

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 879**

51 Int. Cl.:

**A23C 9/123** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.06.2010 PCT/EP2010/057790**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.12.2010 WO2010139765**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2010 E 10724754 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 2437611**

54 Título: **Proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado**

30 Prioridad:

**03.06.2009 EP 09305510**

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

**14.06.2017**

73 Titular/es:

**YOPLAIT FRANCE (50.0%)  
170B Boulevard du Montpamasse  
75014 Paris y  
CHR. HANSEN A/S (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ROBICHON, FLORENCE;  
LECANU, BRUNO;  
BEZENER, MARIE-CLAUDE;  
PEYRAUD, LAURENCE;  
AIT ABDERRAHIM, HASSINA y  
ODINOT, JEAN-MARIE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 616 879 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**

Proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado

La presente invención se refiere a un proceso para la fabricación de productos lácteos fermentados, en particular productos lácteos agitados.

**5 Antecedentes técnicos**

Los procesos para la fabricación de productos lácteos agitados por lo general comprenden la fermentación de una base de leche inoculada en grandes tanques de fermentación o cultivo agitados, enfriamiento del coágulo final y después almacenamiento y envase final del producto lácteo.

10 El paso de enfriamiento después de la fermentación es un paso clave en este proceso. Este paso es necesario para detener la actividad fermentadora de las bacterias lácticas inoculadas y para establecer la acidez final del producto. El paso de enfriamiento consiste en una agitación continua de la masa fermentada en el tanque durante la operación de transferencia al enfriador, un bombeo y una transferencia por tubería seguido de un paso de suavizado con un filtro estático, una válvula suavizadora o una máquina de rotor estator. La operación de enfriamiento suele ser realizada mediante el uso de un intercambiador de calor (por ejemplo, placa, tubo o intercambiadores de calor de superficies de desecho) seguida por un paso de almacenamiento en un tanque antes del envase.

15 Este paso conduce a una pérdida grande de viscosidad debido a la fuerza de cizalla aplicada durante la agitación del tanque, el suavizado, bombeo, transferencia por tubería y enfriamiento.

El punto establecido de temperatura de enfriamiento está así determinado como un compromiso entre la acidez del producto final y la viscosidad.

20 Además de un paso de enfriamiento, algunos fabricantes también utilizan bacterias de ácido láctico que tienen propiedades de acidificación posterior baja o reducida a fin de mantener el pH de los productos lácteos fermentados estable durante su vida útil (véase el documento de patente internacional WO 2007/147890).

25 Para aumentar la viscosidad del producto final, algunos fabricantes agregan agentes espesantes a la base de leche antes de la fermentación. Sin embargo, estos complementos implican costos adicionales. Otra posibilidad es procesar sólo pequeñas cantidades de productos lácteos. A fin de controlar la acidez final, algunos fabricantes también utilizan mutantes negativos de lactosa de *Lactobacillus* y cantidades limitadas de glucosa en los medios de fermentación (véase el documento de patente de Estados Unidos 2005/196388) o cepas de *Streptococcus thermophilus* que tienen un sistema de transporte de oligopéptidos deficiente y cantidades de péptidos controladas en los medios de fermentación (véase el documento de patente de Estados Unidos 2007/292561).

30 Por consiguiente, existe una necesidad de un proceso rentable alternativo para la fabricación de un producto lácteo fermentado que combine una buena preservación de la textura y un control sostenible de la acidez durante el almacenamiento y envase.

**Compendio de la invención**

La presente invención se refiere a la materia objeto de las reivindicaciones.

35 El objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo proceso rentable para la fabricación de productos lácteos fermentados. Los inventores han demostrado que el uso de cultivos de inicio de acidificación posterior débil permite en particular suprimir el paso de enfriamiento antes del envasado.

40 Sobre esta base, la invención presente proporciona un nuevo proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado que comprende someter una base de leche a fermentación con un cultivo de bacterias lácticas de acidificación posterior débil como iniciador, dicho iniciador proporciona, a la temperatura de fermentación, un perfil de acidificación que comprende un período inicial de disminución del pH hasta un valor de pH deseado, seguido de un período de al menos 30 horas en el que el valor de pH deseado no varía sustancialmente, en donde el proceso no incluye un paso de enfriamiento o de tratamiento térmico para detener la fermentación. En una forma de realización particular, la presente invención proporciona un proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado, tal como un yogur, que comprende (a) someter a una base de leche a fermentación con un iniciador que consiste en un cultivo bacteriano de acidificación posterior débil, hasta que se alcanza un valor de pH deseado en el intervalo de 4,0 a 5,0; (b) mantener el producto lácteo fermentado a la temperatura de fermentación durante un período de al menos 30 horas después de haber alcanzado el pH deseado; y (c) envasar el producto lácteo fermentado, en donde el cultivo bacteriano de acidificación posterior débil se define como el que tiene un perfil bifásico de acidificación, según lo determinado por el registro continuo del pH en función del tiempo, en una base de leche que comprende 3,5% (p/p) de materia grasa, 3,72% (p/p) de proteína, 5,68% (p/p) de lactosa, 0,89% (p/p) de ceniza y 13,79% (p/p) de sólidos totales a 38° C, que comprende un período inicial de duración de 8 a 24 horas de disminución sigmoidal del pH hasta un valor de pH por encima de 4,0, seguido de un período de al menos 30 horas en el que el pH no varía más de 0,3 unidades.

