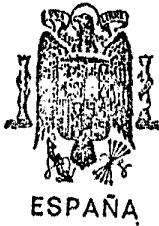


MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

10 MAR. 1978  
GOBIERNO

11	NUMERO	461.319	10	A1
21	FECHA DE PRESENTACION	3.8.77		

PATENTE DE INVENCION

461319

50	PRIORIDADES:	52	FECHA	53	PAIS
51	NUMERO				
	32576/76 provisional		4.8.76		G. Bretaña

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			A23L 2/34		

54	TITULO DE LA INVENCION
	"UN METODO DE CLARIFICACION DE ZUMO DE LIMON O SIMILARES"

71	SOLICITANTE (S)	(51982/GL)
	NOVO INDUSTRI A/S	

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
NOVO Allé, DK-2880 Bagsværd, Dinamarca

72	INVENTOR (ES)
	Walter Janda

73	TITULAR (ES)

74	REPRESENTANTE	(P.- 66.631)
	D. OSCAR DE ELZABURU FERNANDEZ	

Esta invención se refiere a mejoras en o relati  
vas a un método para clarificación de zumo de limón.

El término "limón", tal como se usa en esta  
memoria, se emplea en su sentido genérico y abarca limo-  
5 nes y limas, a no ser que el contexto requiera claramente  
otra cosa. En el campo de la industria del zumo de limón,  
el producto final deseado por el consumidor es un zumo de  
limón claro sin ninguna traza de pulpa u otros materiales  
formadores de turbidez.

10 Un zumo de limón claro se obtiene actualmente  
utilizando la susceptibilidad de clarificación inherente  
del zumo de la manera siguiente. Se extraen los limones y  
se recupera el zumo. Debido al hecho de que el zumo se cla-  
rifica después de ello por medio de la susceptibilidad de  
15 clarificación inherente del zumo de limón, la cual requie-  
re necesariamente un tiempo comprendido entre 1 día y 10  
semanas, dependiendo de la temperatura, el contenido de  
pectinas del zumo y la actividad de las enzimas que descom-  
ponen las pectinas en el zumo de limón propiamente dicho,  
20 tiene que añadirse un agente de conservación, y usualmente  
este agente es  $SO_2$ , el cual tiene que añadirse en una canti-  
dad de aproximadamente 1 g de  $SO_2$  por litro de zumo de li-  
món. El mecanismo de la susceptibilidad de clarificación in-  
herente del zumo de limón abarca las etapas siguientes: la  
25 pectinesterasa contenida en el zumo de limón propiamente  
dicho saponifica la pectina productora de la turbidez,  
la cual después de la saponificación se precipita como  
pectato de calcio. Este precipitado se separa por centri-  
fugación, después de lo cual el zumo clarificado se fil-  
30 tra con tierra de diatomeas como coadyuvante de filtra-

ción y luego se concentra hasta 50-55° Brix por medio de cualquier método de concentración conocido, por ejemplo por evaporación a vacío.

5 Si la adición de  $SO_2$ , que es una sustancia tóxica, o de otros agentes de conservación pudiera evitarse en el procedimiento comercial para clarificación del zumo de limón se conseguiría una gran ventaja. Sin embargo, debido al hecho de que el mecanismo de clarificación inherente del zumo de limón no puede acelerarse sino  
10 que tiene una duración de 1 día como mínimo, el zumo de limón se descompondría necesariamente por la acción de los microorganismos de la putrefacción si no se añadiesen agentes de conservación.

15 Es conocido que una cierta clarificación del zumo de limón puede conseguirse por adición de enzimas pectolíticas al zumo. Si la concentración de enzima ha de mantenerse dentro de límites económicos razonables, no es posible conseguir la clarificación deseada en un período de tiempo corto y, por consiguiente tiene que  
20 añadirse también en este caso un agente de conservación.

Es sabido que la sílice coloidal, preferiblemente junto con gelatina, puede utilizarse como agente clarificador para la clarificación del vino y para la clarificación de ciertos tipos de zumos de frutas. Sin  
25 embargo, estos agentes de clarificación no son efectivos para clarificar el zumo de limón, si la concentración de sílice coloidal debe mantenerse dentro de límites razonables.

