a la humedad, lo que significa que se degradan (es decir, se hidrolizan) ante la exposición al agua. Esta característica es una de las razones de que se haya demostrado la dificultad de fabricar las formulaciones conservantes que incluyen estos compuestos y de usarlas en el campo de la conservación de alimentos. Otro factor que se agrega a la dificultad de formular es el hecho que el aceite esencial de mostaza blanca es viscoso y, por tanto, puede ser difícil de dispersar de forma uniforme dentro de matrices de alimento sólido o sobre superficies de alimento sólido. Además, los compuestos isotiocianato en general, e isotiocianato de 4-hidroxibencilo en particular, son agentes antimicrobianos eficaces a niveles de uso relativamente bajos. Por tanto, puede ser difícil distribuir de forma uniforme dichos bajos niveles del isotiocianato dentro o sobre la superficie de un producto alimenticio sólido. Para que el isotiocianato actúe como un agente antimicrobiano eficaz, es preferible que el conservante esté disperso de forma uniforme dentro del

alimento (p. ej. ternera picada) o sobre la superficie del alimento (p. ej. trozos enteros de carne, aves de corral, o pescado).

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que ambos problemas anteriormente mencionados, es decir la sensibilidad a la humedad y la distribución uniforme dentro o encima de un producto alimenticio, se pueden resolver mediante la dilución del isotiocianato en un vehículo higroscópico. Existen numerosos métodos para diluir el isotiocianato sensible a la humedad. Por ejemplo, el isotiocianato o el aceite esencial que comprende el isotiocianato se puede disolver, dispersar, o bien combinar uniformemente en un vehículo higroscópico líquido. De forma alternativa, el isotiocianato o el aceite esencial que comprende el isotiocianato se puede triturar con, recubrir sobre, o mezclarse de otra forma intensa con las partículas sólidas de un vehículo higroscópico pulverulento o granulado. La trituration es un proceso preferido, en el que el isotiocianato o el aceite esencial que comprende el isotiocianato y el material higroscópico pulverulento o granulado se han mezclado intensamente por pulverización y/o dilaceración completamente por frotado o molienda. Recubrir el isotiocianato o el aceite esencial que comprende el isotiocianato sobre las partículas sólidas de un vehículo higroscópico pulverulento o granulado se refiere al proceso de recubrir la superficie de dichas partículas con una película o recubrimiento del isotiocianato o aceite esencial.

Se puede usar cualquier número de materiales higroscópicos en la presente invención. Los materiales higroscópicos líquidos adecuados para usar como vehículos incluyen, aunque no de forma limitativa, glicerina, polietilenglicol, y propilenglicol. Los materiales higroscópicos pulverulentos o granulados adecuados para usar como vehículos incluyen, aunque no de forma limitativa, polisacáridos (incluyendo maltodextrinas, almidones, y celulosa microcristalina), oligosacáridos, azúcares (incluyendo glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, y lactosa), alcoholes de azúcar (incluyendo manitol, maltitol, eritritol, y sorbitol), sal, dióxido de silicio (incluyendo sílice precipitada y pirolizada) y agentes antiapelmazamiento y/o agentes fluidificantes (incluyendo silicoaluminato de sodio, silicato de calcio, silicato de magnesio, fosfato tricálcico y carbonato de magnesio). Los vehículos especialmente preferidos son maltodextrina y glicerina. El tipo de vehículo higroscópico usado dependerá de la aplicación final de la composición conservante. Por ejemplo, para muchos usos, el vehículo preferido será un material pulverulento o granulado, en particular maltodextrina, por facilidad de manipulación y envío de la composición conservante. Sin embargo, pueden darse determinados casos en que se prefiere una composición conservante líquida debido a la posibilidad de bombearse o inyectarse y/o debido a sus propiedades de flujo que pueden ser críticas para recubrir eficazmente las superficies de los productos alimenticios sólidos. Por ejemplo, el uso de glicerina como el vehículo higroscópico puede ser especialmente eficaz cuando la composición conservante se combina en un producto de ternera picada, en donde la capacidad de la composición conservante para fluir y recubrir uniformemente cada pieza de ternera triturada puede ser ventajosa.

