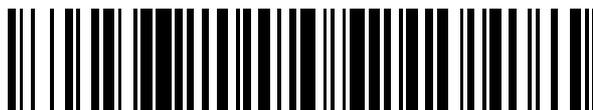


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 873**

51 Int. Cl.:

**C12P 39/00** (2006.01)

**A23L 1/218** (2006.01)

**A23L 1/23** (2006.01)

**A23L 1/36** (2006.01)

**A23L 2/38** (2006.01)

**A23L 1/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.04.2010 E 10715534 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014 EP 2560506**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de un producto natural fermentado**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**16.01.2015**

73 Titular/es:

**NIEDERMAIER-MAY, CORDULA (100.0%)  
Taufkirchner Straße 59  
85662 Hohenbrunn, DE**

72 Inventor/es:

**NIEDERMAIER-MAY, CORDULA**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 526 873 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Procedimiento para la preparación de un producto natural fermentado

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un producto natural fermentado, en particular la preparación de un producto natural fermentado altamente eficaz, que puede conservarse mucho tiempo.

10 **Antecedentes de la invención**

Como productos naturales se denominan productos que representan productos de la naturaleza, por ejemplo la leche de animales. Los productos naturales son sin embargo también aquellos productos que se preparan a partir de materiales brutos que se producen en la naturaleza, tal como por ejemplo frutas y verduras.

15 El documento KR 2005 103 261 A describe la preparación de una bebida fermentada a base de ajo, cuyo olor y toxicidad perjudiciales se eliminan mediante fermentación natural triple.

20 El documento US 4.385.118 describe un procedimiento para la fermentación continua de azúcar para dar alcohol en una serie de recipientes de fermentación, realizándose una realimentación de levadura independientemente de las condiciones de fermentación que se producen en un determinado momento en cada recipiente.

25 En los últimos años, la tendencia va con más frecuencia a una alimentación especialmente sana, equilibrada. A este respecto, el consumo de productos naturales desempeña un papel que se vuelve cada vez más grande.

Se conoce preparar tales productos naturales, fermentándose un material bruto que se produce en la naturaleza o una mezcla de distintos materiales brutos en presencia de microorganismos. Un extracto de fermentación de este tipo se purifica entonces, por ejemplo mediante centrifugación y/o filtración para separar las partes constituyentes insolubles. Eventualmente se pasteuriza el extracto de fermentación para inactivar los microorganismos.

30 Un procedimiento de este tipo se conoce por el documento EP 1 153 549 B1. En este procedimiento se fermenta una mezcla de frutas, verduras y legumbres como materiales brutos en presencia de microorganismos para la producción de un extracto de fermentación, tras lo cual una parte del extracto de fermentación se somete al menos a otra fermentación y esta parte se mezcla con la parte que queda del primer extracto de fermentación. Tras el mezclado se calienta el producto hasta aproximadamente 80 °C y se envasa en recipientes adecuados, que se cierran entonces habitualmente de manera hermética al aire.

35 Ha resultado que el producto natural preparado de acuerdo con el documento EP 1 153 549 B1 presenta un alto potencial antioxidante en forma de polifenoles y por tanto protege frente a radicales libres de oxígeno en el organismo. Además se ha determinado que el producto fortalece la defensa inmunitaria en el organismo mediante activación enzimática.

40 Ciertos estudios científicos han mostrado que el producto natural preparado de acuerdo con el documento EP 1 153 549 B1 con respecto a la estimulación inmunitaria produce una cinética de saturación o decrecimiento. Esta pérdida de actividad en el intervalo de concentración más alto puede compensarse debido a que se añaden microorganismos probióticos vivos al producto natural. Sin embargo ha resultado que los microorganismos probióticos se inactivan en un tiempo mínimo, es decir en el intervalo de pocas horas, lo que se atribuye al medio ácido del producto natural.

45 Por tanto es objetivo de la presente invención proporcionar un procedimiento para la preparación de un producto natural fermentado, que sea altamente eficaz a altas concentraciones durante un espacio de tiempo largo y pueda almacenarse sin más durante un espacio de tiempo largo, sin que se reduzca la actividad de regulación enzimática del producto natural.

55 **Descripción de la invención**

El objetivo de la presente invención se ha conseguido con un procedimiento para la preparación de un producto fermentado de acuerdo con la reivindicación 1.

60 La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un producto natural fermentado, que presenta las etapas:

- 65 a) fermentar materiales brutos para el producto natural que se seleccionan de frutas, verduras, legumbres, setas, nueces, cereales, arroz, hierbas aromáticas, raíces, hojas, flores, de manera individual o en combinación, en presencia de microorganismos en un fermentador principal a una temperatura de 20 °C a 35 °C para la preparación de un primer extracto de fermentación;

- b) extraer al menos una parte del primer extracto de fermentación y transferir esta parte a al menos otro fermentador secundario, formando la parte extraída hasta un tercio del primer extracto de fermentación;
- c) fermentar esta parte del extracto de fermentación en presencia de microorganismos a una temperatura de 20 °C a 35 °C para la formación de al menos un extracto de fermentación parcial;
- d) transferir este al menos un extracto de fermentación parcial al fermentador principal y mezclar con el primer extracto de fermentación residual y
- e) añadir un producto de propagación de microorganismos en los extractos de fermentación combinados, añadiéndose en las etapas a) y c) los microorganismos en una cantidad de  $10^6$  a  $10^{12}$  células/ml, preferentemente de  $10^8$  a  $10^{10}$  células/ml.

