

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 365**

51 Int. Cl.:

**A23L 3/015** (2006.01)

**A23L 3/18** (2006.01)

**A23C 3/033** (2006.01)

**A61L 2/07** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2010** **E 10380094 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015** **EP 2409583**

54 Título: **Sistema continuo y procedimiento de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables mediante ultra alta presión de homogeneización**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.08.2015**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD AUTÒNOMA DE BARCELONA  
(100.0%)  
Edificio Rectorado - OTRI, Bellaterra  
08193 Barcelona, ES**

72 Inventor/es:

**GUAMIS LÓPEZ, BUENAVENTURA;  
TRUJILLO MESA, ANTONIO JOSÉ;  
FERRAGUT PÉREZ, VICTORIA;  
QUEVEDO TERRÉ, JOAN MIQUEL;  
LÓPEZ PEDEMONTE, TOMÁS y  
BUFFA DUNAT, MARTÍN NICOLÁS**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 543 365 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

Sistema continuo y procedimiento de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables mediante ultra alta presión de homogeneización

5

### Campo de la invención

La presente invención se refiere a un sistema continuo y procedimiento de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables mediante ultra alta presión de homogeneización, que se aplica a los sectores alimentario, farmacéutico, químico y cosmético y, en general, a cualquier tipo de producto bombeable, químicamente compatible con el sistema, obteniendo un producto susceptible de ser envasado asépticamente.

10

### Antecedentes de la invención

La esterilización es un tratamiento que permite la destrucción de formas vegetativas y esporas microbianas y la conservación prolongada de un producto almacenado a temperatura ambiente. Normalmente, se utilizan los tratamientos térmicos a temperaturas superiores a 100 °C. Es evidente que tras un tratamiento realizado en estas condiciones se producen efectos sobre las cualidades organolépticas del producto y en el caso de alimentos se pueden producir pérdidas importantes del valor nutritivo. Por otro lado, muchos productos no soportan estas condiciones y se desestabilizan físicamente. Los alimentos y otros productos esterilizados por este sistema poseen una vida útil superior a seis meses (dependiendo de su composición) mantenidos a temperatura ambiente. El proceso de esterilización se puede aplicar a los alimentos antes o después de su envasado, requiriéndose en cada caso tecnologías diferentes como veremos a continuación. La esterilización va siempre acompañada de la estabilización del alimento. En el caso de sólidos es necesaria la aplicación de aditivos que protejan el color y la textura y refuercen el sabor. En el caso de alimentos líquidos de naturaleza coloidal, para evitar la separación de fases, se realizan tratamientos mecánicos como es el caso de la homogeneización convencional y se añaden estabilizantes (emulgentes, espesantes, protectores de precipitación de sales, etc.) dependiendo de la complejidad del alimento.

20

25

En el caso de una esterilización de productos envasados, el tratamiento térmico se aplica al conjunto de envase y su contenido (alimento) y, dependiendo de la producción exigida, se puede utilizar un sistema por cargas o bien en continuo.

30

Cuando el alimento a esterilizar es un líquido cuya viscosidad permita bombearlo, se puede plantear un sistema de esterilización anterior al envasado, ligado a un envasado aséptico posterior. En este caso, el producto se hace circular por un circuito cerrado en el que se procede de una forma sucesiva a su precalentamiento, esterilización, enfriamiento y envasado aséptico. Generalmente, la esterilización se realiza a temperatura alta: 135-150°C, lo que permite un tiempo de procesado muy corto: 4-15 s. Este tratamiento suele denominarse UHT (del inglés, Ultra High Temperature). Los procesos UHT se implantaron a nivel industrial al comienzo de los años sesenta para el tratamiento de leche líquida, consiguiéndose productos con características más próximas a las de una leche pasteurizada que los que se obtenían con los esterilizadores convencionales que esterilizaban leche envasada en botella. Desde los años 60 hasta la actualidad, se han desarrollado procesos UHT también para otros productos lácteos (leche concentrada, nata, batidos, productos fermentados, helados, postres,...) y para sopas, salsas, purés, etc.

35

40

En comparación con la esterilización de productos envasados, el proceso UHT ahorra tiempo, energía, espacio y mano de obra. Actualmente, en el mercado existen dos sistemas de tratamiento UHT: los sistemas directos, en los que el producto entra en contacto directo con el medio de calefacción (vapor de agua), y los sistemas indirectos, en los que el calor se transmite a través de una superficie de separación, en un intercambiador de calor.

45

50

En estos procesos de esterilización, y dependiendo del tipo de alimento, sobre todo en aquellos donde exista una emulsión tipo aceite en agua (por ejemplo, leche, salsas de aderezo, batidos de base láctea o mixes de helados) es necesario introducir un proceso de homogeneización previo o posterior al tratamiento térmico. La acción de los homogeneizadores reduce el tamaño de las gotas de la fase dispersa para estabilizar al producto frente a un posible fenómeno de cremado durante su almacenamiento. Los homogeneizadores a presión están constituidos por una bomba a alta presión que trabaja a 10-70 MPa dotada de una válvula de homogeneización en la boca de descarga. Al bombear líquido del espacio existente entre la válvula y su asiento, la elevada presión que se genera mueve el líquido a gran velocidad. A la salida de la válvula, la velocidad del movimiento del líquido cae

55

bruscamente y la extrema turbulencia que se produce genera una intensa fuerza de cizalla. Otras fuerzas que intervienen en el proceso de reducción de tamaño de partícula son el colapso de las burbujas de aire (cavitación) y las fuerzas de impacto que se crean en las válvulas durante el trayecto del líquido. En algunos alimentos, por ejemplo, la leche, a veces se produce una distribución anormal de partículas produciendo agregados. Una segunda válvula, semejante a la primera, instalada en el trayecto del líquido, rompe de nuevo estos agregados.