Las composiciones conservantes comprenderán de forma típica de 90% a 99,9%, en peso, del vehículo higroscópico. De forma típica, las composiciones comprenderán de 92% a 99,9%, de forma más típica de 94% a 99,9%, e incluso de forma más típica de 96% a 99,9% en peso, del vehículo higroscópico.

### 3. Productos alimenticios que comprende las composiciones conservantes de la presente invención

En otro aspecto, la presente invención se dirige a productos alimenticios sólidos tratados con las composiciones conservantes descritas en la presente memoria. A este respecto, el compuesto isotiocianato sensible a la humedad, preferiblemente isotiocianato de 4-hidroxibencilo, estará presente de forma típica en una cantidad de 0,001% a 0,06%, en peso, del producto alimenticio sólido. De forma más típica, el compuesto isotiocianato sensible a la humedad estará presente en una cantidad de 0,003% a 0,05%, incluso de forma más típica de 0,005% a 0,04%, en peso, del producto alimenticio sólido.

Existe una variedad de métodos con los que agregar la composición conservante de isotiocianato al producto alimenticio sólido, incluyendo, aunque no de forma limitativa, combinando o mezclando de otra forma en una matriz de alimento sólido (p. ej. ternera picada) o preparar una solución o dispersión líquida que comprende la composición conservante de isotiocianato (p. ej. solución de lavado, solución de salmuera, solución de ablandado, o marinada) en el que un producto alimenticio sólido (como una fruta, verdura o trozo de carne, aves de corral o pescado) se introduce o sumerge para aplicar el conservante a la superficie. De forma alternativa, la solución o dispersión líquida que comprende la composición conservante de isotiocianato (p. ej. solución de salmuera, solución de ablandado, o marinada) se puede pulverizar, cepillar o recubrir de cualquier otra forma sobre la superficie del producto alimenticio sólido (tal como, por ejemplo una carcasa de ternera o de aves de corral), o se puede incorporar al interior del producto alimenticio sólido mediante inyección de presión o volteo a vacío. La inyección de presión y el volteo a vacío son métodos especialmente preferidos para incorporar la composición conservante de isotiocianato en trozos intactos de carne, tales como ternera, cerdo, aves de corral, y pescado. Las composiciones conservantes de isotiocianato también se pueden incorporar a los materiales usados en el envasado de productos alimenticios sólidos, ya que debido a que el contacto íntimo entre el material de envasado y el producto alimenticio sólido, permite la transferencia de la composición conservante hasta la superficie del producto alimenticio. Un ejemplo no limitante de dicho material de envasado incluye las almohadillas absorbentes colocadas bajo los trozos de carne, tal como de aves de corral, que están previstos para distribución minorista.

4. Método de la presente invención

La presente invención además se refiere a un método para conservar un producto alimenticio sólido caracterizado por las etapas de:

a) proporcionar un producto alimenticio sólido;

b) agregar al producto alimenticio sólido una composición conservante que comprende un compuesto isotiocianato sensible a la humedad; siendo isotiocianato de 4-hidroxibencilo y un vehículo higroscópico, en donde dicha composición conservante comprende menos de 0,0005% en peso de ácido sórbico, ácido benzoico y sales de los mismos; y

c) en las aproximadamente 2 horas siguientes a agregar la composición conservante al producto alimenticio sólido, manteniendo la temperatura del producto alimenticio sólido a una temperatura no superior a aproximadamente 10 °C durante al menos aproximadamente 12 horas.

De acuerdo con la presente invención, el método anterior se refiere a la conservación de productos alimenticios y, preferiblemente productos alimenticios sólidos. Ejemplos no limitativos de productos alimenticios sólidos incluyen, aunque no de forma limitativa, frutas, verduras, carnes (como ternera, cerdo, aves de corral, y pescado), quesos naturales y procesados, mercancías horneadas, aperitivos, margarina, untables, y composiciones alimenticias gelificadas. Las composiciones conservantes descritas en la presente invención también se pueden usar en productos fluidos que están previstos para combinarse, mezclarse, inyectarse o incorporarse de cualquier otra forma a un producto alimenticio sólido acabado, o aplicarse a la superficie de un producto alimenticio sólido. Los ejemplos incluyen marinadas, soluciones de salmuera, soluciones de ablandado, aliños, salsas, concentrados de carne y similares que están previstos para añadirse a productos alimenticios sólidos, tales como carnes, aves de corral, pescado y verduras.