En otra forma de realización particular, la presente invención proporciona un proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado, tal como un yogur, que comprende (a) someter una base de leche a fermentación con un iniciador hasta alcanzar un valor de pH deseado en el intervalo de 4,0 a 5,0, dicho iniciador comprende al menos una cepa de *Streptococcus thermophilus* y al menos una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* seleccionada del grupo consistente en DSM 17959 depositada el 8 de febrero de 2006, DSM 18144 depositada el 30 de marzo de 2006 y DSM 19252 depositada el 3 de abril de 2007; (b) mantener el yogur a la temperatura de fermentación durante un período de al menos 30 horas después de haber alcanzado el pH deseado; y (c) envasar el yogur.

### Leyendas de las figuras

10 La figura 1 muestra la variación de pH durante la fermentación de la leche con el cultivo Y-051054.

La figura 2 muestra la variación de pH durante la fermentación de la leche con el cultivo M1B.

### Descripción detallada de la invención

15 Mediante cribado e investigación, los inventores de la invención presente han encontrado que ciertos cultivos bacterianos, que pueden ser seleccionados en una criba de cultivos bacterianos de acidificación posterior débil, tienen propiedades deseables con respecto a una buena preservación de la textura cuando se utilizan como iniciadores en la elaboración de productos lácteos fermentados.

20 La invención presente proporciona un nuevo proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado en donde el paso de enfriamiento para controlar la fermentación y la acidificación antes del envase no es necesario. Además, el proceso según la presente invención permite un período de tiempo de almacenamiento prolongado antes de su envasado a la temperatura de fermentación, una disminución de los consumos de agua y energía, así como una inversión financiera inicial más baja en comparación con los procesos de la técnica anterior.

El proceso de la invención consiste en la fermentación de una base de leche inoculada con bacterias de iniciación específicas a fin de obtener un producto lácteo fermentado con un bajo desarrollo de acidez durante su vida útil, particularmente antes del envasado de este producto.

### 25 Definiciones

Como se utiliza en este documento el término "base de leche" incluye la leche entera, leche descremada, leche sin grasa, leche baja en grasa, leche con toda la grasa, leche sin lactosa o leche con lactosa reducida (producida por hidrólisis de la lactosa con la enzima lactasa a glucosa y galactosa, o por otros métodos tales como la nanofiltración, electrodiálisis, cromatografía de intercambio iónico y tecnología de centrifugación), leche concentrada o leche en polvo. La leche sin grasa es un producto de leche sin grasa o descremada. La leche baja en grasa por lo general se define como la leche que contiene de aproximadamente 1% a aproximadamente 2% de grasa. La leche con toda la grasa a menudo contiene 2% de materia grasa o más. El término "leche" pretende abarcar leches de mamíferos y de fuentes vegetales. Preferiblemente, la leche es de una fuente de mamífero. Fuentes de leche de los mamíferos incluyen, pero no se limitan a la vaca, oveja, cabra, búfala, camella, llama, yegua y cierva. En una forma de realización, la leche es de un mamífero seleccionado del grupo consistente en vaca, oveja, cabra, búfala, camella, llama, yegua y cierva y sus combinaciones. Fuentes de leche de las plantas incluyen, pero no se limitan a, la leche extraída de la soja, guisante, cacahuete, cebada, arroz, avena, quinoa, almendra, anacardo, coco, avellana, cáñamo, semillas de sésamo y semillas de girasol. La leche de soja es preferida. Además, el término "leche" se refiere no sólo a la leche entera, sino también a la leche descremada o cualquier componente líquido derivado de las mismas.

El proceso según la invención puede utilizarse para la fabricación de varios tipos de productos lácteos fermentados. Como se usa en esta solicitud, el término "producto lácteo fermentado" o "producto lácteo acidificado" pretende referirse a los productos que se obtienen por la multiplicación de bacterias de ácido láctico en una base de leche, lo que conduce a un coágulo de leche. La preparación de leche utilizada como materia prima para la fermentación puede ser leche desnatada o no desnatada, opcionalmente concentrada o en forma de polvo. Además, esta preparación de leche se puede haber sometido a una operación de procesamiento térmico que es al menos tan eficiente como la pasteurización. Las características específicas de los diferentes productos lácteos fermentados dependen de varios factores, tales como la composición de la base de leche, la temperatura de incubación, la flora de ácido láctico y/o flora que no es de ácido láctico. Por lo tanto, los productos lácteos fermentados fabricados en este documento incluyen, por ejemplo, varios tipos de yogur regular, yogur bajo en grasa, yogur sin grasa, kefir, ymer, suero de mantequilla, grasa de leche, crema agria y crema agria batida así como quesos frescos.

Como se utiliza en la presente solicitud, el término "yogur" se refiere a productos que comprenden no solo bacterias de ácido láctico tales como *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, sino también, opcionalmente, otros microorganismos tales como *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *lactis*, *Bifidobacterium animalis* subespecie *lactis*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*, o cualquier microorganismo que se deriven de ellas. Con las cepas de ácido láctico distintas de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, se pretende dar al producto final diversas

propiedades, tal como la propiedad de promover el equilibrio de la flora. Como se utiliza en este documento, el término "yogur" abarca el yogur normal, yogur agitado, bebida de yogur, Petit Suisse, yogur tratado térmicamente y productos tipo yogur. Preferiblemente, el yogur es un yogur agitado o una bebida de yogur. Más preferiblemente, el yogur es un yogur agitado.