El tratamiento térmico causa, por una parte, efectos beneficiosos sobre el alimento como la inactivación microbiana pero, paralelamente, genera cambios químicos y físico-químicos indeseables los cuales pueden afectar las propiedades nutricionales, organolépticas y/o tecnológicas dependiendo del tratamiento aplicado.

El flavor (aroma+sabor+consistencia) es un parámetro muy importante a tener en consideración como aspecto de calidad para el consumidor de uno de los alimentos esterilizados más consumidos, como es la leche, sobre todo si ésta se consume como una bebida. El tratamiento térmico tiene un efecto muy importante sobre el flavor de la leche pudiendo afectar en mayor o menor grado, según la intensidad del tratamiento aplicado. Una leche esterilizada UHT (135-150°C, 2-20 s) se identifica por un aroma cocido, causado principalmente por la presencia de H<sub>2</sub>S liberado tras la desnaturalización proteica, junto con aroma "caramelo" y otro típico asociado a la formación de cetonas. Durante un tratamiento de esterilización en botella convencional (105-120°C, 10-40 min) se desarrolla un fuerte aroma a cocido, cetona y a caramelo, este último causado por la formación de ciertos productos de la reacción de Maillard y productos de caramelización, los cuales pueden incluso enmascarar el aroma a cocido. Otros fenómenos físicos y bioquímicos que pueden producir estos tratamientos térmicos son inestabilidad de los productos durante su almacenamiento a temperatura ambiente por precipitación de proteínas, separación de fases, cremado (separación de la materia grasa aunque el producto haya sido previamente homogenizado), lo que hace que tengamos que utilizar ciertos tipos de aditivos como emulgentes, estabilizantes o reguladores de pH para poder minorizar o suavizar estos efectos derivados del tratamiento térmico. En alimentos menos complejos, como son los zumos, se produce una drástica pérdida de su contenido vitamínico (vitamina C y otras vitaminas hidrosolubles), alteraciones importantes en su sabor y aromas originales (pérdida de componentes volátiles), así como cambios en su color.

La tecnología de Ultra Alta Presión Homogeneización (UHPH, de las siglas en inglés, Ultra High Pressure Homogenization) se basa en los mismos principios que la homogeneización convencional con la gran diferencia de que se pueden alcanzar presiones superiores a 200 MPa, gracias al diseño de las válvulas y a la utilización de nuevos materiales. El tratamiento UHPH puede ser asociado con las técnicas físicas emergentes ya que su acción se debe a fuerzas combinadas de cizalla, turbulencia, cavitación e impacto causadas por la aplicación de altas presiones dinámicas. Sin embargo, esta tecnología no debe de ser confundida con otra tecnología también basada en altas presiones como es el tratamiento de altas presiones hidrostáticas (HHP, del inglés High Hydrostatic Pressure). Esta tecnología, al igual que la UHPH, se desarrolló como alternativa a los tratamientos térmicos convencionales en la destrucción de microorganismos patógenos y alterantes, pero tanto los sistemas o equipos de trabajo como los mecanismos de inactivación microbiana que actúan en esta tecnología son bien diferentes en comparación con la UHPH como veremos a continuación. Los equipos de HHP son equipos que trabajan por cargas (proceso discontinuo) de producto previamente envasado en materiales flexibles y cerrados garantizando su estanqueidad; estos equipos están formados básicamente por un cilindro en cuyo interior se encuentra un fluido estático transmisor de presión que normalmente es el agua (de ahí el nombre de hidrostático), un sistema de generación de presión (bomba de baja presión y un intensificador de presión). En esta tecnología el alimento envasado se coloca dentro del cilindro de presurización, el cual se llena del líquido transmisor de presión (normalmente, agua) hasta alcanzar las condiciones seleccionadas de presión, 400-1000 MPa; (en equipos industriales de aplicaciones alimentarias hasta 600 MPa) manteniéndose durante el tiempo deseado. En este tiempo, la presión se transmite isostáticamente, lo que conlleva que el producto es tratado homogéneamente, independientemente de la forma o tamaño, y, a su vez, evita que éste se deforme durante el tratamiento. Posteriormente, tras la despresurización el cilindro se abre para extraer el producto de la máquina.

En cuanto a los mecanismos de inactivación microbiana, la tecnología HHP puede inactivar microorganismos induciendo cambios en su morfología, reacciones bioquímicas, mecanismos genéticos o en su membrana celular. Normalmente las esporas son resistentes a estos tratamientos a menos que se hagan tratamientos combinados con altas temperaturas.

Los equipos UHPH desarrollados hasta el momento son capaces de procesar fluidos o sistemas alimenticios bombeables hasta presiones de 400 MPa trabajando en procesos continuos. Hasta el momento, se han utilizado diferentes equipos de homogeneización por alta presión en industrias químicas, farmacéuticas y especialmente de alimentos y biotecnología con el fin de emulsionar, dispersar, mezclar y procesar sus productos.

En los ultrahomogeneizadores, la válvula de homogeneización está fabricada con materiales (por ejemplo,

cerámicos) capaces de soportar presiones de hasta 400 MPa (aunque es probable su evolución para alcanzar presiones aún mas elevadas) y temperaturas superiores a 100 °C. Además, la geometría de la válvula es diferente comparada con la clásica válvula APV-Gaulin encontrada en los homogeneizadores convencionales.

