

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 662**

51 Int. Cl.:

C12R 1/225 (2006.01)

C12R 1/46 (2006.01)

A23C 9/127 (2006.01)

C12N 9/90 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.10.2011** **PCT/EP2011/068478**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.04.2012** **WO12052557**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.10.2011** **E 11771202 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017** **EP 2630265**

54 Título: **Cepas de bacterias de ácido láctico texturizantes**

30 Prioridad:

22.10.2010 EP 10188511

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.07.2017

73 Titular/es:

CHR. HANSEN A/S (100.0%)
Boege Allé 10-12
2970 Hoersholm, DK

72 Inventor/es:

KIBENICH, ANNETTE;
SOERENSEN, KIM, IB y
JOHANSEN, ERIC

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 625 662 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

Cepas de bacterias de ácido láctico texturizantes

5 CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La presente invención se refiere a mutantes de bacterias de ácido láctico, tales como *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, que son resistentes a la D-cicloserina antibiótica y/o antibióticos equivalentes funcionalmente tal y como se define aquí, y que fueron descubiertos para dar una textura aumentada cuando crecieron en la leche mientras se mantenían las otras propiedades de crecimiento de la cepa progenitora.

La presente invención, además, se refiere a composiciones, tales como cultivos iniciadores, que comprenden tales mutantes, y a productos lácteos que comprenden tales mutantes.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] La industria alimentaria usa numerosas bacterias, en particular bacterias de ácido láctico, para mejorar el sabor y la textura de los alimentos pero también para prolongar el tiempo de conservación de estos alimentos.

20 En el caso de la industria láctea, bacterias de ácido láctico se usan intensivamente para provocar la acidificación de la leche (por fermentación) pero también para texturizar el producto en el que se incorporan.

[0003] Entre las bacterias de ácido láctico usadas en la industria alimentaria, se pueden mencionar los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Bifidobacterium*.

25 Las bacterias de ácido láctico de la especie *Streptococcus thermophilus* son usadas ampliamente solas o en combinación con otras bacterias tal como *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* para la producción de productos alimenticios, en particular productos fermentados.

Se usan en particular en la formulación de los fermentos usados para la producción de leches fermentadas, por ejemplo, yogures.

30 Algunos de éstos juegan un papel dominante en el desarrollo de la textura del producto fermentado. Esta característica está estrechamente relacionada con la producción de polisacáridos.

[0004] La tendencia actual en yogures es de sabor moderado y de alta textura.

35 Hoy esto se consigue por el uso de cultivos que producen un sabor moderado y la adición de espesantes o proteína para dar el espesor deseado.

Los productores de yogur desearían hacer el yogur con estas propiedades sin la adición de agentes espesantes.

Esto les ayudará a reducir costes y dar una etiqueta más limpia.

Una vía muy atractiva para conseguirlo sería tener un cultivo iniciador que produjera un alto nivel de textura.

40

[0005] Para reunir los requisitos de la industria, se ha hecho necesario proporcionar cepas texturizantes nuevas de bacterias de ácido láctico, en particular de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, para texturizar productos alimenticios.

45 Especialmente hay una necesidad de cepas de textura nueva de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* que se pueden usar junto con cepas texturizantes nuevas de *Streptococcus thermophilus*.

Se han descrito mutantes resistentes a la D-cicloserina para un número de diferentes bacterias pero nunca se ha informado de que estos mutantes se pueden usar para aumentar la textura de un producto lácteo.

Tampoco se han descrito mutantes de *Streptococcus thermophilus* ni *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*.

50

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0006] Los inventores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que un grupo de mutantes resistente a los mutantes de bacterias de ácido láctico hacia D-cicloserina genera tensión de corte y/o rigidez de gel más alta que la cepa madre cuando las bacterias se usan para fermentar la leche.

55

[0007] Los presentes inventores han proporcionado un método para obtener tales cepas de bacterias de ácido láctico texturizantes que son resistentes a la D-cicloserina antibiótica y/o antibióticos funcionalmente equivalentes, es decir antibióticos que tienen el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina e inhiben D-alanina-racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa o D-alanina permeasa, y han proporcionado un grupo nuevo de bacterias de ácido láctico resistentes a la D-cicloserina de cepas de la especie *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* con altas propiedades texturizantes.

60

65 [0008] Conforme a las conclusiones sorprendentes anteriores, la presente invención se refiere a cepas de bacterias de ácido láctico texturizantes, tales como cepas de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y

Streptococcus thermophilus, que son resistentes a la D-cicloserina y/o resistentes a un antibiótico equivalente funcionalmente, es decir un antibiótico que tiene el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina e inhibe D-alanina-racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa o D-alanina permeasa.

5 La invención se refiere además a un método para obtener tales cepas.

Además, la presente invención se refiere a composiciones, tales como cultivos iniciadores, comprendiendo los mutantes, y a productos lácteos, tales como productos lácteos fermentados, comprendiendo los mutantes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 [0009]

La Figura 1 muestra perfiles de acidificación (pH en función de tiempo) en la leche a 43°C para la cepa madre *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* CHCC13995 y dos mutantes de D-cicloserina de CHCC13995 denominados CHCC12944 y CHCC12945.

15 La Figura 2 representa tensión de corte (en 300 1/s (Pa)) en leche entera con 2% de leche desnatada en polvo a 43°C para cepa madre de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* CHCC13995 y dos mutantes de D-cicloserina de CHCC13995 llamados CHCC12944 y CHCC12945.

La Figura 3 representa rigidez de gel (en 300 1/s (Pa)) en leche entera con 2% de leche desnatada en polvo a 43°C para la cepa madre *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* CHCC13995 y dos mutantes de D-cicloserina de CHCC13995 llamados CHCC12944 y CHCC12945.

20 La Figura 4 representa tensión de corte (en 300 1/s (Pa)) en leche entera con 2% de leche desnatada en polvo a 43°C para la cepa madre *Streptococcus thermophilus* CHCC13994 y 2 mutantes de D-cicloserina de CHCC13994 llamados CHCC13235 y CHCC13236.