- 5 El término "yogur" incluye, pero no se limita a, yogur definido según normas francesas y europeas, por ejemplo productos lácteos coagulados obtenidos solamente por fermentación de ácido láctico mediante bacterias de ácido láctico termófilas específicas (es decir, *Lactobacillus delbruekii* subespecie *bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) que se cultivan simultáneamente y se encuentran en el producto final en una cantidad de al menos 10 millones de UFC (unidad formadora de colonias) / g. Preferiblemente, el yogur no es tratado térmicamente después de la fermentación. El yogur puede contener opcionalmente materias primas lácteas añadidas (nata por ejemplo) u otros ingredientes tales como azúcar o agentes edulcorantes, uno o más aromatizante(s), fruta, cereales o sustancias nutritivas, especialmente vitaminas, minerales y fibras. Tal yogur ventajosamente cumple con las especificaciones para leches fermentadas y yogures de la norma AFNOR NF 04-600 y/o la norma del codex StanA-Ila-1975. A fin de satisfacer la norma AFNOR NF 04-600, el producto debe no ser calentado tras la fermentación y la materia prima láctea debe representar un mínimo del 70% (m/m) de producto final.

En el contexto actual, los términos "queso fresco", "queso no curado", "requesón" y "queso estilo cuajada" se utilizan indistintamente en este documento para referirse a cualquier tipo de queso tal como el queso natural, análogos de queso y queso procesado en el cual la relación proteína/caseína no sea superior a la de la leche.

- 20 El paso de fermentación del proceso para la fabricación de productos lácteos fermentados requiere la adición de un iniciador a una base de leche esterilizada. El término "iniciador" o "cultivo del iniciador" en este documento se refiere a un cultivo de uno o más microorganismos de calidad alimentaria, en particular bacterias de ácido láctico, que son responsables de la acidificación de la base de leche. Los cultivos del iniciador pueden ser frescos, congelados o liofilizados. Los cultivos liofilizados necesitan ser regenerado antes de su uso. Para la producción de un producto lácteo fermentado, el iniciador se añade generalmente en una cantidad de 0,01 a 3%, preferiblemente de 0,01 a 0,02% en peso de la cantidad total de la base de leche.

- 30 Como se utiliza en este documento, el término "bacterias de ácido láctico" (LAB) o "bacterias lácticas" se refiere a bacterias de calidad alimentaria que producen ácido láctico como el producto final metabólico principal de la fermentación de carbohidratos. Estas bacterias se relacionan por sus características metabólicas y fisiológicas comunes y son generalmente Gram positivas, de bajo GC, tolerantes de ácido, que no producen esporas, que no respiran, en forma de varilla de bacilos o cocos. Durante la etapa de fermentación, el consumo de lactosa por estas bacterias produce la formación de ácido láctico, reduciendo el pH y conduciendo a la formación de un coágulo de proteína. Estas bacterias por lo tanto son responsables de la acidificación de la leche y de la textura de los productos lácteos. Como se utiliza en este documento, el término "bacteria de ácido láctico" o "bacterias lácticas" abarca, pero no se limita a, las bacterias pertenecientes a especies del género *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, y *Lactococcus*, tales como *Lactobacillus delbruekii* subespecie *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium breve*.

- 40 Como se utiliza en la presente solicitud, el término "paso de enfriamiento" o "paso de enfriamiento para detener la fermentación" significa bajar la temperatura del producto fermentado a fin de parar o ralentizar dramáticamente el proceso de fermentación. El paso de enfriamiento generalmente dura menos de un minuto, preferiblemente aproximadamente de 10-20 segundos. En una forma de realización preferida, durante la etapa de enfriamiento, la temperatura del producto fermentado se baja por lo menos 10° C, preferiblemente por lo menos 15° C y más preferiblemente por lo menos 20° C. En una forma de realización preferida, durante el paso de enfriamiento, la temperatura del producto fermentado se baja por lo menos 25° C. En una forma de realización particular, la temperatura del producto fermentado después del paso de enfriamiento está en el intervalo de 5° C a 30° C, preferiblemente en el intervalo de 10° C a 25° C, más preferiblemente en el intervalo de 10° C a 20° C y aún más preferiblemente entre 10° C y 15° C.

- 50 El término "de acidificación posterior débil" o "de acidificación posterior baja" se refiere al perfil de acidificación de una bacteria o un cultivo bacteriano útil en la invención presente. La acidificación posterior es la producción de ácido láctico que ocurre después del final de la fermentación. Este fenómeno está controlado generalmente por el enfriamiento del producto después de la fermentación. De hecho, este paso de enfriamiento detiene o ralentiza el metabolismo de la bacteria y reduce así la producción de ácido láctico. En el proceso de la invención presente, este paso de enfriamiento ha sido suprimido gracias al uso de cultivos de bacteria con propiedades de acidificación posterior débil como iniciadores. Estos cultivos se caracterizan por una débil producción de ácido láctico a la temperatura de fermentación después del final de la etapa de fermentación proporcionando así un valor del pH sustancialmente constante.