- 5 Esta tecnología produce la disrupción de partículas en dispersión incluidos los microorganismos. Las partículas pueden ser de naturaleza variada y son comunes en alimentos coloidales como la leche, licuados vegetales, zumos turbios, etc. Entre los posibles procesos físicos implicados en la ruptura microbiana (mecanismo principal de inactivación microbiana) durante la UHPH se encuentran: la repentina caída de presión, fuerzas de impacto, corte y torsión, turbulencia y cavitación. El incremento de temperatura alcanzado por el producto después de pasar por la válvula contribuye a la inactivación microbiana (incluidas las esporas), ya que es un efecto aditivo a las fuerzas físicas desarrolladas en la válvula del homogeneizador.

- 15 A pesar de que podemos considerar la tecnología de UHPH como una alternativa a los tratamientos térmicos, durante el proceso UHPH se produce un marcado incremento de la temperatura del producto debido: (1) al incremento de presión que ocurre en el intensificador y en la tubería situada antes de entrar a la válvula que generan una compresión del fluido y (2) a las fuerzas a las que es sometido el fluido al pasar por la válvula de alta presión y a la conversión de energía cinética en energía térmica.

- 20 El aumento de presión precedente a la etapa de homogeneización y la fricción causada por la alta velocidad del fluido eleva la temperatura del producto aproximadamente 2-2,5°C por cada 10 MPa (un aumento de temperatura de 20°C a 55°C en un ciclo de homogenización a 150 MPa). Sin embargo, este efecto térmico que se aplica en tiempos ultracortos (<0,5 s) opcionalmente se puede anular o minimizar al máximo por la introducción de un equipo de frío que, tras la caída de presión del producto, controle la temperatura de una forma rápida y eficaz. De igual forma, el aumento de temperatura debido al ciclo de homogenización se podría favorecer y maximizar si introducimos el producto a temperaturas de 40-90°C obteniéndose incluso temperaturas de esterilización (hasta 150°C), en forma de *flash*, tras el paso de la primera etapa de homogeneización.

- 30 Con respecto a la aplicación de la tecnología UHPH en fluidos alimentarios, se ha sugerido que este tratamiento puede producir la pasteurización de diversos productos como la leche, licuados vegetales, huevo, zumos, etc. (Donsì, F., Ferrari, G., & Maresca, P. 2009. *High-Pressure Homogenization for Food Sanitization*. Chapter 19, pages 309-335. 2In: *Global Issues in Food Science and Technology*. Ed. Barbosa-Cánovas, G. et al. Academic Press. Burlington, MA, USA.). Sin embargo, los equipos y procesos utilizados han mostrado que no son suficientes para alcanzar la esterilidad de los productos estudiados. Por ejemplo, Puig et al. (2008) estudiaron el efecto del tratamiento UHPH (200 MPa, temperatura de entrada 6-8°C) sobre las características microbiológicas y físico-químicas del mosto de uva, obteniendo una microbiota residual en el producto pero con unas excelentes características sensoriales. Donsì et al. (*High-Pressure Homogenisation for Food Sanitisation*. Proceedings of the 13th World Congress of Food Science and Technology 'Food is Life', Nantes, 17–21 September 2006, 1851–1862, doi:10.1051/IUFoST:20060497.) estudiaron el efecto de diferentes ciclos de UHPH a 250 MPa en zumos de naranja, manzana y piña, evaluando la inactivación microbiana y la pérdida de calidad en los productos tratados. La UHPH fue un tratamiento efectivo en la obtención de zumos de frutas pasteurizados, alargando así su vida útil y manteniendo sus características sensoriales durante 28 días refrigerando el producto a 4°C.

- 45 Otros investigadores han sugerido la adición de componentes antimicrobianos para mejorar la inactivación microbiana producida por un tratamiento UHPH. Así, Pathanibul et al. (2009. *Inactivation of Escherichia coli and Listeria innocua in apple and carrot juices using high pressure homogenization and nisin*. International Journal of Food Microbiology 129, 316–320.) estudiaron la adición de nisin (0-10 UI/ml) en zumos de manzana y zanahoria inoculados con *Escherichia coli* o *Listeria innocua* (~7 log ufc/ml) y tratados por UHPH (0-350 MPa), observaron importantes reducciones microbianas (~5 log ufc/ml) pero no alcanzaron la eliminación total de estas bacterias.

- 50 El problema de los ultrahomogeneizadores es que no garantizan por sí mismos la esterilización y posterior envasado de los alimentos en condiciones asépticas. Es decir, que es necesario combinar una serie de equipos en un "Sistema" que permita la esterilización (incluida la destrucción de esporas de resistencia), la estabilización sin aditivos o con un mayor control de las concentraciones de éstos y el envasado en condiciones asépticas.

## 55 Descripción de la invención

- 60 El sistema y procedimiento que aquí se describen permiten (1) el tratamiento y conservación de alimentos y productos de otra naturaleza que son bombeables (incluso, los sensibles al calor) alcanzando al final del tratamiento la esterilidad comercial del producto, (2) la estabilización del producto sin el uso de aditivos (o reduciendo al mínimo su concentración), (3) evitar la precipitación, minimizando, por ejemplo, la

