

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 416**

51 Int. Cl.:

**A23C 9/123** (2006.01)  
**A23C 9/12** (2006.01)  
**A23B 7/10** (2006.01)  
**A23C 11/10** (2006.01)  
**A23L 2/02** (2006.01)  
**A23L 11/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2006 PCT/FR2006/001687**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.01.2007 WO07006969**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2006 E 06778857 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016 EP 1901612**

54 Título: **Productos alimentarios fermentados que contienen cepas probióticas, y su procedimiento de preparación**

30 Prioridad:  
**13.07.2005 FR 0507528**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**14.03.2017**

73 Titular/es:  
**COMPAGNIE GERVAIS DANONE (100.0%)  
17 BOULEVARD HAUSSMANN  
75009 PARIS, FR**

72 Inventor/es:  
**TERRAGNO, LUC;  
DEBRU, FRANÇOIS;  
TESSIER, PHILIPPE;  
HERVE, STÉPHANE y  
BLACHON, JEAN-LUC**

74 Agente/Representante:  
**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 605 416 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**

Productos alimentarios fermentados que contienen cepas probióticas, y su procedimiento de preparación

La invención se refiere a productos alimentarios fermentados que contienen cepas probióticas, y su procedimiento de preparación.

5 Las bifidobacterias forman parte de la flora anaerobia dominante del colon. Las principales especies presentes en el colon humano son *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum ssp infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*.

10 Las bifidobacterias son bacterias probióticas de elección. Las bacterias del género *Bifidobacterium* se utilizan en numerosos productos actualmente comercializados y frecuentemente se añaden a los productos lácteos que ya contienen bacterias clásicas de yogurt (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*).

Se reconoce que el consumo de bifidobacterias es beneficioso en los procedimientos de recuperación de la población de bifidobacterias normal en personas tratadas con antibióticos. Este consumo parece también reducir el estreñimiento, prevenir la aparición de diarrea y disminuir los síntomas de la intolerancia a la lactosa.

15 Los probióticos son bacterias vivas. El uso de estas bacterias vivas en la fabricación de productos alimentarios tales como los productos lácteos es complicado, especialmente en lo que respecta a los problemas de supervivencia de estas bacterias en el producto.

20 El 80 % de los productos comercializados actualmente que contienen bifidobacterias no respetan los criterios que permitan respaldar que mejoran de forma significativa el tránsito intestinal de las personas que los consumen. Una ingesta diaria de al menos  $10^8$  a  $10^9$  células viables se recomienda como la dosis mínima que permite tener un efecto terapéutico (Silva A.M., Barbosa F. H., Duarte R., Vieira L. Q., Arantes R. M., Nicoli J. R., Effect of Bifidobacterium longum ingestion on experimental salmonellosis in mice, J. Appl. Microbiol. 97 (2004) 29-37). La dosis necesaria puede depender de la cepa probiótica utilizada.

25 La solicitud FR 2 842 707 describe un yogur preparado mediante el uso de bacterias lácticas compuestas por *Lactococcus lactis subsp lactis* y *Lactococcus lactis subsp cremoris* asociado con bacterias del género Bifidobacterium seleccionadas entre *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve* y *B. animalis*. El número de bifidobacterias inoculadas es de aproximadamente  $10^8$  a  $10^9$  y se contabilizan aproximadamente  $10^6$  bifidobacterias al cabo de tres días. No se dispone de ninguna información relativa a una duración de conservación más prolongada.

30 El documento Dechter y col. (Dechter T. H., Hoover D. G., Survivability and p-galactosidase activity of bifidobacteria stored at low temperatures, Food Biotechnol. 12 (1998) 73-89) evalúa la capacidad de supervivencia de los bifidobacterias y el mantenimiento de la actividad beta-galactosidasa de 6 especies de *Bifidobacterium* en un producto lácteo fermentado o no fermentado, a baja temperatura de almacenamiento. La leche fermentada se prepara por inoculación inicial de 1 % de diferentes cepas de *Bifidobacterium* a 37° C durante 24 h o 48 h y después se almacena a 4 °C. Después de 14 días de conservación a 4 °C, se contabiliza una cantidad de 1 a  $3 \cdot 10^8$  UFC/ml de bifidobacterias presentes en una leche fermentada, correspondiendo a tres cepas diferentes, presentando el resto de las cepas analizadas es un número netamente inferior, mientras que, en leche sin fermentar, el número de bifidobacterias contabilizadas no supera los  $3,2 \cdot 10^7$  UFC/ml.

35 En el caso de la fabricación de un producto alimentario bioactivo que contiene bifidobacterias, se suscita por tanto el problema de obtener una población suficiente de dichas bacterias en el producto y mantenerla durante la "vida" del producto.

40 El problema del tamaño numérico de la población de cepas probióticas en un producto lácteo fermentado es un problema conocido (véase especialmente D. Roy, Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products, Lait 85 (2005) 39-56, INRA, EDP Sciences).