25 La Figura 5 representa rigidez de gel (en 300 1/s (Pa)) en leche entera con 2% leche desnatada en polvo a 43°C para la cepa madre *Streptococcus thermophilus* CHCC13994 y 2 mutantes de D-cicloserina de CHCC13994 llamados CHCC13235 y CHCC13236.

DIVULGACIÓN DETALLADA

Definiciones

[0010] Como se utiliza en este caso, el término "bacteria de ácido láctico" designa una bacteria gram-positiva, microaerófila o anaeróbica, que fermenta azúcares con la producción de ácidos que incluyen ácido láctico como el ácido predominantemente producido, ácido acético y ácido propiónico.

35 Las bacterias de ácido láctico más útiles industrialmente son descubiertas en el orden "Lactobacillales" que incluye *Lactococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.*, *Brevibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* y *Propionibacterium spp.*

Además, las bacterias productoras de ácido láctico del grupo de las bacterias anaeróbicas estrictas, bifidobacterias, es decir *Bifidobacterium spp.*, están generalmente incluidas en el grupo de bacterias de ácido láctico.

40 Estos son frecuentemente usados como cultivos alimentarios solos o en combinación con otras bacterias de ácido láctico.

Las bacterias del ácido láctico, incluidas las bacterias de las especies *Lactobacillus sp.* y *Streptococcus thermophilus*, son normalmente suministradas a la industria láctea bien como cultivos congelados o liofilizados para la propagación de iniciador en masa o como los llamados cultivos "Direct Vat Set" (SVD), destinados para la inoculación directa en un vaso de fermentación o cuba para la producción de un producto lácteo, tal como un producto lácteo fermentado.

Tales cultivos se denominan en general como "cultivos iniciadores" o "iniciadores".

50 [0011] El término "leche" debe ser entendido como la secreción láctea obtenida por el ordeño de cualquier mamífero, tales como vacas, oveja, cabras, búfalos o camellos.

En una forma de realización preferida, la leche es leche de vaca.

El término leche también incluye soluciones de proteína/grasa hechas de materiales vegetales, por ejemplo, leche de soja.

55 [0012] El término "sustrato lácteo" puede ser cualquier material de leche crudo y/o procesado que se puede someter a fermentación según el método de la invención.

Así, sustratos lácteos útiles incluyen, pero de forma no limitativa, soluciones/suspensiones de cualquier producto lácteo o de tipo lácteo que comprende proteína, tal como leche entera o baja en grasa, leche desnatada, suero de leche, leche en polvo reconstituida, leche condensada, leche en polvo, lactosuero, permeato de lactosuero, lactosa, líquido madre de cristalización de lactosa, concentrado de proteína de lactosuero, o crema.

Obviamente, el sustrato de leche se puede originar de cualquier mamífero, por ejemplo, siendo leche de mamífero sustancialmente pura, o leche en polvo reconstituida.

65 Preferiblemente, al menos parte de la proteína en el sustrato de leche son proteínas de origen natural en la leche, tal como caseína o proteína de lactosuero.

Sin embargo, parte de la proteína puede ser de proteínas que no se producen naturalmente en la leche.

[0013] Antes de fermentación, el sustrato de leche se puede homogeneizar y pasteurizar según métodos conocidos en la técnica.

[0014] "homogenización" como se utiliza en este caso significa mezclar de forma intensiva para obtener una suspensión o emulsión soluble.

Si la homogeneización es realizada antes de la fermentación, se puede realizar para descomponer la grasa láctea en tamaños inferiores de modo que esta ya no separe de la leche.

Este se puede realizar forzando la leche a alta presión a través de pequeños orificios.

[0015] "Pasteurización" como se utiliza en este caso significa tratamiento del sustrato de leche para reducir o eliminar la presencia de organismos vivos, tales como microorganismos.

Preferiblemente, la pasteurización se logra manteniendo una temperatura específica durante un periodo de tiempo específico.

La temperatura específica se logra normalmente por calentamiento.

La temperatura y duración se pueden seleccionar para matar o inactivar ciertas bacterias, tales como las bacterias nocivas.

Un paso de enfriamiento rápido puede seguir.

[0016] "Fermentación" en los métodos de los medios de la presente invención significa la conversión de carbohidratos en alcoholes o ácidos a través de la acción de un microorganismo.

Preferiblemente, la fermentación en los métodos de la invención comprende la conversión de lactosa en ácido láctico.

[0017] Procesos de fermentación para ser usados en la producción de productos lácteos fermentados son bien conocidos y el experto en la técnica sabrá cómo seleccionar las condiciones adecuadas del proceso, tal como temperatura, oxígeno, cantidad y características de microorganismo(s) y tiempo de proceso.

Obviamente, las condiciones de fermentación se seleccionan de manera que apoyen el logro de la presente invención, es decir para obtener un producto lácteo en la forma sólida o líquida (producto lácteo fermentado).

[0018] En el presente contexto, un cultivo iniciador de yogur es un cultivo bacteriano que comprende al menos una cepa de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y al menos una cepa de *Streptococcus thermophilus*.

De acuerdo con esto, un "yogur" se refiere a un producto de leche fermentada obtenible por la inoculación y fermentación de la leche con una composición que comprende una cepa de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y una cepa de *Streptococcus thermophilus*.

[0019] En el presente contexto, el término "tensión de corte" determina la viscosidad.

Viscosidad (unidad es Pa s) se define como tensión de corte (Pa) / velocidad de corte (1/s).

El valor de la tensión de corte se proporciona como un estándar aquí a velocidad de corte = 300 1/s.

Los experimentos sensoriales han mostrado (datos no mostrados) que la mejor correlación entre mediciones reológicas y viscosidad sensorial/grosor de la boca se encuentran cuando se usa la viscosidad medida a una velocidad de corte de 300 1/s.

