

330686



P - 32.983

Case No. F-1357

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud  
de

PATENTE DE INVENCION

formulada el 29 de Agosto de 1.966, con el núm. 330.686

en

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. y TEIHOKU  
FOOD PRODUCT COMPANY LTD., entidades japonesas estableci-  
das en 27, Doshomachi 2-chome, Higashi-ku, Osaka y 61,  
Chugen-cho, Hukushima, Hukushima, ambas en Japón, respec-  
tivamente, por:

"UN PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR FRUTAS ESCARCHADAS".

---

La presente invención se refiere a un método para pro-  
ducir frutas escarchadas.

La invención se completó basándose en el descubrimien-  
to de que la composición enzimática producida por el Asper-  
5 gillus niger es capaz de facilitar la operación de escar -  
char frutas, cuando se aplica a las frutas en el procedi -  
miento para preparar frutas escarchadas. Este hecho impli-  
ca el que, según la invención, se acorta notablemente el  
tiempo requerido para escarchar frutas.



21 OCT  
Según métodos conocidos, las frutas escarchadas se preparan por el siguiente método.

5 Se recogen las frutas antes de que estén completamente maduras. Las frutas frescas se almacenan en una solución diluida de ácido sulfuroso o dióxido de azufre y una solución de cal, para los fines de blanquear el color y endurecer los tejidos, y para su conservación hasta que se necesiten. Las frutas conservadas en la salmuera antes mencionada son lixiviadas concienzuda y repetidamente en agua caliente, para eliminar todo sabor a dióxido de azufre, antes de iniciar el procedimiento de escarchar. A las cerezas se les quita el pedúnculo y se deshuesan cuidadosamente antes de lixiviar. Los albaricóques son deshuesados sin cortar las frutas en dos. Las 15 ciruelas, ciruelas pasas, y otros frutos enteros se perforan a menudo con alambre de cobre. En el caso de que se preparen melocotones escarchados se usan frutas frescas y frutas en conserva sin la operación intermedia de almacenamiento en ácido sulfuroso. La fruta preparada por 20 el tratamiento en ácido sulfuroso, antes mencionado, y ebullición para hacerlas tiernas, o por ebullición de la fruta fresca preparada, se pone en un jarabe que contiene sacarosa y/o glucosa en concentración relativamente baja. Las frutas en conserva se ponen directamente en este jarabe, desde la lata. La inmersión en jarabe se efectúa con 25 aumento gradual de la concentración de azúcar en el jarabe. Por ejemplo, la fruta se pone en un jarabe que contiene aproximadamente 25 % en peso de sacarosa y/o glucosa. Se deja reposar la mezcla a temperatura ambiente. Después 30 de una inmersión de 24 horas, o más, se escurre el jarabe



de la fruta y se lleva hasta aproximadamente 30 % en peso, por adición de sacarosa y/o glucosa. De nuevo se deja reposar la mezcla durante 24 a 48 horas. Luego se aumenta el jarabe hasta el 35 % en peso, de la forma antes descrita, y se deja la fruta durante otras 24 horas. Se repite el procedimiento en días sucesivos, con un aumento de 5 % en peso cada día, hasta que el jarabe ha llegado aproximadamente al 80 %. Esta concentración se mantiene hasta que la fruta y el jarabe se han igualado completamente, en cuanto a concentración de azúcar. La fruta se mantiene en este jarabe espeso al menos durante 3 semanas, hasta que queda hinchada e impregnada de jarabe.

Como se ha mencionado antes, el procedimiento de escarchar requiere un largo periodo de tiempo, en los procedimientos empleados hasta ahora para producir frutas escarchadas, y las frutas escarchadas obtenidas así preparadas están a menudo encogidas. Se han propuesto unos pocos perfeccionamientos para acortar el periodo requerido para escarchar, por ejemplo el procedimiento en que las frutas son cocidas en jarabe en la operación de escarchar, y el procedimiento en el que las frutas son congeladas rápidamente y son escarchadas bajo calentamiento a aproximadamente 66°C. Sin embargo, estos procedimientos propuestos hasta ahora no se consideran industrialmente aprovechables, debido a inconvenientes tales como el que estos procedimientos requieren enormes instalaciones, y que las frutas escarchadas obtenidas por estos procedimientos son de mala calidad.

La presente invención proporciona un perfeccionamiento notable para acortar el periodo de tiempo requere-



5 rido para escarchar. El objeto de esta invención se consi-  
gue tratando frutas jugosas, usadas como material de par-  
tida, con la composición enzimática producida por el Asper-  
gillus niger, en una etapa no más tarde de la iniciación  
del procedimiento para escarchar frutas, en los procedi-  
mientos para producir frutas escarchadas.