Las reivindicaciones dependientes se refieren a formas de realización preferentes del procedimiento de acuerdo con la invención.

Con el procedimiento de acuerdo con la invención se ha conseguido facilitar un producto natural fermentado, concentrado, que activa de manera significativa las enzimas de la defensa inmunitaria del organismo. Esta propiedad permanece también tras la conservación mediante un tratamiento con calor de tiempo reducido. El producto natural fermentado envasado puede almacenarse sin más durante un espacio de tiempo de al menos tres años, sin que el producto natural pierda en actividad.

### Breve descripción de los dibujos

La presente invención se explica en más detalle con referencia a los dibujos. Muestran

la figura 1 un esquema de procedimiento, que explica una forma de realización del procedimiento de acuerdo con la invención de acuerdo con la variante A;

la figura 2 un esquema de procedimiento para una forma de realización de la variante de procedimiento B del procedimiento de acuerdo con la invención;

la figura 3 un diagrama que describe la actividad inmunomodulante de un producto natural del estado de la técnica y

la figura 4 un diagrama que describe la actividad inmunomodulante de productos preparados de acuerdo con la invención;

la figura 5 un diagrama que muestra la actividad inmunomodulante de los productos preparados de acuerdo con la invención con un producto natural del estado de la técnica.

### Descripción detallada de la invención

El procedimiento de acuerdo con la invención facilita un producto natural fermentado que debido al enriquecimiento en microorganismos en los extractos de fermentación combinados conserva su actividad inmunomodulante durante un espacio de tiempo largo. También tras la inactivación con calor, es decir en el estado inactivado con calor, los microorganismos añadidos con los microorganismos igualmente inactivados con calor de las fermentaciones producen efectos aditivos de la activación. Estos efectos se determinan experimentalmente tal como sigue.

Para la realización de los ensayos para la detección de actividades inmunomodulantes se usó el sistema de ensayo de ACC/sangre completa. Con este sistema de ensayo se simula una reacción de inflamación mediante activación de granulocitos neutrófilos en la sangre completa.

El ensayo se basa en que en sangre humana reciente pueda detectarse, en presencia de inmunoactivadores, la formación de granulocitos neutrófilos activados. Los granulocitos que se encuentran en la sangre reconocen los inmunoactivadores y se transfieren a un estado activado. En el estado de activación, los granulocitos neutrófilos producen especies de oxígeno activas, haciéndose reaccionar peróxido de hidrógeno con cloruro mediante la enzima mieloperoxidasa (MPO) para dar el ácido hipocloroso (HOCl). El ácido hipocloroso se hace reaccionar entonces con ácido 1-aminociclopropan-1-carboxílico (ACC) como molécula indicadora para dar eteno y otros productos. El eteno formado es una medida para determinar la reacción de inflamación desencadenada y se determina mediante cromatografía de gases.

En el modelo bioquímico se incubaba la sangre completa con las sustancias que van a someterse a prueba durante 30 minutos con la molécula indicadora ACC en recipientes de reacción cerrados de manera hermética a gases, calibrados por volumen. A continuación, el eteno liberado mediante ACC se cuantifica mediante cromatografía de gases.

La figura 3 muestra un diagrama para la activación de granulocitos neutrófilos en la sangre completa. Se midió la actividad inmunomodulante de Regulat, un producto natural preparado de acuerdo con el documento EP 1 153 549

B1. Como referencia se sometió a prueba adicionalmente una muestra con Zymosan (un preparado de pared celular de levadura) que es un activador experimental de la respuesta inmunitaria congénita (inmunidad innata). La concentración de microorganismos muertos, activados con calor se encuentra en un intervalo de 0 a 300  $\mu\text{l}/2$  ml de sangre completa. Esto corresponde a una cantidad de  $5 \times 10^{10}$  a  $2,5 \times 10^{11}$  células. El Zymosan se sometió a prueba como Zymosan 50 con 200  $\mu\text{g}/2$  ml de sangre completa.

Tal como puede deducirse de la figura 3, en caso del Regulat se realiza una activación de la reacción inmunitaria que aumenta bruscamente hasta 100  $\mu\text{l}/2$  ml de sangre completa, tras lo cual entonces con concentraciones más altas se produce una saturación o una reducción de la reacción inmunitaria. En el caso de Zymosan se produce de acuerdo con lo esperado una activación brusca de la respuesta inmunitaria ya con cantidades más bajas. La formación de eteno se mide en  $\text{pmol}/60$  minutos.

El diagrama de la figura 4 muestra la reactividad inmunoestimulante de dos productos preparados de acuerdo con la invención en el sistema de sangre completa. La curva trazada a rayas con puntos muestra un producto preparado de acuerdo con la invención, en el que tras la fermentación se añadió en los extractos de fermentación combinados un producto de propagación de *Lactobacillus casei*. La curva trazada a rayas con triángulos muestra otro producto preparado de acuerdo con la invención, en el que un producto de propagación de *Lactobacillus rhamnosus* se añadió tras la fermentación. Puede distinguirse claramente en el aumento de la formación de eteno que con concentraciones crecientes se producen efectos aditivos de la activación inmunitaria. La cinética de saturación o de reducción, que se determinó en la figura 3 con el producto del estado de la técnica, se ha eliminado completamente. En particular a de 100 a 200  $\mu\text{l}/2$  ml de sangre completa se determina un aumento significativo de la respuesta inmunitaria. Por tanto puede registrarse un aumento continuo de la actividad, que no muestran los dos microorganismos solos.