Además, los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que el tiempo de residencia del compuesto isotiocianato sensible a la humedad, preferiblemente isotiocianato de 4-hidroxibencilo, puede ampliarse agregando en primer lugar la composición conservante de isotiocianato al producto alimenticio sólido por cualquier medio descrito anteriormente, y después mantener la temperatura del producto alimenticio en no más de aproximadamente 10 °C, preferiblemente no más de aproximadamente 7,5 °C, y más preferiblemente no más de aproximadamente 5 °C. Como resultado de almacenar el producto alimenticio a temperatura reducida, la velocidad de degradación (es decir hidrólisis) del isotiocianato sensible a la humedad se reduce. Por consiguiente, el tiempo de residencia o tiempo de vida del compuesto antimicrobiano de isotiocianato activo queda prolongado, y la eficacia antimicrobiana resultante queda potenciada.

Si la solución o dispersión líquida anteriormente mencionada que comprende la composición conservante de isotiocianato se utiliza para agregar conservante a un producto alimenticio sólido (p. ej. solución de lavado, solución de salmuera, solución de ablandado, o marinada), es preferible que la solución o dispersión se mantenga a una temperatura baja para minimizar la degradación del isotiocianato sensible a la humedad. Preferiblemente, la solución o dispersión se mantiene a una temperatura inferior a aproximadamente 10 °C, más preferiblemente inferior a aproximadamente 7,5 °C, y con máxima preferencia inferior a aproximadamente 5 °C. Adicionalmente, la solución o dispersión líquida que comprende la composición conservante de isotiocianato tiene preferiblemente un pH entre pH 2 a 5, más preferiblemente entre pH 3 a 4,5, para minimizar la velocidad de degradación del isotiocianato sensible a la humedad. La solución o dispersión líquida puede contener opcionalmente un agente tensioactivo o emulsionante agregado para mejorar la extensibilidad y conseguir una cobertura uniforme de la solución o dispersión sobre la superficie del producto alimenticio sólido.

El producto alimenticio sólido no necesita estar expuesto necesariamente a bajas temperaturas inmediatamente después de agregar la composición conservante de isotiocianato, sin embargo, se prefiere que no transcurran más de aproximadamente 2 horas, más preferiblemente no más de aproximadamente 1 hora, y aún más preferiblemente no más de aproximadamente 30 minutos antes de exponer el producto alimenticio a la baja temperatura. Por lo general lo más preferido es que el producto alimenticio se exponga inmediatamente a baja temperatura tras agregar la composición conservante de isotiocianato. Tras la exposición, la temperatura del producto alimenticio deberá mantenerse a este bajo nivel durante al menos aproximadamente 12 horas, preferiblemente al menos aproximadamente 24 horas, más preferiblemente al menos aproximadamente 72 horas, y aún más preferiblemente al menos aproximadamente 120 horas, para prolongar el tiempo de residencia del compuesto isotiocianato sensible a la humedad en o sobre el producto alimenticio.

5. Prueba Método para medir el isotiocianato de 4-hidroxibencilo e identificar compuestos de isotiocianato sensibles a la humedad

Se puede utilizar la cromatografía de fluidos supercríticos para determinar la cantidad de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en una composición conservante. En primer lugar, una cantidad adecuadamente pesada de la composición conservante bien se disuelve en un disolvente compatible como acetato de etilo o mezclas de acetato de etilo y etanol, o las composiciones conservantes sólidas se extraen repetidamente con acetato de etilo.