- desnaturalización y agregación proteica, (4) evitar la separación de fases debido a su intenso efecto homogeneizador y (5) mantener el color, sabor y aromas originales de los alimentos tratados debido a un mínimo efecto térmico, que conjuntamente con el efecto homogeneizador produce la esterilización del producto, salvaguardando las características organolépticas y nutricionales del producto y solucionando los problemas que habitualmente presentan la esterilización convencional y la UHT. El efecto térmico producido sobre el fluido alimenticio a su paso por el ultrahomogeneizador se reduce al mínimo mediante la introducción de un equipo de frío, que tras la caída de presión, ajusta la temperatura de aquél de una forma rápida y eficaz.
- El término “esterilidad comercial” se usa en este contexto referido a un producto alimenticio en el que las condiciones alcanzadas durante la aplicación del tratamiento produce un alimento libre de formas microbianas viables con efecto significativo sobre la salud pública, y libre de formas microbianas sin efecto significativo sobre la salud pública que sean capaces de reproducirse en el alimento bajo condiciones normales de almacenamiento y distribución. Por otra parte, se da por entendido que la preparación y acondicionado de los alimentos se realiza bajo condiciones sanitarias, y estos alimentos de forma ordinaria no contendrán un número excesivo de microorganismos. Un aspecto importante de la esterilidad comercial es que pueden presentarse microorganismos vivos en bajo número en el producto final envasado y esterilizado, pero cuando el alimento es almacenado por tiempos razonablemente largos, los microorganismos no crecerán, y el alimento permanecerá seguro y comestible.
- Según un primer aspecto, se proporciona un sistema continuo de esterilización y estabilización de fluidos bombeables, alimenticios o de otras naturalezas, mediante ultra alta presión de homogeneización (UHPH), siendo dichos fluidos compatibles con los materiales que componen el sistema (principalmente, acero inoxidable).
- En dicho sistema se encuentran comprendidos los siguientes equipos de tratamiento: (1) un primer intercambiador de calor, que precalienta el fluido, alimenticio o no, a una temperatura  $T_p$  entre 40 y 90°C, procediendo dicho fluido (entre 0 y 39°) de un tanque de almacenamiento; (2) un ultrahomogeneizador, que dispone de una válvula apta para trabajar a elevadas presiones, a través del cual el fluido previamente calentado a la temperatura  $T_p$  es introducido a una presión  $P_u$  entre 200 y 600 MPa, aumentando así la temperatura del fluido hasta un valor final  $T_u$  que es proporcional a la temperatura  $T_p$  y a la presión  $P_u$  aplicados en dicho ultrahomogeneizador; (3) al menos un segundo intercambiador de calor en el que se reduce la temperatura del fluido que sale del ultrahomogeneizador a un valor deseado de temperatura de enfriamiento  $T_e$ , que dependerá de la tecnología del producto final y (4) un tanque aséptico que recibe el fluido enfriado al valor de temperatura  $T_e$ , y desde el cual se bombea el fluido a (5) una envasadora aséptica.
- Tras salir de la válvula del ultrahomogeneizador, el valor final de temperatura del fluido  $T_u$  se mantiene durante 0,1 – 1 s. Opcionalmente, y si es necesario, se puede hacer una retención del fluido a la temperatura final  $T_u$  por un periodo superior a 1 s.
- En el segundo intercambiador de calor, el valor deseado de temperatura de enfriamiento  $T_e$  del fluido depende de la tecnología de éste. Es decir, un valor de temperatura de enfriamiento de 20-25 °C para productos sin gelificar y un valor de 55 °C para productos que gelifican en el interior del envase, tales como, como natillas, puddings, etc.
- Según un segundo aspecto, se proporciona también un procedimiento de esterilización y estabilización de fluidos bombeables, alimenticios o de otras naturalezas, mediante ultra alta presión de homogeneización, a partir de un sistema continuo que comprende un primer intercambiador de calor de calentamiento previo, desde el que se envía el fluido precalentado a un ultrahomogeneizador que trabaja entre 200 y 600 MPa; un segundo intercambiador de calor para enfriar el fluido tras su paso por el ultrahomogeneizador; un tanque aséptico que recibe el alimento enfriado, y desde el cual se bombea a una envasadora aséptica.
- El procedimiento, novedosamente, comprende las siguientes etapas basadas en dicho sistema continuo:
- una esterilización previa del sub-sistema que comprende el ultrahomogeneizador hasta su conexión con el tanque aséptico, en la cual se introduce agua en el sistema y se incrementa la presión hasta 300-600 MPa, se detiene el ultrahomogeneizador y se cierra la entrada del fluido a procesar, se introduce a continuación vapor de agua hasta lograr una temperatura de 140 °C, manteniéndola durante 30-60 min; y esterilización previa del tanque aséptico mediante un proceso por inyección de vapor hasta alcanzar 140°C, manteniendo esta temperatura durante 30-60 min, y enfriamiento por doble camisa, manteniendo una presión positiva con aire esterilizado mediante filtros (ente 0,2 a 0,4  $\mu$ ) a 0,4-6 bares de presión.