[0020] En el presente contexto, el término "antibiótico equivalente funcionalmente" debería entenderse como un antibiótico con el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina, tal como por ejemplo otros inhibidores de D-alanil-D-alanina ligasas, tal como por ejemplo vancomicina (Tytgat et al. (2009), Curr. Med. Chem. 16(20): 2566-2580) y otros inhibidores de alanina-D racemasa, tal como por ejemplo O-carbamoil-D-serina, alafosfina y las haloalaninas (Holtje (2004), The Desk Encyclopedia of Microbiology: 239-258).

[0021] El término "resistente a la D-cicloserina y/o un antibiótico equivalente funcionalmente" aquí significa que una cepa bacteriana mutada particular no se mata, o se mata significativamente más lentamente en comparación con la cepa no mutada correspondiente donde la cepa mutada se deriva en presencia de dicho antibiótico en el medio de cultivo.

Dependiendo de la concentración del compuesto antibiótico en el medio de cultivo, la resistencia puede también reflejarse por propiedades de crecimiento alteradas de las cepas mutadas y no mutadas.

Por ejemplo, una concentración baja del antibiótico en el medio de cultivo impedirá o reducirá significativamente el crecimiento de cepas no mutadas mientras el crecimiento de las cepas mutadas no se ve afectado.

Las cepas no mutadas que se pueden usar como cepas de referencia sensible en la evaluación de resistencia preferiblemente incluyen las cepas CHCC13995 y CHCC13994.

[0022] Ejemplos 1 y 2 de la presente aplicación ejemplifican el aislamiento de cepas mutantes de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, respectivamente, que son resistentes a D-cicloserina.

Basado en los métodos mencionados en el ejemplo 1 y 2, el experto en la técnica será fácilmente capaz de elegir para cada cepa madre no mutada una cantidad de D-cicloserina o una cantidad de un antibiótico funcionalmente equivalente que es eficaz para matar la mayoría de las células de la cepa madre mientras que no mata o mata significativamente más lentamente cepas mutantes resistentes a la D-cicloserina y/o un antibiótico equivalente funcionalmente.

[0023] En el presente contexto, el término "mutante" debería entenderse como una cepa derivada, o una cepa que puede derivar de una cepa de la invención (o la cepa madre) mediante por ejemplo ingeniería genética, radiación y/o tratamiento químico.

El mutante puede también ser un mutante espontáneo.

Se prefiere que el mutante sea un mutante funcionalmente equivalente, por ejemplo, un mutante que tiene sustancialmente las mismas propiedades, o mejoradas (por ejemplo, con respecto a la viscosidad, rigidez de gel, recubrimiento bucal, sabor, post acidificación, velocidad de acidificación, y/o robustez de fago) como la cepa madre.

Tal mutante es una parte de la presente invención.

Especialmente, el término "mutante" se refiere a una cepa obtenida sometiendo una cepa de la invención a cualquier tratamiento de mutagenización usado de forma convencional incluido un tratamiento con un mutágeno químico tal como etano metano sulfonato (EMS) o N-metil-N'-nitro-N-nitroguanidina (NTG), luz UV, o a un mutante espontáneo.

Un mutante se puede someter a más tratamientos de mutagenización (un tratamiento único debería ser entendido un paso de mutagenización seguido de una etapa de cribado/selección), pero es actualmente preferido que no más de 20, o no más de 10, o no más de 5, tratamientos (o pasos de filtrado/selección) sean realizados.

En un mutante preferido actualmente menos del 1%, menos del 0,1, menos del 0,01, menos del 0,001% o incluso menos del 0,0001% de los nucleótidos en el genoma bacteriano se han sustituido por otro nucleótido, o eliminado, en comparación con la cepa madre.

[0024] En el presente contexto, el término "variante" debería entenderse como una cepa que es funcionalmente equivalente a una cepa de la invención, por ejemplo, teniendo sustancialmente las mismas propiedades, o mejoradas por ejemplo con respecto a viscosidad, rigidez de gel, recubrimiento bucal, sabor, post acidificación, velocidad de acidificación, y/o robustez de fago).

Tales variantes, que se pueden identificar utilizando técnicas de selección apropiadas, son una parte de la presente invención.

[0025] El uso de los términos "un" y "uno" y "el" y referentes similares en el contexto de describir la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se debe interpretar para cubrir el singular y el plural, a menos que se indique lo contrario aquí o se contradiga claramente por el contexto.

Los términos "que comprende", "teniendo", "incluyendo" y "que contiene" se deben interpretar como términos abiertos (es decir, que significan "que incluye, pero no limitado a,") a menos que se indique lo contrario.

La enumeración de rangos de valores en la presente memoria se destina meramente a servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que entra dentro de la gama, a menos que se indique lo contrario aquí, y cada valor separado se incorpora en la especificación como si estuvieran enumerados individualmente aquí.

Todos los métodos descritos aquí se pueden realizar en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario aquí o que se contradiga claramente de otro modo por el contexto.

El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado aquí, se destina sólo a ilustrar mejor la invención y no plantea una limitación en el ámbito de la invención a menos que se reivindique de otro modo.

Ningún lenguaje en la especificación debería ser interpretado como indicando cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

Implementación y aspectos de la invención

[0026] La D-cicloserina (D-4-amino-isoxazolidona) es un antibiótico que inhibe la alanina racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa y D-alanina permeasa causando lisis celular.

La D-alanina racemasa es esencial para la producción de D-alanina, una parte integral de la capa de peptidoglicano de la pared celular.

Mutantes de *Mycobacterium* que son resistentes a la D-cicloserina sobreproduce D-alanina mediante el aumento de la expresión del gen de D-alanina racemasa (Cáceres et al. (1997), J. Bacteriol. 179: 5046-5055). Así, los inventores de la presente invención contemplaron que sería posible aislar mutantes espontáneos de cepas de bacterias de ácido láctico que naturalmente tienen una producción más alta de D-alanina.

Tales mutantes fueron aislados y caracterizados.