La figura 5 muestra las reactividades en el sistema de sangre completa en comparación directa. Tal como puede distinguirse claramente, los productos naturales preparados de acuerdo con la invención por encima de un intervalo de concentración de 0 a 200  $\mu\text{l}/2$  ml consiguen aumentos de la actividad, mientras que el producto del estado de la técnica tras 100  $\mu\text{l}/2$  ml se estanca en su actividad inmunomodulante e incluso se desactiva. Se ha determinado que la adición de *Lactobacillus rhamnosus* en el producto de propagación influye en la acción inmunoestimulante más fuertemente que *Lactobacillus casei*.

Tras la adición del producto de propagación de microorganismos en los extractos de fermentación combinados pueden tratarse con calor los extractos de fermentación que contienen microorganismos a una temperatura en el intervalo de 65 °C a 75 °C, para inactivar los microorganismos allí contenidos. El producto natural preparado de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con la invención no contiene, por consiguiente, microorganismos que puedan aún reproducirse. En una forma de realización especial de la presente invención se realiza el tratamiento con calor a una temperatura en el intervalo de 68 °C a 72 °C. Este tratamiento con calor es un calentamiento de corta duración que se realiza preferentemente en un espacio de tiempo de 60 a 360 segundos, preferentemente de 120 a 300 segundos.

Tras la adición del producto de propagación y eventualmente tras el calentamiento de corta duración se conduce el producto final a un dispositivo de llenado, donde se envasa en recipientes adecuados, tales como por ejemplo botellas. Las botellas se cierran entonces habitualmente de manera hermética al aire.

Los extractos de fermentación combinados con los microorganismos contenidos en los mismos presentan un valor de pH de 3,2 a 4.

En el procedimiento de acuerdo con la invención se añaden en las etapas a) y c) los microorganismos en una cantidad de  $10^6$  a  $10^{12}$  células/ml, preferentemente de  $10^8$  a  $10^{10}$  células/ml.

Ha resultado ventajoso para el procedimiento de acuerdo con la invención cuando el producto de propagación de microorganismos se añade en la etapa e) en los extractos de fermentación combinados en una cantidad que conduce aproximadamente a la duplicación del número de microorganismos.

El producto de propagación de microorganismos se cultiva en un propagador. Por regla general se cultivan en primer lugar los microorganismos con un cultivo iniciador en el propagador y se hacen crecer hasta una concentración de  $10^{12}$  a  $10^{16}$  ufc/ml, preferentemente de  $10^{13}$  a  $10^{15}$  ufc/ml. Se conduce hasta dos tercios del producto de propagación al tanque de envasado 8, donde se encuentran los extractos de fermentación combinados.

Mediante adición de sustrato se alimenta sustancia nutritiva al producto de propagación que queda, para conseguir un nuevo enriquecimiento del cultivo de microorganismos hasta la concentración objetivo. Como sustrato pueden alimentarse a los microorganismos en el propagador los materiales brutos para el producto natural en forma triturada y aclarada. Como alternativa puede añadirse a los microorganismos en el propagador una disolución de nutrientes como sustrato. Para este caso se prevé otro recipiente en el que se encuentra la disolución de nutrientes que se conduce de manera controlada entonces al propagador. Al propagador se alimenta igualmente oxígeno para crear

condiciones aeróbicas en el propagador. Esto puede realizarse por ejemplo mediante introducción de aire mediante un dispositivo de aireación.

5 Como materiales brutos se usan de acuerdo con la invención frutas, verduras, legumbres, setas, nueces, cereales, arroz, hierbas aromáticas, raíces, hojas, flores, de manera individual o en combinación. La mezcla en sí no se considera crítica. Es posible prácticamente cualquier variación de frutas, verduras, legumbres, setas, nueces, cereales, arroz, hierbas aromáticas, raíces, hojas, flores. Una mezcla preferente para el procedimiento de acuerdo con la invención es una mezcla de frutas, verduras, legumbres, nueces y hierbas aromáticas.

10 Los materiales brutos pueden usarse por ejemplo en una cantidad de 300 kg, con respecto a una mezcla de reacción de 1000 litros. Antes de la fermentación se trituran de manera habitual, por ejemplo mediante corte o trituración. Los materiales brutos usados proceden preferentemente de cultivo biológico.

15 Dependiendo del tipo del producto natural que va a prepararse, en las etapas de fermentación a) y c) así como en la adición del producto de propagación se usan los mismos microorganismos o distintos microorganismos. En una forma de realización preferente se usan microorganismos que se seleccionan de bacterias, hongos, levaduras y/o mezclas de los mismos. De manera especialmente preferente se usan bacterias. En principio puede usarse cualquier bacteria para la fermentación o adición del producto de propagación, siempre que obedezca las normativas de alimentos. En una forma de realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención se usan bacterias que se seleccionan del género *Lactobacillus*. Ciertos ejemplos de ello son *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus rhamnosus*. En otra forma de realización pueden usarse los lactobacilos en mezcla con otras bacterias, es decir aquellas bacterias que no son lactobacilos. Se usan preferentemente bacterias probióticas.

20 Por regla general se dispone una disolución de nutrientes, por ejemplo una disolución de lactosa, como sustrato para los microorganismos.

25 El procedimiento de acuerdo con la invención comprende al menos dos variantes de procedimiento A y B, que se describen a continuación en detalle.