- 5 - una vez el sistema está/se encuentra "a régimen", es decir, cuando el sistema se encuentra trabajando con agua de forma continua y estable a la temperatura y presión seleccionadas, el fluido empuja al agua y pasa a través del primer intercambiador de calentamiento previo, se introduce a una temperatura de precalentamiento  $T_p$  de entre 40 y 90 °C y a una presión  $P_u$  de entre 200 y 600 MPa, en la válvula del ultrahomogeneizador, hasta alcanzar una temperatura  $T_u$ , la cual se mantiene tras su salida de la válvula durante 0,1-1 s.
- 10 - tras su estancia en el ultrahomogeneizador, se enfría el fluido a través del intercambiador de enfriamiento, donde su temperatura de enfriamiento es ajustada a un valor deseado  $T_e$ , que depende de la tecnología del producto. Es decir, un valor de temperatura de enfriamiento  $T_e$  de 20-25 °C para productos sin gelificar y de 55 °C para productos que gelifican en el interior del envase, tales como, natillas, puddings y similares. A continuación, se envía al tanque aséptico, desde el cual, el fluido es bombeado y envasado posteriormente en una envasadora aséptica.
- 15 El sistema por su diseño además de ser esterilizable por vapor de agua se limpia usando detergentes neutros convencionales o mediante el uso de detergentes enzimáticos compatibles con los materiales usados.
- 20 El sistema permite simultáneamente la esterilización de un alimento líquido, destruyendo formas vegetativas microbianas y esporas, consiguiendo la estabilización física (evita la precipitación y separación de componentes como el cremado), la formación de nanocápsulas con la incorporación de los componentes bioactivos, además reduce la alergenicidad de las proteínas y todo esto manteniendo el color natural, el sabor incluso mejorándolo y el valor nutritivo con apariencia de producto fresco.
- Lo anterior es aplicable también a los cosméticos y fármacos
- 25 Breve descripción de los dibujos
- 30 A fin de comprender mejor la invención, se describe muy brevemente una figura relacionada expresamente con una realización de la invención, como un ejemplo no limitativo de ésta. La Figura 1 muestra un diagrama del sistema descrito aquí, que combina una serie de equipos en un orden específico y unas condiciones concretas para esterilizar fluidos bombeables.
- Ejemplo de realización
- 35 A continuación, se muestra un ejemplo ilustrativo, no limitativo, de la invención. A efectos prácticos, se tomará como ejemplo el tratamiento UHPH del licuado de soja, ya que el procedimiento de elaboración del producto base no varía con respecto al convencional. No obstante, se describe el proceso de elaboración del licuado de soja crudo (producto base), a partir de 100 kg de habas de soja:
- 40 - Limpieza e hidratación del haba de soja (15 h temperatura ambiente),
- Trituración (80-85°C durante 20 min),
- Paso por molino coloidal,
- 45 - Filtración y
- Obtención de muestra cruda de licuado de soja.
- 50 La composición (promedio (%p/p)  $\pm$  desviación estándar) del licuado de soja obtenido mediante el procedimiento descrito, utilizando la semilla de soja (*Glycine max*) de la variedad Majesta fue: 5.78  $\pm$  0,47 de materia seca; 1,36  $\pm$  0,22 de lípidos totales y 3,10  $\pm$  0,15 de proteína bruta.
- La muestra cruda se somete al sistema y procedimiento de la presente invención, en las condiciones óptimas siguientes:
- 55

a) Esterilización previa del sistema formado por intercambiadores de calor (1 y 4), ultrahomogeneizador, tanque aséptico y envasadora aséptica,

5 b) Precalentamiento del licuado de soja procedente de un tanque de almacenamiento (2) a través de un primer intercambiador de calor (1) a una temperatura  $T_p$  de 75°C, para su posterior introducción en un ultrahomogeneizador (3),

10 c) En el ultrahomogeneizador (3), se realiza el tratamiento del licuado de soja a una presión  $P_u$  de 300 MPa. En estas condiciones de presión, el licuado llega hasta temperatura  $T_u$  de 130-137°C durante 0,5 s,

d) Enfriamiento instantáneo mediante un intercambiador de calor (4), hasta una temperatura inferior a 26°C. En este ejemplo se emplean dos intercambiadores de calor.

15 e) Envío del fluido enfriado a un tanque aséptico (5) para su posterior envasado en una envasadora aséptica.

20 Para demostrar que el sistema y etapas consiguen unas condiciones que son las óptimas del tratamiento de ultra alta presión de homogeneización del licuado de soja, las cuales suponen la esterilización comercial del mismo con unas características de calidad excelentes, a continuación se aportan datos del estudio realizado. Este supone el análisis comparativo de un total de tres producciones individuales entre diferentes condiciones de tratamiento UHPH (Ultra Alta Presión de Homogeneización) y de tratamientos térmicos convencionales tales como la pasteurización y la esterilización UHT a partir del mismo producto base. Los parámetros analizados fueron los más relevantes en la calidad del producto.

25 Condiciones de tratamiento

Tratamiento térmico de pasteurización: 95°C / 30 s, con homogenización de 1 etapa a 18 MPa.

Tratamiento térmico UHT: 142°C / 6 s, con homogenización de 2 etapas (18 y 4 MPa).

30 UHPH (Homogeneización a presiones ultraelevadas): según se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones UHPH ensayadas

| Tratamientos | T de entrada (°C) | T válvula (°C) | T salida (°C) |
|--------------|-------------------|----------------|---------------|
| 300 MPa      | 55                | 127            | 26            |
| 200 MPa      | 55                | 106            | 26            |
| 300 MPa      | 65                | 130            | 25            |
| 200 MPa      | 65                | 111            | 26            |
| 300 MPa      | 75                | 137            | 25            |
| 200 MPa      | 75                | 119            | 23            |

35 Ensayos microbiológicos

40 Por las características de la materia prima (habas de soja) derivadas de su origen y posterior manipulación, los microorganismos patógenos presentes a considerar son aquellos que presentan ecológicamente una elevada resistencia a condiciones de baja actividad de agua, debiendo considerar por una parte a ciertas enterobacterias entre las que se debe tener en consideración como patógena a *Salmonella* spp., a ciertas micrococáceas entre los que se incluye *Staphylococcus aureus*, a levaduras y hongos, así como microorganismos esporulados entre los que se debe destacar por su carácter patógeno a *Bacillus cereus*, o por su efecto en la alteración de los productos a *B. subtilis* o *B. mesenteroides*.

45 Evaluación de oxidación

Formación de hidroperóxidos

- 5 La determinación de hidroperóxidos se realizó en muestra fresca en un periodo de 24 h después del tratamiento y tras 15 días de almacenamiento a 4°C. Se utilizó el método descrito por Ostdal, et al. (2000). H., Andersen, H. J., & Nielsen, J. H. (2000). Antioxidative activity of urate in bovine milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 5588-5592.

Actividad Lipoxigenasa (LOX)

- 10 Para la obtención del extracto LOX se utilizó la metodología descrita por: Axelrod, B., Cheesbrough, T. M., & Laasko, S. (1981). Lipoxygenase from soybean. methods in enzymology. Ed. J. M. Lowenstein. Waltham, Massachusetts pp. 441-451. Y la actividad LOX se determinó mediante uso de la metodología descrita por Van der Ven, C., Matser, A. M., & Van den Berg, R. W. (2005). Inactivation of soybean trypsin inhibitors and lipoxygenase by high-pressure processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1087-1092.

