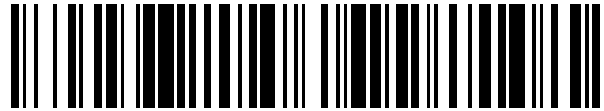


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 740**

21 Número de solicitud: 201730660

51 Int. Cl.:

A23B 7/157 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

05.05.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

06.11.2018

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS (100.0%)**

**Avda. Maria Luisa s/n Pabellón de Perú
41013 Sevilla ES**

72 Inventor/es:

**GANDUL ROJAS, Beatriz;
VERGARA DOMÍNGUEZ, Honorio y
GALLARDO GUERRERO, M^a Lourdes**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **PROCEDIMIENTO PARA LA OPTIMIZACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS EN PRODUCTOS VEGETALES QUE CONTIENEN PIGMENTOS CLOROFÍLICOS**

57 Resumen:

Procedimiento para la optimización de propiedades organolépticas en productos vegetales que contienen pigmentos clorofílicos.

La presente invención se refiere a un procedimiento que permite optimizar propiedades organolépticas, especialmente el color, en productos vegetales que contienen pigmentos clorofílicos, que comprende un tratamiento de feofitinización de los productos vegetales, un tratamiento con una solución con pH superior a 5 y un tratamiento con al menos un compuesto de metal divalente.

ES 2 688 740 A1

PROCEDIMIENTO PARA LA OPTIMIZACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS EN PRODUCTOS VEGETALES QUE CONTIENEN PIGMENTOS CLOROFÍLICOS

DESCRIPCIÓN

5

SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se enmarca en el ámbito de la tecnología agroalimentaria. Específicamente, se refiere a un procedimiento que permite optimizar propiedades organolépticas, especialmente el color, en productos vegetales que contienen pigmentos clorofílicos. Para ello, se parte de técnicas conocidas tales como el tratamiento con compuestos que contienen metales divalentes, particularmente Zn, mejorando los resultados obtenidos mediante un tratamiento de feofitinización de los compuestos clorofílicos.

Se consigue obtener de esta forma productos con un color verde brillante permanente enriquecidos en el metal divalente, particularmente cinc, sin necesidad de superar el 100% del valor de referencia (VRN) del mineral por 100 g de producto y al mismo tiempo manteniendo inalteradas otras características organolépticas, tales como el sabor.

ESTADO DE LA TÉCNICA

Ante la creciente demanda de productos selectos y de calidad, la innovación en el sector de los productos vegetales que contienen pigmentos clorofílicos en general y de la aceituna de mesa en particular, se dirige hacia productos tradicionales, de características organolépticas altamente valoradas por parte del consumidor, pero con un comercio hasta el momento muy localizado, debido a la limitada vida útil de los mismos.

25

La oliva es una drupa de característico sabor amargo debido al glucósido oleuropeína. En su procesado como aceituna de mesa, la eliminación de este componente amargo es la etapa fundamental que permite obtener un producto más apetecible. En función de la variedad, el estado de madurez y el tipo de fruto (entero o partido), este proceso es más o menos intenso, existiendo por tanto un amplio abanico de estilos de elaboración. Aquellos procedimientos que utilizan un tratamiento con solución alcalina diluida para hidrolizar la oleuropeína son los más extendidos a nivel mundial, como son las aceitunas verdes al *estilo español* o las aceitunas negras oxidadas al *estilo californiano*.

En el *estilo español* o *sevillano*, tras la hidrólisis alcalina de los componentes amargos, los frutos se acondicionan en salmuera donde experimentan un proceso de fermentación ácido-

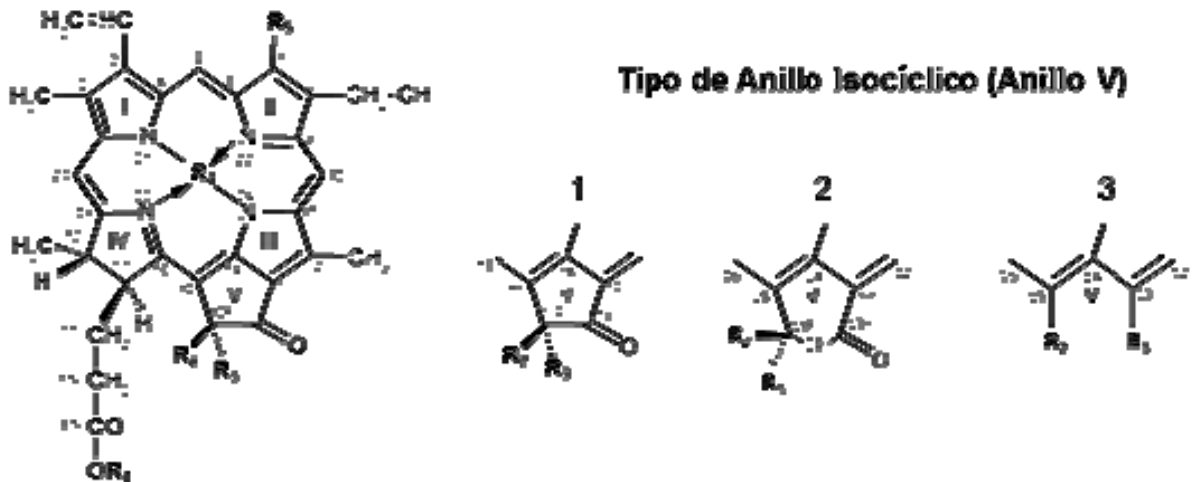
láctica y adquieren sus apreciadas características organolépticas. En la actualidad, sin embargo, están ganando importancia comercial otras preparaciones de aceitunas verdes, denominadas "especialidades", que incluyen un tratamiento alcalino de los frutos, pero no una fase de fermentación. Tienen características y nombres específicos en los diferentes países productores: *Campo Real* en España, *Castelvetrano* en Italia, *Picholine* en Francia, y aceitunas verdes estilo *Californiano* o *Green ripe olives* en Estados Unidos. Además de su sabor suave y ligeramente alcalino, una de las características organolépticas más deseables y apreciadas de estos productos es un color verde brillante lo más parecido posible al del fruto fresco, lo que el consumidor tiende a correlacionar con un producto más natural o menos elaborado.

Desgraciadamente, durante la fase de conservación, el color se modifica significativamente obteniéndose un producto de color muy alejado del "verde natural" esperado por el consumidor/productor. En España se han realizado algunos estudios encaminados a implementar un procedimiento industrial para este tipo de especialidades (Brenes y García. "Elaboración de aceitunas denominadas *green ripe olives* con variedades españolas". *Grasas Aceites* (2005) 56, 188-19; Casado, Sánchez, Rejano y Montaño. "Estudio de nuevos procedimientos de elaboración de aceitunas verdes tratadas con álcali, no fermentadas, conservadas mediante tratamientos térmicos". *Grasas y Aceites* (2007) 58, 275-282). Todas estas preparaciones de aceitunas que no incluyen fermentación tienen en común un pH en la pulpa relativamente elevado que obliga, según las Normas de Calidad que regulan el comercio de la aceituna de mesa [Codex Alimentarius Comission (FAO/WHO) (1981) Norma del Codex para las aceitunas de mesa (Codex Stan 66-1981). Revisión 1987] a la aplicación de algún tratamiento térmico para asegurar su conservación a largo plazo.

Desafortunadamente, todos los tratamientos térmicos de conservación necesarios para garantizar la seguridad del producto modifican negativamente su color, que evoluciona del verde brillante a tonalidades más amarillas, similares a las que se producen durante la fermentación de las aceitunas verdes al *estilo español*, y eliminando la diferenciación que se pretende mantener entre ambos productos comerciales.

El color de la aceituna, como el de todos los frutos y hortalizas verdes, se debe a la presencia de las clorofilas *a* y *b*, que se encuentran en los cloroplastos acompañadas de carotenoides. El llamativo cambio de color del verde brillante al marrón-oliva que de forma generalizada ocurre en el procesado térmico de los productos vegetales se debe a la liberación de los ácidos celulares durante el calentamiento, que provoca la reacción de

sustitución del ión Mg central de la molécula clorofílica por $2H^+$, modificando las características del grupo cromóforo, con el consiguiente cambio de color:



Número	Pigmento	Anillo V	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
1	15 ² -metil-fitol-clorina a ₁ éster	3	Fitol	CH ₂ COOH	COOH	Zn	CH ₃
2	Zn-15 ² -metil-fitol-clorina a ₁ éster	3	Fitol	CH ₂ COOH	COOH	Zn	CH ₃
3	Clorofila b	1	Fitol	H	COOCH ₃	Mg	CHO
4	Clorofila e	1	Fitol	H	COOCH ₃	Mg	CH ₃
5	15 ² -OH-lactona-Feofitina e	2	Fitol	OH	COOCH ₃	Zn	CH ₃
6	Zn Feofitina e	1	Fitol	H	COOCH ₃	Zn	CH ₃
7	Zn Feofitina e'	1	Fitol	COOCH ₃	H	Zn	CH ₃
8	Zn Pirofeofitina e	1	Fitol	H	H	Zn	CH ₃
9	Feofitina e	1	Fitol	H	COOCH ₃	Zn	CH ₃
10	Feofitina e'	1	Fitol	COOCH ₃	H	Zn	CH ₃
11	Pirofeofitina e	1	Fitol	H	H	Zn	CH ₃

- 5 Todos los sistemas de procesado, a los que son sometidos los frutos y hortalizas verdes provocan, en mayor o menor grado, la formación de diferentes derivados clorofílicos libres de Mg, principalmente feofitinas, pirofeofitinas y feoforbidas, todos ellos de coloración marrón-grisácea.
- 10 Desde antiguo se conocen los esfuerzos de la industria alimentaria por preservar el color verde en los productos vegetales verdes procesados térmicamente mediante el uso de agentes alcalinizantes que disminuyan la acidez, o tratamientos térmicos con alta temperatura y corto tiempo (HTST). Estos procedimientos obtienen una mejora del color a corto plazo, pero no consiguen retener el color verde durante el tiempo de almacenamiento.

En cambio, sí son exitosos los procedimientos que aprovechan la alta afinidad de unión que tienen algunos metales divalentes, como Cu (II) y Zn (II), con el anillo de porfirina, para formar complejos metálicos de alta estabilidad y color verde brillante (US 4473591). Además de los quelatos de cobre y cinc, las clorofilas pueden formar complejos metálicos de color verde con muchos otros metales divalentes, como calcio, hierro y manganeso (Clarke y Frank "Investigation of the effect of metal substitution on the triplet state of chlorophyll by optically detected zero-field magnetic resonance", *Chemical Physics Letters* 1977, 51 (1), 13-17; Nelson y Ferruzzi "Synthesis and Bioaccessibility of Fe-Pheophytin Derivatives from Crude Spinach Extract". *J. Food Sci.* 2008, 73(5) 86-91; Li e Inoue "Preparation and Determination of Manganese (III) Chlorophylls by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography". *Chromatographia* 1992, 33 (11/12) 567-570). Se conoce la patente de un procedimiento que utiliza clorofilina de hierro para la prevención y el tratamiento de desórdenes corporales causados por oxígeno activo (JPH04327534), pero hasta la fecha no se tiene referencia de ningún procedimiento que utilice estos nutrientes para la estabilización del color verde en tecnología de alimentos.

Así mismo, calcio, magnesio, hierro, cobre, cinc y manganeso son nutrientes minerales esenciales cuyo uso está autorizado para fortificar alimentos tanto en la UE (Reglamento CE N° 1170/2009), como en EEUU (*Code of Federal Regulations Title 21*, Vol. 2; Rev. Abril 1, 2016), siempre que el mineral añadido se encuentre en una cantidad significativa de al menos el 15% del valor de referencia del nutriente (VRN) en 100g. El contenido de cobre y cinc en frutas y hortalizas verdes en conserva es de al menos 0,3-0,4 mg por 100g, duplicándose este valor en habas y guisantes. En el caso del cobre, este contenido representa al menos 30-40% del valor de referencia de este nutriente (VRN = 1mg/día), no estando justificado un enriquecimiento del producto con este mineral. En cambio, si se puede justificar un enriquecimiento del producto vegetal con cinc ya que su VRN es diez veces superior (10mg/día), representando su contenido medio en frutas y hortalizas sólo el 0,3-0,4% del VRN.

En un caso similar se encuentran otros minerales como calcio, magnesio, hierro y manganeso. Con valores de referencia de 800, 375, 14 y 2 mg/día, respectivamente, el contenido medio de estos nutrientes en la mayoría de los productos vegetales en conserva, y específicamente en aceitunas y judías, no supera el 11% de los VRN, lo que justificaría la fortificación de estos alimentos vegetales con alguno de estos nutrientes.

35

Por otro lado, análisis privados en el sector específico de la aceituna de mesa, han puesto de manifiesto la presencia masiva de complejos metaloclorofílicos de Cu (II) de carácter liposoluble en aceitunas verdes de mesa comerciales, con un llamativo color verde brillante y etiquetadas como “*Aceitunas en Sosa*” y estilo “*Castelvetrano*”. Estudios realizados por los inventores han demostrado que la formación de estos complejos es el resultado de una adición de sales de Cu (II) (Gandul-Rojas y Gallardo-Guerrero “Pigment changes during preservation of green table olive specialities treated with alkali and without fermentation: effect of thermal treatments and storage conditions” 8th INTERNATIONAL CONGRESS ON PIGMENTS IN FOOD 2016. Póster y Abstract p. 80). Se trata pues de una mala práctica de elaboración ya que la lista positiva de aditivos alimentarios de la UE no incluye ninguna sal de cobre, ni está justificado su uso como estrategia de fortificación o restauración. Específicamente, sulfato de cobre y gluconato de cobre son sustancias generalmente reconocidas como seguras (“generally recognized as safe”, GRAS) en la legislación americana, pero sólo se permite su uso como suplemento nutricional o coadyuvante de procesado. En la norma del COI (International Olive Council) aplicable a las aceitunas de mesa y que rige su comercio internacional, las sales de cobre no están incluidas en la lista de coadyuvantes tecnológicos (*Trade Standard Applying to Table Olives*. COI/OT/NC No.1. Madrid, Spain 2004 (<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/222-standards>)). El acetato de cinc sí está admitido sin embargo como aditivo alimentario en la UE (E-650), aunque su uso se restringe específicamente a chicles. En el caso de aceitunas de mesa, aunque aún no está admitido el uso de este aditivo, ya se han patentado procedimientos que describen su utilidad como conservante antimicrobiano (patente ES2369183).