30 Adicionalmente, se ha propuesto la utilización de sílice coloidal y una enzima pectolítica

particular (la cual posee, según se sabe ahora, actividad de pectinesterasa y actividad de poligalacturonasa) para clarificar el zumo de manzana, pero una repetición cuidadosa del trabajo no ha permitido alcanzar los resultados pretendidos.

Sorprendentemente, se ha encontrado ahora que es posible acortar, de una manera económica, el tiempo requerido para la clarificación efectiva del zumo de limón a unas cuantas horas o un tiempo inferior, por lo cual es innecesaria la adición de agentes de conservación, si se utiliza una combinación de enzimas específicas, que podrían ser consideradas como agentes inductores, y un precipitante específico en condiciones también específicas. Esto significa también que el método de clarificación de acuerdo con la invención ofrece la ventaja de una mejor utilización de la capacidad de los recipientes en la instalación de tratamiento de limones.

Así, de acuerdo con la presente invención se proporciona un método de clarificación del zumo de limón (como se define anteriormente en esta memoria), método que comprende tratar el zumo de limón que ha de clarificarse con enzimas pectolíticas producidas microbialmente en una cantidad correspondiente a una actividad pectolítica que comprende una actividad de pectinesterasa comprendida dentro del intervalo que va desde 5 PEU/kg de zumo a 75 PEU/kg de zumo y una actividad de poligalacturonasa comprendida dentro del intervalo que va desde 300 PGU/kg de zumo hasta 4500 PGU/kg de zumo, y sílice coloidal en una cantidad correspondiente a entre 0,45 y 3 g de  $\text{SiO}_2$  sólida/kg de zumo, en cualquier orden o simultáneamente,

a una temperatura comprendida en el intervalo que va desde 10 a 50°C, almacenar el zumo de limón así tratado durante un período comprendido en el intervalo de 10 minutos a 5 horas, separar el zumo almacenado así tratado del precipitado, y recoger el zumo clarificado.

Debe observarse que las adiciones arriba mencionadas de enzimas pectolíticas y sílice coloidal hacen referencia siempre al contenido típico de materia seca en el zumo de limón, es decir, 8° Brix. Si, por ejemplo, se utiliza un zumo de limón de 16° Brix como material de partida, el rango de, p.ej., actividad de pectinesterasa está comprendido entre 10 PEU/kg de zumo y 150 PEU/kg de zumo.

1 PEU (unidad de pectinesterasa) es la cantidad de enzima que, a un pH de 4,3 y una temperatura de 30°C, saponifica 0,7 microequivalentes molares de éster metílico del ácido galacturónico en 1 minuto.

1 PGU (unidad de poligalacturonasa) es la cantidad de enzima que reduce la viscosidad de 7 mg de ácido péctico de una solución normalizada al 1,2% de ácido péctico (Firma Senn, Zürich, Suiza) al 50% en 30 minutos a 20°C y a pH 3,0.

El método global de clarificación de acuerdo con la invención puede llevarse a cabo por cargas o continuamente.

Es sorprendente por dos razones el hecho de que se obtenga el resultado arriba indicado. En primer lugar, con anterioridad se creía que la actividad y la estabilidad de las enzimas pectolíticas al pH del zumo de limón, que tiene un valor de alrededor de 2,1 a 2,5, se-

ría tan baja que las enzimas pectolíticas no tendrían prácticamente efecto alguno sobre el zumo de limón, cuando se utilizaran en cantidades comerciales. En segundo lugar, el zumo de limón es un producto cuya composición y propiedades varían mucho de un año a otro y de un productor a otro, incluso de una carga a otra, y es sorprendente que el método de acuerdo con la invención se comporta excelentemente con una gran diversidad de zumos de limón a pesar de la naturaleza heterogénea de las muestras que se tratan.

Después de la clarificación, el zumo clarificado puede manipularse de la manera usual, y esto queda fuera del objeto de la invención.