- 60 Los cultivos bacterianos de acidificación posterior débil pueden seleccionarse por el seguimiento del pH de una base de leche finalmente fermentada mediante cualquier método conocido por la persona calificada. Como ejemplo, puede utilizarse un sistema CINAC (acidificación cinética). En este sistema un medidor de pH está conectado con la grabadora de una computadora y el pH se registra continuamente como una función del tiempo para obtener curvas

sigmoidales, que representan la acidificación. Durante el seguimiento del pH, la leche se mantiene a temperatura de fermentación en un baño de temperatura regulada. Este método se ejemplifica en la sección experimental.

5 El cultivo de acidificación posterior débil es un cultivo con un perfil de acidificación de dos fases en una base de leche que comprende 3,5% (p/p) de grasa, 3,72% (p/p) de proteína, 5,68% (p/p) de lactosa, 0,89% (p/p) de ceniza y 13,79% (p/p) de sólidos totales a 38° C, según lo determinado por el registro continuo del pH en función del tiempo, que comprende un período inicial de duración de 8 a 24 horas de disminución sigmoidal del pH hasta un valor de pH por encima de 4,0, seguido por un período de al menos 30 horas en el que el valor del pH no varía más de 0,3 unidades. Así, según la presente invención se selecciona el cultivo de acidificación posterior débil como el que tiene el perfil de acidificación de dos fases mencionado en un proceso de investigación que envuelve la medición continua del pH de una base de leche que comprende 3,5% (p/p) de grasa, 3,72% (p/p) de proteína, 5,68% (p/p) de lactosa, 0,89% (p/p) de ceniza y 13,79% (p/p) de sólidos totales a 38° C inoculada con un cultivo de acidificación posterior débil y ejemplificado en los siguientes ejemplos.

15 Como se utiliza en la presente solicitud, el término "producción de cepa de exopolisacárido" o "cepa productora de EPS" se refiere a bacterias que son capaces de producir polisacáridos, es decir, exopolisacáridos (EPS), en su medio de cultivo. Las cepas productoras de EPS son particularmente interesantes en la fabricación de productos lácteos porque pueden proporcionar un carácter fibroso y/o una textura suave y cremosa a un producto lácteo fermentado. Los polisacáridos producidos pueden dividirse en dos grupos: homopolisacáridos y heteropolisacáridos. Los homopolisacáridos consisten en el ensamblaje repetido de un solo azúcar y se pueden subdividir en cuatro grupos, a saber: alfa-D-glucanos, beta-D-glucanos, beta-D-fructanos y otros como poligalactanos. Los heteropolisacáridos consisten en el ensamblaje de varios azúcares diferentes, formando una unidad que se repite más a menudo que contiene una combinación de D-glucosa, D-galactosa y L-ramnosa y, en algunos casos, fucosa, ácido nonónico, ribosa, aminoazúcares acetilados y ácido glucurónico, así como sustituyentes que no son carbohidratos tales como acetilo, fosfato y glicerol.

#### Fabricación de los productos lácteos

25 La presente invención proporciona un proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado que comprende someter una base de leche a fermentación con un cultivo de bacteria láctica de acidificación posterior débil como iniciador, dicho iniciador proporciona, a temperatura de fermentación, un perfil particular de acidificación que permite suprimir el paso de enfriamiento usual para detener la fermentación. El perfil de acidificación de un iniciador inoculado a una base de leche se monitoriza mediante la medición del valor del pH a la temperatura de fermentación y corresponde a la disminución del valor del pH de la leche en fermentación en función del tiempo. Esta acidificación se debe a la fermentación de ácido láctico operada por las bacterias del iniciador por medio de las cuales los azúcares tal como la lactosa son convertidos en energía celular y ácido láctico como producto de residuo metabólico.

35 El perfil de acidificación de las bacterias del iniciador usadas en la invención presente comprende dos fases distinguibles, como se determina por el registro continuo del pH en función del tiempo: un período inicial que dura de 8 a 24 horas de disminución del pH sigmoidal hasta un valor de pH deseado, preferiblemente por encima de 4,0, seguido por un período de al menos 30 horas en el que el valor del pH deseado no varía o no varía sustancialmente, es decir, no varía más de 0,3 unidades.

40 La primera fase, también llamada en esta solicitud "período inicial", se inicia desde la inoculación de la base de leche con el cultivo del iniciador hasta el final de la etapa de fermentación. Como se usa en este documento, el "final de la etapa de fermentación" se intenta que sea el tiempo cuando el coágulo de la leche alcanza el valor de pH deseado. El valor de pH deseado depende del tipo de producto lácteo que se fabrique. El valor de pH depende del cultivo de la bacteria, la temperatura de fermentación y la formulación de la base de leche, en particular de la capacidad de tampón de esta base. El experto puede obtener el pH deseado variando uno o varios de estos parámetros. Como ejemplo, el experto que quiera disminuir el valor del pH obtenido puede, por ejemplo, (i) aumentar la proporción de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* en el cultivo del iniciador, (ii) aumentar la cantidad de proteína en polvo en la formulación de la base de leche para aumentar la capacidad tampón de esta base, y/o (iii) aumentar la temperatura de fermentación.