10 En lo sucesivo, la composición enzimática capaz  
de acortar el periodo de tiempo requerido para escarchar  
frutas, preparada por cultivo de Aspergillus niger, se de-  
nomina simplemente "composición enzimática". La composi-  
ción enzimática se puede producir generalmente cultivan-  
do Aspergillus niger, disponible en la Northern Utilisa-  
tion Research Branch, del Departamento de Agricultura de  
15 los EE. UU., Peoria, Ill., EE. UU. (NRRL), Colección ame-  
ricana de cultivos tipo, Washington D. C., EE. UU. (ATCC)  
o Instituto de la Fermentación, Osaka, Japón (IFO), o se  
puede aislar de fuentes naturales.

20 El Aspergillus niger se puede incubar en un me-  
dio líquido o sólido, y generalmente se cultiva en estado  
estacionario o agitado, o bajo aireación.

25 El medio de cultivo empleable debe contener fuen-  
tes de carbono y nitrógeno que sean asimilables por el  
Aspergillus niger. Son ejemplos de fuentes de carbono asi-  
milable el almidón, dextrina, sacarosa, lactosa, maltosa,  
glucosa, melazas residuales, serrín y glicerina. Son ejem-  
plos de fuentes de nitrógeno asimilable compuestos inor-  
gánicos y orgánicos tales como sales amónicas, diversas  
clases de nitratos, líquido de maceración de maiz, pepto-  
na, polipeptona, extracto de carne, torta de soja, harina  
30 de soja, harina de trigo, salvado de trigo, salvado de



arroz, extracto de levadura, urea, o diversos aminoácidos. Además se pueden añadir al medio de cultivo, como productos nutritivos accesorios, sales minerales tales como sales cálcicas, sales de magnesio, sales potásicas, sales sódicas, sales de cinc, sales de cobre, o sales de hierro, vitaminas o factores promotores del crecimiento,

5

La incubación se efectúa deseablemente a una temperatura de 25 a 32°C, y la composición enzimática acumulada en el material cultivado alcanza un máximo generalmente después de varias decenas de horas a varios cientos de horas.

10

La composición enzimática acumulada se puede recuperar del material cultivado. Para la recuperación de la composición enzimática de la invención se pueden aplicar los medios generalmente conocidos para recuperar enzimas de sus soluciones. La composición enzimática se puede adsorber con diversos adsorbentes, o precipitar con algunos precipitantes. Además, se pueden utilizar para fines de recuperación y purificación los medios generales de recuperación, tales como precipitación cerca del punto isoelectrico, precipitación por efecto salino o diálisis, o una combinación de ellos. Por ejemplo, la precipitación por efecto salino, en un filtrado de cultivo que contiene la composición enzimática, se puede efectuar por adición de una sal inorgánica tal como sulfato sódico, sulfato amónico, o por adición de un disolvente orgánico hidrófilo adecuado, tal como metanol, etanol n-propanol o acetona. La cantidad de estas sales o disolvente orgánico hidrófilo a añadir puede variar con la clase de sales o disolvente orgánico hidrófilo. Por ejemplo, el sulfato amó-

15

20

25

30



nico se puede añadir preferiblemente al filtrado de cultivo hasta saturación del 70 %. Cuando se emplea un disolvente orgánico hidrófilo, puede ser preferible la saturación del 70%. Si se desea, la composición enzimática  
5 cruda obtenida se puede purificar, por ejemplo por repetida precipitación por efecto salino, con sulfato amónico.

La composición enzimática está compuesta por muchas clases de enzimas, por ejemplo celulasa, CMC-asa, hemicelulasa, proteasa, peptidasa, glucanasa, mannasa,  
10 alfa-amilasa, beta-amilasa, lipasa, pectinasa y celobiasa.

Dicha composición enzimática se puede emplear preferiblemente después de haber sido purificada para hacer que su actividad proteásica sea al menos mayor de 10.000  
15 unidades por gramo, cuando se determina según el método descrito en "Journal of General Physiology", volumen 22, pág. 79 (1938, salvo en que la temperatura de reacción y el pH son iguales a 45°C y 2,5 respectivamente. Es de observar que el efecto de acortar el tiempo para escarchar  
20 no se encuentra en absoluto cuando se emplea proteasa pura, y que el efecto se observa empleando la composición enzimática compuesta por las encimas antes mencionadas.