Una realización preferida del método de clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una enzima pectolítica derivada de *Asp. niger*.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una actividad de pectinesterasa comprendida en el intervalo de 15 a 30 PEU/kg de zumo.

Una realización preferida del método para clarificación del zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una actividad de poligalacturonasa que va desde 900 a 1800 PGU/kg de zumo.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una sílice coloidal en una cantidad correspondiente a entre 0,6 y 1,5 g SiO<sub>2</sub>/kg de

zumo.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una sílice coloidal, en la que una pequeña proporción del silicio ha sido sustituida por aluminio, a saber desde 0,1 a 2% de aluminio, basado en la cantidad total de silicio.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una sílice coloidal con una superficie específica comprendida entre 20 y 500 m<sup>2</sup>/g.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende un tratamiento sucesivo del zumo de limón por el cual el zumo se trata primeramente con las enzimas pectolíticas y después con la sílice coloidal.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende el uso de una temperatura comprendida en el intervalo de 20 a 30°C para el tratamiento del zumo con las enzimas pectolíticas y la sílice coloidal.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende un tiempo de almacenamiento del zumo de limón tratado comprendido entre 2,5 horas y 3,5 horas.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende la separación del zumo almacenado del precipitado por medio de decantación de la mayor parte seguida por centrifugación de la mezcla residual de zumo y

precipitado.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende una filtración final por medio de tierra de diatomeas, la cual se realiza después de la recogida del zumo clarificado.

Una realización preferida del método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con la invención comprende una operación continua de la instalación de clarificación.

Se ha encontrado que un intento de realizar una precipitación de las impurezas contenidas en el zumo de manzana por medio de enzimas pectolíticas y sílice coloidal no da resultado, es decir que no se forma precipitado alguno en ningún caso.

Se ha encontrado también que cuando se lleva a cabo una precipitación de zumo de limón con enzimas pectolíticas como agentes inductores y con gelatina, tanino, bentonita o tierra de diatomeas como precipitante, tampoco se produjo el zumo de limón claro deseado.

Así, la invención está relacionada exclusivamente con la combinación de 1) zumo de limón (como se define anteriormente en esta memoria), 2) enzimas pectolíticas y 3) sílice coloidal. Aparentemente, las pectinas contenidas en el zumo de limón que resultan modificadas por las enzimas pectolíticas forman un complejo con la sílice coloidal, complejo que tiene susceptibilidad de separarse fácilmente del medio sobrenadante, con lo que se obtiene un zumo brillante y transparente. No se ha encontrado todavía explicación alguna del por qué de este

5 resultado altamente deseable, es decir de la posibilidad de evitar el agente de conservación en el zumo junto con un procedimiento económico de tratamiento del zumo para obtener un producto claro de alta calidad, conseguida por medio de la combinación de enzimas pectolíticas y sílice coloidal.

10 El material de partida utilizado en el método de acuerdo con la invención es usualmente zumo de limón recientemente obtenido, pero puede ser cualquier zumo de limón turbio que deba ser clarificado, por ejemplo un zumo de limón o un zumo de limón concentrado que se congele para fines de almacenamiento, después de lo cual se ajusta la temperatura del mismo a la temperatura de tratamiento normal.

15 En calidad de enzima pectolítica, puede utilizarse cualquier enzima pectolítica con las actividades enzimáticas especificadas arriba. Un ejemplo es LIMONEX, de Swiss Ferment Company, Ltd., Basilea, Suiza, que se produce por medio de Asp. niger. El término "enzima pectolítica" es un término genérico que abarca diferentes enzimas, como se explica por ejemplo en el artículo "Pektolytische Enzyme in der Fruchtsaftindustrie", F. M. Rombouts y W. Pilnik, publicado en "Flüssiges Obst" 71/3, páginas 93 a 98.