Aunque en general la velocidad de la reacción de formación de los complejos metaloclorofílicos de Zn (II) es más lenta que la de los correspondientes con Cu (II), se han patentado diversos procedimientos útiles que emplean estas sales de Zn para preservar el color verde en diferentes vegetales procesados:

- En la US 4473591 se propone un escaldado con sales de Zn y/o Cu, en cantidad suficiente para retener el color verde (entre 50 y 500 ppm) y a una temperatura entre 65 °C y 100 °C, seguido de un tratamiento de conservación que comprende esterilización, entre 115 °C y 150 °C, en envases tratados en su cara interna con metales alcalinotérreos. La adición del metal divalente en la fase de escaldado consigue evitar el reverdecimiento incontrolado que se produce durante el almacenamiento prolongado de productos similares obtenidos por procedimientos en los que el metal se adiciona en la salmuera de envasado, evitando así mismo el desarrollo de malos olores amoniacales provocados por el uso de soluciones alcalinas en el envasado. Aunque es una de las pocas patentes en este campo que ha

llegado a ser comercial, presenta como inconvenientes tanto un difícil control de la cantidad del metal en el producto final como la no uniformidad del color verde.

5 - El documento US 4701330 hace referencia a un proceso para retener el color verde de vegetales que comprende las etapas de: (a) escaldar los vegetales a una temperatura de entre 150 °F a 212 °F (66-100 °C); (b) exponer los vegetales a un vacío a presión durante un periodo de tiempo suficiente para eliminar toda la capa de aire en la superficie de dichos vegetales; (c) sumergir completamente los vegetales verdes mientras están al vacío con agua alcalina y en condiciones en que esté desaireada, teniendo esa solución un pH que oscila desde 7,2 hasta 9,5, durante un tiempo que varía de 5 a 30 minutos; y (d) drenar los
10 vegetales y almacenarlos a temperaturas de refrigeración de entre 32 °F a 45 °F (0 a 7 °C), durante un periodo de tiempo de hasta 21 días. En este procedimiento se consigue aumentar la retención del color verde en vegetales escaldados, mediante el uso de soluciones alcalinas y separando el oxígeno de la superficie del vegetal. Se trata de evitar la decoloración de las clorofilas por oxidación, durante su almacenamiento en refrigeración.

15 - En la EP 0314298A se divulga un procedimiento para conservar el color y la textura de un producto vegetal, mediante el tratamiento de la materia vegetal que contiene clorofila con una solución alcalina acuosa, y que contiene cationes de uno o más metales seleccionados de entre magnesio, cinc o cobre con el objetivo de formar las sales alcalinas de las clorofilas (clorofilinas). Se trata de la aplicación de conocimientos previos a la elaboración de pasta
20 vegetal. Aunque se divulga el uso de soluciones alcalinas de metales divalentes, en ningún caso se pretende la formación de complejos clorofílicos con metales divalentes ni se indica ningún pretratamiento de feofitinización para incrementar la eficiencia del proceso.

- El documento US 6004601 describe un método para la retención del color verde y la mejora de la textura en los vegetales crudos o congelados, que comprende sumergir los
25 vegetales en una solución acuosa de cinc durante tres minutos o menos, teniendo la solución acuosa una concentración de iones de cinc de al menos aproximadamente 500 ppm. Además, comprende el pretratamiento de las verduras con una solución en donde se produce un escaldado del vegetal fresco durante aproximadamente 2 a 60 minutos, a aproximadamente 125 a 155 grados °F, (52 a 100 °C) en agua, o en una solución acuosa
30 con o sin una sal de calcio de grado alimenticio, y con o sin una solución ácida de calidad alimentaria, o ambos; y opcionalmente, la incubación de los vegetales blanqueados, por alrededor de 0 a 90 minutos, a una temperatura de hasta aproximadamente 155 grados °F (68 °C). El procedimiento de la presente invención ofrece importantes mejoras con respecto a este documento ya que permite incrementar considerablemente la eficiencia de la reacción
35 de complejación de los derivados clorofílicos con el metal divalente, y obtener un producto idóneo, por ejemplo con judías verdes (ejemplos 8 y 9), adicionando una cantidad de cinc

muy inferior (200 ppm) y aplicando un tratamiento térmico de conservación menos agresivo (pasterización).

5 Otros documentos como US 5114725A o US 5482727 adicionan el metal divalente en la salmuera de envasado del vegetal escaldado. En el primer caso se consigue un producto con características de color y sabor mejoradas, mediante el mantenimiento del vegetal envasado a una temperatura elevada durante un tiempo y utilizando una solución que contiene iones de cinc y/o cobre en contacto con el vegetal dentro de la lata. La lata sellada herméticamente, con las verduras y esta solución de salmuera, se mantiene a una temperatura elevada antes de ser sometida a múltiples tratamientos térmicos, llegando al menos uno de ellos a la esterilización comercial. La innovación que propone el documento US 5482727 es sustituir el escaldado normal de 3 min por un escaldado extendido de 20-30 min. La extensión del escaldado consigue aumentar el daño celular e incrementar la permeabilidad, mejorando la posterior captación del cinc en el envasado y la formación de los complejos metaloclorofílicos de cinc responsables del reverdecimiento. Ambos procedimientos controlan mejor la concentración total de cinc en el producto acabado que el procedimiento US 4473591, sin embargo, la necesaria adición del metal en el envasado puede llegar a producir un reverdecimiento adicional incontrolado cuando el producto se almacena por un periodo prolongado de tiempo, impartiendo un color inconsistente al vegetal que el consumidor puede asociar con baja calidad y dudoso frescor.

- US 6210729 B1 describe un procedimiento para preparar una composición vegetal que tiene un color verde mejorado. El método comprende adicionar a un “vegetal verde procesado” (conteniendo feofitinas y pirofeofitinas) al menos una sal de cinc de un ácido graso en una cantidad efectiva de cinc de 75ppm (w/v) o menos y donde la sal de cinc tiene una baja solubilidad en agua. Este procedimiento presenta entre otros inconvenientes que no puede ser aplicado en la UE, ya que no está admitido el uso de sales de cinc de ácidos grasos como el estearato de cinc.

30 En el documento de Ngo y Zhao “Retaining green pigments on thermally processed peels-on green pears”. Journal Food Science 70 (2005) C568–74, se optimiza un procedimiento similar al de la patente US 4473591 para su aplicación en peras verdes procesadas térmicamente mediante pasterización. Consiste en el empleo de sales de cinc como coadyuvantes de procesado en la etapa de escaldado unido a un pre-tratamiento de la superficie del fruto mediante raspado manual con cuchillos o pulverización de azúcar para eliminar las ceras, y parte de la capa de cutícula. Aunque este pretratamiento facilita la

inserción del metal en el anillo de porfirina de las clorofilas, para obtener un producto de color verde permanente se necesitan usar soluciones de cinc de concentración superior a 1300 ppm, en una relación fruto:solución de cinc de 1:2,5 (3250 mg por kg de producto). En el trabajo de Canjura y col. “Color Improvement and Metallo-chlorophyll Complexes in

5 Continuous Flow Aseptically Processed Peas” Journal Food Science 64 (1999) 987-990, se consigue mejorar la absorción de iones cinc y por tanto la estabilización del color verde en guisantes enlatados sustituyendo el escaldado convencional por un sistema de procesado aséptico en continuo (HTST) con flujo caliente de Zn_2Cl .

- El documento de Zheng y col. “Effect of heat treatment, pH, sugar concentration, and metal ion addition on green color retention in homogenized puree of Thompson seedless

10 grape” Food Science and Technology 55 (2014) 595 – 603 describe un estudio realizado para investigar la estabilidad de pigmentos clorofílicos en un producto vegetal a base de uvas sin semillas bajo distintas condiciones de temperatura, pH, y concentraciones diferentes de iones cinc, y con el objetivo de determinar las condiciones óptimas para

15 retener el color verde de los pigmentos clorofílicos, sin embargo, no se llega a divulgar un procedimiento en concreto donde se mezclen los tres tratamientos simultáneamente.

- Por último, el documento de Scipioni, del Valle Argüello y Schmalko “The Effect of Mg^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} Pre-treatment on the Color of Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) Leaves”

20 Brazilian Archives of Biology and Technology 53 (2010) 1497-1502 describe un estudio donde muestras conteniendo 50 g de hojas de yerba mate fueron blanqueadas a 100 °C durante 30 s en 1500 ml de solución de NaOH. Las hojas se lavan inmediatamente después con agua fría (5°C) a fin de detener el tratamiento térmico y para eliminar el NaOH sobrante. A continuación, las hojas se sumergieron en una solución con iones de magnesio o cinc a

25 temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

Los procedimientos hasta ahora más exitosos son aquellos que adicionan el metal divalente en la salmuera de envasado del vegetal escaldado (US 5114725A o US 5482727), pero su aplicación no ha podido ser generalizada a aquellos otros productos vegetales cuyo

30 contenido en pigmentos clorofílicos es medio-bajo, como es el caso de los frutos verdes en general y la aceituna de mesa en particular. En estos casos, la cantidad de Zn (II) que necesita absorber el producto para obtener un color verde óptimo suele superar con creces 75-100 ppm (75-100% del VRN).

35 Por tanto, es de gran interés para la industria alimentaria en general, y para el sector de la aceituna de mesa en particular, optimizar un procedimiento para obtener un alimento de

color verde permanente, minimizando el contenido en metal divalente, particularmente Zn^{2+} , del producto final. En la presente invención se superan todas las dificultades antes mencionadas, aumentado al máximo la eficiencia del proceso de acomplejamiento con el metal divalente, y por tanto del reverdecimiento del producto vegetal.

5

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

Constituye el objeto de la presente invención un procedimiento para la optimización de propiedades organolépticas en productos vegetales que contienen pigmentos clorofílicos que comprende las siguientes etapas:

- 10 - tratamiento de feofitinización de los productos vegetales para la sustitución del Mg por 2H en al menos un 10% de los compuestos clorofílicos
- tratamiento de los productos vegetales con una solución con pH comprendido entre 5 y 12 para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y
- tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente que
- 15 se selecciona entre Ca, Fe, Mn y Zn o combinaciones de los mismos para la formación de complejos clorofilas – metal divalente.

Particularmente, la propiedad organoléptica a optimizar es el color verde y los productos vegetales se seleccionan entre frutas y/o hortalizas que contengan pigmentos clorofílicos

20 como aceitunas de mesa, guisantes, alcachofas, alcauciles, acelgas, alcaparras, berzas, espicanas, brotes de ajo, cardos, grelos, habas, judías verdes, espárragos verdes, pimientos verdes, brócolis, pepinillos, aguacates, ciruelas, kiwis, manzanas, peras, y uvas.

Los productos vegetales a los que aplicar el procedimiento pueden ser:

- 25 - no elaborados, seleccionados entre enteros frescos, enteros pelados, cortados, triturados o congelados.
- elaborados secos, elaborados en vinagre, aceite, sal o salmuera, elaborados en conserva mediante tratamiento térmico, preparados y/o derivados de frutas y hortalizas, o combinaciones de los mismos.

30

En la presente invención los preparados y derivados de frutas y hortalizas incluyen aceites y bebidas vegetales, purés, sopas, salsas, ensaladas, compotas, confituras, jaleas, mermeladas, mantequillas o pastas para untar.

- 35 En una realización preferida del procedimiento, el tratamiento de feofitinización se realiza durante un periodo comprendido entre 3 años y 5 minutos, y antes del tratamiento con la

solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5, preferentemente a un pH comprendido entre 5 y 8.

Existen varias alternativas en cuanto al orden de las etapas que comprende el procedimiento de la invención:

- 5 - realizar el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 antes del tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- realizar el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 simultáneamente con el tratamiento de los
- 10 productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- realizar el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 después del tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- realización simultánea del tratamiento de feofitinización con el tratamiento de los productos
- 15 vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- realización simultánea del tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 con el tratamiento de feofitinización y con el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 20 - etapa simultánea de feofitinización y tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente seguida del tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5.

En cuanto al tratamiento de feofitinización, también hay varias posibles alternativas:

- 25 - tratamiento térmico, preferentemente a una temperatura comprendida entre 50-100°C y durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 y 90 minutos. Puede realizarse en un medio que se selecciona entre agua o una solución acuosa con o sin ácido de grado alimentario o mediante vapor, calor seco, microondas, infrarrojos, radiofrecuencia o calentamiento dieléctrico. Más preferentemente, el tratamiento térmico se hace con los
- 30 productos vegetales mantenidos a un pH inferior a 6.
- proceso bioquímico, preferentemente una fermentación por bacterias ácido-lácticas que se realiza conservando el producto vegetal en condiciones anaeróbicas, durante un periodo de tiempo superior a 4 días o hasta que se alcance al menos un valor de pH inferior a 5. La conservación del producto vegetal puede realizarse mediante adición de sal en una
- 35 concentración de al menos 2,5% en relación al peso del producto vegetal o mediante adición

de una salmuera de concentración al menos 0,25 g por litro con o sin la adición de ácidos de grado alimentario u otros aditivos alimentarios.

- tratamiento químico, preferentemente con una solución ácida ($\text{pH} < 7$) que se selecciona de entre los ácidos acético, ascórbico, benzoico, cítrico, clorhídrico, láctico, málico, propiónico, succínico, y sus sales o combinaciones de los mismos. En otro modo de realización, la solución ácida es una solución ácida tamponada que se selecciona entre: acético-acetato; ascórbico-ascorbato; benzoico-benzoato; cítrico-citrato; láctico-lactato; málico-malato; propiónico-propionato; succínico-succinato o combinaciones de las mismas. En ambos casos, el tratamiento químico consiste en poner en contacto los productos vegetales con la solución en una concentración igual o superior a 0,1 mM, en una relación producto:líquido que, como mínimo, permita cubrir el material vegetal o mediante flujo de la solución en continuo, durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 min y 2 años, a una temperatura entre 4°C y 100°C.