En el método de la invención el tiempo para escarchar se acorta aumentando la velocidad de impregnación  
25 de las frutas con azúcar, sin provocar el encogimiento de las frutas, tratando frutas jugosas, como material de partida, con la composición enzimática, en una etapa no posterior al escarchado, en los procedimientos para producir frutas escarchadas. El efecto de acortar el periodo del  
30 procedimiento de escarchar, por el método de la invención,



se observa en todos los casos en que se emplean frutas ju-  
gosas utilizables como material de partida para producir  
frutas escarchadas. Sin embargo, el efecto de la invención  
es especialmente notable en los casos en que se emplean  
5 frutas con hueso, tal como cerezas, albaricoques, cirue-  
las, ciruelas pasas, azufaifas y melocotones, y entre las  
frutas de hueso son más adecuadas como material de parti-  
da, en el procedimiento de la invención, las frutas de  
hueso relativamente pequeñas, tales como cerezas, cirue-  
10 las y albaricoques. En el caso de que se empleen cerezas  
como material de partida en el procedimiento de la inven-  
ción, el periodo de tiempo requerido para disponer de ce-  
rezas impregnadas de azúcar, para llevar la concentración  
de azúcar en las cerezas hasta aproximadamente 72% en pe-  
15 so, se acorta hasta aproximadamente 4 ó 5 días, sin pro-  
vocar encogimiento de las cerezas, como se describe en el  
Ejemplo 1, mientras que se necesitan al menos 3 semanas  
para el mismo fin según el procedimiento usual, en el que  
no se incluye el tratamiento con la composición enzimáti-  
ca.

20 En el procedimiento de la invención, el trata-  
miento enzimático, que comprende poner en contacto frutas  
jugosas, como material de partida, con la composición en-  
zimática, se debe adoptar no después de la iniciación del  
procedimiento de escarchar. Prácticamente, el tratamiento  
25 enzimático se puede efectuar en la etapa adecuada del pro-  
cedimiento consistente en la preparación de las frutas an-  
tes de ser escarchadas, o en una de las primeras etapas  
del escarchado. Dado que la composición enzimática propor-  
ciona no solo el acortamiento del periodo de escarchado,  
30 sino también el blanqueo de las frutas, en caso de que se  
preparen frutas escarchadas, tales como el tipo Marrasqui-  
no de cerezas, que requieren un procedimiento de blanqueo



antes de escarchar, ambos efectos, el acortamiento del periodo de escarchado y el blanqueo de las frutas, son producidos por el tratamiento enzimático antes mencionado. Prácticamente, el tratamiento enzimático se puede efectuar sumergiendo las frutas jugosas en una solución acuosa que contenga la composición enzimática. La solución acuosa empleada en el tratamiento enzimático puede contener preferentemente de aproximadamente 0,01 % a 0,5% en peso de composición enzimática, siempre que se emplee la composición enzimática que tiene una actividad proteolítica de 10.000 unidades por gramo, como se ha mencionado antes. El tratamiento enzimático se efectúa preferiblemente a una temperatura comprendida entre 20 y 50°C, y con un valor del pH de 2,0 a 6,0, bajo condiciones estacionarias. El periodo de tratamiento enzimático varía con la clase de frutas jugosas usadas como material de partida, la cantidad de frutas jugosas, la concentración de la composición enzimática empleada, etc. En general, bastan de 1 a 3 días para terminar la impregnación de la fruta con la composición enzimática.

Quando el tratamiento enzimático se efectúa simultáneamente con el método de escarchar, las frutas jugosas se sumergen en un jarabe de azucar al que se añade la composición enzimática, en una de las primeras etapas del escarchado.

Las frutas jugosas impregnadas con la composición enzimática se pueden impregnar también con azucar en un periodo de tiempo más corto, de forma que la concentración de azucar en el jarabe se puede aumentar rápidamente en el procedimiento de escarchado de la invención, y, por tanto, es posible que el periodo de escarchado se acorte a apro-



ximadamente la tercera a sexta parte del de los procedimientos empleados hasta ahora, sin provocar el encogimiento de las frutas jugosas.

5 Los siguientes ejemplos se presentan solo para fines ilustrativos y no se pretende limitar con ellos el ámbito de la invención. En los ejemplos, los tantos por ciento indican tanto por ciento en peso, salvo que se indique lo contrario.