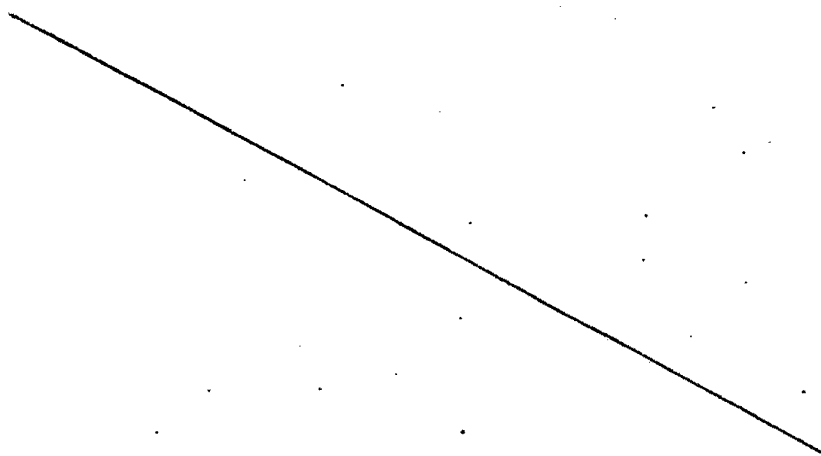
25 Como sílice coloidal, pueden utilizarse preparaciones comerciales de sílice coloidal, por ejemplo BAYER KIESESOL ó BAYKISOL de Bayer, una dispersión acuosa de AEROSIL de Degussa, LUDOX de DuPont, o KLAR-SOL ó BLANKASIT de Erbsloeh & Co. Estas preparaciones están disponibles en concentraciones de 15% a 40%, y

30

las propiedades y aplicaciones de las mismas se describen en numerosos boletines de los fabricantes.

La separación puede realizarse con cualquier aparato convencional de separación utilizado en este campo, por ejemplo una centrífuga, un separador o un decantador.

La clarificación del zumo de limón con enzimas pectolíticas de acuerdo con el mecanismo de clarificación inherente existente naturalmente que se ha descrito anteriormente es conocida, pero insatisfactoria, como se ha explicado arriba. Asimismo, una clarificación de los zumos de frutas en general y del vino por medio de sílice coloidal y gelatina es también conocida. Sin embargo, la invención comprende la clarificación del zumo de limón con una combinación de enzimas pectolíticas y sílice coloidal, y esta combinación específica, cuando se utiliza en las condiciones especificadas arriba da lugar a un efecto sinérgico importante con respecto a la transparencia del zumo de limón final. Esto se ilustra en la tabla siguiente:



TABLA

Identificación del zumo de limón utilizado para el ensayo	Tratamiento		Transmisión de la luz después de la centrifugación, a 660 nm (3)
	Con 100 partes por millón (ppm) de LIMONEX Ultra (1), 3 horas a 25°C	Con 3500 ppm de BAYKISOL 30 (2)	
5 Zumo de Italia (1976); extraído manualmente	no	no	5
	sí	no	35
	no	sí	30
	sí	sí	91
10 Zumo de Italia (1976), tratado en FMC (FMC es una abreviatura de Food Machine Corp.)	no	no	0
	sí	no	32
	no	sí	33
	sí	sí	93
Zumo de Italia (1976) tratado en "Polycitrus"	no	no	0
	sí	no	28
	no	sí	31
	sí	sí	93

15 (1) LIMONEX Ultra tiene la actividad pectolítica siguiente:

300 PEU/g y 10.000 PGU/g.

(2) BAYKISOL 30 contiene 30% de SiO<sub>2</sub>.

(3) La transmisión de la luz se midió a 660 nm de acuerdo con J.J. Krop, "The mechanism of cloud loss phenomena in orange juice", 1974, página 39. En los Ejemplos que siguen, la transmisión de la luz se midió a esta longitud de onda.

25 El término "Polycitrus" es una marca comercial, como lo son los términos "Limonex", "Bayer", "Kiesesol", "Baykisol", "Aerosil", "Degussa", "Ludox", "Klar-sol", "Blankasit" y "DuPont".

Los Ejemplos siguientes ilustran adicionalmente la presente invención.