45 Se han teorizado muchas razones para este problema, entre estas, la disminución de la población durante el almacenamiento, la perturbación del crecimiento de estas bacterias a partir de un pH determinado o simplemente la mala capacidad de crecimiento de estas bifidobacterias, especialmente en la leche.

50 La invención tiene principalmente por objeto proporcionar productos alimentos fermentados no firmes que contienen una población importante de bifidobacterias durante todo el período de conservación de dichos productos alimentarios fermentados, es decir, productos alimentarios fermentados no firmes que contengan bifidobacterias en buen estado fisiológico y con tasas de supervivencia elevadas durante el período de conservación de dichos productos alimentarios fermentados, especialmente hasta la fecha límite de consumo de productos.

Otro objeto de la invención es suministrar procedimientos de preparación sencillos de realizar que permitan obtener los productos anteriores.

Otro objeto de la invención es favorecer el crecimiento de las bifidobacterias con respecto a las simbiosis clásicas

presentadas en yogures, estando constituidas dichas simbiosis de forma habitual por una o varias cepas de *Streptococcus thermophilus* y de *Lactobacillus bulgaricus*.

5 Los objetos de la invención se realizan mediante la constatación sorprendente realizada por los inventores de que un ajuste preciso de una serie de parámetros que se aplican de forma habitual en los procedimientos de preparación de productos alimentarios fermentados no firmes permite obtener rápidamente tras la fermentación poblaciones de al menos  $10^8$  bifidobacterias por gramo de producto, y una mayor supervivencia de las bifidobacterias hasta la fecha límite de consumo de los productos, sin modificar obligatoriamente el crecimiento de otras cepas bacterianas.

10 La invención se refiere a un producto alimentario fermentado no firme que contiene fermentos, que contienen bacterias lácticas, incluyendo más de  $5 \cdot 10^7$ , en particular más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de alimento fermentado durante un período de conservación de al menos 30 días, especialmente de al menos 35 días.

Por "producto alimentario fermentado no firme" se entiende un producto alimentario fermentado que se ha sometido a una etapa de batido y/o rotura durante su procedimiento de preparación y esto antes de su envasado.

15 Un producto alimentario fermentado firme es un producto que se ha envasado antes de la fermentación, realizándose la fermentación en el recipiente de envasado. Así, para un producto lácteo, la leche se siembra y se envasa directamente en los tarritos donde fermenta. Tras la siembra, la leche sembrada se envasa en tarritos. Estos tarritos pasan generalmente en el horno aproximadamente 3 horas. Las bacterias se reproducen y consumen lactosa, que a continuación se transforma parcialmente en ácido láctico, lo que modifica la estructura de las proteínas, formando lo que se denomina un gel láctico. A continuación, los productos pasan a una cámara fría ventilada o a un túnel de refrigeración y se almacenan a aproximadamente  $4^\circ\text{C}$ .

20 Los ejemplos de productos alimentarios fermentados no firmes son los yogures batidos o los yogures para beber.

Por "fermentos" se entiende un conjunto de bacterias, especialmente de bacterias destinadas a la fermentación y/o bacterias de valor probiótico.

25 El período de conservación o de almacenamiento del producto alimentario fermentado es el período inmediatamente posterior a la finalización del procedimiento de preparación del producto alimentario fermentado y su envasado. Durante este período de conservación, el producto alimentario fermentado se suele conservar a una temperatura comprendida entre  $4$  y  $10^\circ\text{C}$ .

30 El producto alimentario fermentado anteriormente mencionado contiene más de  $5 \cdot 10^7$ , en particular más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de alimento fermentado durante un período de conservación en particular de al menos 35 días, y más en particular durante un período de conservación de al menos 40 días. Más especialmente, el producto alimentario fermentado anteriormente mencionado contiene más de  $5 \cdot 10^7$ , en particular más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de alimento fermentado hasta la fecha límite de consumo del producto.

Las fechas límites de consumo dependen de la duración legal de conservación fijada por la normativa vigente, que pueden variar de forma típica de 15 a 50 días desde la fecha de fabricación. A modo de ejemplo, la duración legal de conservación suele ser de 30 días para los productos lácteos frescos.

35 Una población de bifidobacterias que sea superior o igual a  $10^8$  UFC/g en la fecha límite de consumo (D.L.C.) del producto conservado de  $4$  y  $10^\circ\text{C}$  se puede considerar como una población de bifidobacterias suficiente, teniendo en cuenta las recomendaciones médicas relativas al aporte de bifidobacterias en la alimentación.

40 La invención se refiere más especialmente al producto alimentario fermentado tal como se ha definido anteriormente, en el que la relación entre el número de bifidobacterias contenidas en el producto alimentario fermentado al finalizar el período de conservación y el número de bifidobacterias contenidas en el producto alimentario fermentado al principio del período de conservación de al menos 30 días, especialmente de al menos 35 días, es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,8, especialmente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,7, especialmente de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,5.