10

#### Ejemplo 1

Se conservan 10 kg. de cerezas en 10 litros de salmuera que contiene 3 % de sulfito monosódico y 0,1 % de cloruro cálcico, ajustando la concentración de dióxido de azufre en la salmuera a aproximadamente 0,7 % por adición  
15 de sulfito monosódico. Después de un almacenamiento de aproximadamente 3 meses, se quita el hueso y el pedúnculo de las cerezas que luego se sumergen en aproximadamente 10 litros de solución de cloruro cálcico al 1% para endurecer los tejidos de las cerezas. Se calientan las cerezas hasta  
20 ebullición, cambiando incesantemente el agua para reducir el contenido de dióxido de azufre a menos de 500 ppm.

Por otra parte, se mezclan 20 g. de salvado de trigo y 20 ml. de agua en un matraz de 500 ml. La mezcla se esteriliza por calentamiento a 120° C bajo presión, durante  
25 30 min. Se inocula Aspergillus niger en el medio antes preparado, y luego se incuba durante 5 días a una temperatura de 28° C. Después de incubar, el material cultivado se somete a extracción con agua, y la capa acuosa se separa por filtración.

30

Se añade al filtrado un volumen de acetona igual



al doble que el del filtrado, para precipitar los materiales sólidos. Estos materiales se separan por filtración, y se secan, dando una composición enzimática pulverulenta y blanca. Se disuelven 22 g de la composición enzimática así obtenida en 10 litros de agua, y luego se ajusta la solución a un pH igual a 3,0, por adición de ácido cítrico.

Las cerezas se sumergen en la solución enzimática así preparada durante 24 horas a 28°C. Después del tratamiento enzimático, las cerezas se añaden a 10 litros de agua. Mientras se mantiene la temperatura a 80°C, se añaden a la mezcla 250 ml de solución colorante que contiene 3,5 g de Erythrosin (colorantes rojos disponibles en el comercio, de Hodogaya Kagaku Kabushiki Kaisha, Japón). La mezcla se mantiene a reposo durante 40 min, y luego se añaden a la mezcla 100 ml de solución de ácido tartárico al 1 %. La mezcla se sigue calentando a 80°C durante 40 min, con lo que se colorean las cerezas y se desactivan las enzimas en las cerezas. Se sumergen las cerezas en 10 litros de jarabe con 40% de sacarosa. Se deja reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 24 horas, y luego se escurre del depósito de inmersión toda la porción de jarabe, y se lleva el jarabe al 60% por adición de sacarosa. Se vuelven a sumergir las cerezas en el jarabe con 60% de sacarosa, y luego se deja reposar la mezcla a temperatura ambiente. Después de 24 horas de inmersión, se escurre el jarabe del depósito de inmersión, y se lleva al 70%, por adición de sacarosa. Después de 24 horas de inmersión en jarabe al 70 %, se aumenta la concentración del jarabe hasta el 80 %, de la forma antes descrita. Después de 24 horas de inmersión, se reajusta el jarabe al 80 % por adición de sacarosa, y



luego se continúa la inmersión durante otras 24 horas.

Mediante el escarchado anteriormente mencionado, durante 5 días, la concentración de sacarosa en las cerezas ha llegado a aproximadamente el 72 %, sin encogimiento de las cerezas.

En ensayos comparativos, en los que el escarchado se efectúa sin realizar antes el tratamiento enzimático antes mencionado, se necesitan 21 días para disponer de cerezas impregnadas con sacarosa en las que la concentración de sacarosa llegue aproximadamente al 72 %, sin provocar encogimiento de las cerezas.

EJEMPLO 2

Se esterilizan 100 litros de un medio líquido consistente en 3% de harina de soja, 5 % de melazas residuales, 0,2 % de sulfato amónico, 0,2 % de fosfato monopotásico y 0,1 % de sulfato de magnesio, por calentamiento a una temperatura de 120°C bajo presión, durante 20 min, se inocula Aspergillus niger en el medio antes preparado, y la incubación se efectúa agitando bajo aireación, durante 120 horas. Después de esto, el material de cultivo se somete a filtración, y al filtrado así preparado se añade 65 % de sulfato amónico, para producir precipitados. Los precipitados se recogen por filtración y se secan a 35° C, dando una composición enzimática pulverulenta.

Se sumergen 10 kg de cerezas frescas en 10 litros de una solución acuosa, de pH igual a 4,0 que contiene 0,2 % de la composición enzimática antes preparada, a 25°C durante 2 días, para blanquear las cerezas. Se quitan de las cerezas los huesos y pedúnculos, y luego se sumergen



5 en 10 litros de solución de cloruro cálcico al 1% para endurecer los tejidos de las cerezas. Después de colcrearlas de la misma forma que en el Ejemplo 1, las cerezas se escarhhan durante 5 días, de la misma forma que en el Ejemplo 1, con lo que la concentración de sacarosa en las cerezas ha llegado a aproximadamente el 70 % sin provocar encogimiento de las cerezas.