#### Ejemplo 1

30

Todos y cada uno de los limones de una

partida de 4,16 kg de dichas frutas (cosechados en España en 1976) se cortaron en dos mitades, y se separó el zumo de los residuos de limón en una exprimidora de limones Turmix. Se separó la pulpa del zumo mediante una tela metálica (abertura de malla 0,8 mm) y centrifugación. Se obtuvieron 1,21 litros de zumo turbio de 8º Brix, pH 2,35 y que exhibía una transmisión de luz de 2%. A este zumo se añadieron 120 mg de LIMONEX Ultra y la mezcla se dejó en un baño de agua a 25ºC durante 3 horas. Después de ello se añadieron 3,6 g de BAYKISOL 30 a la mezcla de zumo y LIMONEX Ultra, con agitación. Pasados otros 10 minutos, la mezcla así formada se centrifugó a 2700 rpm, con lo que se obtuvieron 1,172 litros de un zumo de limón claro con una transmisión de luz de 95%. Como se deduce de lo que antecede, no se añadió nada de SO<sub>2</sub> ni de ningún otro agente de conservación, debido al corto intervalo de tiempo (aproximadamente un total de alrededor de 4 horas) desde la extracción de los limones al momento en que se obtiene en el procedimiento el zumo de limón claro acabado. El nombre "Turmix" es una marca comercial.

#### Ejemplo 2

Se extrajo el zumo de 4,23 kg de limones (cosechados en Italia en 1976) del mismo modo que en el Ejemplo 1, pero el zumo se purificó únicamente por pasada a través de la tela metálica, no por centrifugación. De este modo se obtuvieron 1,39 litros de zumo con 9% de pulpa, 8º Brix, pH 2,32 y 0% de transmisión de luz. Se añadieron a este zumo 150 mg de LIMONEX Ultra y la mezcla se mantuvo durante 3 horas a 28ºC. Después de ello, se añadieron 4,2

5 g de LUDOX AM (LUDOX es sílice coloidal al 30%) gota a gota al zumo, y la mezcla se centrifugó como en el Ejemplo 1. De este modo se obtuvieron 1,230 litros de zumo claro con una transmisión de luz de 97%. Como en el Ejemplo 1, no se añadió cantidad alguna de SO<sub>2</sub> o de ningún otro agente de conservación.

### Ejemplo 3

10 Un zumo de limón turbio congelado intensamente, procedente de la cosecha de Brasil de 1975, concentrado a 35º Brix, se rediluyó con agua destilada a 8º Brix. El zumo rediluido exhibía una transmisión de luz de 7% y tenía un pH de 2,6. A 1 litro de este zumo rediluido se añadieron 80 mg de LIMONEX Ultra, y la mezcla se  
15 agitó durante 3 horas a 25ºC. Después de ello se añadieron 3,5 g de BAYKISOL 30 a la mezcla del zumo rediluido y LIMONEX Ultra, y se realizó una centrifugación como en el Ejemplo 1. Se obtuvieron 965 ml de un zumo de limón claro con una transmisión de luz de 94%. Como en el Ejemplo 1,  
20 no se añadió nada de SO<sub>2</sub> ni de ningún otro agente de conservación.

### Ejemplo 4

25 A 1 litro de zumo de limón procedente de la cosecha de Sicilia de 1976 y fabricado industrialmente por medio de un extractor en línea FMC con 10% de pulpa, 8,3º Brix, pH 2,3 y una transmisión de luz de 0% se añadieron 100 mg de LIMONEX Ultra y 3,9 g de BAYKISOL 30 del mismo modo que en el Ejemplo 1. Pasados 10 minutos  
30 desde la adición de BAYKISOL, se realizó una centrifugación

a 1200 rpm y luego se filtró el medio sobrenadante en un filtro de succión después de la adición de 5 g de tierra de diatomeas. Se obtuvieron 890 ml. de zumo de limón claro con una transmisión de luz de 99%. Como en el Ejemplo 1, no se añadió SO<sub>2</sub> ni ningún otro agente de conservación.