45 En otras palabras, la tasa de supervivencia de las bifidobacterias contenidas en el producto alimentario fermentado entre el principio del período de conservación (es decir, al finalizar el procedimiento de preparación) y al final del período de conservación está comprendida entre un 20 y un 80 %, en especial entre un 30 y un 70 %, y en especial entre un 40 y un 50 %.

50 Dicho período de conservación es de al menos 30 días, especialmente de al menos 35 días, pero más especialmente de al menos 40 días o se extiende hasta la fecha límite de consumo del producto alimentario fermentado.

La invención se refiere también a un producto alimentario fermentado no firme conservado durante un período de conservación de al menos 30 días, especialmente de al menos 35 días, a una temperatura de  $4$  a  $10^\circ\text{C}$ , que contiene fermentos que incluyen más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de producto alimentario fermentado.

Más especialmente, la invención se refiere a un producto alimentario fermentado no firme conservado durante un

período de conservación de al menos 30 días, especialmente de al menos 35 días, especialmente de al menos 40 días, a una temperatura inferior a 12 °C o inferior a 10 °C, que contiene fermentos que incluyen más de  $5 \cdot 10^7$ , en especial más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de producto alimentario fermentado.

5 La invención se refiere más especialmente a un producto alimentario fermentado tal como se ha definido anteriormente, que contiene más de  $5 \cdot 10^7$ , en especial más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de producto alimentario fermentado al principio del periodo de conservación.

10 Producto alimentario de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que las bifidobacterias contenidas en el producto alimentario fermentado son del tipo *Bifidobacterium animalis*, especialmente *Bifidobacterium animalis animalis* y/o *Bifidobacterium animalis lactis*, y/o *Bifidobacterium breve* y/o *Bifidobacterium longum* y/o *Bifidobacterium infantis* y/o *Bifidobacterium bifidum*.

Ventajosamente, el producto alimentario fermentado tal como se define anteriormente se prepara a base de zumo vegetal y especialmente zumo de fruta o zumo de hortalizas tal como leche de soja, o un producto lácteo, y especialmente leche de vaca y/o leche de cabra.

15 Dicho producto alimentario fermentado también puede ser a base de leche de oveja o de leche de camella y leche de burra.

Por zumo vegetal se entiende un zumo realizado a partir de extractos vegetales, especialmente soja, tonyu, avena, trigo, maíz...

Los ejemplos de zumos de hortaliza son: zumo de tomate, zumo de remolacha, zumo de zanahoria...

20 Los ejemplos de zumos de fruta son: zumo de manzana, naranja, fresa, melocotón, albaricoque, ciruela, frambuesa, mora, grosella, piña, limón, pomelo, pomelo rosa, plátano, kiwi, pera, cereza, fruta de la pasión, mango, frutas exóticas, zumo multifruta...

25 De acuerdo con una realización ventajosa, el producto alimentario fermentado tal como se define anteriormente es tal que los fermentos contienen bacterias lácticas, es especial una o varias bacterias del género *Lactobacillus spp.* y especialmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* y/o *Lactobacillus casei* y/o *Lactobacillus reuteri* y/o *Lactobacillus acidophilus* y/o *Lactobacillus helveticus* y/o *Lactobacillus plantarum*, y/o bacterias de tipo *Lactococcus cremoris* y/o *Streptococcus thermophilus* y/o *Lactococcus lactis* y/o una de las bacterias del género *Leuconostoc*.

De acuerdo con una realización ventajosa, el producto alimentario fermentado tal como se define anteriormente es tal que los fermentos contienen bacterias lácticas que presentan entre sí un fenómeno simbiótico.

30 Por "fenómeno simbiótico" se entiende una relación entre diferentes tipos de bacterias lácticas que puede crear una asistencia mutua entre las bacterias y aumentar sus actividades de fermentación.

De acuerdo con una realización ventajosa, la proporción de bifidobacterias en los fermentos incluidos en el producto alimentario fermentado tal como se ha definido anteriormente es de aproximadamente un 20 a aproximadamente un 80 %, especialmente de aproximadamente 30 a aproximadamente un 70 %, especialmente de aproximadamente 40 a aproximadamente un 60 %, y especialmente de aproximadamente un 50 %.

35 Por "proporción de bifidobacterias en los fermentos" se entiende la proporción de bifidobacterias con respecto al número total de bacterias incluidas en el producto alimentario fermentado, es decir, con respecto al conjunto de bifidobacterias y de otras bacterias, especialmente las bacterias *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*...

40 El buen equilibrio numérico entre las bifidobacterias y el resto de cepas bacterianas en el producto alimentario fermentado al finalizar el procedimiento de preparación, y el mantenimiento sustancial de dicho equilibrio durante la totalidad del periodo de conservación, son las garantías esenciales de la calidad del producto alimentario.

Una proporción del 50 % de bifidobacterias representa un buen equilibrio entre los problemas de coste (las bifidobacterias son caras) y los problemas de obtención de una población concreta de bifidobacterias.