50 El valor de pH deseado está en el intervalo de 4,0 a 5, preferiblemente en el intervalo de 4,0 a 4,7, más preferiblemente en el intervalo de 4,3 a 4,5 e incluso más preferiblemente en el intervalo de 4,35 a 4,45.

La duración del período inicial, es decir, la duración de la etapa de fermentación, depende esencialmente del cultivo del iniciador utilizado y la temperatura de fermentación. La duración del período inicial está en el intervalo de 8 a 24 horas, preferiblemente en el intervalo de 10 a 20 horas.

55 La temperatura de fermentación y el tiempo de fermentación no sólo influyen en la eficiencia de la producción del producto sino que también influyen notablemente en el sabor y la calidad del producto. Por lo tanto, la temperatura de fermentación debería establecerse adecuadamente por la persona calificada dependiendo de las características deseadas de los productos lácteos. Por ejemplo, para obtener un sabor suave del producto, se ajusta la temperatura de fermentación a una temperatura más baja que, consecuentemente, es acompañada por un tiempo más largo de

fermentación. En una forma de realización, la temperatura de fermentación utilizada en el proceso de la invención está en el intervalo de 32° C a 44° C, preferiblemente en el intervalo de 36° C a 42° C y más preferiblemente en el intervalo de 37° C a 39° C.

5 La segunda fase del perfil de acidificación es un período de al menos 30 horas en el que el valor de pH deseado obtenido al final de la etapa de fermentación no varía sustancialmente. Preferiblemente, esta segunda fase es un período de al menos 48 horas. Esta estabilidad del pH mantiene las propiedades organolépticas de los productos lácteos, en particular la acidez, constante. El valor de pH deseado no varía más de 0,3 unidades, preferiblemente no más de 0,2 unidades. Durante esta segunda fase, el producto lácteo fermentado se mantiene a la temperatura de fermentación durante un período de al menos 30 horas, preferiblemente durante al menos 48 horas. Durante este período el valor de pH deseado no varía más de 0,3 unidades, preferiblemente no más de 0,2 unidades.

10 El cultivo de iniciador de acidificación posterior débil utilizado en el proceso de la invención preferentemente comprende una o más especies de bacterias pertenecientes al género de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* o *Lactococcus*, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *lactis*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactococcus lactis* subespecie *lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium breve*.

En una forma de realización particular, el cultivo del iniciador comprende una sola cepa de bacterias.

En otra forma de realización, el cultivo del iniciador comprende una combinación de al menos dos cepas de bacterias.

20 En todavía otra forma de realización, el cultivo del iniciador comprende al menos una cepa de *Lactobacillus*, preferentemente al menos un *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* seleccionado del grupo que consiste de DSM 17959 depositada por Chr. Hansen el 8 de Febrero de 2006, DSM 18144 depositada por Chr. Hansen el 30 de marzo de 2006 y DSM 19252 depositada por Chr. Hansen el 3 de abril de 2007 en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Inhoffenstr. 7B, D-38124 Brunswick, Alemania.

25 En una forma de realización particular, el cultivo del iniciador comprende al menos una cepa de *Lactobacillus* y al menos una cepa de *Streptococcus*. En una forma de realización preferida, el iniciador comprende al menos un *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* y por lo menos un *Streptococcus thermophilus*. Preferiblemente, la cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* se selecciona del grupo que consiste en DSM 17959 depositada por Chr. Hansen el 8 de febrero de 2006, DSM 18144 depositada por Chr. Hansen el 30 de marzo de 30 2006 y DSM 19252 depositada por Chr. Hansen el 3 de abril de 2007 en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ). En una forma de realización particular, el cultivo del iniciador comprende el *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *Bulgaricus* cepa DSM 19252 depositada el 3 de abril de 2007 en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH. En otra forma de realización particular, el cultivo del iniciador contiene al menos una cepa de *Streptococcus thermophilus* y por lo menos una cepa de 35 *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* seleccionada del grupo que consiste de DSM 17959 depositada el 8 de febrero de 2006, DSM 18144 depositada el 30 de marzo de 2006 y DSM 19252 depositada el 3 de abril de 2007.

Cualquier tipo de producto lácteo puede ser manufacturado según el proceso de la invención.

40 En una forma de realización preferida, el producto lácteo fermentado fabricado por el proceso de la invención es un yogur o un queso fresco. En una forma de realización particular, el producto lácteo fermentado fabricado por el proceso de la invención es un yogur, preferiblemente un yogur agitado o una bebida de yogur.

La viscosidad del producto final es satisfactoria sin necesidad de añadir espesantes o agentes de textura o aumentar la cantidad de material de partida.

45 Los yogures agitados o productos lácteos fermentados agitados se producen generalmente a través de un proceso que incluye una etapa de suavizado, es decir, un paso que rompe las hebras de la leche fermentada cuajada, eliminando la textura arenosa al comerlo y la aspereza en el aspecto exterior del producto. Los yogures o productos de leches fermentadas en forma líquida para beber pueden obtenerse mediante el uso de un homogeneizador para pulverizar adicionalmente las partículas de la cuajada.