#### Ejemplo 5

Un litro de zumo de limón originario de la cosecha de Sicilia de 1976 y extraído con extractores Polycitrus, con un contenido de pulpa de 12%, un pH de 2,30, 8º Brix y una transmisión de luz de 0%, se trató como se describe en el Ejemplo 4. Se obtuvieron 855 ml de zumo de limón claro con una transmisión de luz de 98%. Como en el Ejemplo 1, no se añadió SO<sub>2</sub> ni ningún otro agente de conservación.

#### Ejemplo 6

A 4,620 toneladas de zumo de limón originario de la cosecha de Sicilia de 1976 y fabricado industrialmente por extracción del zumo en extractores Polycitrus y por separación de la pulpa en un acabador Reffinatrice con un contenido residual de pulpa de 8%, 8,0º Brix, pH 2,3 y una transmisión de luz de 0%, se añadieron 460 g de LIMONEX Ultra, después de lo cual se mantuvo la mezcla a 24,5ºC durante 3 horas. Después de ello, se añadieron con agitación 18,4 kg de BAYKISOL 30, y la mezcla se agitó durante otros 15 minutos. Después de ello, la pulpa se separó del zumo en un decantador (Separador Westfalia, CA 365-010), se centrifugó el líquido a 1400 rpm en una centrífuga Alfa-Laval de tipo CRPX 207-34, y

se filtró el sobrenadante en un aparato de filtración continua con tierra de diatomeas como coadyuvante de filtración. El zumo resultante se concentró a 55° Brix a vacío a 40°C. Se obtuvieron 551 kg de un concentrado de zumo de limón ligeramente opalescente. Después de redilución a 8° Brix, se obtuvo un zumo de limón claro con una transmisión de luz de 99%. Como en el Ejemplo 1, no se añadió cantidad alguna de SO<sub>2</sub> o de ningún otro agente de conservación.

#### Ejemplo 7

5 toneladas de un concentrado de zumo de limón turbio de 30° Brix, producido en Israel a partir de limones israelíes en 1976, se diluyeron con agua del grifo a 15° Brix. El zumo así preparado tenía un pH de 2,2, un contenido de pulpa de 16% y exhibía una transmisión de luz de 0%. A este zumo, se añadieron 2000 g de LIMONEX Ultra y se mezcló a fondo. La mezcla se mantuvo a 27°C durante 3 horas. Se añadieron después 100 kg de Baykisol 30 con agitación, y la mezcla se agitó durante otros 15 minutos, después de lo cual se separó del zumo la turbidez coagulada por centrifugación en una centrífuga Alfa-Laval y el zumo así producido se filtró en un aparato de filtración con tierra de diatomeas como coadyuvante de filtración. El zumo resultante se concentró a 50° Brix. Se obtuvieron 2,35 toneladas de un concentrado de zumo de limón claro. Después de redilución a 8° Brix, se obtuvo un zumo de limón claro con una transmisión de luz de 96%. El zumo se congeló intensamente y, como en el Ejemplo 1, no se añadió nada de SO<sub>2</sub> ni de ningún otro agente de con-

servación.

#### Ejemplo 8

5 A 4 toneladas de zumo de limón origi-  
nario de la cosecha de Argentina de 1976, y fabricado por  
medio de extractores en línea FMC con 8% de pulpa, 7,9%  
Brix, pH 2,25 y una transmisión de luz de 0%, se añadie-  
ron y se incorporaron mezclando a fondo 350 g de LIMONEX  
10 Ultra, y se mantuvo la mezcla durante 3 horas a 26°C. Des-  
pués de ello, se añadieron 14 kg de Baykisol 30 a la mez-  
cla con agitación suave. La mezcla así preparada se man-  
tuvo en reposo durante 2 horas más. Después, el zumo cla-  
ro así producido se decantó y se filtró por medio de un  
aparato de filtración con tierra de diatomeas. De este  
15 modo, se recogieron 3.100 kg de zumo de limón claro. La  
capa del fondo del depósito, que contenía la pulpa  
(900 kg) se pasó a través de un separador Westfalia y lue-  
go se filtró como el zumo decantado claro. A partir de  
esta parte de la mezcla, se recogieron 300 kg de zumo de  
20 limón. Se reunieron ambos zumos. La cantidad resultante  
de 3.400 kg exhibía una transmisión de luz de 97%. El zu-  
mo así preparado se congeló intensamente y, como en el  
Ejemplo 1, no se añadió al mismo cantidad alguna de SO<sub>2</sub>  
ni de ningún otro agente de conservación.