15

Estabilidad física

La estabilidad física se determinó mediante dos métodos:

- 20 - Centrifugación y determinación del porcentaje en peso de la capa de sedimentación
- En botellas a través de valoración cualitativa de la capa de sedimento en el almacenamiento (2, 5 y 7 días).

Tamaño de partícula

25

Se determinó por dispersión de luz láser en un analizador Beckman Coulter LS™ 13320, que permite detectar partículas o gotas de diámetro comprendido entre 0,04 y 2000 µm.

Actividad de inhibidores de tripsina (TIA)

30

Los extractos de TIA y la analítica fueron obtenidos y analizados a través de las metodologías descritas por: Guerrero-Beltrán, J. A., Estrada-Girón, Y., Swanson, B. & Barbasa-Cánovas, G. V. (2009). Pressure and temperature combination for inactivation of soymilk trypsin inhibitors. *Food Chemistry* 116, 676-679., y Hamerstrand, G. E., Black, L. T., & Glover, J. D. (1981). Trypsin-inhibitors in soy products - Modification of the standard analytical procedure. *Cereal Chemistry* 58, 42-45.

35

Resultados

Tabla 2. Recuento microbiológico (log UFC/ml) en el licuado de soja (Media ± desviación estándar)

40

| Tratamiento  | Recuento mesófilos | Esporas    | Entero-bacterias | Mohos      | Levaduras  |
|--------------|--------------------|------------|------------------|------------|------------|
| Crudo        | 7,84± 0,11         | 4,94± 0,16 | 2,57 ± 0,02      | 1,60± 0,00 | 2,96± 0,07 |
| Pasteurizado | 4,93± 0,07         | 3,67± 0,58 | ND               | ND         | ND         |
| UHT          | ND                 | ND         | ND               | ND         | ND         |
| 200MP, 55°C  | 5,29± 0,25         | 1,61± 0,12 | ND               | ND         | ND         |
| 200MP, 65°C  | 4,51± 0,34         | 1,50± 0,21 | ND               | ND         | ND         |
| 200MP, 75°C  | ND                 | ND         | ND               | ND         | ND         |
| 300MP, 55°C  | ND                 | ND         | ND               | ND         | ND         |
| 300MP, 65°C  | ND                 | ND         | ND               | ND         | ND         |
| 300MP, 75°C  | ND                 | ND         | ND               | ND         | ND         |

Continuación:

| Tratamiento  | <i>S. aureus</i> | <i>B. cereus</i> | <i>Salmonella</i> | Incubación a 30°C<br>(1 semana) <sup>a</sup> |
|--------------|------------------|------------------|-------------------|----------------------------------------------|
| Crudo        | ND               | 6,35± 0,01       | ND                |                                              |
| Pasteurizado | ND               | 4,87± 0,17       | ND                |                                              |
| UHT          | ND               | ND               | ND                | -                                            |
| 200 MP, 55°C | ND               | 4,08± 0,19       | ND                | +                                            |
| 200 MP, 65°C | ND               | 3,40± 0,12       | ND                | +                                            |
| 200 MP, 75°C | ND               | ND               | ND                | +                                            |
| 300 MP, 55°C | ND               | ND               | ND                | +                                            |
| 300 MP, 65°C | ND               | ND               | ND                | +                                            |
| 300 MP, 75°C | ND               | ND               | ND                | -                                            |

ND: No detectado

a: (+) Crecimiento bacteriano y coagulación de la muestra: (-) Sin crecimiento bacteriano.

- 5 Tabla 3. Valores medios (± d.e) de formación de hidroperóxidos (absorbancia), actividad lipoxigenasa (LOX), porcentaje de actividad residual de inhibidores de tripsina en relación a la muestra cruda y pH

| Tratamiento  | Hidroperóxidos (abs) |              | LOX | TIA(actividad residual %) | pH          |
|--------------|----------------------|--------------|-----|---------------------------|-------------|
|              | 0 día                | 15 días      |     |                           |             |
| Crudo        | 0,917 ± 0,07         | 0,956 ± 0,04 | ND  | 100,0                     | 6,69 ± 0,01 |
| Pasteurizado | 0,943 ± 0,04         | 1,257 ± 0,01 | ND  | 91,4                      | 6,73 ± 0,01 |
| UHT          | 0,801 ± 0,03         | 0,681 ± 0,03 | ND  | 69,9                      | 6,79 ± 0,01 |
| 300 MP, 55°C | 0,676 ± 0,09         | 0,996 ± 0,03 | ND  | 65,0                      | 6,69 ± 0,01 |
| 200 MP, 55°C | 0,947 ± 0,03         | 1,028 ± 0,02 | ND  | 61,2                      | 6,70 ± 0,01 |
| 300 MP, 65°C | 0,700 ± 0,01         | 0,655 ± 0,01 | ND  | 66,0                      | 6,71 ± 0,01 |
| 200 MP, 65°C | 1,007 ± 0,01         | 1,024 ± 0,08 | ND  | 54,9                      | 6,69 ± 0,01 |
| 300 MP, 75°C | 0,671 ± 0,07         | 0,588 ± 0,01 | ND  | 64,1                      | 6,72 ± 0,01 |
| 200 MP, 75°C | 0,921 ± 0,01         | 0,963 ± 0,05 | ND  | 63,0                      | 6,69 ± 0,01 |