[0027] Un experto en la técnica reconocerá que otros antibióticos con el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina se pueden usar solos o en combinación con D-cicloserina para aislar mutantes del tipo descrito aquí.

La presente invención, por lo tanto, también abarca el uso de tales otros antibióticos funcionalmente equivalentes, tales como otros inhibidores de D-alanil-D-alanina ligasa o D-alanina racemasa.

[0028] El término "antibióticos funcionalmente equivalentes a D-cicloserina" como se utiliza en este caso se refiere a antibióticos que tienen el mismo modo de acción o el mismo objetivo que D-cicloserina e inhiben D-alanina-racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa o D-alanina permeasa.

Tales antibióticos funcionalmente equivalentes a la D-cicloserina incluyen, pero de forma no limitativa, vancomicina, O-carbamoil-D-serina, alafosfina y las haloalaninas.

[0029] Se descubrió que algunos mutantes de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* que son resistentes a la D-cicloserina dieron una textura aumentada cuando crecieron en la leche en comparación con la cepa progenitora mientras se mantenían las demás propiedades de crecimiento de la cepa progenitora.

[0030] Conforme a las sorprendentes conclusiones anteriores, la presente invención en un primer aspecto se refiere a un método para obtener una cepa de bacterias de ácido láctico texturizante dicho método comprendiendo:

a) proporcionar una cepa madre de bacterias de ácido láctico;

b) aislar un mutante de la cepa madre que es resistente a la D-cicloserina (i) y/o (ii) un antibiótico equivalente funcionalmente a la D-cicloserina, es decir un antibiótico que tiene el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina y que inhibe D-alanina-racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa o D-alanina permeasa; y

c) seleccionar el mutante si éste produce más textura, como se determina por la tensión de corte superior y/o rigidez de gel superior, cuando crece en la leche que la cepa madre, obteniendo así unas bacterias de ácido láctico texturizantes.

[0031] Así, el primer aspecto se refiere a un método para obtener un mutante de bacterias de ácido láctico que resultan en mayor tensión de corte y/o rigidez de gel cuando crecen en la leche, dicho método comprendiendo:

a) proporcionar una cepa madre de bacterias de ácido láctico;

b) aislar un mutante de la cepa madre que es resistente a la D-cicloserina (i) y/o (ii) un antibiótico equivalente funcionalmente a la D-cicloserina, es decir un antibiótico que tiene el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina e inhibe D-alanina-racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa o D-alanina permeasa; y

c) seleccionar el mutante si éste produce más textura, como se determina por la tensión de corte superior y/o rigidez de gel superior, cuando crece en la leche que la cepa madre, obteniendo así un mutante de bacterias de ácido láctico que resulta en la tensión de corte aumentada y/o rigidez de gel cuando crece en la leche.

[0032] La producción por un mutante seleccionado de más textura que las cepas madre, como se determina por una tensión de corte superior y/o rigidez de gel superior, ocurre tanto en la leche entera como en la leche baja en grasa.

[0033] En una forma de realización preferida la leche es leche de vaca.

Preferiblemente, la leche es leche de vaca entera.

[0034] En una forma de realización preferida la cepa madre de bacterias de ácido láctico es una bacteria de ácido láctico seleccionada del grupo consistente en *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

Sin embargo, el uso de otras bacterias de ácido láctico, tales como bacterias de *Lactococcus*, spp. *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Brevibacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Propionibacterium* spp., y *Bifidobacterium* spp., son también parte de la presente invención.

[0035] En una forma de realización preferida, los mutantes se obtienen incubando la cepa madre de bacterias de ácido láctico en/sobre un medio de crecimiento que contiene D-cicloserina y/o un antibiótico equivalente funcionalmente a la D-cicloserina y aislar un mutante de la cepa madre que no se mata por la D-cicloserina y/o el antibiótico equivalente funcionalmente a la D-cicloserina o que se mata significativamente más lentamente que la mayoría de las células evaluadas no mutadas.

Sin embargo, la presente invención abarca otras vías conocidas por el experto en aislar mutantes resistentes a la D-cicloserina y/o antibióticos equivalentes funcionalmente a la D-cicloserina.

Por consiguiente, la cepa madre usada en el método del primer aspecto de la presente invención es una cepa que no es resistente (o menos resistente) a la D-cicloserina y/o el antibiótico funcionalmente equivalente a la D-cicloserina.

[0036] En una forma de realización el mutante puede ser un mutante espontáneo resistente a la D-cicloserina y/o un antibiótico equivalente funcionalmente a la D-cicloserina.

5 [0037] En otra forma de realización del método de la invención puede comprender un paso de mutagenización (por ejemplo, por tratamiento químico o tratamiento de radiación, o por medio de técnicas de ingeniería genética) de la cepa madre, por ejemplo antes o durante el paso B.

10 [0038] Así, en una forma de realización el mutante se puede obtener por mutagénesis de la cepa madre mediante por ejemplo tratamiento químico o tratamiento de radiación, o un mutante obtenido mediante técnicas de ingeniería genética.

[0039] Por "textura" o "sensación en la boca" se entiende la interacción física y química del producto en la boca.

15 Métodos para la determinación de la textura de la leche incluyen medición de la tensión de corte (viscosidad) o rigidez de gel de la leche fermentada y están disponibles fácilmente y son conocidos en la técnica y ejemplificados aquí.

20 [0040] El mutante es seleccionado, en la etapa c), si éste produce más textura, como se determina por la tensión de corte superior y/o rigidez de gel superior, en la leche fermentada que la cepa madre cuando se inocula en la misma cantidad que la cepa madre, tal como en una cantidad de al menos 10^4 células por ml.

25 [0041] En una forma de realización preferida, el mutante genera una viscosidad en la leche medida como tensión de corte en 300 1/s (Pa) que es al menos aproximadamente 5% más alta, al menos aproximadamente 10% más alta, al menos aproximadamente 15% más alta, al menos aproximadamente 20% más alta, al menos aproximadamente 25% más alta, al menos aproximadamente 30% más alta, al menos aproximadamente 35% más alta, al menos aproximadamente 40% más alta, al menos aproximadamente 50% más alta, que la viscosidad generada por la cepa madre.