45 De acuerdo con una realización particular, el producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención se presenta en forma de un producto alimentario fermentado batido o de un producto alimentario fermentado para beber o de un producto alimentario fermentado infantil.

50 Por "producto [...] batido" se entiende un producto, especialmente una leche, sembrada, fermentada, agitada mecánicamente y posteriormente envasada. La fermentación de un producto de ese tipo no se realiza en el tarrito, sino a granel, en cubas. La cuajada se mezcla de forma mecánica y posteriormente se enfría y envasa en tarritos, que se almacenan a baja temperatura. Por cuajada se entiende un coagulado de proteínas, especialmente de la leche.

Por "producto [...] para beber" se entiende un producto en forma prácticamente líquida. Un producto para beber es un producto que es tal que, después de la etapa de mezclado mecánico, el producto se bate en las cubas antes de

su envasado.

Por "producto [...] infantil" se entiende un producto adaptado a las necesidades del lactante, con un bajo contenido en proteínas y grasa.

5 Dicho producto alimentario fermentado puede ser especialmente un yogur cremoso o un yogur firme, batido o para beber o una barrita que comprende materia láctea, kéfir, una galleta con relleno lácteo, un agua que contiene probióticos...

Además, la invención también se refiere a un procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado a partir de un material de partida, que comprende las siguientes etapas sucesivas:

- 10 – una etapa de siembra de un material de partida, opcionalmente pasteurizada, mediante de inoculación de fermentos de siembra que contienen de  $4 \cdot 10^5$  a  $1 \cdot 10^7$  bifidobacterias por ml de material de partida, para obtener un material sembrado,
- una etapa de fermentación del material sembrado obtenido en la etapa anterior, tal que la temperatura de inicio de la fermentación es de 36 a 38 °C, la temperatura de finalización de la fermentación es de 37 a 39 °C, y el tiempo de fermentación es de 8 a 11 horas, para obtener un material fermentado,
- 15 – una etapa de enfriamiento intermedio del material sembrado obtenido en la etapa anterior, tal que el tiempo de enfriamiento intermedio es 1h30 a 2 horas, y la temperatura de enfriamiento intermedio es de 4 a 18 °C, para obtener un material preenfriado,
- una etapa de almacenamiento del material preenfriado obtenido en la etapa anterior, tal que el tiempo de almacenamiento es inferior a 15 horas, para obtener un material almacenado,
- 20 – una etapa de enfriamiento final del material almacenado obtenido en la etapa anterior, tal que la temperatura de inicio del enfriamiento es inferior a 21 °C y la temperatura de finalización del enfriamiento es de 2 a 6 °C, de forma que se obtiene un producto alimentario fermentado.

25 Los fermentos utilizados para sembrar el material de partida se obtienen de forma general mediante el crecimiento de las bifidobacterias en un medio de cultivo y en condiciones tales que, cuando la población de bifidobacterias alcanza la confluencia, contiene de  $10^8$  a  $10^9$  bifidobacterias por ml de medio de cultivo. Se constata por tanto que, de acuerdo con la invención, la cantidad de fermentos utilizada inicialmente corresponde aproximadamente 0,1 % de la dosis de bifidobacterias utilizada de forma clásica.

30 Por "fermentación" se entiende una reacción bioquímica que consiste en liberar energía a partir de un sustrato orgánico, bajo la acción de microorganismos. Se trata de un procedimiento de transformación de materia prima mediante microorganismos, produciendo esta transformación, entonces, biomasa y metabolitos. En particular, la fermentación láctica es un procedimiento anaeróbico de consumo de lactosa por las bacterias de los fermentos, lo que provoca la formación de ácido láctico y una disminución en el pH.

35 La invención procede de la comprobación sorprendente realizada por los inventores de que el ajuste de parámetros de tiempo, temperatura y población inicial de bifidobacterias en los intervalos anteriormente citados, permite mejorar la resistencia de las bifidobacterias y su capacidad de supervivencia. Las bifidobacterias incluidas en el producto alimentario fermentado al finalizar el procedimiento de la invención se encuentran en un estado fisiológico mejor al caso en que dichos parámetros se fijan en valores situados fuera de los intervalos citados en el presente documento, lo que permite que un mayor número de dichas bifidobacterias sobrevivan durante la conservación del producto alimentario fermentado que sigue.

40 Por otra parte, la regulación de dichos parámetros en los intervalos anteriormente citados permite importantes ahorros, especialmente de tiempo y energía.

Si se separa de los intervalos fijados de acuerdo con la invención, la tasa de supervivencia de las bifidobacterias durante la conservación es se ve alterada desfavorablemente.

45 El procedimiento de preparación anteriormente mencionado permite obtener productos alimentarios fermentados no firmes.

De forma ventajosa, los fermentos incluyen bacterias lácticas.