En cuanto al compuesto de metal divalente, en un modo preferente de realización se utiliza un compuesto de cinc, particularmente una sal de cinc que se selecciona entre acetato de cinc, bisglicinato de cinc, cloruro de cinc, citrato de cinc, estearato de cinc, gluconato de cinc, lactato de cinc, óxido de cinc, carbonato de cinc, sulfato de cinc o combinaciones de las mismas.

El tratamiento con la sal de cinc consiste en poner en contacto los productos vegetales con una solución de la sal de cinc de concentración comprendida entre 0,005 y 3 g/L, en una relación producto:líquido que, como mínimo, permita cubrir el material vegetal o mediante flujo de la solución en continuo, durante un periodo de tiempo comprendido entre 5 min y 1 año, y a una temperatura entre 4°C y 150 °C.

En cuanto a la solución con pH comprendido entre 5 y 12 para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5, se selecciona entre una solución de hidróxido o carbonato de sodio, potasio, amonio, magnesio o combinaciones de los mismos o una solución tamponada de bórico-borato, glicina-glicinato, fosfórico-fosfato, carbónico-carbonato o combinaciones de las mismas. El tratamiento con la solución con pH comprendido entre 5 y 12 para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 consiste en poner en contacto los productos vegetales, al menos una vez, con la solución, en una concentración igual o superior a 0,1 mM, en una relación producto:líquido que, como mínimo, permita cubrir el material vegetal o mediante flujo de la solución en

continuo, durante un periodo de tiempo comprendido entre 5 min y 1 año, y a una temperatura entre 4°C y 150 °C.

5 El procedimiento de la invención puede incluir, adicionalmente, al menos una de las siguientes etapas:

- lavado de los productos vegetales
- secado
- partido o trituración de los productos vegetales
- extracción de aceite o jugo
- 10 - envasado en salmuera, a vacío o en atmosfera inerte
- adición de aromas y/u otros ingredientes o aditivos alimentarios
- tratamiento térmico de esterilización o pasteurización

15 Constituye otro aspecto de la presente invención los productos vegetales obtenidos mediante un procedimiento según se ha definido anteriormente, caracterizados porque presentan un porcentaje de complejos clorofilas – metal divalente, respecto a la cantidad total de compuestos clorofílicos, comprendido entre 15% y el 100%, seleccionándose el metal divalente entre Ca, Fe, Mn y Zn o combinaciones de los mismos.

20 En un modo preferente de realización, los complejos de clorofilas – metal divalente son complejos Zn-clorofilas presentes en un porcentaje comprendido entre el 15% y el 100% y los productos vegetales presentan un contenido de Zn comprendido entre el 0,3% y el 0,0005%. Más preferentemente, el contenido de Zn en el producto envasado está comprendido entre 0,01% y 0,002%.

25 Los productos vegetales obtenidos pueden ser enteros, enteros pelados, cortados, triturados o congelados, elaborados secos, elaborados en vinagre, aceite, sal o salmuera, elaborados en conserva mediante tratamiento térmico, preparados de frutas y hortalizas, o combinaciones de los mismos. En la presente invención los preparados y derivados de frutas y hortalizas incluyen aceites y bebidas vegetales, purés, sopas, salsas, ensaladas, 30 compotas, confituras, jaleas, mermeladas, mantequillas o pastas para untar.

En un modo de realización preferente, los productos vegetales utilizados en el procedimiento son judías verdes. En otro modo preferente de realización, los productos vegetales utilizados para la aplicación del procedimiento se seleccionan entre aceitunas verdes de mesa 35 procesadas mediante tratamiento alcalino y con o sin fermentación ácido-láctica y aceitunas verdes de mesa procesadas al natural mediante fermentación ácido-láctica.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Efecto del tratamiento con acetato de cinc a pH 5,5 en el verdor de la aceituna de mesa, estimado a partir del parámetro a^* . Los iones Zn^{2+} se adicionan en una concentración de 3 g/L (3000 ppm) en una solución buffer acético/acetato 0,1M, a pH 5,5 y conteniendo 6% de NaCl (p/v). ● con Zn^{2+} ▲ control sin Zn^{2+} . Nota: *Test de almacenamiento acelerado*, consistente en someter las aceitunas tratadas a temperatura de 55°C durante 24 horas.

Figura 2: Cromatogramas típicos de HPLC en fase reversa con detección a 640 nm, para la separación de clorofilas, derivados clorofílicos libres de Mg y complejos metaloclorofílicos de Zn, en aceitunas verdes de mesa (AVM) de la variedad Manzanilla, según las distintas fases del proceso de elaboración al estilo castelvetrano (C) y realización de la invención según ejemplo nº1: **(A)** Fruto fresco; **(B)** Fruto elaborado (AVMC), **(C)** Fruto AVMC posteriormente tratado con 3 g/L (3000 ppm) de iones Zn^{+2} disueltos en salmuera de NaCl al 4 % (p/v), tamponada a pH 5,5 con 0,1 M de ácido acético/acetato: **(C₁)** durante 14 días, **(C₂)** durante 6 meses, **(C₃)** durante 10 días + test de almacenamiento acelerado (24h a 55°C). Identificación de picos: **Clorofilas:** **3.** Clorofila *b*; **4.** Clorofila *a*; **Precursores de los complejos metaloclorofílicos de cinc de la serie a:** **1.** 15² metil-fitol-clorina e₆ ester; **9.** Feofitina *a*; **10.** Feofitina *a'*; **11.** Pirofeofitina *a*. **Complejos metaloclorofílicos de cinc de la serie a:** **2.** Zn-15² metil-fitol-clorina e₆ ester; **5.** Zn-15¹-OH-Lactona Feofitina *a*; **6.** Zn-Feofitina *a*; **7.** Zn-Feofitina *a'*; **8.** Zn-Pirofeofitina *a*.

Figura 3: Cromatogramas típicos de HPLC en fase reversa con detección a 640 nm, para la separación de clorofilas, derivados clorofílicos libres de Mg y complejos metaloclorofílicos de Zn, en aceitunas verdes de mesa (AVM) de la variedad Manzanilla, según las distintas fases del proceso de elaboración al estilo castelvetrano (C) y realización de la invención: **(A)** Fruto fresco; **(B)** Fruto elaborado (AVMC), **(C)** Fruto AVMC después de 9 días de tratamiento ácido en salmuera de NaCl al 4 % (p/v), tamponada a pH 4 con 0,1 M de ácido láctico/NaOH (AVMC+Ac), según ejemplos 2, 3 y 4; **(D)** Fruto AVMC+Ac y esterilizado a 117°C por 43 min, en una solución al 4% de NaCl (p/v) y 0,1M de glicina/NaOH a pH 9,5, conteniendo 0,1 g/L (100 ppm) de iones Zn^{2+} , según ejemplo 4.2.

Figura 4: Efecto de la aplicación de la invención a judías verdes frescas sobre **(A)** el verdor del producto, estimado a partir del parámetro a^* , y **(B)** el porcentaje de derivados clorofílicos con Mg, con 2H, y con Zn, según las realizaciones de los ejemplos 8 y 9 (A y B).

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a procedimientos para la mejora del color verde en frutos y hortalizas elaboradas, especialmente en judías verdes y aceitunas de mesa, empleando una sal de metal divalente. Preferentemente se utiliza cinc de grado alimentario, sin que la cantidad de Zn (II) incorporada al producto tenga necesariamente que superar el 100% del VRN por 100g de producto. El procedimiento puede ser aplicado a cualquier producto que contenga pigmentos clorofílicos (clorofilas y/o derivados clorofílicos).

La invención abarca cualquier fase de la elaboración de los frutos y hortalizas cuando en la misma se empleen sales de metal divalente, preferentemente cinc, para la mejora del color y tiene la finalidad de proporcionar una mejora en el color del producto mediante la formación de complejos metaloclorofílicos de metal divalente, preferentemente de cinc (Zn-Cl), de color verde brillante y alta estabilidad. El procedimiento puede comprender las siguientes etapas:

- 15 A) tratamiento de feofitinización
- B) tratamiento con al menos una sal de metal divalente, preferentemente cinc
- C) tratamiento con una solución con pH comprendido entre 5 y 12 para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5
- D) lavados y secado
- 20 E) envasado
- F) tratamiento térmico de conservación

Pueden incluirse también etapas de partido o trituración de los productos vegetales, así como extracción de aceite o jugo y la adición de aromas y/u otros ingredientes y aditivos alimentarios.

El procedimiento permite aumentar al máximo la eficiencia del proceso de acomplejamiento con el metal divalente, y por tanto del reverdecimiento del producto vegetal, en un procedimiento que comprende dos características técnicas fundamentales no realizadas hasta la fecha: (a) provocar la sustitución del Mg por 2H en gran parte de los compuestos clorofílicos (feofitinización) como paso previo indispensable para la posterior reacción de acomplejamiento con el metal divalente y (b) controlar el pH de la reacción de acomplejamiento en un valor superior a 5.

35 Con estas características técnicas el procedimiento consigue: (a) un color verde óptimo en productos vegetales como judías en conserva, utilizando menos cantidad de cinc y sin

necesidad de superar el 100% del VRN (100 ppm); (b) evitar el uso de cobre para conseguir un color óptimo; (c) estabilizar el color verde incluso en productos vegetales de bajo contenido en pigmentos clorofílicos como la aceituna; (d) disminuir el número y/o la intensidad de los tratamientos térmicos reduciendo al máximo los problemas de textura y sabores a cocinado; y (e) en una aplicación específica, estabilizar el color verde del producto vegetal antes del tratamiento térmico de conservación, permitiendo su conservación por pasterización bajo condiciones ácidas o incluso conservación sin tratamiento térmico por las propias características químicas del producto.

10 La realización de estas etapas puede seguir diversos órdenes de secuencia como se ha indicado previamente, pudiendo realizarse varias de las etapas simultáneamente.

El reverdecimiento del producto se atribuye a la formación de complejos metaloclorofílicos de metal divalente. Cuando se utiliza cinc, los complejos formados son mayoritariamente Zn-feofitina a, Zn-pirofeofitina a y Zn-15²-Me-fitol-clorina e₆ ester.

En la presente invención el término “**pigmento clorofílico**” se refiere a un compuesto coloreado con estructura química derivada de clorofila, es decir, formado por un anillo porfirínico sustituido, con un anillo isocíclico adicional, que puede estar abierto, y un resto de ácido propiónico esterificado o no con una cadena terpénica denominada fitol. El anillo de porfirina es un tetrapirrol, con cuatro anillos de pirrol enlazados para formar un anillo mayor que es la porfirina. En el caso de la clorofila, en el centro de la porfirina se encuentra un átomo de Mg²⁺ unido a los nitrógenos de los grupos pirrol, pero este átomo de Mg²⁺ puede sustituirse por un metal divalente o 2H⁺ para formar otros pigmentos químicamente estables.

25 El término “**aceituna verde de mesa**” se refiere a un producto que se prepara a partir de frutos sanos de variedades de olivo cultivado, recogidos durante el ciclo de maduración, antes del envero, cuando han alcanzado su tamaño normal y que se someten a tratamientos para eliminar el amargor natural y conservado mediante fermentación natural o tratamiento 30 térmico, con o sin conservantes, y envasados con líquido de gobierno. Ejemplos de aceitunas verdes de mesa son aceitunas verdes aderezadas en salmuera, aceitunas verdes al natural, o especialidades de aceitunas procesadas mediante tratamiento alcalino y sin fermentación, que tienen características y nombres específicos en los diferentes países productores: *Campo Real* en España, *Castelvetrano* en Italia, *Picholine* en Francia, y 35 aceitunas verdes estilo *Californiano* o *greenripe olives* en Estados Unidos.

En la presente invención el término «**tratamiento de feofitinización**» (**etapa A**) se refiere a cualquier procedimiento físico (por ejemplo, térmico), químico o biotecnológico que provoque en el material vegetal la sustitución del Mg por 2H en al menos un 10% de sus compuestos clorofílicos. El tratamiento de feofitinización se selecciona entre un procedimiento físico de calentamiento, un procedimiento químico en condiciones ácidas, un procedimiento biotecnológico de fermentación ácida o combinaciones de los mismos.

El tratamiento físico de calentamiento es un escaldado/cocción del producto vegetal durante un cierto período de tiempo. En una realización preferida, el tratamiento sería un calentamiento de los productos vegetales a una temperatura comprendida entre 50 y 100 °C y durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 y 90 min. En una realización más preferida el tratamiento se realiza a 97°C durante 20 min.

El procedimiento químico en condiciones ácidas es poner en contacto el material vegetal con una solución a pH menor de 7 durante un cierto periodo de tiempo, en una relación producto:líquido que, como mínimo, permita cubrir el material vegetal o mediante flujo de la solución en continuo. Según una realización preferida la solución es tampón láctico/lactato a pH 4 y tiene una concentración igual o superior a 0,1 mM. El tiempo de tratamiento entre 1 min y 2 años preferiblemente 9 días, a una temperatura entre 4°C y 100°C, preferiblemente temperatura ambiente de 25 ± 3°C. En otra realización preferida el tiempo de tratamiento es 20 min y la temperatura 97 °C.

El procedimiento biotecnológico de fermentación es la conservación durante un periodo de tiempo del material vegetal mediante fermentación ácido-láctica. Según una realización preferida la fermentación natural se desarrolla en salmuera de NaCl a una concentración de 7% en equilibrio, durante un periodo de tiempo superior a 3 meses, hasta que se alcance una acidez láctica de al menos 1,5% y un valor de pH inferior a 5.

En la presente invención el término «**tratamiento con una sal de metal divalente, preferentemente cinc**» (**etapa B**) se refiere a poner en contacto el material vegetal durante un periodo de tiempo con una solución que contiene un compuesto de metal divalente, preferentemente una sal de cinc, en una relación producto:líquido que, como mínimo, permita cubrir el material vegetal o mediante flujo de la solución en continuo. La sal de metal divalente es una sal de grado alimentario, preferiblemente el aditivo alimentario acetato de cinc (E-650) o también cloruro de cinc, en una concentración entre 0,005 g/L (5 ppm) y 3 g/L (3000 ppm), preferiblemente aquella que permita obtener un producto que aporte el 100%

del VRN del cinc por 100g de producto. El tiempo de tratamiento es entre 5 min y 1 año, y la temperatura entre 4°C y 150°C. En una realización preferente con aceitunas el tratamiento se realiza durante 48h a $25 \pm 3^\circ\text{C}$. En otras realizaciones preferentes con hortalizas, el tratamiento se lleva a cabo durante 5 días a 60°C y durante 45 min a 97°C.