50 En una forma de realización, se añaden bacterias de grado alimentario adicionales al cultivo del iniciador con el fin de proporcionar características adicionales para el coágulo de la leche, por ejemplo, propiedades probióticas, mejoras de textura y/o sabor. Estas bacterias adicionales pueden ser bacterias lácticas o bacterias no lácticas de grado alimentario y tienen que no perturbar el perfil de acidificación del cultivo del iniciador utilizado en la invención presente. Preferiblemente las bacterias adicionales de grado alimentario proporcionan propiedades probióticas y pueden ser seleccionadas del grupo que consiste de especies de *Bifidobacterium*, *Lactobacterium acidophilus*, *Lactobacterium plantarum* o *Lactobacterium casei*.

55 En otra forma de realización, la base de leche se inocula con al menos una cepa productora de EPS. Esta cepa puede ser una cepa de ácido láctico o una cepa no láctica de grado alimentario. Esta cepa que produce EPS puede

estar comprendida dentro del cultivo del iniciador o puede añadirse al cultivo del iniciador. Preferiblemente, las cepas productoras de EPS se seleccionan del grupo que consiste de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* y especies de *Lactococcus*.

5 En una forma de realización particular, el proceso de la invención además comprende el paso de envasar el producto lácteo fermentado sin ningún paso de enfriamiento o tratamiento térmico entre fermentación y envasado. La supresión del paso de enfriamiento antes del envasado permite minimizar la pérdida de viscosidad, disminuir consumos de agua y energía y aumentar la rentabilidad del proceso. En una forma de realización preferida, el envasado de los productos lácteos fermentados se realiza inmediatamente después de la segunda fase del perfil de acidificación, es decir, inmediatamente después del período de al menos 30 horas, en el cual el valor de pH deseado obtenido al final de la etapa de fermentación no varía sustancialmente, preferiblemente no varía más de 0,3 unidades, más preferiblemente no varía más de 0,2 unidades. En una forma de realización particular, la segunda fase del perfil de acidificación es un período de al menos 48 horas. En este caso, el envasado de los productos lácteos fermentados se lleva a cabo inmediatamente después de este período de al menos 48 horas. Opcionalmente, el envasado del producto lácteo fermentado se realiza aproximadamente la temperatura de fermentación. Como se utiliza en este documento, el término "aproximadamente" se refiere a un intervalo de valores  $\pm 10\%$  del valor especificado, preferiblemente de  $\pm 5\%$  del valor especificado.

Según una forma de realización de la invención presente el paso del envasado c) sigue directamente después del paso b) en donde el producto lácteo fermentado se mantiene a la temperatura de fermentación al menos 30 horas.

20 Durante el proceso de la invención, uno o más ingredientes opcionales, además de los microorganismos, pueden agregarse a la base de leche, tal como vitaminas (por ejemplo, la vitamina A y/o la vitamina D), productos lácteos adicionales (por ejemplo, la nata de leche, leche parcialmente desnatada, leche desnatada o una combinación de cualquiera de estos) y otros ingredientes que pueden aumentar el contenido de sólidos no grasos del alimento (por ejemplo, leche desnatada concentrada, leche en polvo desnatada, mantequilla, suero, lactosa, lactoalbúminas, lactoglobulinas o suero de leche modificado por eliminación completa o parcial de la lactosa y/o minerales), edulcorantes de carbohidratos nutritivos (como azúcar, azúcar invertido, azúcar morena, sirope de refinería, melaza, jarabe de trigo con alta concentración de fructosa, fructosa, jarabe de fructosa, maltosa, jarabe de maltosa, jarabe de maltosa deshidratado, extracto de malta, extracto de malta seco, jarabe de malta, jarabe de malta seco, miel, azúcar de arce u otros), ingredientes para el sabor, aditivos de colores, agentes texturizantes, agentes espesantes y/o estabilizadores, tales como la gelatina, almidón, almidón modificado, peptinas altas en metoxilo (HM) y pectinas bajas en metoxilo (LM), hidrocoloides y gomas (por ejemplo de algarroba, goma arábiga, xantano, guar). Estos ingredientes opcionales pueden añadirse en cualquier paso del proceso de fabricación. Sin embargo, la fermentación del proceso de la invención no está controlada por el contenido de un nutriente o un ingrediente añadido a la base de leche. Esto significa que la fermentación de la base de leche del cultivo del iniciador no se detiene por agotamiento del nutriente añadido a la base de leche.

35 Basado en la revelación anterior, la presente invención proporciona, en una forma de realización preferida, un proceso para la fabricación de un yogur que comprende someter una base de leche a fermentación con un iniciador hasta un valor de pH deseado en el intervalo de 4,0 a 5,0, dicho iniciador comprende al menos una cepa de *Streptococcus thermophilus* y al menos una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* seleccionada del grupo formado por DSM 17959 depositada el 8 de febrero de 2006, DSM 18144 depositada el 30 de marzo de 2006 y DSM 19252 depositada el 3 de abril de 2007; (b) mantener el yogur a la temperatura de fermentación durante un período de al menos 30 horas después de haber alcanzado el pH deseado, el valor de pH deseado no varía durante dicho período más de 0,3 unidades; y (c) envasar el yogur.

El siguiente ejemplo se da para propósito de ilustración y no a modo de limitación.

### Ejemplos

45 Ejemplo 1

#### *Fabricación de un yogur agitado*

La base de leche se preparó para contener la concentración relevante de grasa y contenido de proteínas, es decir, grasa 3,5% (p/p), proteína 3,72% (p/p), lactosa 5,68% (p/p) ceniza 0,89% (p/p) y sólidos totales 13,79% (p/p) (Becker, T. y Puhán, Z. (1989) *Milchwissenschaft* 44, 626-629).