25

#### Ejemplo 9

A 1 litro de zumo de limón procedente  
de la cosecha de Brasil de 1977 y fabricado industrialmen-  
te por medio de extractores en línea FMC con 4% de pulpa,  
30 8,2% Brix, pH 2,35 y una transmisión de luz de 2%, se

añadieron 80 mg de LIMONEX Ultra. La mezcla se mantuvo durante 2,5 horas a 29°C. Después de ello, se añadieron 2,5 g de Blankasit y la mezcla se mantuvo durante otra media hora a 29°C. Se dividió luego la mezcla en 4 partes y se centrifugó en vasos de 250 ml en una centrífuga de laboratorio a 3500 rpm durante 10 minutos. Se recogieron 912 ml de zumo de limón transparente.

#### Ejemplo 10

Todos y cada uno de los limones de una partida de aproximadamente 4 kg de los mismos, cosechada en Italia en 1976, se cortaron en mitades y el zumo se separó de la piel en una prensa exprimidora de limones Turmix. Después de ello, se agitó el zumo durante 30 minutos con un agitador de hélice a 1650 rpm. A continuación, se separó la pulpa del zumo por pasada a través de una tela metálica (abertura de malla 0,8 mm) y centrifugación. A 1 litro del zumo así preparado con un pH de 2,18, un contenido de pulpa de 0% y una transmisión de luz de 0%, se añadieron 75 mg de LIMONEX Ultra disueltos en 10 ml de una solución tampón de fosfato-citrato 0,05 molar, de pH 4,2. La mezcla se mantuvo a 26°C durante 3,5 horas. Se añadieron después de ello 2,8 g de Blankasit y se mezcló el todo a fondo. Pasados otros 20 minutos, se tomó una muestra de 10 ml de la mezcla y se centrifugó en una centrífuga de laboratorio a 3500 revs. por minuto durante 10 minutos. El zumo así obtenido exhibía una transmisión de luz de 98%.

#### Ejemplo 11

Limones procedentes de la cosecha de

5 Sicilia de 1977 se extrajeron industrialmente por medio de extractores Polycitrus. El zumo extraído se pasó por un separador Westfalia y luego se bombeó con un caudal de 2.000 litros por hora a un depósito de 10.000 litros de capacidad, el cual se llenó hasta 6.000 litros y se agitó suavemente. A este depósito se añadió una solución de enzima de LIMONEX Ultra al 5%, preparada con la misma solución tampón que se ha mencionado en el Ejemplo 10, por medio de una bomba dosificadora con un caudal de 80 ml

10 minuto. Después de ello se bombeó el zumo con un caudal de 2.000 litros por hora a otro depósito agitado suavemente, con un contenido de 1.000 litros de zumo de limón, al que se añadió Baykisol 30 por medio de una bomba dosificadora con un caudal de 140 ml por minuto. Desde este

15 depósito, el zumo se hizo pasar a una centrifuga Alfa-Laval con el mismo caudal de 2.000 litros/hora. Después de una filtración final a través de un filtro de tierra de diatomeas, el zumo se concentró a 50º Brix a vacío, a una temperatura de 40ºC. Después de redilución a 8º Brix, se

20 obtuvo un zumo de limón claro con una transmisión de luz de 97%. Como en el Ejemplo 1, no se añadió cantidad alguna de SO<sub>2</sub> ni de ningún otro agente de conservación.