5

En la presente invención el término «**tratamiento con una solución con pH comprendido entre 5 y 12**» (**etapa C**) se refiere a poner en contacto el material vegetal con una solución a pH comprendido entre 5 y 12, durante un cierto periodo de tiempo para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5, en una relación producto:líquido que, como

10 mínimo, permita cubrir el material vegetal o mediante flujo de la solución en continuo. Según una realización preferida la solución es un buffer glicina/NaOH, en una concentración $\geq 0,1\text{M}$ y pH entre 8 y 10, preferiblemente de 9,5. El tiempo de tratamiento entre 5 min y 1 año y la temperatura entre 4°C y 150°C. En una realización preferente con aceitunas el tratamiento se realiza durante 48h a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ seguido de 43min a 117°C. En otras realizaciones

15 preferentes con hortalizas, el tratamiento se lleva a cabo durante 5 días a 60°C y durante 45 min a 97°C.

En la presente invención el término «**lavados**» (**etapa D**) se refiere a sucesivos tratamientos del material vegetal con agua durante un tiempo. En una realización preferida el tratamiento

20 se realiza por inmersión del fruto en agua durante un tiempo entre 3 y 24h, preferiblemente 12h y el número de lavados es entre 0 y 5, en función de la acidez y/o la concentración de metal divalente, preferentemente cinc, empleada en una etapa anterior. En una realización preferente se realizan 5 lavados de 12h cada uno.

En la presente invención el término «**envasado**» (**etapa E**) se refiere al procedimiento por el que el producto vegetal se empaqueta en un recipiente para su transporte y venta, en una salmuera de acondicionamiento, al vacío o en atmosfera controlada. En una realización preferente el envasado se realiza mediante inmersión del producto vegetal en salmuera de NaCl en una concentración entre 0,12 y 6% (p/v), preferiblemente 4%. Si en una de las

30 realizaciones preferentes la concentración de la sal de metal divalente en la etapa **B** es \leq al 100% del VRN, se puede eliminar del procedimiento la etapa de lavado (**etapa D**) y la adición de salmuera de acondicionamiento en el envasado (**etapa E**).

En la presente invención el término «**tratamiento térmico de conservación**» (**etapa F**) se

35 refiere a un tratamiento térmico que garantice la seguridad del producto a largo plazo. En una realización preferente el tratamiento térmico es una esterilización comercial a una

temperatura entre 117°C y 150°C, preferiblemente a 117°C durante un tiempo de 43 min. En otra realización preferente el tratamiento térmico es una pasterización, a una temperatura entre 60-95°C. En realizaciones más preferentes la pasterización se realiza a 80°C durante 8 min o a 90°C durante 15 min.

5

Para el análisis de pigmentos clorofílicos en productos vegetales en general, la extracción se realiza con acetona saturada con $MgCO_3$. A partir de una muestra pesada del material triturado, se realizan sucesivas extracciones hasta obtener extractos incoloros y a continuación se lleva a cabo una transferencia de componentes a éter etílico, de acuerdo con la metodología descrita por Mínguez-Mosquera, Gandul-Rojas, Gallardo-Guerrero y Jarén-Galán "Chlorophylls". In *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*; Hurst, W. J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2002; pp 159-218. La fase de éter se filtra a través de lecho de Na_2SO_4 anhidro para retirar completamente el agua y se evapora a sequedad en rotavapor. El residuo seco se almacena en atmosfera de nitrógeno a -20°C hasta su uso.

15

Para el análisis de pigmentos clorofílicos en aceitunas, y dado su alto contenido en lípidos, se requiere una técnica de extracción específica que ha sido desarrollada por Mínguez-Mosquera y Garrido-Fernández "Chlorophyll and carotenoid presence in olive fruit, *Olea europaea*". J. Agric. Food Chem. (1989) 37, 1-7). La técnica se basa en una extracción con N,N-Dimetilformamida (DMF), seguida de un reparto selectivo de componentes entre esta fase de DMF y hexano. En la fase de hexano quedan los lípidos, la fracción de carotenos y xantofilas diesterificadas, mientras que la fase de DMF retiene los compuestos clorofílicos y xantofilas libres y monoesterificadas. Este sistema proporciona una solución de pigmentos libre de la materia grasa que es característica de estos frutos y que interfiere en la posterior separación e identificación de los pigmentos.

20

25

Una vez obtenido el extracto de pigmentos se lleva a cabo la separación y cuantificación de pigmentos mediante HPLC con una columna de fase reversa (20 × 0,46 cm) empaquetada con Mediterránea-Sea C18 (3 μm) (Teknokroma, Barcelona, España). La columna se protege con una precolumna (1 × 0,4 cm) empaquetada con el mismo material. La separación se realiza a una velocidad de flujo de 1,25 mL/min, mediante un sistema de elución en gradiente que utiliza dos mezclas de solventes: A.- Agua/reactivo supresor de iones/metanol (1:1:8 v/v/v) y B.- metanol acetona (1:1 v/v). El reactivo supresor de iones es acetato de tetrabutilamonio 0,05 M y acetato de amonio 1 M en agua (Mínguez-Mosquera, Gandul-Rojas, Montañó-Asquerino y Garrido-Fernández "Determination of chlorophylls and

35

carotenoids by HPLC during olive lactic fermentation". J. Chromatogr. (1991) 585, 259-266).

El sistema de gradiente utilizado es una adaptación del descrito por Gandul-Rojas, Roca y Gallardo-Guerrero "Detection of the colour adulteration of green table olive with copper chlorophyllin complexes (E-141ii colorant)". LWT - Food Sci. Tech. (2012) 463, 11-318.

- 5 La detección espectrofotométrica de los pigmentos clorofílicos se realiza a 666, 650, 640 y 626 nm y se obtiene un registro on-line del espectro de absorción UV-Vis con un detector de fotodiodos. La identificación se realiza por co-cromatografía con los correspondientes estándares y a partir de las características espectrales descritas con detalle en publicaciones específicas (Mínguez-Mosquera, Gandul-Rojas, Gallardo-Guerrero y Jarén-Galán "Chlorophylls". In *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*; Hurst, W. J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2002; pp 159-218). La cuantificación se realiza a partir de las correspondientes rectas de calibrado (cantidad vs área de pico integrada). Las ecuaciones de calibración se obtienen mediante análisis de regresión lineal de mínimos cuadrados en un rango de concentración acorde a los niveles de concentración de estos pigmentos en aceitunas de mesa. Se realizan análisis duplicados de 5 diferentes volúmenes de cada solución estándar.
- 10
- 15

- Para determinar el contenido en metales se parte de 100 g de frutos que se lavan, secan, deshuesan y Trituran. De la pasta resultante se pesan con exactitud 5 g en una cápsula de porcelana y se coloca en un horno de mufla. La temperatura de la mufla se lleva rápidamente a 100°C y después se sube lentamente hasta que se alcance la temperatura de calcinación (550°C), a la que se mantiene durante 8-10 horas. Las cenizas, de color blanco-grisáceo, se humedecen ligeramente y disuelven en tres porciones de 2 mL de HCL 6 N y se filtra, poco a poco, a través de papel de filtro a un matraz aforado de 25 mL. Posteriormente, el filtro se limpia tres veces con 3 mL de agua desionizada, que también se añade al matraz aforado, y se termina enrasando con agua desionizada. La disolución de las cenizas se facilita calentando ligeramente la cápsula después de cada adición de HCl. En paralelo se prepara un blanco que únicamente incluye los reactivos, Finalmente, el contenido en metales se determina con un espectrofotómetro de absorción atómica (GBC, modelo 932) equipado con dos lámparas multielemento de cátodo (Cu, Fe, and Mn) (GBC, Victoria, Australia) y (Ca, Mg, Cu and Zn) (Photometry, Victoria, Australi). La muestra se nebuliza en una llama de aire-acetileno y las condiciones instrumentales para la medida de absorbancia se fijan de acuerdo con el manual del equipo (López-López, García-García y Garrido-Fernández "Multivariate characterization of table olives according to their mineral nutrient composition". Food Chem. (2008) 106:369-378).
- 20
- 25
- 30
- 35

La medida de color se obtiene con un espectrofotómetro BYK-Gardner, Modelo 9000, equipado con un software para calcular las coordenadas cromáticas en la escala CIE L* a* b*. El dato para cada medida será el valor medio obtenido con 20 muestras de aceitunas o de judías troceadas (Arroyo-López, Romero, Durán-Quintana, López-López, García-García y Garrido-Fernández "Kinetic study of the physicochemical and microbiological changes in *seasoned* olives during the shelf-life period". J. Agric. Food Chem. (2005) 53, 5285-5292). Los cambios en el color verde se expresan con los parámetros L*, a*, b*, la relación -a*/b, ángulo de tono (h) y croma (C*) (Koca, Karadeniz, Burdurlu. "Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas". Food Chem. (2006) 100, 609-615).

10

MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados, que ponen de manifiesto la efectividad del procedimiento descrito en la presente invención.

15 **Materia prima de los ejemplos 1 a 5.** Un lote de 78 kg de frutos de olivo de la variedad Manzanilla, recogidos mayoritariamente en el estado de madurez verde-amarillento se procesó a escala de laboratorio, como aceitunas verdes de mesa tratadas con álcali y sin fermentación, de acuerdo al "*estilo Castelvetro*". Antes del procesado se realizó una selección manual del fruto, eliminando aquellos dañados o en estados de madurez diferenciados (pintones, morados y negros). Estos frutos seleccionados se depositaron en contenedores de PET de 3,7 L de capacidad y se cubrieron con solución de NaOH al 2% (p/v) (2,2 kg de fruto + 1,8 L de solución alcalina). Después de una hora de tratamiento se añadió 100 g de NaCl a cada contenedor (equivalente a una concentración final de 5,5 % en la solución de NaCl/NaOH) y los frutos se mantuvieron en esta salmuera alcalina durante 20 15 días, realizándose a continuación tres lavados con agua de 3,5 h; 18h y 3,5h de duración. Finalmente, los frutos se colocaron en salmuera de NaCl al 6% (p/v) y se conservaron en cámara refrigerada a 4°C hasta su uso.

25

EJEMPLO Nº 1: PRODUCTO PASTERIZADO ELABORADO EN TRES FASES

30 En este ejemplo el tratamiento de feofitización se realiza mediante proceso químico en condiciones ácidas y se lleva a cabo de forma simultánea con el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y con el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.

35

Fase 1. Etapas A, B y C: tratamiento de feofitización y tratamiento con sal de cinc en una solución ácida tamponada. Tratamiento de aceitunas verdes de mesa elaboradas al estilo castelvetrano en una solución 0,1 M de la mezcla buffer acético/acetato a pH 5,5, conteniendo 6% (p/v) de NaCl, y 3 g/L (3000 ppm) de iones Zn^{2+} como acetato de cinc. La relación sólido/líquido es de 1:3, y el tratamiento de 6 meses a temperatura ambiente de $25 \pm 3^\circ C$.

Se rellenaron frascos de cristal de 445 mL de capacidad (16 RefTO77) con 20 aceitunas (99-103g) y 300 mL de la salmuera tamponada conteniendo 3 g/L (3000 ppm) de acetato de cinc. Los frascos cerrados se mantuvieron en el laboratorio a temperatura ambiente y oscuridad, y se analizaron para color y contenido en pigmentos clorofílicos a los 2, 4, 7, 8, 9, 10 y 14 días. Finalmente, los frutos se mantuvieron almacenados durante 6 meses y alternativamente se sometieron a un test de almacenamiento acelerado mediante calentamiento en estufa a $55^\circ C$ durante 24h. En paralelo se realizaron controles a frutos envasados y almacenados en idénticas condiciones, pero sin la adición de Zn^{2+} a la salmuera de envasado.

Durante el almacenamiento, la pérdida del color verde de los frutos, medido a partir de la coordenada cromática a^* , fue muy lenta en los frutos envasados con cinc, no llegando a ser en ningún caso significativa ($p < 0,05$) (**figura 1**). En cambio, los frutos no tratados con cinc experimentaron una pérdida de verdor más rápida, que empezó a ser significativa a partir del día 9 ($p < 0,05$). Esta pérdida de verdor se asoció con la reacción de sustitución del Mg^{2+} por $2H^+$ que experimentan las clorofilas y derivados bajo condiciones ácidas. En cambio, en los frutos tratados con la sal de Zn^{2+} , esta reacción fue contrarrestada por la inserción de este metal divalente en el anillo porfirínico, provocando la formación de complejos metaloclorofílicos de color verde estable. En el día 8 comenzó a detectarse en la serie "a" la formación de estos complejos metaloclorofílicos de cinc, que fueron incrementando lentamente su concentración hasta el día 14 (**figura 2 C₁**). Con el test de almacenamiento acelerado se consiguió provocar un reverdecimiento muy significativo del fruto tratado con cinc, llegando el valor de a^* a superar incluso el valor inicial (-7,30)(**tabla 1**). Esta mejora del color se asoció con la formación de diferentes complejos metaloclorofílicos de cinc, mayoritariamente de la serie "a" (**figura 2 C₃**). Cuantitativamente, los complejos metaloclorofílicos de cinc suponen cerca del 45% del total de pigmentos clorofílicos presentes en las aceitunas sometidas al Test de almacenamiento acelerado (**tabla 2**):

TABLA 1. Coordinada cromática a* en aceitunas verdes de mesa procesadas según diferentes ejemplos de la invención