50 La cantidad específica de leche se mezcló con la cantidad adecuada de leche desnatada en polvo y nata, a 4° C.

La base se mezcló durante 30 minutos. La base de la leche se calentó a 92° C durante 6,5 minutos a 250 bares y luego se enfrió a 38° C antes de ser colocada en un tanque de fermentación en donde la temperatura se mantuvo a temperatura de fermentación. La base de leche fue inoculada con el cultivo Y-051054 (comercializado por Chr. Hansen) en una cantidad de 0,02% en peso de base de leche. Este cultivo está conformado de tres cepas de *Streptococcus thermophilus* y una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus*.

La incubación llevó a cabo a 38° C hasta que el pH alcanzó 4,45. A continuación la leche fermentada se agitó y no se enfrió.

*Determinación de la cinética de acidificación*

5 El sistema CINAC (acidificación cinética) permite medir el pH de la leche durante la fermentación. Un medidor de pH está conectado a una grabadora de una computadora y el pH se registra continuamente como una función del tiempo para obtener curvas sigmoidales, que representan la acidificación. La leche se mantiene a temperatura de fermentación en un baño con regulación térmica.

*Resultados*

10 La figura 1 muestra las variaciones de pH durante la fermentación con Y-051054. A temperatura de fermentación, el pH disminuyó inicialmente hasta 4,45. La leche fermentada fue después agitada y el pH se estabilizó a 4,3 durante al menos 50 horas.

Estos resultados demuestran que el proceso de la invención permite suprimir el paso de enfriamiento para detener la fermentación.

Ejemplo 2

15 *Fabricación de un yogur agitado*

El protocolo fue exactamente igual al del ejemplo 1, salvo que la base de leche fue inoculada con el cultivo M1B (comercializado por Chr. Hansen) en una cantidad de 0,02% en peso de base de leche. Este cultivo está conformado de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *Bulgaricus* cepa DSM 19252 depositada el 3 de abril de 2007 en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH y una cepa de *Streptococcus thermophilus*.

20 *Determinación de la cinética de acidificación*

Se utilizó el sistema de CINAC (acidificación cinética) para evaluar la acidificación como en el ejemplo 1.

*Resultados*

25 La figura 2 muestra las variaciones de pH durante la fermentación con M1B. A temperatura de fermentación, el pH disminuyó inicialmente hasta 4,45. La leche fermentada fue después agitada y se mantuvo a la temperatura de fermentación hasta 60 horas. En 36 horas, el valor de pH varió sólo 0,12 unidades.

En consecuencia, estos resultados muestran que el proceso de la invención permite suprimir el paso de enfriamiento para detener la fermentación antes de envasar la leche fermentada.



**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso para la fabricación de un producto lácteo fermentado que comprende (a) someter una base de leche a fermentación con un iniciador que consiste en un cultivo bacteriano de acidificación posterior débil, hasta que se alcanza un valor de pH deseado en el intervalo de 4,0 a 5,0; (b) mantener el producto lácteo fermentado a la temperatura de fermentación durante un período de al menos 30 horas después de haber alcanzado el pH deseado; y (c) envasar el producto lácteo fermentado, en donde el cultivo bacteriano de débil acidificación posterior se define como que tiene un perfil bifásico de acidificación, según lo determinado por el registro continuo del pH como una función del tiempo, en una base de leche que comprende 3,5% (p/p) de grasa, 3,72% (p/p) de proteínas, 5,68% (p/p) de lactosa, 0,89% (p/p) de ceniza y 13,79% (p/p) de sólidos totales a 38° C, que comprende un período inicial de duración de 8 a 24 horas de disminución sigmoide del pH hasta un valor de pH por encima de 4,0, seguido por un período de al menos 30 horas en el que el valor del pH no varía más de 0,3 unidades.
2. El proceso de la reivindicación 1, en donde el producto lácteo fermentado es un yogur.
3. El proceso según la reivindicación 1 o 2, en donde el iniciador comprende al menos una cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* seleccionada del grupo que consistente en DSM 17959 depositado el 8 de febrero de 2006, DSM 18144 depositado el 30 de marzo de 2006 y DSM 19252 depositado el 3 de abril de 2007.
4. El proceso según la reivindicación 3, en donde el iniciador además comprende al menos una cepa de *Streptococcus thermophilus*.
5. El proceso, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el iniciador comprende además una cepa de bacteria productora de exopolisacárido.
6. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el producto lácteo fermentado se mantiene a temperatura de fermentación durante un período de al menos 48 horas.
7. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el valor de pH deseado no varía durante dicho período en más de 0,3 unidades, preferiblemente en más de 0,2 unidades.
8. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la temperatura de fermentación está en el intervalo de 32° C a 44° C, preferiblemente en el intervalo de 37° C a 39° C.
9. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el valor de pH deseado está en el intervalo de 4,0 a 4,7, preferiblemente en el intervalo de 4,3 a 4,5.
10. El proceso, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la fermentación no se detiene por agotamiento de un nutriente añadido a la base de leche.
11. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la leche es de un mamífero seleccionado del grupo que consiste de vaca, oveja, cabra, búfala, camella, llama, yegua, cierva y sus combinaciones.
12. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el producto lácteo fermentado es un yogur agitado o una bebida de yogur.
13. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el producto lácteo fermentado no se trata térmicamente después de la fermentación.
14. El proceso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el paso c) sigue directamente después del paso b).