30 [0042] En otra forma de realización preferida, el mutante genera una rigidez de gel en la leche que es al menos aproximadamente 5% más alta, al menos aproximadamente 10% más alta, al menos aproximadamente 15% más alta, al menos aproximadamente 20% más alta, al menos aproximadamente 25% más alta, al menos aproximadamente 30% más alta, al menos aproximadamente 35% más alta, al menos aproximadamente 40% más alta, al menos aproximadamente 50% más alta, que la rigidez de gel generada por la cepa madre.

40 [0043] Preferiblemente, el mutante genera una viscosidad en la leche de vaca entera a la que se añade 2% de leche desnatada en polvo mayor de aproximadamente 10^5 Pa medido como tensión de corte en 300 1/s (Pa) después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y mayor de aproximadamente 75 Pa como tensión de corte en 300 1/s (Pa) después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Streptococcus thermophilus*.

45 [0044] En una forma de realización preferida, el mutante genera una rigidez de gel en la leche de vaca entera a la que se añade 2% de leche desnatada en polvo mayor de aproximadamente 80 Pa después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y más de aproximadamente 140 Pa después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Streptococcus thermophilus*.

55 [0045] El método de la invención permite obtener una cepa de bacterias de ácido láctico texturizantes, por ejemplo una cepa de bacterias de ácido láctico que generan una viscosidad en la leche de vaca entera a la que se añade 2% de leche desnatada en polvo mayor de aproximadamente 10^5 Pa medido como tensión de corte en 300 1/s (Pa) después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y más de aproximadamente 75 Pa medido como tensión de corte en 300 1/s (Pa) después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Streptococcus thermophilus*.

60 [0046] La cepa de bacterias de ácido láctico puede generar una rigidez de gel en la leche de vaca entera a la que se añade 2% de leche desnatada en polvo mayor de aproximadamente 80 Pa después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y más de aproximadamente 140 Pa después de 12 horas de crecimiento en la leche a 37°C cuando se inocula en una cantidad de al menos 10^4 células por ml de leche en el caso de cepas de *Streptococcus thermophilus*.

[0047] En un segundo aspecto la presente invención se refiere a una cepa de bacterias de ácido láctico perteneciente a la especie de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, seleccionada del grupo consistente en: cepa CHCC12944, que fue depositada con Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24019, cepa CHCC12945, que fue depositada con Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24020, y mutantes y variantes de cualquiera de estos.

Los mutantes y variantes muestran la tensión de corte y/o características de rigidez de gel de las cepas depositadas de las cuales han sido derivados.

[0048] En un tercer aspecto la presente invención se refiere a una cepa de bacterias de ácido láctico de la especie *Streptococcus thermophilus*, seleccionada del grupo consistente en: cepa CHCC13235, que fue depositada con Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24010, cepa CHCC13236, que fue depositada con Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24011, y mutantes y variantes de cualquiera de estos.

Los mutantes y variantes muestran la tensión de corte y/o características de rigidez de gel de las cepas depositadas de donde han sido derivados.

[0049] En un cuarto aspecto la presente invención concierne una composición que comprende una cepa de bacterias de ácido láctico según el segundo al tercer aspecto de la presente invención.

[0050] En una forma de realización de la presente invención la composición comprende, bien como una mezcla o como un conjunto de partes:

i I) una cepa de la especie *Streptococcus thermophilus* según el tercer aspecto de la invención; y

ii) una cepa de la especie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* según el segundo aspecto de la invención.

[0051] La composición en una forma de realización preferiblemente comprende al menos 10^9 CFU (unidades formadoras de células) de una cepa de la especie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; y al menos 10^{10} CFU de una cepa de la especie *Streptococcus thermophilus*.

La composición en otra forma de realización comprende al menos 10^{11} CFU (unidades formadoras de células) de una cepa de la especie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; y al menos 10^{12} CFU de una cepa de la especie *Streptococcus thermophilus*.

[0052] La composición en una forma de realización preferida puede ser ventajosamente utilizable como un cultivo iniciador, y está en forma congelada, liofilizada o líquida.

[0053] La presente invención en un quinto aspecto se refiere a un método para producir un producto lácteo, tal como un producto de leche fermentada, que comprende fermentar un sustrato de leche con una cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera del segundo al tercer aspecto de la presente invención o una composición según el cuarto aspecto de la presente invención, obteniendo así un producto lácteo.

[0054] El producto lácteo producido por este método así comprende la cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera del segundo al tercer aspecto de la presente invención o las cepas de bacterias de ácido láctico de la composición según el cuarto aspecto de la presente invención, respectivamente.

[0055] En el método, el sustrato de leche se puede fermentar con una cepa de la invención, tal como una cepa de la especie *Streptococcus thermophilus* antes, durante, o después de la fermentación con una cepa de la invención, tal como una cepa perteneciente a una especie de *Lactobacillus*.

[0056] Además, el método puede incluir añadir una enzima al sustrato de leche antes, durante y/o después de la fermentación, tal como una enzima seleccionada del grupo consistente en: una enzima capaz de reticular proteínas, transglutaminasa, una proteasa aspártica, quimosina, y cuajo.

[0057] En un sexto aspecto la presente invención concierne un producto lácteo, tal como un producto de leche fermentada (por ejemplo, yogur o suero de leche) o un queso (por ejemplo, queso fresco de pasta filata), que comprende la cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera del segundo al tercer aspecto de la presente invención.

[0058] El producto lácteo puede opcionalmente comprender un ingrediente seleccionado del grupo consistente en: un concentrado de fruta, un jarabe, un cultivo bacteriano probiótico, un agente colorante, un agente espesante, un agente aromatizante, y un agente conservante; y/o que está opcionalmente en forma de un producto de tipo agitado, un producto tipo preparado, o un producto bebible.