50 De acuerdo con una realización particular, el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención es de tal forma que las bifidobacterias se seleccionan entre las bacterias de tipo *Bifidobacterium animalis*, especialmente *Bifidobacterium animalis animalis* y/o *Bifidobacterium animalis lactis*, y/o *Bifidobacterium breve* y/o *Bifidobacterium longum* y/o *Bifidobacterium infantis* y/o *Bifidobacterium bifidum*.

De acuerdo con una realización particular, el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención es de tal forma que las bifidobacterias se seleccionan entre las bacterias de tipo *Bifidobacterium animalis*.

Ventajosamente, el tiempo de enfriamiento intermedio en el procedimiento de preparación de un producto

alimentario fermentado de acuerdo con la invención es de 1h30.

Ventajosamente, el tiempo de almacenamiento en el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención es menor o igual a 12 horas, especialmente es igual a 12 horas.

5 Ventajosamente, la temperatura al finalizar el enfriamiento final en el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención es de 4 °C.

De acuerdo con una realización particular del procedimiento de preparación de un producto alimentario tal como se ha definido anteriormente, los fermentos de siembra incluyen bacterias lácticas, es especial una o varias bacterias del género *Lactobacillus spp.* y especialmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* y/o *Lactobacillus casei* y/o *Lactobacillus reuteri* y/o *Lactobacillus acidophilus* y/o *Lactobacillus helveticus* y/o *Lactobacillus plantarum*, y/o bacterias de tipo *Lactococcus cremoris* y/o *Streptococcus thermophilus* y/o *Lactococcus lactis* y/o una de las bacterias del género *Leuconostoc*.

De forma ventajosa, las bacterias lácticas presentan entre sí un fenómeno simbiótico.

De acuerdo con una realización particular del procedimiento de preparación de un producto alimentario tal como se ha definido anteriormente, la proporción de bifidobacterias en los fermentos de siembra es del 20 al 75 %, especialmente de 30 al 50 %, especialmente de 35 al 40 %, especialmente del 37,5 %.

Por "proporción de bifidobacterias en los fermentos de siembra", se entiende la proporción de bifidobacterias con respecto al conjunto total de bacterias inoculadas durante la etapa de siembra.

Esta proporción corresponde a un valor óptimo en términos de coste y concentración final de bifidobacterias, suponiendo que la concentración de bifidobacterias sea elevada al principio, puesto que ganan la competición de crecimiento en comparación con otras cepas de fermentos y, además, la concentración óptima de bifidobacterias se alcanza rápidamente.

De acuerdo con una realización particular del procedimiento de preparación de un producto alimentario tal como se ha definido anteriormente, el material de partida es a base de zumo vegetal y especialmente zumo de fruta o zumo de hortalizas tal como leche de soja, o un producto lácteo, formado especialmente por leche de vaca y/o leche de cabra.

El material de partida también puede comprender leche de oveja y/o de camella y/o de burra.

Cuando el producto alimentario fermentado es un producto lácteo, el material de partida puede comprender leche, leche en polvo, azúcar, una mezcla de leche y zumo vegetal, una mezcla de leche y zumo de fruta, una mezcla de leche y almidón,

30 De acuerdo con una realización particular, el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención incluye una etapa adicional de mezclado mecánico entre la etapa de fermentación y la etapa de enfriamiento intermedio, que permite obtener, a partir del material fermentado obtenido en la etapa de fermentación, un material fermentado mezclado.

35 Por "mezclado" se entiende un procedimiento de agitación mecánica mediante un agitador de turbina o hélice. Se trata de una etapa fundamental para la untuosidad del producto, especialmente el producto lácteo. Si la mezcla es demasiado intensa, se puede producir una incorporación de aire y separación del suero. Si la mezcla es insuficiente, el producto se puede volver demasiado espeso posteriormente.

De acuerdo con una realización particular, el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención incluye una etapa de pasteurización antes de la etapa de siembra, que permite obtener, a partir del material de partida, un material de partida pasteurizado.

Por "pasteurización" se entiende el procedimiento habitual en el campo de la conservación de los alimentos, que consiste en un calentamiento rápido con ebullición, seguido de un enfriamiento muy rápido, que permite destruir la mayoría de las bacterias, conservando al mismo tiempo las proteínas de forma parcial.

45 De acuerdo con una realización ventajosa del procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención, el material de partida pasteurizado es un material de partida pasteurizado, atemperado, opcionalmente homogeneizado, y enfriado, obtenido a partir de un material crudo, comprendiendo dicho procedimiento, antes de la etapa de siembra, las etapas sucesivas siguientes:

- una etapa de normalización de la materia grasa del material crudo de forma que se obtenga un material normalizado,
- 50 – etapa de enriquecimiento en materia seca del material normalizado obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material enriquecido,
- una etapa de precalentamiento del material enriquecido obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material de partida,

- una etapa de pasteurización y atemperamiento del material de partida obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material pasteurizado y atemperado,
- una etapa opcional de homogeneización del material pasteurizado y atemperado obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material pasteurizado, atemperado y opcionalmente homogeneizado,
- 5 – una etapa de enfriamiento inicial del material pasteurizado, atemperado y opcionalmente homogeneizado obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material de partida pasteurizado, atemperado, opcionalmente homogeneizado, y enfriado.