### Ejemplo 3

10 Se conservan 10 kg. de ciruelas en 10 litros de la misma salmuera del Ejemplo 1, durante 3 meses. Después de retirarlas de la salmuera, se perforan las ciruelas con hilo de cobre, y luego se sumergen en 10 litros de una solución acuosa de pH igual a 3,7, que contienen (0,18 %) de  
15 la misma composición enzimática empleada en el Ejemplo 1, a 45° C durante 2 días. Las ciruelas así tratadas se añaden a 10 litros de agua seguido por calentamiento a 80°C durante 2 horas, para desactivar las enzimas que quedan en las ciruelas. Las ciruelas se escarchah durante 5 días de  
20 la misma forma que en el Ejemplo 1, con lo que la concentración de sacarosa en las ciruelas ha llegado a aproximadamente el 70 % sin provocar encogimiento de las ciruelas.

25 En ensayos comparativos, en los que el escarchado se efectúa sin realizar antes en tratamiento enzimático antes mencionado, se necesitan 22 días para disponer de ciruelas impregnadas con sacarosa hasta que la concentración de sacarosa en las ciruelas llegue a aproximadamente el 70% sin provocar encogimiento de las ciruelas.

30

Ejemplo 4



5 Se conservan 10 kg. de albaricoques en 10 litros de la misma salmuera del Ejemplo 1, durante 3 meses. Después de retirarlos de la salmuera, se quitan los huesos de los albaricoques. Se sumergen los albaricoques en 10 litros de una solución acuosa de pH igual a 4,2, que contienen 0,75 % de la misma composición enzimática empleada en el Ejemplo 1, a 40°C durante 2 días, y luego se añaden los albaricoques a 10 litros de agua, seguido por calentamiento a 80°C 10 durante 2 horas, para desactivar las enzimas de los albaricoques. Los albaricoques se escarchan durante 6 días, de la misma forma que en el Ejemplo 1, con lo que la concentración de sacarosa en los albaricoques ha llegado a aproximadamente 70 % sin provocar encogimiento de los albaricoques. Los 15 albaricoques así tratados se retiran del jarabe y se secan por un método usual.

En ensayos comparativos, en los que el escarchado se efectúa sin realizar antes el tratamiento enzimático antes mencionado, se requieren 23 días para disponer de albaricoques impregnados con sacarosa hasta que la concentración 20 de sacarosa en los albaricoques llegue a aproximadamente 70%, sin provocar encogimiento de los albaricoques.

25

N O T A

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de patente de



invención en ESPAÑA por VEINTE años son los siguientes:

5 1.- Un procedimiento para producir frutas escar-  
carchadas, escarchando frutas jugosas, caracterizado por  
la mejora que consiste en que las frutas jugosas como ma-  
terial de partida, son tratadas con la composición enzi -  
mática producida por el Aspergillus niger, en una etapa  
no posterior a la iniciación del escarchado.

10 2.-Un procedimiento para producir frutas escar-  
chadas, escarchando frutas jugosas , caracterizado por la  
mejora que consiste en que las frutas jugosas, como mate-  
rial de partida, son sumergidas en una solución acuosa  
que contiene aproximadamente de 0,01 a 0,5 % en peso de  
la composición enzimática producida por el Aspergillus ni-  
ger, a un valor del pH de aproximadamente 2,0 a 6,0, y a  
15 temperatura de aproximadamente 15 a 50°C, en una etapa no  
posterior a la iniciación del escarchado.

3.-Un procedimiento según el punto 2, en el  
cual las frutas jugosas son frutas que tienen hueso.

20 4.- Un procedimiento según el punto 2, en el  
cual las frutas jugosas son cerezas.

5.-Un procedimiento según el punto 2, en el  
cual las frutas jugosas son albaricoques.

6.- Un procedimiento según el punto 2, en el  
cual las frutas jugosas son ciruelas.

25 7.- Un procedimiento según el punto 2, en el  
cual las frutas jugosas son ciruelas pasas.

8.- Un procedimiento según el punto 2, en el  
cual las frutas jugosas son azufaifas.

30 9.- Un procedimiento para producir frutas es-  
carchadas.



21

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de quince hojas escritas a máquina por una sola cara.

21 OCT 1966

Madrid,

P. A.

Alberto de Ezaburu  
Por Poder

JMS/.