#### Ejemplo 12

25 Un concentrado de zumo de limón turbio procedente de la cosecha de la República de Africa del Sur de 1976, que contenía 250 mg de SO<sub>2</sub> por litro, se diluyó con agua del grifo a 12º Brix. El zumo rediluido exhibía una transmisión de luz de 3%, un pH de 2,4, un contenido de pulpa de 4%, y se calentó hasta 27ºC. A 1 litro

30

de este zumo rediluido se añadieron 120 mg de LIMONEX Ultra, disueltos en 10 ml de una solución tampón 0,04 molar de citrato-fosfato con pH 4,2. Esta mezcla se mantuvo durante 2,5 horas a 27°C. Después de ello, se añadieron a la mezcla 6 g de Baykisol 30, con agitación. Pasados 15 minutos, la mezcla así formada se centrifugó a 2.700 rpm, con lo que se obtuvieron 920 ml de un zumo de limón claro con una transmisión de luz de 96%.

5

10

15

20

25

30

REIVINDICACIONES

5

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 que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10

15

20

25

1ª.- Un método de clarificación de zumo de limón o similares, método que comprende tratar el zumo de limón a clarificar con enzimas pectolíticas producidas microbialmente en una cantidad que corresponde a una actividad pectolítica que comprende una actividad de pectinesterasa comprendida en el intervalo que va desde 5 PEU/kg de zumo hasta 75 PEU/kg de zumo y una actividad de poligalacturonasa comprendida en el intervalo que va desde 300 PGU/kg de zumo hasta 4500 PGU/kg de zumo, y sílice coloidal en una cantidad correspondiente a entre 0,45 y 3 g de SiO<sub>2</sub> sólida/kg de zumo, en cualquier orden o simultáneamente, a una temperatura comprendida en el intervalo que va desde 10 a 50°C, almacenar el zumo de limón así tratado durante un período comprendido en el intervalo de 10 minutos a 5 horas, separar el zumo almacenado así tratado del precipitado y recoger el zumo clarificado.

2ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que se utiliza una enzima pectolítica derivada de *Asp. niger*.

3ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1ª ó 2ª, en el que se utiliza una actividad de

30  
*R*

pectinesterasa comprendida en el intervalo que va desde 15 a 30 PEU/kg de zumo.

5 4ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1ª, 2ª ó 3ª, en el que se utiliza una actividad de poligalacturonasa comprendida en el intervalo que va desde 900 a 1800 PGU/kg de zumo.

10 5ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 4ª, en el que se utiliza sílice coloidal en una cantidad que corresponde a entre 0,6 y 1,5 g SiO<sub>2</sub>/kg de zumo.


15 6ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 5ª, en el que se utiliza sílice coloidal en la cual una pequeña proporción del silicio ha sido sustituida por aluminio, a saber de 0,1 a 2% de aluminio basado en la cantidad total de silicio.

20 7ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 6ª, en el que se utiliza sílice coloidal con una superficie específica comprendida entre 20 y 500 m<sup>2</sup>/g.

25 8ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 7ª, en el que se efectúa un tratamiento secuencial del zumo de limón, tratándose primeramente el zumo con las enzimas pectolíticas y luego con la sílice coloidal.

30 9ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 8ª, en el que la temperatura para el tratamiento del zumo con enzimas pectolíticas y sílice coloidal está comprendida en el intervalo de 20 a 30°C.

10ª.- Un método para clarificación de



zumo de limón de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 9ª, en el que el tiempo de almacenamiento del zumo de limón tratado está comprendido en el intervalo que va desde 2,5 horas a 3,5 horas.

5                    11ª.- Un método para clarificación de zumo de limón de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 10ª, en el que se realiza una filtración final por medio de tierra de diatomeas después de recoger el zumo clarificado.

10                   12ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 11ª, en el que el zumo almacenado se separa del precipitado por medio de decantación de la mayor parte, seguida por centrifugación de la mezcla residual de zumo y precipitado.

15                   13ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 11ª, que se realiza continuamente en una instalación de clarificación.

14ª.- "UN METODO DE CLARIFICACION DE ZUMO DE LIMON O SIMILARES".

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

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

25

Madrid, 22. SET. 1977

P.A.

Oscar de Elizaburu  
Per F. 100



30  
16.9.77  
JMM/.