Por "normalización de materia grasa" se entiende una etapa de nivelación de la cantidad predeterminada de materia grasa presente en el material de partida.

- 10 El enriquecimiento en materia seca consiste en la adición de proteínas y materia grasa para modificar la firmeza de la cuajada.

El atemperamiento consiste en una termización rápida de la leche que permite destruir la flora microbiana vegetativa, es decir, las formas patógenas. Su duración normal es de 4 a 10 minutos, especialmente de 5 a 8 minutos, y especialmente de aproximadamente 6 minutos.

- 15 Por "homogeneización" se entiende la dispersión de la materia grasa en el material de tipo lácteo en pequeños glóbulos de grasa. La homogeneización se realiza, por ejemplo, a una presión de 100 a 280 bares (10 a 28 MPa), especialmente de 100 a 250 bares (10 a 25 MPa), especialmente de 100 a 200 bares (10 a 25 MPa), especialmente de aproximadamente 200 bares (20 MPa). Esta etapa de homogeneización es totalmente opcional. Suele estar ausente en el procedimiento de producción de productos con un 0 % de materia grasa.

- 20 De acuerdo con una realización ventajosa, el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención comprende, después de la etapa de enfriamiento final, una etapa de conservación del producto alimentario fermentado a una temperatura comprendida entre 4 y 10 °C.

- 25 De acuerdo con una realización ventajosa, el procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la invención comprende una etapa de adición de un preparado intermedio simultáneamente a la etapa con la etapa de siembra o entre la etapa de siembra y la etapa de fermentación, de forma que se obtenga, a partir del material sembrado, un material sembrado completo, o después de la etapa de fermentación, de forma que se obtenga, a partir del material fermentado, un material fermentado completo, comprendiendo dicha preparación intermedia una preparación de frutas y/o cereales y/o aditivos tales como aromas y colorantes.

- 30 La preparación intermedia puede incluir especialmente espesantes (fibras solubles e insolubles, alginatos, carragenatos, goma xantana, pectina, almidón, especialmente gelatinizado, goma de gelano, celulosa y sus derivados, goma guar y de algarroba, inulina) o edulcorantes (aspartame, acesulfame K, sacarina, sucralosa, ciclamato) o conservantes.

Los ejemplos de aromas son: aroma de manzana, naranja, fresa, kiwi, coco...

Los ejemplos de colorantes son: betacaroteno, carmín, rojo de cochinilla.

- 35 Además, la preparación de las frutas anteriormente citadas puede incluir frutas enteras o en trozos o en gelatina o mermelada, lo que permite obtener, por ejemplo, yogures de frutas.

La preparación intermedia puede incluir adicionalmente extractos vegetales (soja, arroz...).

La invención se refiere igualmente a un producto alimentario fermentado tal como el que se obtiene mediante uno de los procedimientos tal como se ha definido anteriormente.

#### 40 Ejemplos

- Se trazó un gráfico correspondiente al efecto de la temperatura de fermentación en función de la cantidad de bifidobacterias inicialmente presente. Abscisas: cantidad de bifidobacterias inoculada en  $10^7$  UFC/ml; ordenada: temperatura de fermentación en grados centígrados. Negro: cantidad de bifidobacterias inferior a  $5 \cdot 10^7$  UFC/ml; trazos finos: cantidad de bifidobacterias comprendida entre  $5 \cdot 10^7$  y  $10^8$  UFC/ml; trazos gruesos: cantidad de bifidobacterias superior a  $10^8$  UFC/ml. La medida se realizó al finalizar la fermentación.

- 50 También se realizó un gráfico correspondiente al efecto de la temperatura de enfriamiento de los productos antes del almacenamiento final a 10 °C en función del tiempo de espera, antes del enfriamiento a 20 °C. Abscisas: tiempo de espera del suavizado (en horas); ordenada: temperatura de enfriamiento antes del almacenamiento final (en °C). Trazos finos: cantidad de bifidobacterias comprendida entre  $5 \cdot 10^7$  y  $10^8$  UFC/ml; trazos gruesos: cantidad de bifidobacterias superior a  $10^8$  UFC/ml. La medida se realizó 35 días después de la fermentación.

También se realizó un gráfico correspondiente al efecto de la temperatura de enfriamiento de los productos antes del almacenamiento final a 10 °C en función de la temperatura de fermentación. Abscisas: temperatura de fermentación (°C); ordenada: temperatura de enfriamiento durante el almacenamiento final (en °C). Negro: cantidad de

bifidobacterias inferior a  $5 \cdot 10^7$  UFC/ml; trazos finos: cantidad de bifidobacterias comprendida entre  $5 \cdot 10^7$  y  $10^8$  UFC/ml; trazos gruesos: cantidad de bifidobacterias superior a  $10^8$  UFC/ml. La medida se realizó 35 días después de la fermentación.