Muestra	Etapas de la invención ¹⁾						a*
AVF ²⁾							-12,52±0,01
AVMC (i)							-5,87±0,51
AVMC (a)							-2,68±0,42
	A	B	C	D	E	F	
Ej. 1 ³⁾	SAT pH 5,5 con 3000ppm de Zn (1:3)			5	SI	P	-7,30±0,51
	SAT pH 5,5 (control sin Zn) (1:3)			5	SI	P	-0,22±0,57
Ej. 2	SAT pH 4 (1:3)	SBT pH 9,5 + 3000 ppm de Zn (1:3)		5	SI	P	-1,53±0,25
Ej. 3 3.1 3.2 3.3 3.4 3.5	SAT pH 4 (1:3)	SBT pH 9,5 (1:1) + 80 ppm de Zn		NO	SI	P	0,25±0,32
		100 ppm de Zn					0,30±0,27
		120 ppm de Zn					-0,35±0,41
		140 ppm de Zn					-0,33±0,28
		Control sin Zn					3,93±0,13
Ej. 4 4.1 4.2 4.3 4.4	SAT pH 4 (1:3)	SBT pH 9,5 (1:1) + 80 ppm de Zn		NO	NO	E	-4,28±0,39
		100 ppm de Zn					-4,61±0,58
		120 ppm de Zn					-4,71±0,71
		140 ppm de Zn					-5,00±0,39
Ej. 5 5.1 5.2	SAT pH 4 + 100 ppm de Zn (1:1)	(1:1) SBT pH 9,5		NO	NO	E	-3,26±1,53
		SBT pH 9					-2,54±1,51
Ej. 6	SA pH<2 (4:3)	SBT pH 9,5 + 200 ppm de Zn (4:3)		NO	NO	E	-4,23±0,33
Ej. 7	FAL pH<4	SBT pH 9,5 + 200 ppm de Zn (4:3)		NO	NO	E	-3,96±0,11

5 **TABLA 2.** Porcentaje de pigmentos clorofílicos con Mg, con 2H y con Zn y contenido en cinc en aceitunas verdes de mesa procesadas según diferentes ejemplos de la invención según se describe en la tabla 1:

Muestra	Pigmento clorofílico (%)	Contenido en cinc (ppm)
---------	--------------------------	-------------------------

	con Mg	con 2H ⁺	con Zn ²⁺	
AVF²⁾	97,6±2,1	2,4±0,8	-	3,10±0,25
AVMC (i)	50,1±4,4	49,9±4,4	-	Nd
AVMC (a)	29,7±15,5	70,3±15,5	-	Nd
Ej. 1³⁾	20,5±1,1	34,6±0,1	44,9±1,2	Nd
	18,5±0,5	81,5±0,5	-	Nd
Ej. 2	0,4±0,3	22,0±2,0	74,4±1,4	503,2±34,2
Ej. 3				
3.1				
3.2	Nd	Nd	Nd	Nd
3.3				
3.4				
3.5				
Ej. 4				
4.1	4,7±0,1	45,3±3,6	48,9±4,6	58,8±6,9
4.2	5,3±1,7	51,8±0,3	42,9±2,0	68,5±3,2
4.3	5,3±0,4	44,4±0,9	50,3±0,5	86,2±5,1
4.4	3,1±0,1	50,3±1,1	54,6±1,2	70,4±5,6
Ej. 5				
5.1	20,1±1,2	55,7±2,6	23,3±0,9	34,9±1,1
5.2	20,4±1,4	63,1±2,4	15,3±1,0	37,8±5,9
Ej. 6	12,2±0,1	38,3±1,1	49,5±1,2	46,0±2,5
Ej. 7	9,2±1,5	50,0±6,7	40,8±8,3	56,0±5,0

5 Donde (para las tablas 1 y 2): 1) Etapas de la invención. A: tratamiento de feofitización; B: tratamiento con sal de cinc; C: tratamiento con solución a pH>5; D: lavados; E: envasado en salmuera; F: tratamiento térmico de conservación. 2) Abreviaturas. AVF: aceituna verde fresca; AVMC: aceituna verde de mesa elaborada al estilo "Castelvetrano"; (i) inicial; (a) almacenada 6 meses a 4°C; Nd: no determinado; SAT: Solución ácida tamponada 0,1 M ác. Láctico-NaOH; SA: Solución ácida 0,1 M de HCl; SBT: Solución básica tamponada 0,1 M

glicina-NaOH; FAL: Fermentación ácido láctica; P: pasterización de 8 min a 80°C; E: Esterilización de 43min a 117°C. 3) Los datos de este ejemplo corresponden a un test de almacenamiento acelerado (24h a 55°C).

- 5 Los resultados demuestran que las condiciones de almacenamiento ensayadas pueden ser útiles para mantener el deseado color verde de las aceitunas elaboradas al “*estilo castelvetrano*”, y que esta mejora del color se intensificará a medida que transcurra el tiempo de almacenamiento en estas condiciones. Después de 6 meses de almacenamiento real a temperatura ambiente el producto tiene una mejora significativa del color aparente y
10 puede ser lavado, envasado y pasterizado para su comercialización.

Fase 2. Etapa D: lavados. Inmersión de las aceitunas en agua del grifo durante 60h, con cambio de agua cada 12h (5 lavados).

- 15 **Fase 3. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de conservación.** Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 156 g de frutos y unos 180 mL de una mezcla buffer 0,1 M ácido láctico/lactato a pH 4 y conteniendo un 4% (p/v) de NaCl a una temperatura de 70°C y pasterización a 80°C durante 8 min.

- 20 Los compuestos metaloclorofilicos de cinc formados, responsables de la mejora del color verde son estables y se mantienen después del tratamiento térmico de pasterización. En el producto que ha permanecido durante 6 meses en tratamiento, el valor de la coordenada a* indicó una estabilización del color verde (0,27) y además presentó un alto porcentaje de
25 complejos metaloclorofilicos de cinc (71,63%) (Figura 2 C₂). Sin embargo, la extensa duración del tratamiento y la elevada concentración de sal de cinc provocó el desarrollo de manchas pardas en el producto, resultando por tanto rechazable.

EJEMPLO Nº 2: PRODUCTO PASTERIZADO ELABORADO EN CUATRO FASES.

- 30 En este ejemplo el tratamiento de feofitinización se realiza mediante proceso químico en condiciones ácidas y se lleva a cabo antes del tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y del tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.

- 35 **Fase 1. Etapa A: tratamiento de feofitinización con solución ácida tamponada:** Tratamiento de aceitunas verdes de mesa elaboradas al estilo castelvetrano en una solución

buffer de láctico/NaOH a una concentración 0,1M y pH 4, conteniendo NaCl al 4% (p/v), y en una relación solido/líquido 1:3 durante 9 días, a temperatura ambiente de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

Fase 2. Etapas B y C: tratamiento con sal de cinc en una solución básica tamponada.

5 Inmersión de los frutos en una mezcla buffer 0,1M de glicina/NaOH a pH 9,5, conteniendo NaCl al 4% (p/v) y el aditivo alimentario acetato de cinc, en una concentración de 3 g/L (3000 ppm) y en una relación solido/líquido 1:3, durante 6 días, a una temperatura ambiente de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

10 **Fase 3. Etapa D: lavados.** Inmersión de las aceitunas en agua del grifo durante 60 h, con cambio de agua cada 12 h (5 lavados).

Fase 4. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de conservación.

15 Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 156 g de frutos y unos 180 mL de una mezcla buffer 0,1 M acético/acetato a pH 4,3 y conteniendo un 4% (p/v) de NaCl a una temperatura de 70°C y pasterización a 80°C durante 8 min.

Con este segundo ejemplo se realiza una primera optimización de las condiciones del tratamiento. Se ha puesto de manifiesto que el pH óptimo para la formación de los complejos metaloclorofílicos depende del tipo de sustrato clorofílico. En el caso de clorofilas y derivados que contengan Mg^{2+} , la reacción de acomplejación es más rápida a pH ácido, ya que estas condiciones favorecen el intercambio del Mg^{2+} por 2H^+ y de los 2H^+ por Zn^{2+} . En cambio, existen referencias bibliográficas que demuestran en vegetales tratados térmicamente, donde todos los derivados clorofílicos son del tipo feofitinas (libres de Mg^{2+}), que la formación de los complejos con Zn^{2+} se intensifica a pH alcalino. En este ejemplo, las etapas A y B se realizan por separado a distintos valores de pH, con objeto de disminuir el tiempo de tratamiento con la sal de cinc. El fruto se somete a un primer tratamiento ácido a pH 4 para provocar la feofitinización de los sustratos clorofílicos (**figura 3 C**), seguido de un segundo tratamiento con salmuera básica tamponada a pH 9,5, en presencia de 3 g/L (3000 ppm) de iones Zn^{2+} . En tan sólo 6 días de tratamiento con la sal de cinc se consigue la formación de un 74,37% de complejos de cinc y una consecuente estabilización del color verde, medida a partir del parámetro a^* , con un valor de -1,53 (**tablas 1 y 2**). Los frutos se someten a 5 lavados para reducir el contenido en cinc y finalmente se envasan en salmuera ácida y se pasterizan. Los complejos formados son estables al tratamiento térmico y se mantiene estable el color verde, pero el contenido en cinc del producto fue de 0,5 g/kg (503,22 ppm), 500 % del VRN.

EJEMPLO Nº 3: PRODUCTO PASTERIZADO ELABORADO EN TRES FASES.

En este ejemplo el tratamiento de feofitización se realiza mediante proceso químico en condiciones ácidas y se lleva a cabo antes del tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y del tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente. Se ensayan distintas concentraciones de metal.

5 **Fase 1. Etapa A: tratamiento de feofitización con solución ácida tamponada.** Tratamiento de aceitunas verdes de mesa elaboradas al estilo castelvetrano en una solución buffer de láctico/NaOH a una concentración 0,1M y pH 4, conteniendo NaCl al 4% (p/v), y en una relación solido/líquido 1:3 durante 9 días, a temperatura ambiente de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

15 **Fase 2. Etapas B y C: tratamiento con sal de zinc en una solución básica tamponada.** Inmersión de los frutos en una mezcla buffer 0,1M de glicina/NaOH a pH 9,5, conteniendo NaCl al 4% (p/v) y el aditivo alimentario acetato de cinc en concentraciones de 0,08 g/L; 0,1g/L; 0,12 g/L; y 0,14 g/L (80, 100, 120, y 140 ppm) y en una relación solido/líquido 1:1, durante 48h a temperatura ambiente.

20 **Fase 3. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de conservación.** Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 156 g de frutos y unos 180 mL de una mezcla buffer 0,1 M láctico/NaOH a pH 4,3 y conteniendo un 6% (p/v) de NaCl a una temperatura de 70°C y pasterización a 80°C durante 25 8 min.

En este tercer ejemplo se reduce la cantidad de sal de cinc empleada, lo que permite eliminar la etapa de lavado, sin embargo, no se consigue una adecuada estabilización del color verde, manteniéndose los valores de a^* entre 0,30 y -0,35 en función de la cantidad de cinc adicionada (**tabla 1**).

EJEMPLO Nº 4: PRODUCTO ESTERILIZADO ELABORADO EN DOS FASES.

En este ejemplo el tratamiento de feofitización se realiza mediante proceso químico en condiciones ácidas y se lleva a cabo de forma independiente en una primera fase. En una segunda fase se realiza simultáneamente el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y el

tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente, y así mismo se sincroniza con el tratamiento térmico de conservación.

Fase 1. Etapa A: tratamiento de feofitinización con solución ácida tamponada.

- 5 Tratamiento de aceitunas verdes de mesa elaboradas al estilo castelvetrano en una solución buffer de láctico/NaOH a una concentración 0,1M y pH 4, conteniendo NaCl al 6% (p/v), y en una relación solido/líquido 1:3, durante 9 días, a temperatura ambiente de $25 \pm 3^\circ\text{C}$.

Fase 2. Etapas B, C, E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento a pH básico tamponado, adición de sal de cinc y tratamiento térmico de esterilización.

- 10 Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 156 g de frutos y unos 180 mL de la mezcla buffer 0,1 M de glicina/NaOH a pH 9,5, conteniendo un 4% (p/v) de NaCl y el aditivo alimentario acetato de cinc en concentraciones de 0,08 g/L; 0,1g/L; 0,12 g/L; y 0,14 g/L (80, 100, 120, y 140 ppm) y en una relación solido/líquido 1:1, dejando un espacio de cabeza de
15 al menos 2 mL. Después de 48h de equilibrio se realiza un tratamiento térmico de esterilización técnica para al menos 15 D (43 min a 117°C).

- En este cuarto ejemplo se realiza una optimización adicional combinando las etapas B, C y E con un tratamiento térmico de esterilización. De esta forma se reduce la cantidad del
20 aditivo empleada a $\leq 0,14$ g/L (140 ppm), se eliminan los lavados y se reduce el tiempo total de elaboración del producto. Después de la etapa de tratamiento con buffer ácido a pH 4 durante 9 días, que provoca un porcentaje de feofitinización en los sustratos clorofílicos de al menos el 95% (**figura 3 C**), los frutos se envasan en una mezcla buffer a pH 9,5 conteniendo diferentes cantidades de cinc y se someten a tratamiento térmico de
25 esterilización de 15 D. Inmediatamente después del tratamiento térmico ya se consigue la formación de un alto porcentaje de complejos de cinc ($> 43\%$) y una estabilización del color verde (a^* entre -4,28 y -5,00) (**Figura 3 D y tablas 1 y 2**). Todos los tratamientos consiguen la deseada mejora/estabilización del color verde y mantienen una cantidad de cinc en el producto acabado inferior al 100% del VRN (**tabla 2**). En los tratamientos con 0,08 g/L y
30 0,1g/L (80 y 100 ppm) de acetato de cinc esta cantidad es inferior a 75 ppm (75% del VRN), cantidad máxima admitida en determinadas legislaciones (documento US 5482727). El producto estaría listo para su comercialización en 10 días y a diferencia de los productos de este tipo de elaboración de aceitunas tratadas térmicamente actualmente disponibles en el mercado, el color puede seguir evolucionando favorablemente durante el almacenamiento
35 del producto a temperatura ambiente.

EJEMPLO Nº 5: PRODUCTO ESTERILIZADO ELABORADO EN DOS FASES

En este ejemplo el tratamiento de feofitización se realiza en una primera fase mediante proceso químico en condiciones ácidas y de forma simultánea con el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente. En una segunda fase se lleva a cabo el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y de forma simultánea al tratamiento térmico de conservación.