[0059] En un séptimo aspecto la presente invención se refiere al uso de una cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera del segundo al tercer aspecto para la producción de un producto de leche fermentada.

5 [0060] La presente invención se ilustra con mayor detalle por los siguientes ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

10 Ejemplo 1: Uso de D-cicloserina para aislar mutantes en el *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* con propiedades reológicas mejoradas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas

[0061]

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* CHCC13995

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* CHCC12944 (mutante resistente a la D-cicloserina de CHCC13995)

20 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CHCC12945 (mutante resistente a la D-cicloserina de CHCC13995)

Aislamiento de mutantes

25 [0062] Para aislar mutantes de la cepa de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CHCC13995, células derivadas del crecimiento de una colonia individual fueron inoculadas en caldo MRS conteniendo en el rango de 50-100 µg/ml de D-cicloserina y crecidas hasta la saturación.

Las células fueron diluidas y colocadas en placas MRS y las colonias fueron seleccionadas en placas de microtitulación por la capacidad de crecer en presencia en el rango de 50-100 µg/ml de D-cicloserina.

30 Típicamente, 25% de las colonias resultantes fueron identificadas como cultivadores rápidos en presencia de D-cicloserina.

Estos fueron elegidos para el estudio adicional.

Los mutantes resistentes a la D-cicloserina seleccionados fueron además purificados y evaluados por su capacidad para crecer en la leche.

35 Durante este trabajo se observó que algunos de los mutantes produjeron considerablemente más textura que la cepa progenitora bajo estas condiciones.

Reología

40 [0063] Un análisis reológico fue hecho en un reómetro StressTech de ReoLogica Instruments AB, Suecia, después del crecimiento en leche de vaca entera con 2% de leche desnatada en polvo adicionada.

RESULTADOS

45 [0064] Dos derivados mutantes de CHCC13995, designados CHCC12944 y CHCC12945, produjeron significativamente más textura con una tensión de corte (viscosidad) aumentada al igual que rigidez de gel que la cepa madre.

Esto fue muy evidente solo con la agitación de una pipeta en la leche fermentada.

50 Además, se observó que la cantidad de lactosuero entre los distintos mutantes era diferente y éste se volvió uno de los parámetros usados para seleccionar los mutantes para un estudio adicional (véase la tabla 1 siguiente).

Los mutantes seleccionados fueron los que mostraron un nivel bajo de sinéresis: mutante 1 y mutante 11 en el ejemplo siguiente (tabla 1) corresponde a los mutantes CHCC12944 y CHCC12945, respectivamente.

55 Tabla 1: Mutante 1 y mutante 11 fueron elegidos entre los 20 mutantes, por el bajo volumen de lactosuero producido. Las filas vacías son mutantes que no coagularon la leche. Los 2 mutantes fueron designados CHCC12945 y CHCC12944, respectivamente.

Mut.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ml	4	16	-	17	8	8	10,5	22	-	16	7	5	15	32	11	-	16	20	-	-

60 [0065] Las pruebas de reología reales sostienen la observación de grosor aumentado (tabla 2 y figura 2 y 3). El aumento en la rigidez de gel de los mutantes CHCC12945 y CHCC12944 es entre 52% y 59%.

La tensión de corte es también más alta pero no tanto como para la rigidez de gel (Tabla 2 y Figuras 2 y 3).

Tabla 2

Muestra	Tensión de corte a 300 1/s (Pa)	Rigidez de gel a 1 HZ (Pa)
CHCC13995	99	58.55
CHCC12945	108.5	93.20
CHCC12944	108	89.05

ml de lactosuero después del crecimiento durante 24 horas en 100 ml de leche-B a 43°C

- 5 [0066] Una cuestión es la reología mejorada, pero los mutantes serían menos atractivos si otras propiedades importantes tales como la acidificación fueran afectadas.
El perfil de acidificación al crecer en la leche de vaca de entera con 2% de leche desnatada en polvo adicional a 43°C es el mismo para los mutantes elegidos en cuanto a la cepa madre pertinente (figura 1).

10 CONCLUSIÓN

[0067] Los mutantes de D-cicloserina de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* descritos aquí se pueden incorporar en un cultivo, tal como un cultivo iniciador, que produce un nivel alto deseable de textura.

- 15 Ejemplo 2: uso de D-cicloserina para aislar mutantes en *Streptococcus thermophilus* con propiedades reológicas mejoradas.

MATERIALES Y MÉTODOS

20 Cepas

[0068]

Streptococcus thermophilus CHCC13994

Streptococcus thermophilus CHCC13236 (mutante resistente a la D-cicloserina de CHCC13994)

- 25 *Streptococcus thermophilus* CHCC13235 (mutante resistente de D-cicloserina de CHCC13994)

Aislamiento de mutantes:

- 30 [0069] Para aislar mutantes de *Streptococcus thermophilus* CHCC13994. Células derivadas del crecimiento de una colonia individual fueron inoculadas en caldo de lactosa M17+2% que contienen en el rango de 50-70 µg/ml D-cicloserina y crecieron hasta la saturación.

Las células fueron diluidas y colocadas en placas de lactosa M17+2% y las colonias fueron escogidas y seleccionadas en placas de microtitulación por la capacidad de crecer en presencia en el rango de 50-70 µg/ml de D-cicloserina.

- 35 Típicamente, el 25% de las colonias resultantes fueron identificadas como productores rápidos en presencia de D-cicloserina.

Estos fueron elegidos para otro estudio.

Los mutantes resistentes a la D-cicloserina fueron además purificados y evaluados por su capacidad para crecer en la leche.

- 40 Durante este trabajo se observó si algunos de los mutantes produjeron considerablemente más textura que la cepa progenitora bajo estas condiciones.

La cantidad de suero de leche fue también medida como indicación de alta o baja rigidez de gel.