10

Tabla 4. Estabilidad física. Porcentajes medios (± d.e) de sedimentación por centrifugación

| Tratamiento  | Estabilidad física (%) |             |
|--------------|------------------------|-------------|
|              | día 1                  | día 15      |
| Crudo        | 12,07 ± 3,26           | 9,06 ± 0,27 |
| Pasteurizado | 11,75 ± 1,06           | 4,58 ± 0,02 |
| UHT          | 7,80 ± 1,09            | 4,28 ± 0,16 |
| 300 MP, 55°C | 1,88 ± 0,27            | 1,71 ± 0,03 |
| 200 MP, 55°C | 1,37 ± 0,09            | 1,57 ± 0,02 |
| 300 MP, 65°C | 1,93 ± 0,09            | 1,63 ± 0,05 |
| 200 MP, 65°C | 1,43 ± 0,06            | 1,73 ± 0,10 |

|              |             |             |
|--------------|-------------|-------------|
| 300 MP, 75°C | 1,52 ± 0,17 | 1,48 ± 0,10 |
| 200 MP, 75°C | 1,47 ± 0,08 | 1,63 ± 0,03 |

Tabla 5. Estabilidad física. Valores de sedimentación estática

| Tratamiento  | Altura de la capa formada (mm) |       |       |
|--------------|--------------------------------|-------|-------|
|              | día 2                          | día 5 | día 7 |
| Crudo        | 7,0                            | 9,0   | 9,0   |
| Pasteurizado | 2,0                            | 3,0   | 3,0   |
| UHT          | 5,0                            | 5,0   | 5,0   |
| 300 MP, 55°C | ND                             | ND    | ND    |
| 200 MP, 55°C | ND                             | ND    | ND    |
| 300 MP, 65°C | ND                             | ND    | ND    |
| 200 MP, 65°C | ND                             | ND    | ND    |
| 300 MP, 75°C | ND                             | ND    | ND    |
| 200 MP, 75°C | ND                             | ND    | ND    |

ND: No detectado

5

Tabla 6. Tamaño medio de partículas licuado de soja

| Tratamiento  | D <sub>10</sub> µm | D <sub>50</sub> µm | D <sub>90</sub> µm |
|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Crudo        | 1,05 ± 0,02        | 10,44 ± 0,20       | 26,92 ± 1,69       |
| Pasteurizado | 5,57 ± 2,07        | 45,12 ± 9,48       | 99,04 ± 18,0       |
| UHT          | 0,23 ± 0,00        | 2,24 ± 0,07        | 37,87 ± 1,47       |
| 300 MP, 55°C | 0,10 ± 0,00        | 15,23 ± 1,11       | 54,72 ± 6,34       |
| 200 MP, 55°C | 0,08 ± 0,00        | 0,15 ± 0,01        | 32,04 ± 8,59       |
| 300 MP, 65°C | 0,09 ± 0,00        | 6,87 ± 0,69        | 33,62 ± 2,44       |
| 200 MP, 65°C | 0,12 ± 0,00        | 28,58 ± 0,63       | 66,49 ± 1,82       |
| 300 MP, 75°C | 0,10 ± 0,00        | 8,88 ± 0,47        | 38,03 ± 1,85       |
| 200 MP, 75°C | 0,11 ± 0,00        | 18,12 ± 0,67       | 45,58 ± 2,92       |

D<sub>10</sub> µm: es el diámetro por debajo del cual se hallan el 10% de la fracción de volumen de las partículas;

D<sub>50</sub> µm: es el diámetro por debajo del cual se hallan el 50% de la fracción de volumen de las partículas;

D<sub>90</sub> µm: es el diámetro por debajo del cual se hallan el 90% de la fracción de volumen de las partículas.

10

### Conclusiones

El tratamiento del licuado de soja, mediante el sistema propuesto para patente con una temperatura de entrada al ultrahomogenizador de 75°C y una presión de 300 MPa consigue lo siguiente:

15

- Esterilización del producto.

- Gran estabilidad física frente a la precipitación del producto y frente al desnatado espontáneo.

20

- Nivel de oxidación (contenido en hidroperóxidos) inferior al producto obtenido por un tratamiento de esterilización UHT.

- Nivel de inhibidores de la tripsina (digestibilidad) similares al UHT.

5 - Producto más agradable al paladar que los tratados UHT (datos no mostrados), lo que significa que el sabor a "hierba" y a "haba" es más reducido.