Fase 1. Etapas A y B: tratamiento de feofitización y tratamiento con sal de cinc en una solución ácida tamponada. Tratamiento de aceitunas verdes de mesa elaboradas al estilo castelvetrano en una solución buffer de láctico/NaOH a una concentración 0,1M y pH 4, conteniendo NaCl al 4% (p/v) y 0,1 g/L (100 ppm) del aditivo alimentario acetato de cinc. La relación sólido/líquido es de 1:1, y el tratamiento de 9 días a temperatura ambiente de $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Fase 2. Etapas C, E, y F: envasado en salmuera de acondicionamiento a pH básico tamponado y tratamiento térmico de esterilización.

Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 156 g de frutos y unos 180 mL de la mezcla buffer 0,1 M de glicina/NaOH a pHs 9 y 9,5, conteniendo un 4% (p/v) de NaCl, en una relación sólido/líquido 1:1, dejando un espacio de cabeza de al menos 2mL. Después de 48h de equilibrio se realiza un tratamiento térmico de esterilización técnica para al menos 15 D (43 min a 117°C).

En este quinto ejemplo se realiza una optimización adicional combinando las etapas A y B (tratamiento en solución ácida tamponada y tratamiento con sal de cinc). De esta forma se consigue reducir aún más la cantidad de cinc que es incorporada al producto a < 40 ppm (**tabla 2**), formándose una cantidad de complejos metaloclorofílicos de cinc inferior a la del ejemplo anterior (entre 15 y 23%) pero suficiente para estabilizar el color verde, con un valor de a^* entre -2,54 y -3,26. En este caso, al adicionar el cinc en la etapa del tratamiento ácido, el grado de feofitización de los pigmentos clorofílicos fue inferior, manteniéndose después del tratamiento térmico un 20% de los complejos nativos con magnesio.

EJEMPLO Nº 6: PRODUCTO ESTERILIZADO ELABORADO EN TRES FASES

En este ejemplo el tratamiento de feofitización se realiza en una primera fase mediante proceso químico en condiciones ácidas y en una segunda fase se realiza de forma simultánea el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal

divalente y el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5.

5 **Materia prima:** Un lote de 5 kg de aceitunas de la variedad cacereña se sometió a un tratamiento con solución de NaOH al 1,7% (p/v), conteniendo 3% (p/v) de NaCl. La relación fruto/líquido fue de 4:3 y la duración del tratamiento 6,5 horas. Posteriormente se lavó con agua durante 4 horas en la misma proporción fruto/líquido.

10 **Fase 1. Etapa A: tratamiento de feofitinización mediante proceso químico en condiciones ácidas:** Tratamiento de las aceitunas con una solución 0,1 M de HCl y 8% de NaCl (p/v) en una relación fruto/líquido 4:3 durante 4 días.

15 **Fase 2. Etapas B y C: tratamiento con sal de zinc en una solución básica tamponada:** Tratamiento de las aceitunas con una solución tamponada de glicina-NaOH 0,1 M a pH 9,5, conteniendo 0,2 g/L (200 ppm) de Zn (II) y en una relación fruto/líquido 4:3 durante 48 horas.

Fase 3. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de esterilización.

20 Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 200 g de frutos y unos 150 mL de salmuera 4% (p/v) de NaCl en una relación solido/líquido 4:3, dejando un espacio de cabeza de al menos 2 mL y tratamiento térmico de esterilización técnica para al menos 15D (43 min a 117°C).

25 En este ejemplo se optimiza la Etapa A, sustituyendo la solución tamponada 0,1 M de ácido láctico-NaOH a pH 4, empleada en los anteriores ejemplos, por una solución ácida sin tamponar 0,1 M de ácido clorhídrico (pH = 1,8). Al someter los frutos a un tratamiento ácido mucho más intenso, se acorta la duración de esta primera etapa desde los 9 días requeridos en los ejemplos anteriores hasta 4 días, y además se reduce la cantidad de líquido necesario para el óptimo desarrollo de esta etapa. Transcurridos estos 4 días, la coordenada
30 a* se situó en $3,63 \pm 0,35$ y el porcentaje de feofitinización alcanzó al 100 % de la fracción clorofílica del fruto.

Tras la fase de adición de sal de cinc a pH básico, una vez envasadas las aceitunas, presentaron una significativa mejora del color verde tras el tratamiento térmico,

materializada en una variación de la coordenada a^* que se situó en $-4,23 \pm 0,33$ y una formación de complejos metaloclorofílicos de cinc del 50% (Tablas 1 y 2).

EJEMPLO Nº 7: PRODUCTO ESTERILIZADO ELABORADO EN TRES FASES

5 En este ejemplo el tratamiento de feofitización se realiza en una primera fase mediante proceso biotecnológico de fermentación y en una segunda fase se realiza de forma simultanea el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente y el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5.

10

Materia prima: Un lote de 5 kg de aceitunas de la variedad hojiblanca se sometió a un tratamiento con solución de NaOH al 1,7% (p/v) conteniendo 3% (p/v) de NaCl. La relación fruto/líquido fue de 4:3 y la duración del tratamiento 6,5 horas. Posteriormente se lavó con agua durante 4 horas en la misma proporción fruto/líquido.

15

Fase 1. Etapa A: tratamiento de feofitización mediante proceso biotecnológico de fermentación: Tratamiento de la materia prima mediante una fermentación ácido-láctica natural y desarrollada en salmuera de NaCl a una concentración de 7% en equilibrio, durante un periodo de tiempo 3 meses, en una proporción sólido/líquido 4:3.

20

Fase 2. Etapas B y C: tratamiento con sal de zinc en una solución básica tamponada: Tratamiento de las aceitunas con una solución tamponada de glicina-NaOH 0,1 M a pH 9,5, conteniendo 0,2 g/L (200 ppm) de Zn (II) en una relación fruto/ líquido 4:3 durante 48 horas.

25 **Fase 3. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de esterilización.**

Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 200 g de frutos y unos 150 mL de salmuera 4% (p/v) de NaCl en una relación solido/líquido 4:3, dejando un espacio de cabeza de al menos 2 mL y tratamiento térmico de esterilización técnica para al menos 15D (43 min a 117°C).

30

Con este ejemplo se pretende ensayar la posibilidad de realizar la Etapa A mediante una fermentación ácido-láctica que descienda el pH por debajo de 4 merced a la generación de ácido láctico resultante de la fermentación de los azúcares presentes en las aceitunas.

35

Esta variante es de gran interés para las empresas del sector de la aceituna de mesa, ya que la elaboración de aceitunas al estilo español o sevillano mediante fermentación ácido-láctica, y posterior conservación en salmuera ácida es una de las prácticas más extendidas en el sector, lo que permite disponer de este tipo de producto durante prácticamente todo el año. Mediante este procedimiento biotecnológico se obtienen aceitunas de un color amarillento con una coordenada a^* de $2,43 \pm 0,05$ y un porcentaje de feofitinización que alcanzó al 100 % de la fracción clorofílica. Este resultado demuestra la eficacia del proceso de fermentación ácido-láctica para “feofitinizar” la clorofila inicialmente presente en las aceitunas. Así mismo puede ser de aplicación a cualquier tipo de hortaliza o fruto verde conservado mediante fermentación ácida.

En este ejemplo aplicado a aceitunas, tras la fase de adición de sal de cinc a pH básico, una vez envasado el producto presentó una significativa mejora del color verde tras el tratamiento térmico, materializada en una variación de la coordenada a^* que se situó en $-3,96 \pm 0,11$ y una formación de complejos metaloclorofílicos de cinc del 41% (**Tablas 1 y 2**).

EJEMPLOS 8 (A y B) y 9 (A y B)

En estos ejemplos, en una primera fase se realiza el tratamiento de feofitinización mediante calentamiento y en una segunda fase se realiza de forma simultánea el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente y el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5.

Materia prima. Se aplica la invención a la elaboración de una hortaliza verde típica (judía verde). En estos ejemplos el modo de realización del tratamiento de feofitinización (etapa A) es un tratamiento de calentamiento y se realizó con dos variantes: **A)** tratamiento físico de cocción en agua y **B)** tratamiento físico-químico de cocción en agua acidulada con un 0,125% de ácido cítrico.

Las judías verdes frescas se cortaron en trozos de unos 3 cm y se lavaron con agua del grifo. A continuación, se cocieron unos 400 g del material vegetal en un vaso conteniendo 1,6L del líquido de cocción, a temperatura de 95-97°C durante 20min.

EJEMPLOS Nº 8A y 8B: PRODUCTO PASTERIZADO ELABORADO CON DOBLE COCCIÓN EN TRES FASES

En estos ejemplos, tras la etapa de feofitinización, el producto (200 g) se sometió a una nueva cocción en mezcla buffer 0,1M de glicina/NaOH a pH 8, conteniendo Zn (II) en concentración de 0,2g/L (200 ppm) y en una relación producto/líquido 1:4, durante 45min a 95-97°C. Finalmente, el producto se envasó en un líquido de gobierno consistente en salmuera ácida a pH < 4,6, y se procedió al tratamiento térmico de pasterización.

5

Fase 1. Etapa A: tratamiento de feofitinización mediante proceso físico de calentamiento: Escaldado en agua a 95-97°C con judías verdes, troceadas y lavadas, en una relación sólido/líquido 1:4 durante 20min.

10

Fase 2. Etapas B y C: tratamiento con sal de zinc en una solución básica tamponada. Inmersión de los frutos en una mezcla buffer 0,1M de glicina/NaOH a pH 8, conteniendo acetato de cinc en concentración de 0,2g/L (200 ppm) y en una relación sólido/líquido 1:4, durante 45 min a 95-97°C.

15

Fase 3. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de conservación. Llenado de botes de vidrio de 370mL de capacidad con unos 200 g de material vegetal y unos 150 mL de salmuera de NaCl al 3% (p/v) conteniendo 0,6% de ácido láctico a una temperatura de 70°C, seguido de tratamiento térmico de pasterización a 90°C durante 15 min.

20

El completo desarrollo del procedimiento consigue una adecuada estabilización del color verde, tanto en el producto cocido en agua ($a^* = -6,76 \pm 0,503$) como el cocido en agua acidulada ($a^* = -5,85 \pm 0,11$), alcanzando un porcentaje de complejos metaloclorofílicos de Zn²⁺ de 25,85 y 28,42 % respectivamente (**tablas 3 y 4 y figura 4**).

25

En contraposición, el producto elaborado de forma tradicional sin la adición de sal de cinc, mediante cocción en agua, envasado en salmuera acidulada y posterior pasterización, presentó una importante pérdida de color verde ($a^* = 1,41$), debido a la sustitución del Mg²⁺ por 2H en la totalidad de los pigmentos clorofílicos (**tablas 3 y 4 y figura 4B**).

30

Estos ejemplos ilustran cómo el procedimiento de la presente invención ofrece importantes mejoras con respecto a otros procedimientos previos, ya que al ser más eficiente la reacción de complejación de los pigmentos con el metal divalente, se puede obtener un producto idóneo en frutas y hortalizas con contenido medio-bajo de derivados clorofílicos, utilizando una cantidad de cinc muy inferior a la empleada en otros procedimientos. Por ejemplo en el

35

documento US6004601A, se utiliza una solución de blanqueo con al menos 500 ppm de cinc, en una relación vegetal:solución de blanqueo de 1:12, es decir 6000mg de cinc por cada kg de vegetal, mientras que en los ejemplos aquí descritos se utilizan 800 mg por cada kg de vegetal (solución básica tamponada con 200 ppm en una relación vegetal:solución de tratamiento 1:4).

Tampoco es necesario una adición combinada de sales de cobre como se hace referencia en el documento US 5114725 A. Así mismo, se estabiliza el color verde del producto vegetal antes del tratamiento térmico de conservación, permitiendo su envasado bajo condiciones ácidas. Para garantizar la seguridad del producto a largo plazo es pues suficiente con un tratamiento térmico de pasterización que es menos agresivo que la necesaria esterilización aplicada en otros procedimientos patentados (4473591; US 5114725 A; 5482727 y US6004601A), reduciendo al máximo los problemas de textura y sabores a cocinado. El producto obtenido en estas realizaciones preferentes contiene $153\pm 10\%$ y $144\pm 10\%$ del VRN por 100g de producto.

EJEMPLOS Nº 9A Y 9B: PRODUCTO PASTERIZADO ELABORADO EN TRES FASES

En este ejemplo, tras la etapa de feofitización, el producto (200 g) se trató con una mezcla buffer 0,1M de glicina/NaOH a pH 8, conteniendo 0,2 g/L (200 ppm) de Zn (II) pero disminuyendo la relación sólido:líquido a 4:3 y manteniendo el producto durante 5 días a temperatura controlada de 60°C. Finalmente, el líquido de gobierno se sustituyó por una salmuera ácida a $\text{pH} < 4,6$, y se procedió al tratamiento térmico de pasterización.

Fase 1. Etapa A : tratamiento de feofitización mediante proceso físico de calentamiento: Tratamiento de escaldado en agua a 95-97°C con judías verdes troceadas y lavadas, en una relación solido/líquido 1:4 durante 20 min.

Fase 2. Etapas B y C: tratamiento con sal de cinc en una solución básica tamponada. Inmersión del material vegetal en una mezcla buffer 0,1M de glicina/NaOH a pH 8, conteniendo acetato de cinc, en una concentración de 0,2 g/L (200 ppm) y en una relación solido/líquido 4:3, durante 5 días a una temperatura controlada de $60 \pm 1^\circ\text{C}$.

Fase 3. Etapas E y F: envasado en salmuera de acondicionamiento y tratamiento térmico de conservación.

Llenado de botes de vidrio de 370 mL de capacidad con unos 190 g de material vegetal y unos 130 mL de una salmuera de NaCl al 3% conteniendo un 0,6% (p/v) de ácido láctico, a una temperatura de 70°C y pasterización a 90°C durante 15 min.