30 La variante de procedimiento A se explica en la figura 1 en más detalle. La figura 1 muestra un esquema de procedimiento para una forma de realización de la variante A del procedimiento de acuerdo con la invención. En esta variante de procedimiento, todos los extractos de fermentación parciales proceden del primer extracto de fermentación, que se combinan entonces con el primer extracto de fermentación.

35 Los materiales brutos triturados, tales como frutas, verduras, legumbres y nueces, se encuentran en un recipiente para materiales brutos 2, desde el cual se conducen los materiales brutos a un fermentador principal 3. En el fermentador principal se añaden entonces los cultivos de microorganismos necesarios para la fermentación. La fermentación se realiza por regla general a una temperatura en el intervalo de 20 °C a 35 °C, preferentemente de 25 °C a 32 °C. La temperatura depende de qué microorganismos o qué mezcla de microorganismos se use. Por  
40 regla general, la temperatura asciende a 28 °C, fermentándose normalmente en un espacio de tiempo de 10 a 20 días, lo que depende respectivamente de la mezcla de reacción y de los microorganismos usados.

45 De esta mezcla de reacción se extrae entonces al menos una parte, por ejemplo hasta un tercio, y se transfiere a al menos otro fermentador, el fermentador secundario 4. En este fermentador secundario se fermenta de nuevo con alimentación de microorganismos a una temperatura de 20 °C a 35 °C. También en este caso la temperatura depende de nuevo de qué microorganismo se use. Normalmente, la temperatura asciende a 28 °C. Tras realizar la fermentación parcial se transfiere esta mezcla de reacción desde el fermentador secundario 4 de nuevo al fermentador principal 3. Este ciclo puede repetirse también varias veces.

50 La variante A se basa, por consiguiente, en el principio de que todos los extractos de fermentación parciales proceden del primer extracto de fermentación y las fermentaciones parciales se combinan con el primer extracto de fermentación.

55 Después de que se hayan transferido todas las fermentaciones parciales con el primer extracto de fermentación a un tanque colector 5, éstas se filtran eventualmente y se incorporan en otro tanque colector 5'. Se incluye en una unidad de filtración siguiente en el filtro 6' otro aclarado mediante filtración. El material filtrado aclarado se transfiere a un tanque de envasado 8, en el que se proporciona desde un propagador 7 un producto de propagación de microorganismos frescos. Tras el mezclado mediante por ejemplo agitación en el tanque de envasado 8 se envasan los extractos de fermentación que contienen microorganismos en un dispositivo de llenado 9 de manera habitual en  
60 recipientes 10, por ejemplo botellas.

Eventualmente se tratan los extractos de fermentación con los microorganismos a una temperatura de 65 °C a 75 °C en un calentador (no mostrado), preferentemente en un espacio de tiempo de 60 a 360 segundos, preferentemente de 120 a 300 segundos. El calentamiento de corta duración sirve para inactivar los microorganismos en el producto  
65 final.

- La segunda variante de procedimiento B está representada en la figura 2. En esta variante de procedimiento, tal como en la variante de procedimiento A, la primera extracción de fermentación parcial procede del primer extracto de fermentación, realizándose otras fermentaciones parciales en fermentadores secundarios conectados uno junto a otro y combinándose las fermentaciones parciales individuales con el primer extracto de fermentación que aún queda. Los materiales brutos triturados en el recipiente 2 se transfieren al fermentador principal 3, en el que se prepara con adición de microorganismos un primer extracto de fermentación. Con respecto a los parámetros de procesamiento se remite a las realizaciones de la variante de procedimiento A. Del fermentador principal 3 se extrae entonces una parte del primer extracto de fermentación, por ejemplo hasta un tercio, y se transfiere a un primer fermentador secundario 4', realizándose la fermentación en presencia de microorganismos para la formación de al menos un extracto de fermentación parcial. Tras la fermentación se extrae entonces del fermentador secundario 4' de nuevo una parte y se transfiere al fermentador secundario 4'', donde en presencia de otros microorganismos tiene lugar de nuevo una fermentación parcial. Estas fermentaciones parciales pueden repetirse en muchos otros fermentadores secundarios de manera discrecional, tal como en un fermentador secundario 4'''.
- Las fermentaciones parciales individuales de los fermentadores parciales 4', 4'' y 4''' se transfieren de nuevo al fermentador principal 3. Desde éste se realiza entonces una transferencia de los extractos de fermentación combinados a un tanque colector 5, tras lo cual se filtra entonces y se añade un producto de propagación de microorganismos, tal como se describió anteriormente esto en la variante de procedimiento A. Para el desarrollo de procedimiento posterior se remite igualmente a la descripción de la variante de procedimiento A.
- En esta variante de procedimiento, los fermentadores secundarios están unidos entre sí, o sea están conectados en serie. Esta variante B se diferencia de la variante A en el sentido de que permanecen también estructuras moleculares más grandes junto a estructuras moleculares más pequeñas.
- Pueden realizarse en las dos variantes de manera discrecional muchas fermentaciones parciales. Puede partirse de que un producto natural preparado mediante varias fermentaciones parciales presenta un amplio espectro de acción especialmente inusual, en particular en la inmunomodulación.
- Es ventajoso además añadir aditivos a los extractos de fermentación combinados que contienen microorganismos antes del envasado. Como alternativa pueden añadirse estos aditivos también delante del recipiente colector 5'.
- A estos aditivos pertenecen por ejemplo sustancias vegetales secundarias, por ejemplo luteína, vitaminas, minerales, ácidos grasos, polisacáridos, poliglucanos y/o extractos de hongos. La combinación de estos aditivos se realiza de manera individual y depende del espectro de acción deseado. Por ejemplo, en la elección de las partes constituyentes individuales, el grupo de consumidores desempeña un papel. Mientras que las mujeres tienen una necesidad elevada de ácido fólico, hierro, magnesio, zinc y biotina, se presenta la sustitución de vitamina K, B5, B9, B2 en hombres. Los deportistas tienen una necesidad elevada de sodio, calcio, magnesio, cinc, vitamina D y C.
- El producto preparado de acuerdo con la invención tiene la ventaja de que fortalece en baja dosificación la defensa inmunitaria y presenta un potencial antioxidante especialmente alto. El producto puede conservarse durante un espacio de tiempo de al menos tres años en el estado cerrado de manera hermética al aire.
- El producto natural preparado de acuerdo con la invención es un bioproducto y puede usarse para administración interna y externa. Para la administración interna se administra por regla general por vía oral como alimento o producto alimenticio o fármaco. Puede administrarse en forma de un líquido. Además es posible formar a partir de esto un liofilizado, que en caso necesario puede disolverse en agua u otro líquido. Es igualmente ventajoso administrar el producto natural de acuerdo con la invención en forma de comprimidos, pastillas, granulados, ampollas, gotas o pulverizadores.
- El producto natural preparado de acuerdo con la invención puede aplicarse igualmente también de manera externa sobre la piel. En este caso ha resultado favorable cuando el producto natural, que se encuentra por ejemplo en forma de un líquido, se administra en paños o compresas y entonces se coloca sobre los sitios de la piel afectados.
- Puede usarse el producto natural preparado de acuerdo con la invención también como producto cosmético, por ejemplo introducido en cremas, pomadas y espumas, con lo cual se aplica directamente sobre la piel. Los productos cosméticos tienen propiedades hidratantes y actúan como agentes anti-envejecimiento.
- La instalación descrita en el presente documento es adecuada para la realización del procedimiento de acuerdo con la invención. Con esta instalación pueden realizarse las dos variantes de procedimiento.
- La instalación 1 descrita presenta al menos dos fermentadores 3; 4 y un propagador 7 para el cultivo de microorganismos. Los dispositivos individuales de la instalación descrita pueden deducirse de los esquemas de procedimiento de las figuras 1 y 2.
- En una forma de realización preferente de la instalación 1 descrita, los al menos dos fermentadores están compuestos de un fermentador principal 3 y al menos un fermentador secundario 4. En el fermentador principal 3 se