Estas soluciones se analizan mediante cromatografía de fluidos supercríticos usando el método descrito por Buskov, S. y col., "Supercritical fluid chromatography as a method of analysis for the determination of 4-hydroxybenzylglucosinolate degradation products," *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 43, págs. 157-174 (2000) con las siguientes modificaciones. Se usó para el análisis un sistema Berger SFC 3D equipado con un detector de matriz de fotodiodos (Berger Instruments Inc., Newark, Alemania). Una solución de acetato de etilo (10 µl) que contenía butil parabeno como patrón interno se inyectó en una columna Cyano (15 cm X 5 mm i.d., tamaño de partículas 5 µm, Phenomenex, Torrance, CA, EE. UU.). La temperatura del horno es 50 °C. La fase móvil es CO<sub>2</sub> con MeOH al 4% como modificador mantenido a una presión de 20 MPa (200 Bar) y bombeado a 2 ml/min. El eluato se detecta a 226 nm y 252 nm. El isotiocianato de 4-hidroxibencilo eluye tras aproximadamente 3,8 min. Su identidad se confirmó cromatografiando una muestra pura de isotiocianato de 4-hidroxibencilo sintético preparado de la siguiente forma.

El método descrito por Soledade, M., Pedras, C. y Smith, K. C. titulada "Sinalexin, phytoalexin from whole mustard elicited by destrucina B y *Alternaria brassicane*" in *Phytochemistry*, 46(5), págs. 833-837, 1997 se modificó y utilizó de la siguiente forma: En un matraz de fondo redondo de 100 ml, se disolvió tiosfogeno (1,1 g, 9,56 mmol) en cloroformo. A continuación, una solución de p-hidroxibencilamina (400 mg, 3,25 mmol) y trietilamina (820 mg, 8,1 mmol) disuelta en metanol (20 ml) se agregó gota a gota a la solución agitada mantenida a 0-4 °C mediante un baño de hielo. Tras aproximadamente 30 min, finalizó la adición y la mezcla se dejó reposar en el baño de hielo durante 10 minutos más. La reacción fue seguida mediante cromatografía en capa fina sobre gel de sílice 60<sub>254</sub> usando el eluyente FCC como la fase móvil. A continuación, el disolvente se eliminó al vacío mediante evaporación rotatoria a 45 °C y el residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano-acetato de etilo (49+1; 4 ml). El compuesto se purificó adicionalmente mediante cromatografía súbita en columna como se describe en Still, W. C., Kahn, M. and Mitra A. J. in "Rapid chromatographic method for separation with moderate resolution," *Organic Chemistry*, 14, págs. 2923-2925. 1978, con modificaciones. Tras lavar la columna con fase móvil, el producto de reacción disuelto en fase móvil (4 ml) se colocó en la parte superior de la columna. La elución se realiza ajustando la sobrepresión de argón de forma que el frente de disolvente descienda aproximadamente 5,08 cm/min (2 pulgadas/min). Se recogieron alícuotas de 10 ml. El compuesto diana normalmente se eluye en las fracciones 6-10. Las fracciones se combinaron, y tras eliminar el disolvente mediante evaporación rotatoria a 45 °C en vacío, se obtuvo un aceite amarillo (rendimiento típico: 66%). La estructura del isotiocianato de 4-hidroxibencilo se confirmó mediante RMN <sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub>, RMN <sup>13</sup>C en CDCl<sub>3</sub> y GC-MS funcionando en modo impacto electrónico.

Los compuestos de isotiocianato sensibles a la humedad se identificaron suspendiendo el material que contiene isotiocianato en un tampón fosfato acuoso (pH de aproximadamente 3,6) a temperatura ambiente. La suspensión resultante se agitó bien, y a tiempo cero se tomó una muestra en un embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo. Esta extracción se repitió con dos volúmenes adicionales de acetato de etilo. Las capas de acetato de etilo separadas se combinaron y secaron con sulfato de sodio anhidro y se mantuvieron congeladas antes de analizar la concentración de isotiocianato a tiempo cero mediante cromatografía de fluidos supercríticos. Para determinar la sensibilidad del compuesto isotiocianato a la degradación hidrolítica, la suspensión de isotiocianato se almacenó a una temperatura entre aproximadamente 20 °C a aproximadamente 23 °C durante un periodo de aproximadamente 24 horas. El procedimiento de extracción se repitió 24 horas después y se midió el nivel de compuesto isotiocianato residual mediante cromatografía de fluidos supercríticos. Los compuestos de isotiocianato sensibles a la humedad se caracterizan mediante al menos aproximadamente una reducción del 20% en la concentración del isotiocianato tras aproximadamente 24 horas, relativo a la concentración a tiempo cero o de partida.