5 Con este procedimiento, tras la Fase 1, se consigue un porcentaje de feofitinización de la fracción clorofílica del material vegetal que alcanza 82,86% en el caso de cocción en agua y el 93,57% en el caso de cocción en agua acidulada. El completo desarrollo del procedimiento consigue una adecuada estabilización del color verde (**tablas 3 y 4 y figura 4A**), tanto en el producto cocido en agua ($a^* = -5,81 \pm 0,23$) como el cocido en agua acidulada ($a^* = -5,46 \pm 0,41$), alcanzando un porcentaje de complejos metaloclorofílicos de Zn^{+2} de 33,03 y 32,35 % respectivamente. Sin embargo, la cantidad de cinc incorporada diferenció ambas realizaciones. Cuando la etapa previa de feofitinización se realiza en agua (ejemplo 9A) el contenido en cinc ($63,13 \pm 3,61$ ppm) fue inferior al obtenido cuando la feofitinización se realiza en agua acidulada ($86,45 \pm 2,62$ ppm) (ejemplo 9B). En cualquier caso, en ambas realizaciones se consigue un producto de características organolépticas idóneas sin necesidad de superar el 100% del VRN por 100g de producto. Al reducir la temperatura en la que se realiza el tratamiento con la sal de cinc, así como la relación sólido:líquido se consigue, además de las ventajas mencionadas en los ejemplos anteriores (8A y 8B), reducir considerablemente la cantidad de cinc utilizada a 150 mg por kg de producto (solución de 200ppm de cinc en una relación vegetal:solución de tratamiento 4:3), así como la cantidad de mineral que se incorpora al producto.

Tabla 3: Coordenada cromática a^* en judías verdes procesadas según diferentes ejemplos de la invención.

Muestra	Etapas de la invención ¹⁾							a^*	
JVF ²⁾								$-10,51 \pm 0,36$	
	A		B	C	D	E	F		
	COC	pH del vegetal							
		inicial	final						
CJVC	A	5,8	5,8	-	-	-	-	$-3,03 \pm 0,16$	
	B	5,8	4,5	-	-	-	-	$-2,19 \pm 0,18$	
CJVCP	A	5,8	5,8	-			P	$1,41 \pm 0,17$	
	B	5,8	4,5	-			P	$1,59 \pm 0,42$	

Ej. 8A	A	5,8	5,8	SBT pH 8 + 200 ppm de Zn ²⁺ a 95-97°C durante 45 min (1:4)	No	P	-6,76±0,50
Ej. 8B	B	5,8	4,5		No	P	-5,85±0,11
Ej. 9A	A	5,8	5,8	SBT pH 8 + 200 ppm de Zn ²⁺ durante 5 días a 60 °C (4:3)	No	P	-5,81±0,81
Ej. 9B	B	5,8	4,5		No	P	-5,46±0,80

Tabla 4: Porcentaje de pigmentos clorofílicos con Mg, con 2H y con Zn y contenido en cinc en judías verdes procesadas según diferentes ejemplos de la invención según se describe en la tabla 3.

5

Muestra	Pigmento clorofílico (%)			Contenido en cinc (ppm)
	con Mg	con 2H ⁺	con Zn ²⁺	
JVF²⁾	98,23±3,31	1,77±0,88		Nd
CJVC	17,1±1,6	82,96±9,4	0	Nd
	6,4±1,2	93,67±4,4	0	
CJVCP	0	100,0±0,0	0	2,8±0,1
	0	100,0±0,0	0	
Ej. 8A	0	74,25±7,2	25,95±2,9	152,8±10,3
Ej. 8B	0	71,6±8,6	28,4±3,7	144,2±10,0
Ej. 9A	3,29±0,9	63,8±6,6	33,0±6,8	63,1±3,6
Ej. 9B	2,4±0,5	65,2±4,2	32,3±3,6	86,55±2,6

Donde (para las tablas 3 y 4): 1) Etapas de la invención. A: tratamiento de feofitinización; B: tratamiento con sal de cinc; C: tratamiento con solución a pH > 5; D: lavados; E: envasado en salmuera; F: tratamiento térmico de conservación; 2) Abreviaturas. JVF: judía verde fresca; CJVC: control de judía verde cocida; CJVCP: control de judía verde cocida y pasterizada; COC: Cocción durante 20 min a 95-97°C en una proporción sólido líquido (1:4); A: en agua a pH 7,6; B: en agua + 0.125% Ac cítrico (pH 2.77); SBT: Solución básica tamponada 0,1 M glicina-NaOH; P: pasterización de 15 min a 90°C en salmuera 5 %NaCl con 0.5%; Nd: No determinado.

15

REIVINDICACIONES

- 1.- Procedimiento para la optimización de propiedades organolépticas en productos
5 vegetales que contienen pigmentos clorofílicos que comprende las siguientes etapas:
- tratamiento de feofitinización de los productos vegetales para la sustitución del Mg por 2H
en al menos un 10% de los compuestos clorofílicos
- tratamiento de los productos vegetales con una solución con pH comprendido entre 5 y 12
para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 y
10 - tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente que
se selecciona entre Ca, Fe, Mn y Zn o combinaciones de los mismos para la formación de
complejos clorofilas – metal divalente.
- 2.- Procedimiento para la optimización de propiedades organolépticas en productos
15 vegetales que contienen pigmentos clorofílicos según la reivindicación 1, caracterizado
porque la propiedad organoléptica a optimizar es el color verde.
- 3.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 o 2, donde los productos vegetales se
seleccionan entre frutas y/o hortalizas que contengan pigmentos clorofílicos como aceitunas
20 de mesa, guisantes, alcachofas, alcauciles, acelgas, alcaparras, berzas, espicanas, brotes
de ajo, cardos, grelos, habas, judías verdes, espárragos verdes, pimientos verdes, brócolis,
pepinillos, aguacates, ciruelas, kiwis, manzanas, peras, y uvas.
- 4.- Procedimiento según la reivindicación 3 donde los productos vegetales a los que se
25 aplica el procedimiento son no elaborados, seleccionados entre enteros frescos, enteros
pelados, cortados, triturados o congelados.
- 5.- Procedimiento según la reivindicación 3 donde los productos vegetales a los que se
aplica el procedimiento son elaborados secos, elaborados en vinagre, aceite, sal o
30 salmuera, elaborados en conserva mediante tratamiento térmico, preparados y/o derivados
de frutas y hortalizas, o combinaciones de los mismos.
- 6.- Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el tratamiento
de feofitinización se realiza durante un periodo comprendido entre 3 años y 5 minutos, y
35 antes del tratamiento con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con
valor superior a 5.

- 7.- Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde los productos vegetales se mantienen a un pH comprendido entre 5 y 8.
- 5 **8.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 se realiza antes del tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 10 **9.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 se realiza simultáneamente con el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 15 **10.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 se realiza después del tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 20 **11.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el tratamiento de feofitinización se realiza simultáneamente con el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 25 **12.-** Procedimiento según la reivindicación 11, donde el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 se realiza simultáneamente con el tratamiento de feofitinización y con el tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 30 **13.-** Procedimiento según la reivindicación 11, donde el tratamiento de los productos vegetales con la solución que mantiene el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 se realiza después de la etapa simultánea de feofitinización y tratamiento de los productos vegetales con al menos un compuesto de metal divalente.
- 35 **14.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde el tratamiento de feofitinización es un tratamiento térmico.

- 15.-** Procedimiento según la reivindicación 14, donde el tratamiento térmico es un calentamiento de los productos vegetales, a una temperatura comprendida entre 50-100°C y durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 y 90 minutos.
- 5 **16.-** Procedimiento según la reivindicación 15 donde el calentamiento se realiza en un medio que se selecciona entre agua o una solución acuosa con o sin ácido de grado alimentario o mediante vapor, calor seco, microondas, infrarrojos, radiofrecuencia o calentamiento dieléctrico.
- 10 **17.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, donde el tratamiento térmico se hace con los productos vegetales mantenidos a un pH inferior a 6.
- 18.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 donde el tratamiento de feofitinización es un proceso bioquímico.
- 15 **19.-** Procedimiento según la reivindicación 18, donde el proceso bioquímico es una fermentación por bacterias ácido-lácticas que se realiza conservando el producto vegetal en condiciones anaeróbicas, durante un periodo de tiempo superior a 4 días o hasta que se alcance un valor de pH inferior a 5.
- 20 **20.-** Procedimiento según la reivindicación 19 donde la conservación del producto vegetal se realiza mediante adición de sal en una concentración de al menos 2,5% en relación al peso del producto vegetal.
- 25 **21.-** Procedimiento según la reivindicación 19 donde la conservación del producto vegetal se realiza mediante adición de una salmuera de concentración al menos 0,25 g por litro con o sin la adición de ácidos de grado alimentario u otros aditivos alimentarios.
- 22.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde el tratamiento de feofitinización es un tratamiento químico.
- 30 **23.-** Procedimiento según la reivindicación 22, donde el tratamiento químico es un tratamiento con una solución ácida.

- 24.-** Procedimiento según la reivindicación 23, donde la solución ácida se selecciona entre los ácidos acético, ascórbico, benzoico, cítrico, clorhídrico, láctico, málico, propiónico, succínico, y sus sales o combinaciones de los mismos.
- 5 **25.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24, caracterizado porque el tratamiento con la solución ácida consiste en poner en contacto los productos vegetales con la solución en una concentración igual o superior a 0,1mM, durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 min y 2 años, a una temperatura entre 4°C y 100°C.
- 10 **26.-** Procedimiento según la reivindicación 23, donde la solución ácida es una solución ácida tamponada.
- 27.-** Procedimiento según la reivindicación 26, donde la solución ácida tamponada se selecciona entre las siguientes: acético-acetato; ascórbico-ascorbato; benzoico-benzoato;
- 15 cítrico-citrato; láctico-lactato; málico-malato; propiónico-propionato; succínico-succinato o combinaciones de las mismas.
- 28.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 26 o 27, caracterizado porque el tratamiento con la solución ácida tamponada consiste en poner en contacto los productos
- 20 vegetales con la solución en una concentración igual o superior a 0,1mM, durante un periodo de tiempo comprendido entre 1 min y 2 años, a una temperatura entre 4°C y 100°C.
- 29.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, donde el compuesto de metal divalente es un compuesto de cinc.
- 25 **30.-** Procedimiento según la reivindicación 29, donde el compuesto de cinc es una sal de cinc que se selecciona entre acetato de cinc, bisglicinato de cinc, cloruro de cinc, citrato de cinc, estearato de cinc, gluconato de cinc, lactato de cinc, óxido de cinc, carbonato de cinc, sulfato de cinc o combinaciones de las mismas.
- 30 **31.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 29 o 30, caracterizado porque el tratamiento con la sal de cinc consiste en poner en contacto los productos vegetales con una solución de la sal de cinc de concentración comprendida entre 0,005 y 3 g/L, durante un periodo de tiempo comprendido entre 5 min y 1 año, y a una temperatura entre 4°C y 150
- 35 °C.

- 5 **32.-** Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 31, caracterizado porque la solución con pH comprendido entre 5 y 12 para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 se selecciona entre una solución de hidróxido o carbonato de sodio, potasio, amonio, magnesio o combinaciones de los mismos o una solución tamponada de bórico-borato, glicina-glicinato, fosfórico-fosfato, carbónico-carbonato o combinaciones de los mismas.
- 10 **33.-** Procedimiento según la reivindicación 32, caracterizado porque el tratamiento con la solución con pH comprendido entre 5 y 12 para mantener el pH de los productos vegetales con valor superior a 5 consiste en poner en contacto los productos vegetales, al menos una vez, con la solución, en una concentración igual o superior a 0,1 mM, durante un periodo de tiempo comprendido entre 5 min y 1 año, y a una temperatura entre 4°C y 150 °C.
- 15 **34.-** Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33 caracterizado porque incluye adicionalmente al menos una de las siguientes etapas:
- lavado de los productos vegetales
 - secado
 - partido o trituración de los productos vegetales
 - extracción de aceite o jugo
 - 20 - envasado en salmuera, a vacío o en atmosfera inerte
 - adición de aromas y/u otros aditivos y/u ingredientes alimentarios
 - tratamiento térmico de esterilización o pasterización.
- 25 **35.-** Productos vegetales obtenidos mediante un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, caracterizados porque presentan un porcentaje de complejos clorofilas – metal divalente, respecto a la cantidad total de compuestos clorofilicos, comprendido entre 15% y el 100%, seleccionándose el metal divalente entre Ca, Fe, Mn y Zn o combinaciones de los mismos.
- 30 **36.-** Productos vegetales según la reivindicación 35, caracterizados porque los complejos de clorofilas – metal divalente son complejos Zn-clorofilas presentes en un porcentaje comprendido entre el 15% y el 100% y porque los productos vegetales presentan un contenido de Zn comprendido entre el 0,3% y el 0,0005%.
- 35 **37.-** Productos vegetales según la reivindicación 36. caracterizados porque el contenido de Zn en el producto envasado está comprendido entre 0,01% y 0,002%.

38.- Productos vegetales según cualquiera de las reivindicaciones 35 a 37, donde los productos vegetales son enteros, enteros pelados, cortados, triturados o congelados, elaborados secos, elaborados en vinagre, aceite, sal o salmuera, elaborados en conserva
5 mediante tratamiento térmico, preparados y/o derivados de frutas y hortalizas o combinaciones de los mismos.

39.- Productos vegetales según la reivindicación 38, donde los productos vegetales utilizados en el procedimiento son judías verdes.

10

40- Productos vegetales según la reivindicación 38, donde los productos vegetales utilizados para la aplicación del procedimiento se seleccionan entre aceitunas verdes de mesa procesadas mediante tratamiento alcalino y con o sin fermentación ácido-láctica y aceitunas verdes de mesa procesadas al natural mediante fermentación ácido-láctica.