**Ejemplo 1**

5 Para demostrar que las gamas de los diferentes parámetros tales como se han definido a continuación corresponden a una optimización con respecto a la supervivencia de las bifidobacterias durante la conservación, se prepara un yogur batido convencional haciendo variar independientemente cada factor. Cada factor se analiza a un nivel bajo (marcado -1), un nivel medio (marcado 0) y un nivel alto (marcado +1). La lista de los parámetros analizados se encuentra en la tabla 1 siguiente:

10

Tabla 1

	Factores	Nivel bajo (-1)	Nivel medio (0)	Nivel alto (+1)
Crecimiento del bífido	Inoculación de las bifidobacterias	$10^6$ UFC /ml	$10^7$ UFC /ml	$5 \cdot 10^7$ UFC/ml
	Tiempo de fermentación	6,5 h	8,25 h	10 h
	Temperatura de fermentación	36 °C	38 °C	40 °C
Supervivencia del bífido	Tiempo de espera de suavizado al finalizar la fermentación	0,33 h	1 h	2,5 h
	Temperatura de enfriamiento (suavizado)	15 °C	17,5 °C	20 °C
	Tiempo de almacenamiento de espera antes del suavizado	1 h	12 h	20 h
	Temperatura de atemperado	15 °C	17,5 °C	20 °C
	Temperatura de enfriamiento-almacenamiento de los productos	4 °C	7 °C	10 °C

A partir de las diferentes experimentaciones, se correlacionan los factores y se establecen gráficos de tolerancia con respecto al crecimiento y la supervivencia de las bifidobacterias, que corresponden a las proyecciones de las cantidades de bifidobacterias obtenidas para cada parámetro.

15 En especial, se comprueba que, si los productos no se enfrían lo suficientemente rápido (tiempo de espera en la cuba de fermentación demasiado alto), se produce una pérdida de bifidobacterias. También se comprueba que, si los productos no se enfrían correctamente entre 4 °C y 6 °C, la pérdida de bifidobacterias a D+35 es importante.

**Ejemplo 2**

Se realizaron ensayos industriales con 3000 litros.

20

1<sup>er</sup> grupo de ensayos:

Testigo 1: temperatura de fermentación 39 °C; tiempo de almacenamiento 24 h.

Testigo 2: temperatura de fermentación 40 °C.

Ensayo 1: temperatura de fermentación 37 °C, enfriamiento 6 °C. (testigo 1 y testigo 2: leche + leche en polvo)

25

2<sup>o</sup> grupo de ensayos:

Testigo 3: temperatura de fermentación 39 °C.

Testigo 4: temperatura de fermentación 40 °C.

Ensayo 2: todos los parámetros se seleccionan entre los intervalos reivindicados, es decir:

30

Inoculación de las bifidobacterias:  $1 \cdot 10^7$  UFC/ml;

tiempo de fermentación: 9h40;

temperatura de fermentación: 37 °C;

tiempo de enfriamiento intermedio: 1h30;

temperatura de enfriamiento intermedio: 18 °C;

tiempo de almacenamiento de espera después del suavizado: 12 h;

## ES 2 605 416 T3

temperatura de enfriamiento final: 6 °C.

(testigo 3 y testigo 4: leche + leche en polvo + preparación de frutas añadida al final de la fabricación)

Los resultados se presentan en las tablas 2 y 3 siguientes, donde se indica la población de bifidobacterias en UFC/ml.

5

*Tabla 2*

	Fin fermentación	D+1	D+21	D+35
Testigo 1	$1,0 \cdot 10^8$	$1,0 \cdot 10^8$	$5,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$
Testigo 2	$3,0 \cdot 10^7$	$6,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$	$3,0 \cdot 10^7$
Ensayo 1	$1,7 \cdot 10^8$	$1,7 \cdot 10^8$	$2,0 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^8$

*Tabla 3*

	Fin fermentación	D+1	D+35
Testigo 3	$1,9 \cdot 10^8$	$1,5 \cdot 10^8$	$7,0 \cdot 10^7$
Testigo 4	$2,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^7$
Ensayo 2	$5,0 \cdot 10^8$	$3,8 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^8$

En estas tablas, D corresponde al final de la fermentación, D+1 corresponde a 1 día de almacenamiento...