## 6. Ejemplos

### Ejemplo 1

Se generó un aceite esencial de mostaza blanca agregando agua a semillas de mostaza blanca trituradas, y extrayendo seguidamente el aceite esencial con dióxido de carbono supercrítico según los procesos conocidos descritos en la técnica. Inmediatamente tras la extracción, la humedad residual se retiró del aceite esencial por centrifugación y secado al vacío. El aceite esencial de mostaza blanca resultante contiene aproximadamente 25% en peso de isotiocianato de 4-hidroxibencilo. El aceite esencial se suspendió en un tampón fosfato acuoso (pH de aproximadamente 3,6) a temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C – 23 °C) y se determinó el nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo a tiempo cero y tras aproximadamente 24 horas de almacenamiento como se describe en la sección anterior. La reducción porcentual en el nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo tras 24 horas es de aproximadamente el 72%. Por tanto, el isotiocianato de 4-hidroxibencilo es un compuesto isotiocianato sensible a la humedad.

### Ejemplo 2

Se preparó una composición conservante líquida combinando el aceite esencial de mostaza blanca del Ejemplo 1 con glicerina según la siguiente formulación.

## ES 2 398 751 T3

	<u>% en peso</u>	<u>Peso</u>
Aceite esencial de mostaza blanca (del Ejemplo 1)	2,0%	2,0 g
Glicerina	<u>98,0%</u>	<u>98,0 g</u>
TOTAL	100%	100 g

5 La mezcla resultante se mezcló completamente para dispersar o disolver uniformemente el aceite esencial en el vehículo de glicerina. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en la composición conservante es de aproximadamente 0,5% en peso.

### Ejemplo 3

10 Se preparó una composición conservante pulverulenta triturando el aceite esencial de mostaza blanca del Ejemplo 1 con maltodextrina según la siguiente formulación.

	<u>% en peso</u>	<u>Peso</u>
Aceite esencial de mostaza blanca (del Ejemplo 1)	10,0%	10,0 g
Maltodextrina (15 DE)	<u>90,0%</u>	<u>90,0 g</u>
TOTAL	100%	100 g

15 La mezcla de materiales se mezcla o tritura completamente con un mortero y una mano de mortero. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en la composición conservante resultante es de aproximadamente 2,5% en peso. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en la composición conservante pulverulenta permanece estable durante el almacenamiento de la composición conservante a temperatura ambiente (aproximadamente 21,1 °C).

### Ejemplo 4

20 La composición conservante líquida del Ejemplo 2 se usó para conservar ternera picada durante el almacenamiento. La composición conservante líquida se agregó a ternera picada a un nivel de aproximadamente 2% en peso y la mezcla resultante se mezcló completamente para distribuir uniformemente la composición conservante dentro del producto. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en el producto de ternera picada resultante es de aproximadamente 0,01% en peso. La ternera picada se envasó y almacenó a aproximadamente 4 °C.

### Ejemplo 5

30 La composición conservante pulverulenta del Ejemplo 3 se agregó al agua de lavado muy fría de aves de corral. La composición conservante se dispersó en el agua de lavado con agitación. La temperatura de la agua de lavado es aproximadamente 4 °C y el nivel de adición de la composición conservante es de aproximadamente 1,8% en peso. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en el agua de lavado es de aproximadamente 0,045% en peso. La composición conservante se aplicó a la superficie de trozos de aves de corral por inmersión o sumergiendo las piezas individuales en el agua de lavado muy fría que contenía la composición conservante. Los trozos de aves de corral resultantes se envasaron a continuación y se almacenaron a aproximadamente 4 °C.