5 prepara el primer extracto de fermentación. En al menos un fermentador secundario 4 se prepara al menos otro extracto de fermentación parcial. Para la variante de procedimiento B, los fermentadores secundarios 4; 4'; 4"; 4''' están conectados en serie y por consiguiente están unidos entre sí. En caso necesario, la instalación presenta igualmente tras el fermentador principal y los fermentadores secundarios filtros o dispositivos de sedimentación para aclarar los extractos de fermentación.

10 La instalación descrita presenta preferentemente además un tanque colector 5, al que se conducen los extractos de fermentación combinados. Al tanque colector 5 está conectado posteriormente un filtro 6, que purifica los extractos de fermentación o los libera de partes constituyentes insolubles. Los extractos de fermentación aclarados se recogen entonces otra vez en un tanque colector 5' y entonces se conducen de nuevo a un dispositivo de filtro  $\beta'$  para el aclarado posterior.

15 La instalación 1 descrita presenta un propagador 7, en el que se hacen crecer cultivos de microorganismos frescos. Este propagador 7 está unido con conducciones de entrada que conducen sustrato y cultivo de microorganismos al propagador.

En una forma de realización de la instalación descrita se desvía tras el recipiente para materiales brutos 2 un flujo parcial como sustrato para el producto de propagación en el propagador 7.

20 La instalación descrita presenta además preferentemente un tanque de envasado 8 con un dispositivo agitador, con el que se mezclan de manera homogénea los microorganismos frescos que abandonan el propagador y los extractos de fermentación combinados aclarados.

25 La instalación 1 puede presentar un calentador (no mostrado), en el que los extractos de fermentación con los microorganismos del propagador 7 se calientan hasta una temperatura de 65 °C a 75 °C, preferentemente de 68 °C a 72 °C.

30 Un dispositivo de llenado 9 sirve para envasar el producto natural eventualmente calentado en recipientes adecuados, por ejemplo botellas 10.

Las botellas se cierran entonces de manera hermética al aire y aún calientes inmediatamente tras el llenado .

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para la preparación de un producto natural fermentado, con las etapas:

- 5 a) fermentar materiales brutos para el producto natural, que se seleccionan de frutas, verduras, legumbres, setas, nueces, cereales, arroz, hierbas aromáticas, raíces, hojas, flores, de manera individual o en combinación, en presencia de microorganismos en un fermentador principal (3) a una temperatura de 20 °C a 35 °C para la preparación de un primer extracto de fermentación;
- 10 b) extraer al menos una parte del primer extracto de fermentación y transferir esta parte a al menos un fermentador secundario (4; 4'; 4"; 4''') adicional, formando la parte extraída hasta un tercio del primer extracto de fermentación;
- c) fermentar esta parte del extracto de fermentación en presencia de microorganismos a una temperatura de 20 °C a 35 °C para la formación de al menos un extracto de fermentación parcial;
- 15 d) transferir este al menos un extracto de fermentación parcial al fermentador principal (3) y mezclar con el primer extracto de fermentación residual y
- e) añadir un producto de propagación de microorganismos en los extractos de fermentación combinados, añadiéndose en las etapas a) y c) los microorganismos en una cantidad de  $10^6$  a  $10^{12}$  células/ml, preferentemente de  $10^8$  a  $10^{10}$  células/ml.