10

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado, incluyendo más de  $5 \cdot 10^7$ , en particular más de  $10^8$  bifidobacterias por gramo de producto alimentario fermentado durante un período de conservación de al menos 30 días, en particular de al menos 35 días, a partir de un material de partida, que comprende las siguientes etapas sucesivas:
- una etapa de siembra de un material de partida, opcionalmente pasteurizado, mediante de inoculación de fermentos de siembra que contienen de  $4 \cdot 10^6$  a  $1 \cdot 10^7$  bifidobacterias por ml de material de partida, para obtener un material sembrado,
  - 10 - una etapa de fermentación del material sembrado obtenido en la etapa anterior, tal que la temperatura de inicio de la fermentación sea de 36 a 38 °C, la temperatura de finalización de la fermentación sea de 37 a 39 °C, y el tiempo de fermentación sea de 8 a 11 horas, para obtener un material fermentado,
  - una etapa de enfriamiento intermedio del material sembrado obtenido en la etapa anterior, tal que el tiempo de enfriamiento intermedio sea 1h30 a 2 horas, y la temperatura de enfriamiento intermedio sea de 4 a 18 °C, para obtener un material preenfriado,
  - 15 - una etapa de almacenamiento del material preenfriado obtenido en la etapa anterior, tal que el tiempo de almacenamiento sea inferior a 15 horas, para obtener un material almacenado,
  - una etapa de enfriamiento final del material almacenado obtenido en la etapa anterior, tal que la temperatura de inicio del enfriamiento sea inferior a 21 °C y la temperatura de finalización del enfriamiento sea de 2 a 6 °C, de forma que se obtiene un producto alimentario fermentado.
- 20 2. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las bifidobacterias se seleccionan entre las bacterias de tipo *Bifidobacterium animalis*, especialmente *Bifidobacterium animalis animalis* y/o *Bifidobacterium animalis lactis*, y/o *Bifidobacterium breve* y/o *Bifidobacterium longum* y/o *Bifidobacterium infantis* y/o *Bifidobacterium bifidum*.
- 25 3. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que las bifidobacterias se seleccionan entre las bacterias de tipo *Bifidobacterium animalis*.
4. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el tiempo de enfriamiento intermedio es de 1h30.
5. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el tiempo de almacenamiento es inferior o igual a 12 horas, especialmente es igual a 12 horas.
- 30 6. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la temperatura de finalización del enfriamiento final es de 4 °C.
7. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que los fermentos de siembra incluyen bacterias lácticas, es especial una o varias bacterias del género *Lactobacillus spp.* y especialmente *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* y/o *Lactobacillus casei* y/o *Lactobacillus reuteri* y/o *Lactobacillus acidophilus* y/o *Lactobacillus helveticus* y/o *Lactobacillus plantarum*, y/o bacterias de tipo *Lactococcus cremoris* y/o *Streptococcus thermophilus* y/o *Lactococcus lactis* y/o una de las bacterias del género *Leuconostoc*.
- 35 8. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la proporción de bifidobacterias en los fermentos de siembra es del 20 al 75 %, especialmente de 30 al 50 %, especialmente de 35 al 40 %, especialmente del 37,5 %.
- 40 9. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el material de partida es a base de zumo vegetal y especialmente de zumo de fruta o de zumo de hortalizas tal como leche de soja, o un producto lácteo, formado especialmente por leche de vaca y/o leche de cabra.
- 45 10. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende una etapa adicional de mezclado entre la etapa de fermentación y la etapa de enfriamiento intermedio, que permite obtener, a partir del material fermentado obtenido en la etapa de fermentación, un material fermentado mezclado.
- 50 11. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende una etapa de pasteurización antes de la etapa de siembra, que permite obtener, a partir del material de partida, un material de partida pasteurizado.
- 55 12. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el material de partida pasteurizado es un material de partida pasteurizado, atemperado, opcionalmente homogeneizado, y enfriado, obtenido a partir de un material crudo, comprendiendo dicho procedimiento, antes de la etapa de siembra, las etapas sucesivas siguientes:

- una etapa de normalización de la materia grasa del material crudo, de forma que se obtenga un material normalizado,
  - una etapa de enriquecimiento en materia seca del material normalizado obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material enriquecido,
  - 5 - una etapa de precalentamiento del material enriquecido obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material de partida,
  - una etapa de pasteurización y atemperamiento del material de partida obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material pasteurizado y atemperado,
  - 10 - una etapa opcional de homogeneización del material pasteurizado y atemperado obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material pasteurizado, atemperado y opcionalmente homogeneizado,
  - una etapa de enfriamiento inicial del material pasteurizado, atemperado y opcionalmente homogeneizado obtenido en la etapa anterior, de forma que se obtenga un material de partida pasteurizado, atemperado, opcionalmente homogeneizado, y enfriado.
13. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende, después de la etapa de enfriamiento final, una etapa de conservación del producto alimentario fermentado a una temperatura comprendida entre 4 y 10 °C.
14. Procedimiento de preparación de un producto alimentario fermentado de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 13, que comprende una etapa de adición de un preparado intermedio simultáneamente con la etapa de siembra o entre la etapa de siembra y la etapa de fermentación, de forma que se obtenga, a partir del material sembrado, un material sembrado completo, o después de la etapa de fermentación, de forma que se obtenga, a partir del material fermentado, un material fermentado completo, comprendiendo dicha preparación intermedia una preparación de frutas y/o cereales y/o aditivos tales como aromas y colorantes.
- 20