15

FIG.1

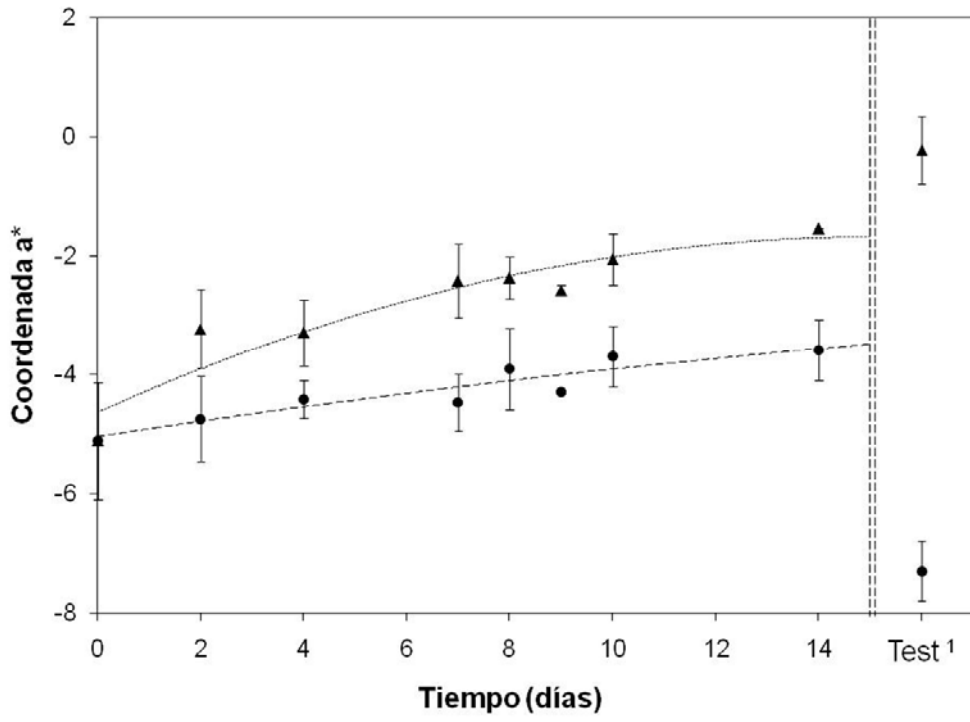


FIG.2

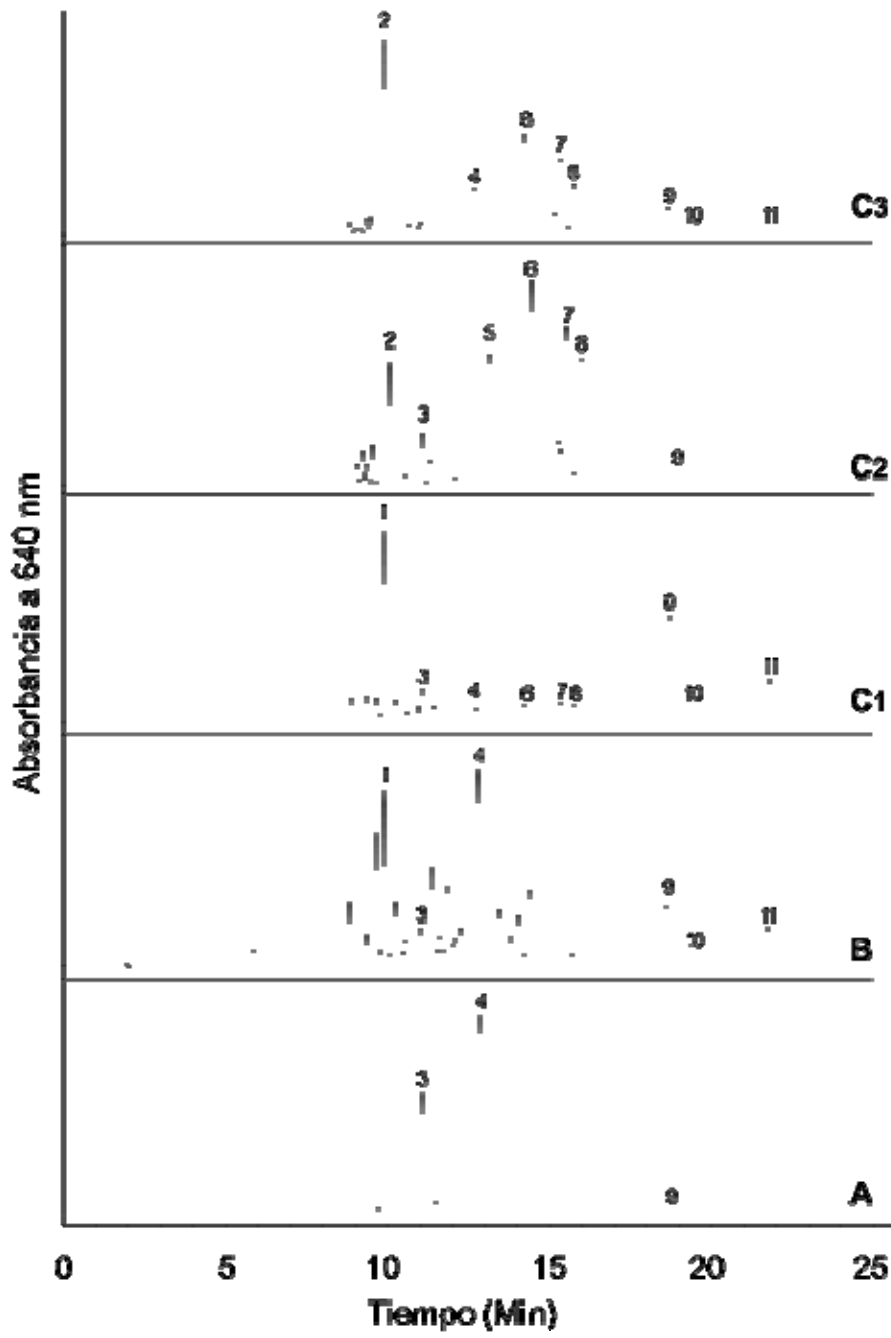


FIG.3

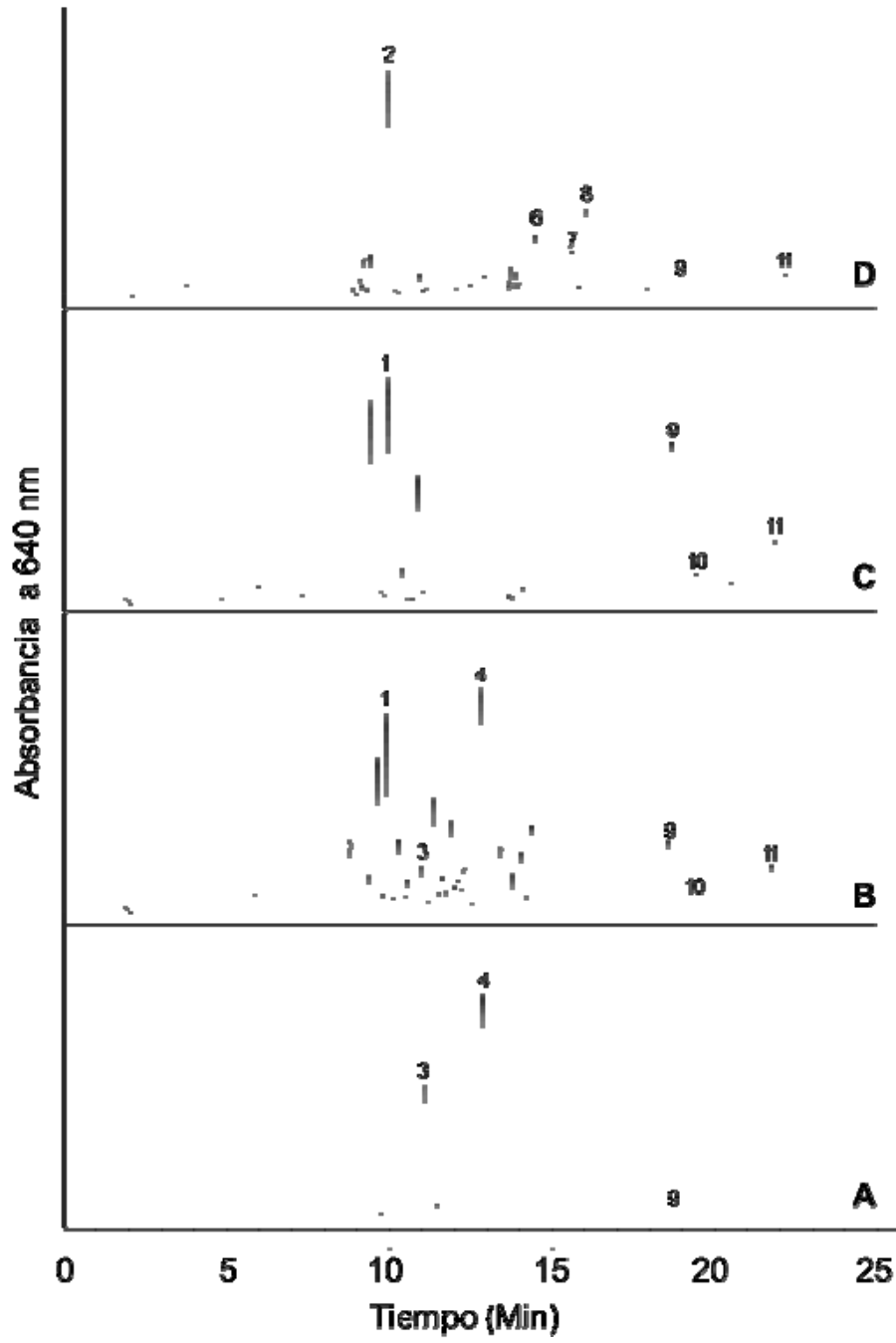
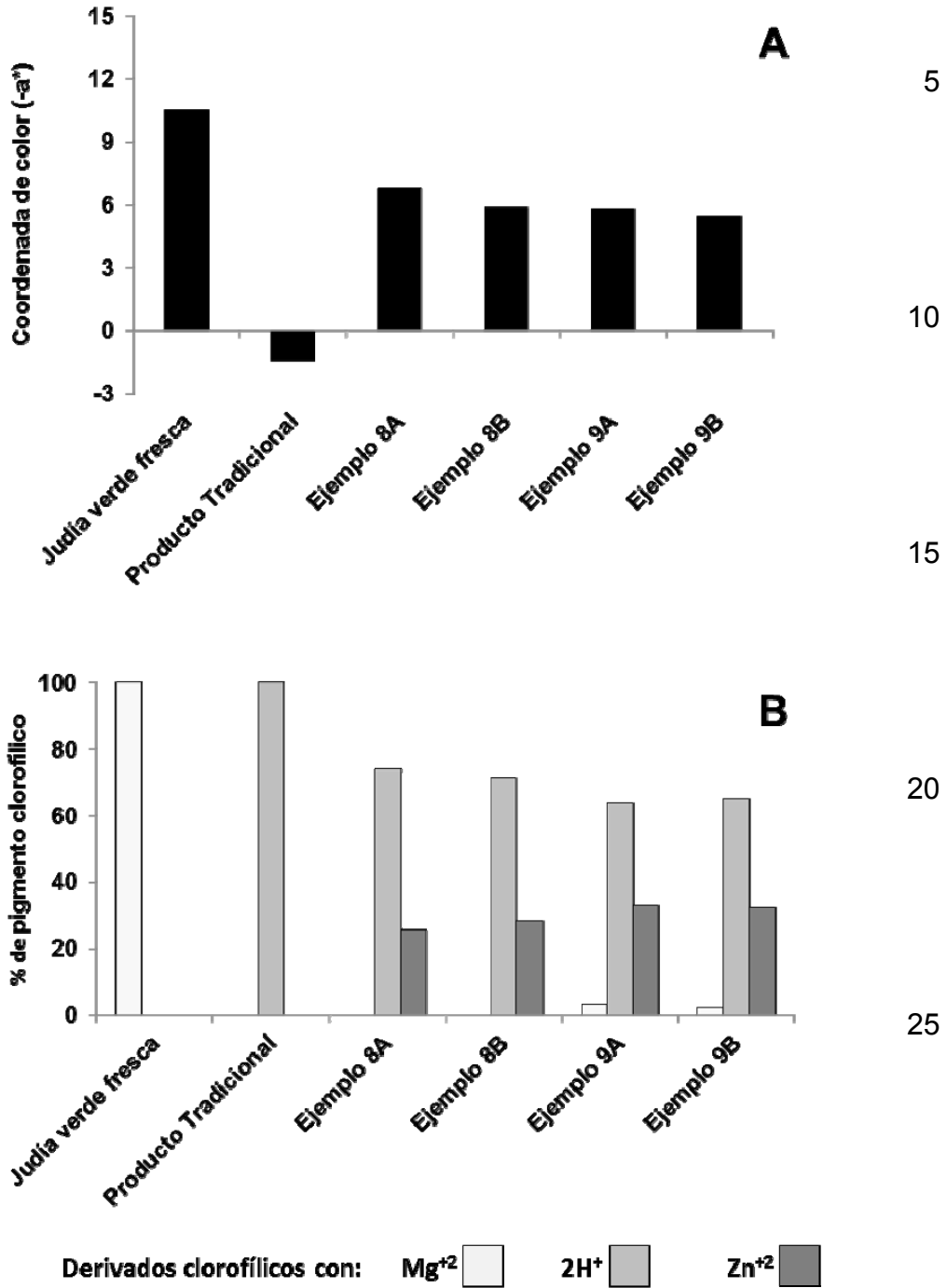


FIG.4





- ②¹ N.º solicitud: 201730660
 ②² Fecha de presentación de la solicitud: 05.05.2017
 ③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤¹ Int. Cl.: **A23B7/157** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
E	ES 2627728 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIG CIENTIFICAS) 31/07/2017, ejemplos 2, 5; reivindicaciones 16-18.	1-13, 22-34, 35, 36, 38, 40
A		14-17,18-21,37,39
A	US 4701330 A (ROGERS ANN M et al.) 20/10/1987	1-40
A	ZHENG YONGJU et al. Effect of heat treatment, pH, sugar concentration, and metal ion addition on green color retention in homogenized puree of Thompson seedless grape. LWT- Food Science and Technology Academic Press, United Kingdom. Vol. 55, Páginas 595 - 603, ISSN 0023-6438, <DOI: doi:10.1016/j.lwt.2013.10.011>. resumen; páginas 601-603.	1-40
A	GARRIDO FERNANDEZ A et al. Preservation in brine of green or turning colour olives. Grasas y Aceites 1996. , 30/11/1995, Vol. 47, Páginas 197-206, ISSN 0017-3495. Todo el documento.	1-40

Categoría de los documentos citados

- X: de particular relevancia
 Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
 A: refleja el estado de la técnica

- O: referido a divulgación no escrita
 P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
 E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

<p>Fecha de realización del informe 28.02.2018</p>	<p>Examinador J. Manso Tomico</p>	<p>Página 1/2</p>
---	--	------------------------------

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A23B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, EMBASE, BIOSIS