### Ejemplo 6

40 La composición conservante pulverulenta del Ejemplo 3 se agregó a una solución de salmuera muy fría a un nivel de aproximadamente 3,0% en peso. La solución de salmuera resultante se mezcló completamente para dispersar uniformemente la composición conservante. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en la solución de salmuera es de aproximadamente 0,075% en peso. La solución de salmuera se mantuvo a aproximadamente 4 °C y se inyectó bajo presión en el interior de trozos intactos de carne. El nivel de adición de la solución de salmuera a la carne es de aproximadamente 7% en peso. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en el producto de carne final es de aproximadamente 0,0053% en peso.

### Ejemplo 7

50 El aceite esencial de mostaza blanca del Ejemplo 1 se dispersó en una solución para marinada líquida muy fría para aplicación a productos cárnicos. La solución para marinada se mantuvo a aproximadamente 4 °C y el aceite esencial se dispersó con agitación vigorosa. El nivel de aceite esencial de mostaza blanca en la solución para marinada es de aproximadamente 1% en peso. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en la solución para marinada es de aproximadamente 0,25% en peso. Trozos intactos de carne (ternera, aves de corral, cerdo o pescado) mantenidos a aproximadamente 4 °C se sumergieron completamente en la solución para marinada que contenía el aceite esencial de mostaza blanca. La tasa de aplicación de la solución para marinada a la carne es de aproximadamente 4% en peso. El nivel de isotiocianato de 4-hidroxibencilo en los productos de carne marinados, es de aproximadamente 0,01% en peso. Los productos de carne marinada resultantes se envasaron y se almacenaron a aproximadamente 4 °C.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un producto alimenticio sólido que contiene una composición para conservar productos alimenticios sólidos, en donde dicha composición para conservar productos alimenticios sólidos contiene:
- a. un compuesto isotiocianato sensible a la humedad; siendo isotiocianato de 4-hidroxibencilo; y
  - b. un vehículo higroscópico;
- 10 en donde la composición comprende menos de 0,0005% en peso de ácido sórbico, ácido benzoico, y sales de los mismos.
- 15 2. El producto alimenticio de la reivindicación 1, caracterizado por que el compuesto isotiocianato sensible a la humedad está presente en una cantidad de 0,0025% a 10%, preferiblemente de 0,1% a 4%, en peso, de la composición.
- 20 3. El producto alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el vehículo higroscópico se selecciona del grupo que consiste en glicerina, polietilenglicol, propilenglicol, polisacáridos, oligosacáridos, maltodextrina, azúcares, alcoholes azucarados, sal, dióxido de silicio, silicoaluminato de sodio, silicato de calcio, silicato de magnesio, fosfato tricálcico, carbonato de magnesio, y mezclas de los mismos; preferiblemente el vehículo higroscópico se selecciona de maltodextrina, glicerina, y mezclas de las mismas.
- 25 4. El producto alimenticio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la composición no contiene ácido sórbico, ácido benzoico, o sales de los mismos.
- 30 5. El producto alimenticio sólido según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en frutas, verduras, carnes, quesos naturales y procesados, productos horneados, aperitivos, margarinas, untables y composiciones alimenticias gelificadas.
- 35 6. El producto alimenticio sólido según la reivindicación 1 ó 5, caracterizado por que el alimento es carne.
- 40 7. Un método para conservar un producto alimenticio sólido caracterizado por las etapas de:
- a) proporcionar un producto alimenticio sólido;
  - b) agregar al producto alimenticio sólido una composición conservante que comprende un compuesto isotiocianato sensible a la humedad que es isotiocianato de 4-hidroxibencilo y un vehículo higroscópico, en donde dicha composición conservante comprende menos de 0,0005% en peso de, ácido sórbico, ácido benzoico y sales de los mismos; y
  - c) en las 2 horas siguientes a agregar la composición conservante al producto alimenticio sólido, mantener la temperatura del producto alimenticio sólido a una temperatura no superior a 10 °C durante al menos 12 horas.