Reología

- 45 [0070] Un análisis reológico fue hecho en un reómetro StressTech de ReoLogica instruments AB, Suecia, después del crecimiento en leche de vaca entera con 2% leche desnatada en polvo adicionada.

RESULTADOS

- 50 [0071] Dos derivados mutantes de CHCC13994, designados CHCC13235 y CHCC13236, produjeron más textura que la cepa madre.

Esto fue muy evidente justo por la agitación de una pipeta en la leche fermentada.

- 55 Además, se observó que la cantidad de suero de leche difirió entre los varios mutantes y éste se volvió uno de los parámetros usados para seleccionar los mutantes para otro estudio (ver tabla 3 a continuación).

Los mutantes seleccionados, n° 9 y n° 13 en la tabla 3, fueron dos mostrando un nivel bajo de sinéresis.

Los 2 mutantes fueron designados CHCC13236 y CHCC13235, respectivamente.

Tabla 3: 2 mutantes n° 9 y n° 13 fueron elegidos entre los 20 mutantes

Mut.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ml	12	20	10	5,5	7	10	7,5	12	7	22	6,5	-	6,5	7	7,5	6	10	10	5	6

- 60 ml después del crecimiento durante 24 horas en 50 ml de leche B a 37°C.

[0072] Las pruebas de reología reales sostienen la observación de grosor aumentado (figura 4 y figura 5). El mutante CHCC13236 tuvo un 15% de aumento en la tensión de corte y 19% en la rigidez de gel, donde como mutante CHCC13235 solo mostró un aumento en la rigidez de gel (23%) (tabla 4).

5

Tabla 4

Muestra	Tensión de corte a 300 1/s (Pa)	Rigidez de gel a 1 HZ (Pa)
CHCC13994	69.6	136.6
CHCC13236	79.7	162.5
CHCC13235	64.9	167.3

[0073] Con respecto a la acidificación, el perfil es el mismo para los mutantes elegidos que para la cepa madre pertinente (datos no mostrados).

10

CONCLUSIÓN

[0074] Los mutantes de D-cicloserina de *Streptococcus thermophilus* descritos aquí se pueden incorporar en un cultivo, tal como un cultivo iniciador, que produce un nivel alto deseable de textura.

15

Ejemplo 3: uso de mutantes de D-cicloserina de *S. thermophilus* y *Lb. delbrueckii* subsp *bulgaricus* para la preparación de un producto de leche fermentada.

[0075] Se hizo yogur con una combinación de *S. thermophilus* y *Lb. Delbrueckii* subsp *bulgaricus*, mezclada en una proporción 9:1 y se inoculó en leche de vaca entera con el 2% de leche desnatada en polvo adicionada.

20

Una mezcla comprendió las cepas originales CHCC13994 y CHCC13995; una segunda comprendió el mutante de D-cicloserina de *S. Thermophilus* CHCC13236 y mutante de D-cicloserina de *Lb. delbrueckii* subsp *bulgaricus* CHCC12945 y una tercera comprendió el mutante de D-cicloserina de *S. thermophilus* CHCC13235 y el mutante de D-cicloserina de *Lb. Delbrueckii* subsp *bulgaricus* CHCC12945.

25

La comparación de los perfiles de acidificación entre las tres combinaciones mostraró que las mezclas con dos mutantes tuvieron un pH final ligeramente más alto que la combinación con las cepas originales (datos no mostrados).

La agitación con una cuchara mostró que los productos hechos con los mutantes de D-cicloserina tuvieron una resistencia visiblemente aumentada a la agitación en comparación con el producto con las cepas originales.

30

Adicionalmente, se consideró que el yogur resultante tenía una textura más cremosa y un sabor más fresco cuando se evaluó por tres personas.

35

DEPÓSITOS y SOLUCIÓN EXPERTA

[0076] Las cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CHCC12944; CHCC12945 y CHCC13995 fueron depositadas a DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Alemania) bajo los números de registro DSM 24019, DSM 24020, y DSM 24021, respectivamente, el 22 de septiembre de 2010.

40

[0077] Las cepas de *Streptococcus thermophilus* CHCC13235; CHCC13236, y CHCC13994 fueron depositadas en DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Alemania) bajo los números de registro DSM 24010, DSM 24011, y DSM 24012, respectivamente, el 22 de septiembre de 2010.

45

[0078] Los depósitos han sido hechos bajo las condiciones del Tratado de Budapest en el reconocimiento internacional del depósito de microorganismos para los fines de procedimiento de patente.

[0079] El solicitante pide que una muestra de los microorganismos depositados debería estar disponible solo para un experto aprobado por el solicitante.

50

REFERENCIAS

[0080]
Tytgat et al. (2009), Curr. Med. Chem. 16(20): 2566-2580.
Cáceres et al. (1997), J. Bacteriol. 179: 5046-5055.
Holtje (2004), The Desk Encyclopedia of Microbiology: 239-258.