20 2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** el producto de propagación de microorganismos se añade en los extractos de fermentación combinados en una cantidad que conduce aproximadamente a la duplicación del número de microorganismos.

25 3. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 2, **caracterizado por que** el producto se envasa en recipientes adecuados.

4. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** todos los extractos de fermentación parciales proceden del primer extracto de fermentación y las fermentaciones parciales se combinan con el primer extracto de fermentación.

30 5. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** el primer extracto de fermentación parcial procede del primer extracto de fermentación y otras fermentaciones parciales se realizan en fermentadores conectados uno junto a otro y las fermentaciones parciales individuales se combinan con el primer extracto de fermentación.

35 6. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el producto de propagación de microorganismos se cultiva en un propagador.

40 7. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado por que** a los microorganismos en el propagador se añaden como sustrato los materiales brutos para el producto natural.

8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado por que** a los microorganismos en el propagador se añade como sustrato una solución de nutrientes.

45 9. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** en las etapas de fermentación a) y c) así como en la adición del producto de propagación se usan los mismos o distintos microorganismos.

50 10. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** como microorganismos se usan bacterias que se seleccionan del género *Lactobacillus*, usándose los lactobacilos preferentemente en mezcla con otras bacterias.

55 11. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** los extractos de fermentación combinados con el producto de propagación se tratan con calor a una temperatura en el intervalo de 65 °C a 75 °C, preferentemente de 68 °C a 72 °C, preferentemente durante un espacio de tiempo breve de 60 a 360 segundos y en particular de 120 a 300 segundos.

60 12. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, realizado en una instalación (1) para la preparación de un producto natural fermentado, que presenta

- al menos dos fermentadores (3; 4) y
- un propagador (7) y
- un dispositivo de llenado (9).

65 13. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que los al menos dos fermentadores están compuestos por un fermentador principal (3) y más de un fermentador secundario (4), **caracterizado por que** los fermentadores

secundarios (4; 4'; 4", 4''') están conectados en serie.

14. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones 12 y 13, **caracterizado por que** con el propagador (7) están unidas alimentaciones que conducen sustrato y cultivos de microorganismos al propagador.

5 15. Procedimiento de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones 12 a 14, **caracterizado por que** ésta presenta además un calentador, en el que se calientan los extractos de fermentación combinados con los microorganismos del propagador (7) hasta una temperatura de 65 °C a 75 °C, preferentemente de 68 °C a 72 °C.