# REIVINDICACIONES

1. Sistema continuo de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables, alimenticios o de otras naturalezas, mediante ultra alta presión de homogeneización (UHPH), **caracterizado** por comprender:
  - 5 - un primer intercambiador de calor 1 para precalentar el fluido a una temperatura  $T_p$  entre 40 y 90 °C;
  - 10 - un homogeneizador de ultra alta presión 3 que dispone de una válvula para tratar el fluido precalentado a una presión de entre 200 y 600 MPa, estando configurado dicho homogeneizador para mantener el fluido a una temperatura  $T_u$  durante 0,1 - 1s, cuando sale de la válvula, correspondiendo dicha  $T_u$  a la temperatura alcanzada por el fluido en la válvula;
  - 15 - al menos, un segundo intercambiador de calor 4 para enfriar el fluido proveniente del ultrahomogeneizador 3 hasta un valor de temperatura de enfriamiento  $T_e$ ;
  - 20 - un tanque aséptico 5 y una envasadora aséptica.
2. Procedimiento de esterilización y estabilización física de fluidos bombeables, alimenticios o de otras naturalezas, mediante ultra alta presión de homogeneización, a partir de un sistema continuo que incluye un primer intercambiador de calor de calentamiento 1 previo, desde el que se envía el fluido precalentado a un ultrahomogeneizador 3 que dispone de una válvula de alta presión, donde es introducido el fluido a presiones entre 200 y 600 MPa; al menos un segundo intercambiador de enfriamiento 4 para reducir la temperatura del fluido tras su salida de la válvula del ultrahomogeneizador 3; un tanque aséptico 5 que recibe el alimento enfriado, y desde el cual se envía a una envasadora aséptica, **caracterizado** por comprender:
  - 25 - una etapa de esterilización previa del sistema que comprende el ultrahomogeneizador 3 hasta su conexión con el tanque aséptico 5, en la cual se introduce agua en el sistema y se incrementa la presión hasta 300-600 MPa, se detiene el ultrahomogeneizador y se cierra la entrada del fluido, para, a continuación, introducir vapor de agua hasta lograr una temperatura de 140 °C, manteniéndola durante 30-60 min; y esterilización previa del tanque aséptico 5 mediante un proceso por inyección de vapor hasta que alcanza 140°C, manteniendo esta temperatura durante 30-60 min, y enfriamiento por doble camisa conservando una presión positiva con aire esterilizado mediante filtros a 0,4-6 bares de presión,
  - 30 - una vez el sistema se encuentra trabajando con agua de forma continua y estable a la temperatura y presión seleccionadas para el tratamiento del fluido, y tras su paso por el primer intercambiador de calentamiento previo 1, éste se introduce a una temperatura  $T_p$  de entre 40 y 90°C y a una presión  $P_u$  de entre 200 y 600 MPa en la válvula del ultrahomogeneizador 3, alcanzando el fluido un valor de temperatura  $T_u$  y manteniendo esta temperatura tras su salida de la válvula durante 0,1 a 1 s,
  - 35 - tras su estancia en el ultrahomogeneizador 3, se enfría el fluido a través del segundo intercambiador 4 de enfriamiento, siendo ajustada su temperatura de enfriamiento a un valor  $T_e$ , que depende de la tecnología del producto y, a continuación, se envía al tanque aséptico 5, desde el cual, el fluido es bombeado y, posteriormente, envasado en una envasadora aséptica.
3. Procedimiento de esterilización y estabilización física según la reivindicación 5, caracterizado porque se enfría el fluido hasta una temperatura  $T_e$  de 20-25 °C para productos sin gelificar.
4. Procedimiento de esterilización y estabilización física según la reivindicación 5, caracterizado porque se enfría el fluido hasta una temperatura  $T_e$  de 55 °C para productos que gelifican en el interior del envase, tales como, natillas, puddings.

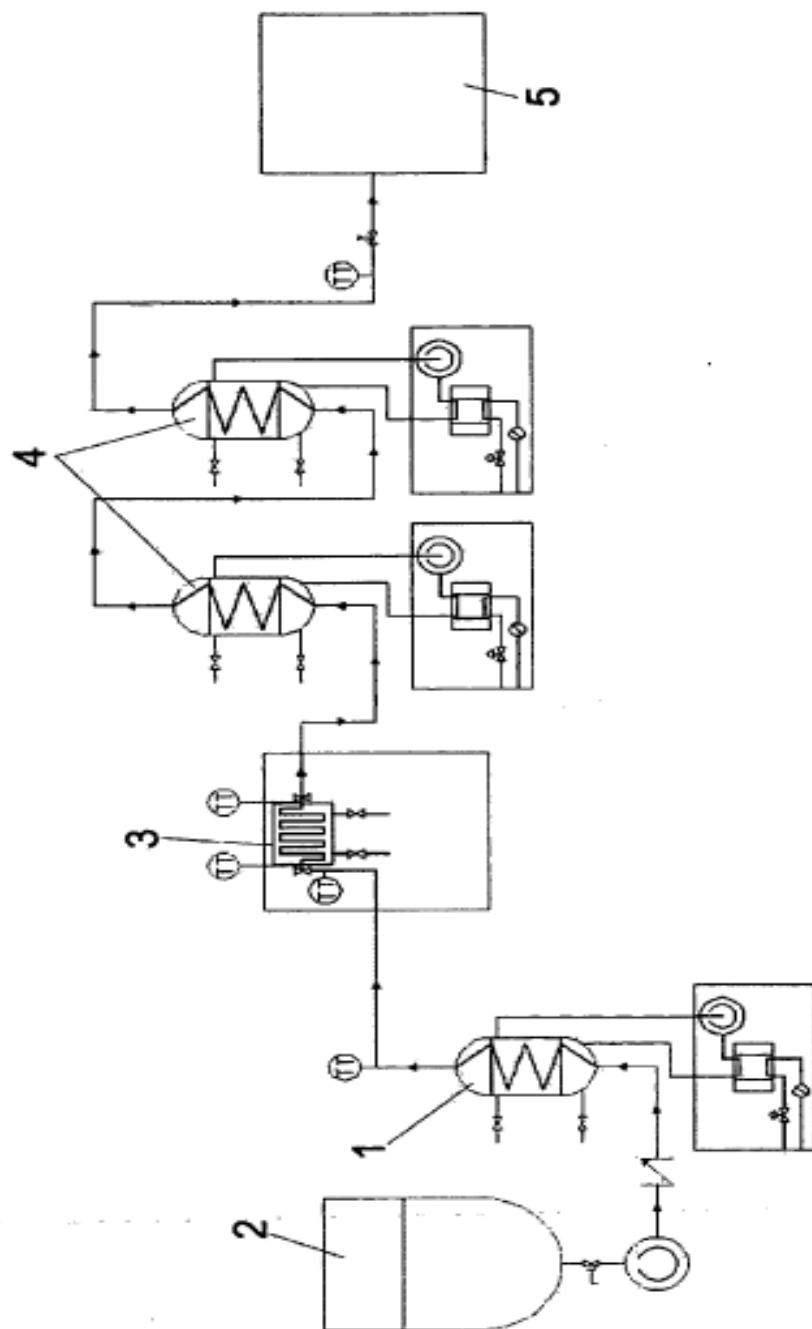


FIGURA 1