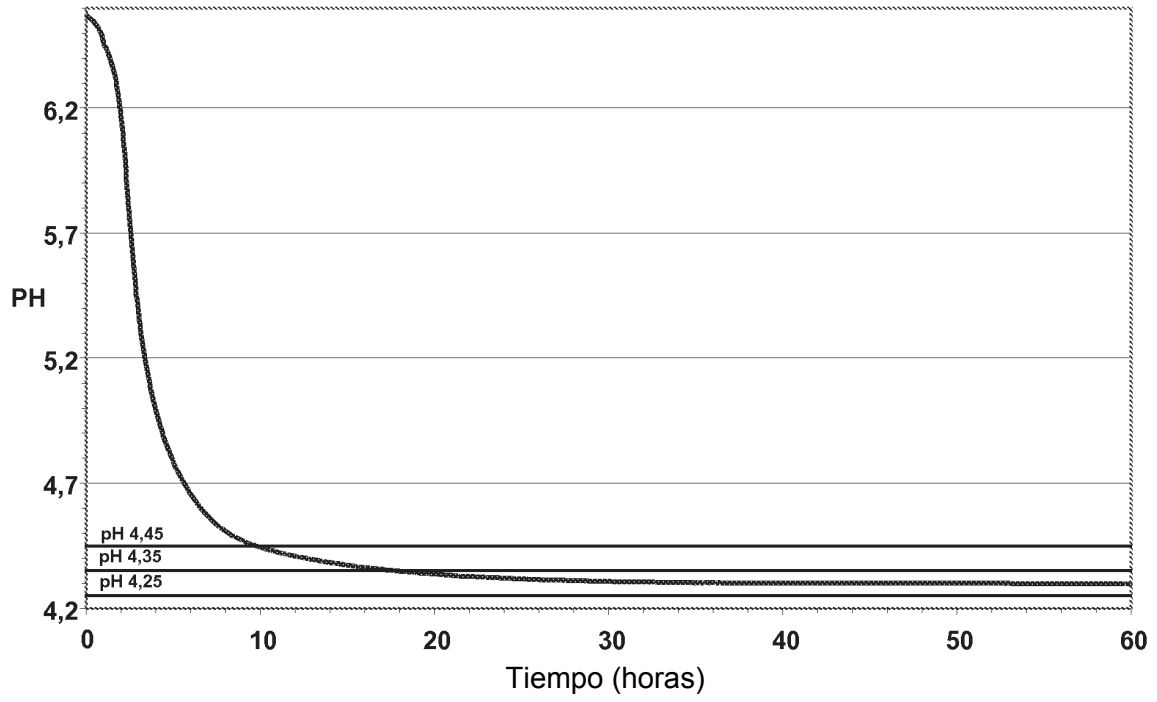


Figura 1

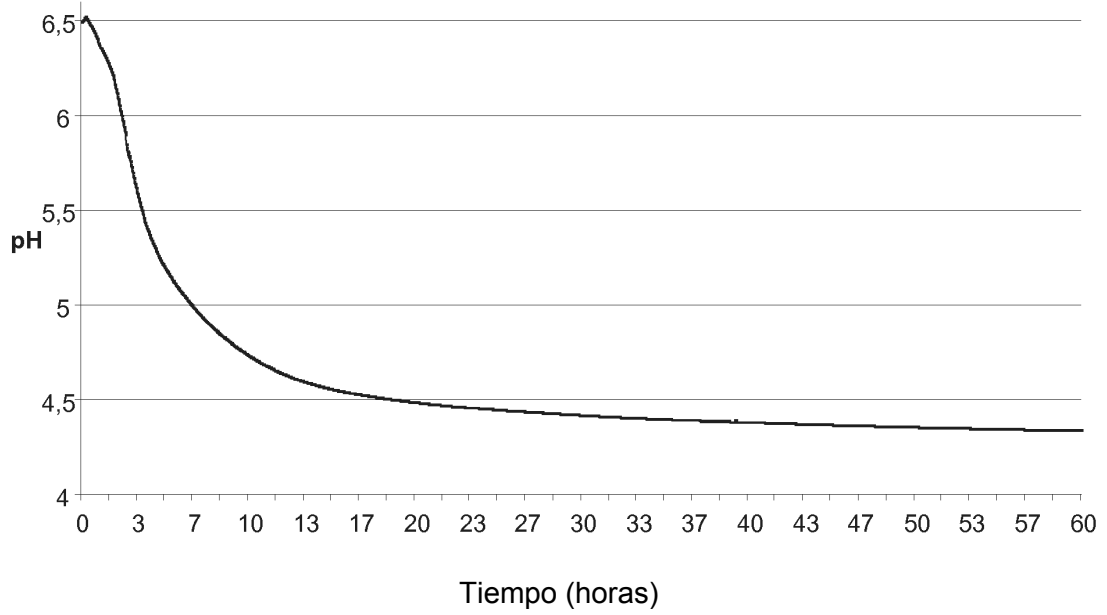


Figura 2