Fig. 1

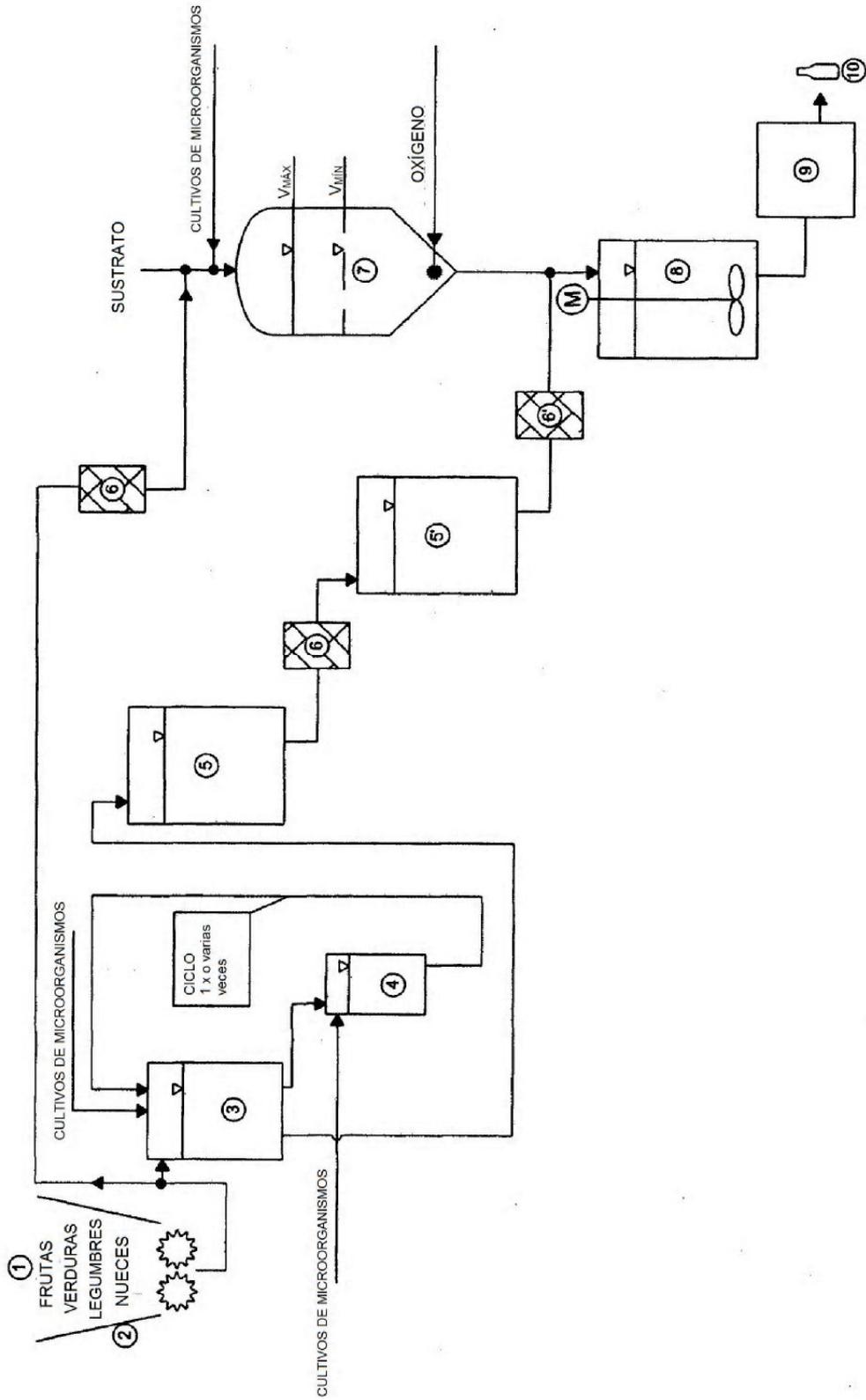


Fig. 2

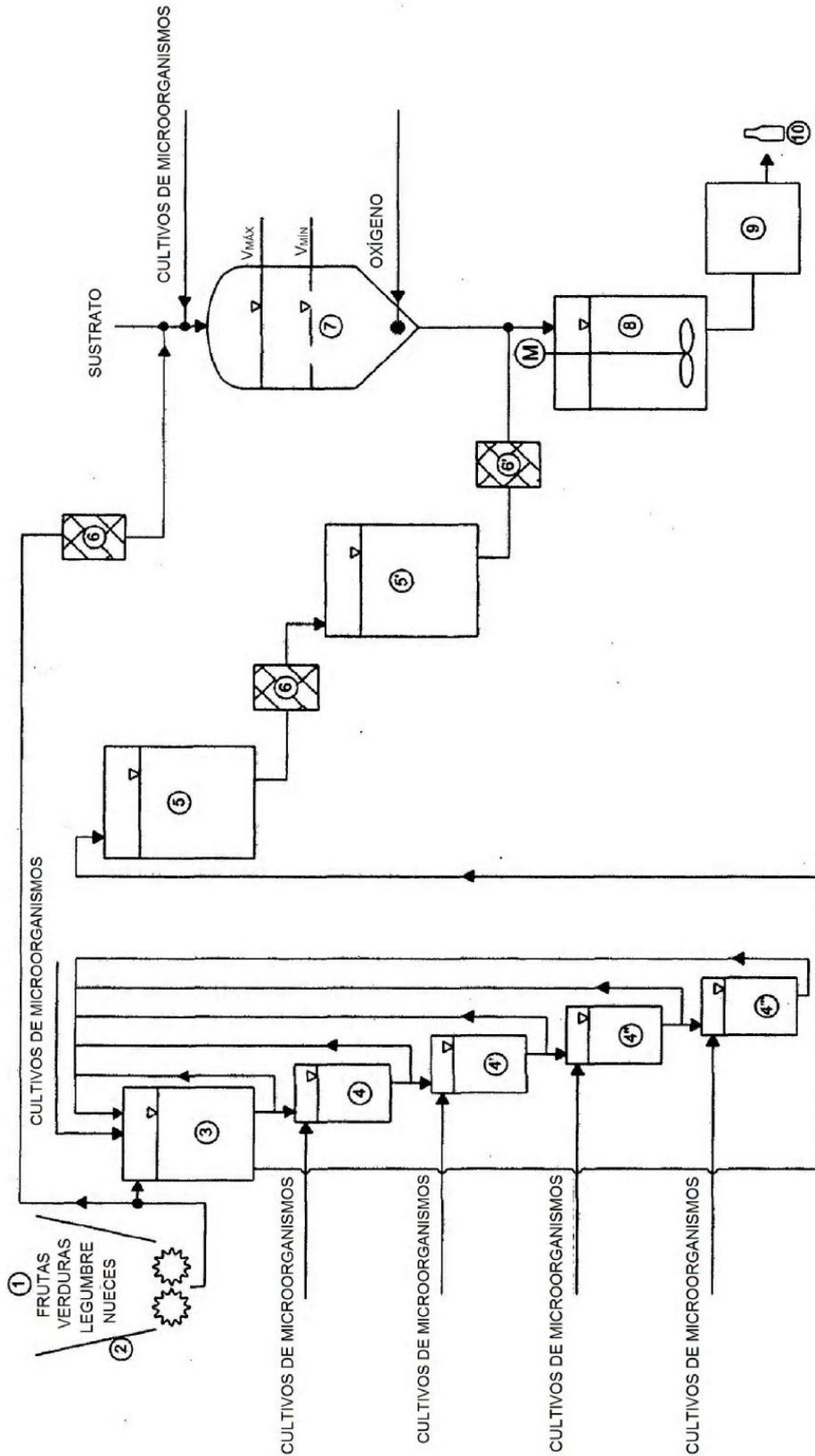


Fig. 3

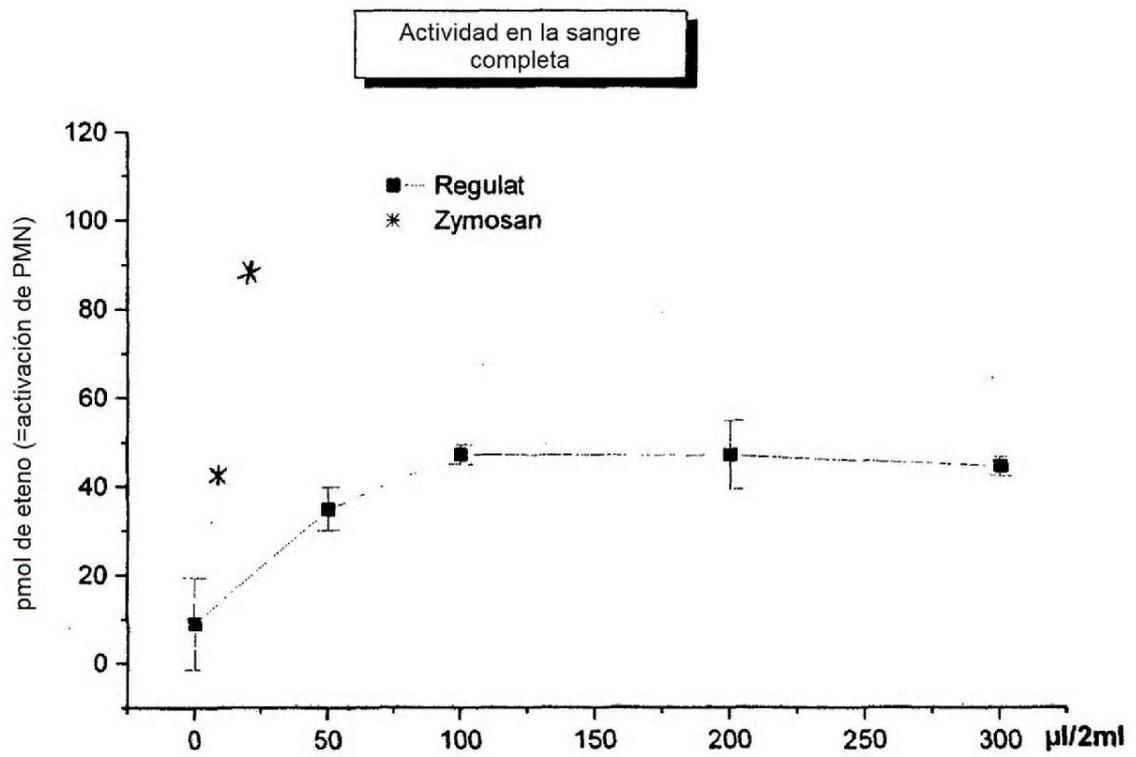


Fig. 4

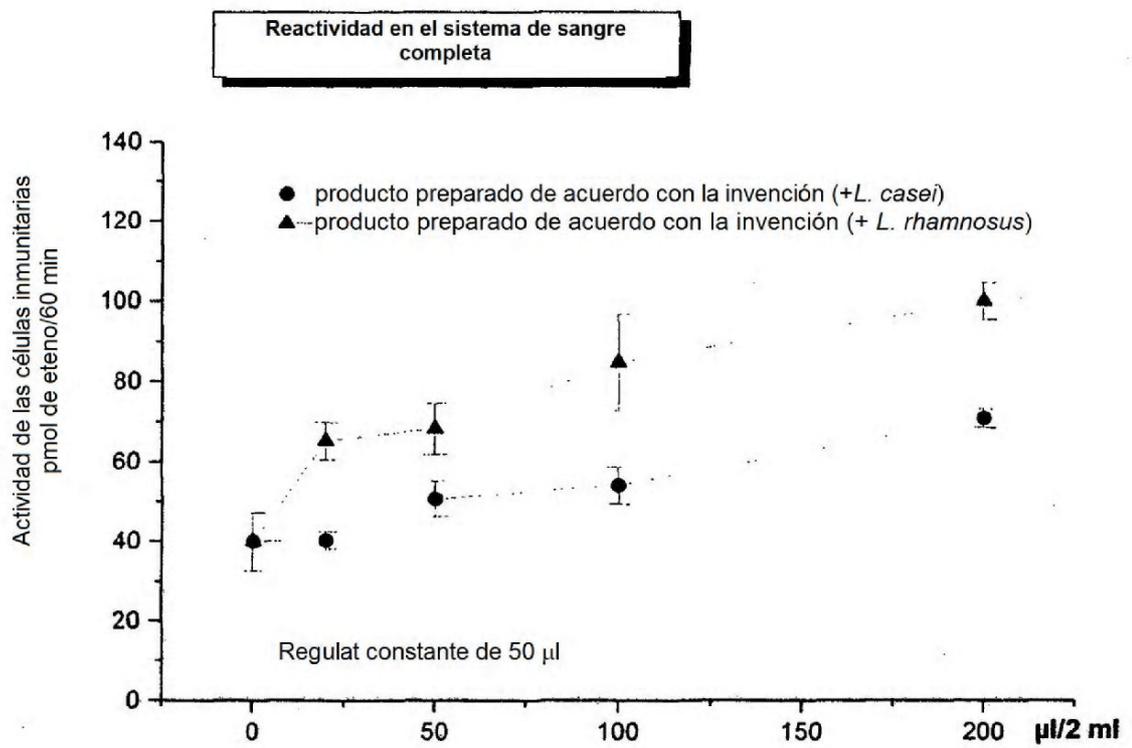


Fig. 5