55

REIVINDICACIONES

1. Método para obtener una cepa de bacterias de ácido láctico texturizantes, dicho método comprende:
 - a) proporcionar una cepa madre de bacterias de ácido láctico;
 - b) aislar un mutante de dicha cepa madre que es resistente a (i) D-cicloserina y/o (ii) un antibiótico que tiene el mismo modo de acción o el mismo objetivo que D-cicloserina y que inhibe D-alanina-racemasa, D-alanil-D-alanina ligasa, D-alanilalanina sintasa o alanina-D permeasa; y
 - c) seleccionar dicho mutante si éste produce más textura como se determina por tensión de corte superior y/o rigidez de gel superior cuando crece en la leche que la cepa madre cuando crece en dicha leche.
2. Método según la reivindicación 1, donde dicho mutante se selecciona en c) si éste produce una tensión de corte que es al menos aproximadamente 5% mayor que la tensión de corte producida por la cepa madre.
3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde dicho mutante se selecciona en c) si éste produce una rigidez de gel que es al menos aproximadamente 5% mayor que la rigidez de gel producida por la cepa madre.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la etapa b) comprende incubar dicha cepa madre de bacterias de ácido láctico en/sobre un medio de crecimiento que contiene D-cicloserina y/o un antibiótico con el mismo modo de acción o el mismo objetivo que D-cicloserina, y aislar un mutante de dicha cepa madre que no se mata por la D-cicloserina y/o el antibiótico con el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el mutante es un mutante espontáneo.
6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además mutagenizar dicha cepa madre antes o durante el paso b).
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde dicha cepa madre de bacterias de ácido láctico es una cepa seleccionada del grupo que consiste en *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bugaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
8. Cepa de bacterias de ácido láctico de la especie *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, seleccionada del grupo que consiste en la cepa CHCC12944, que fue depositada con el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24019, y la cepa CHCC12945, que fue depositada con el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24020,.
9. Cepa de bacterias de ácido láctico de la especie de *Streptococcus thermophilus*, seleccionada del grupo que consiste en la cepa CHCC13235, que fue depositada con el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24010, y la cepa CHCC13236, que fue depositada con el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen bajo el número de acceso DSM 24011.
10. Composición que comprende una cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9.
11. Composición según la reivindicación 10 que comprende, bien como una mezcla o como un kit de partes,
 - i) una cepa tal y como se define en la reivindicación 8; y
 - ii) una cepa tal y como se define en la reivindicación 9.
12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 11, que es utilizable como un cultivo iniciador, y está en forma congelada, liofilizada o líquida.
13. Método para producir un producto lácteo, que comprende fermentar un sustrato lácteo con una cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, o una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12.
14. Producto lácteo que comprende una cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9.
15. Uso de una cepa de bacterias de ácido láctico según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9 para la producción de un producto lácteo.

16. Uso de una cepa de bacterias de ácido láctico que es resistente a la D-cicloserina y/o un antibiótico con el mismo modo de acción o el mismo objetivo que la D-cicloserina, para aumentar la textura de un producto lácteo.

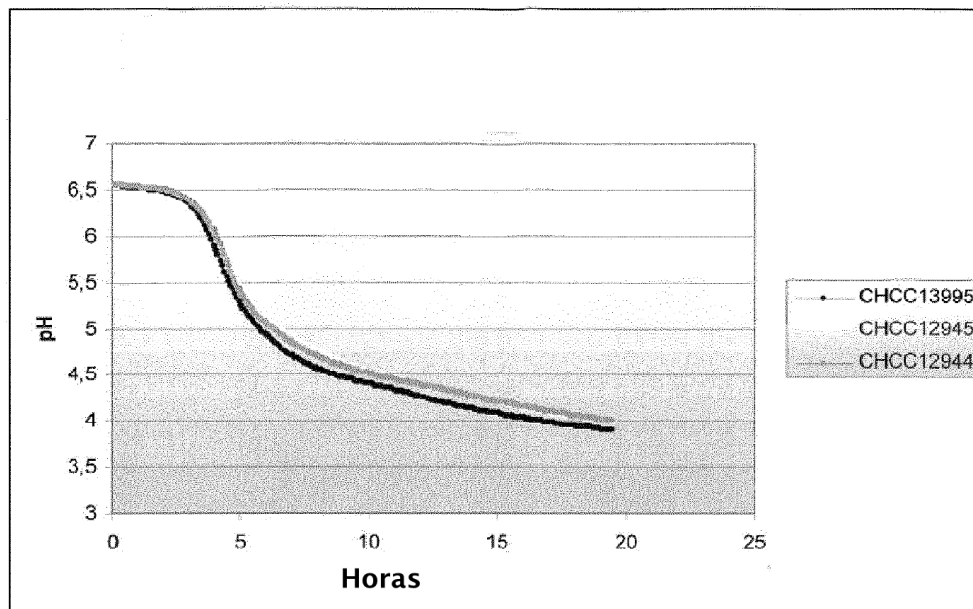


Figura 1

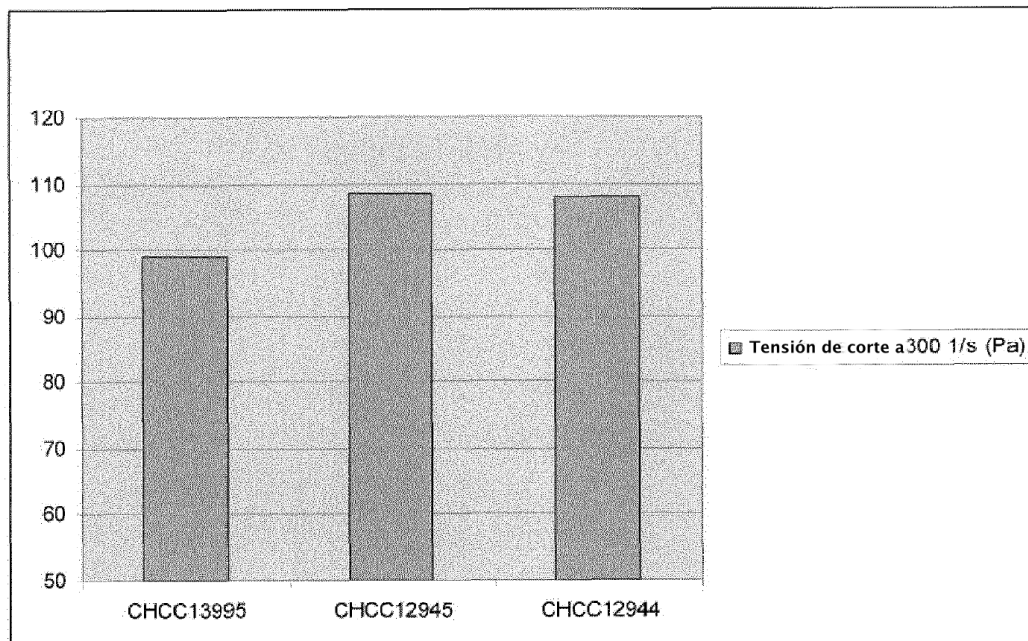


Figura 2

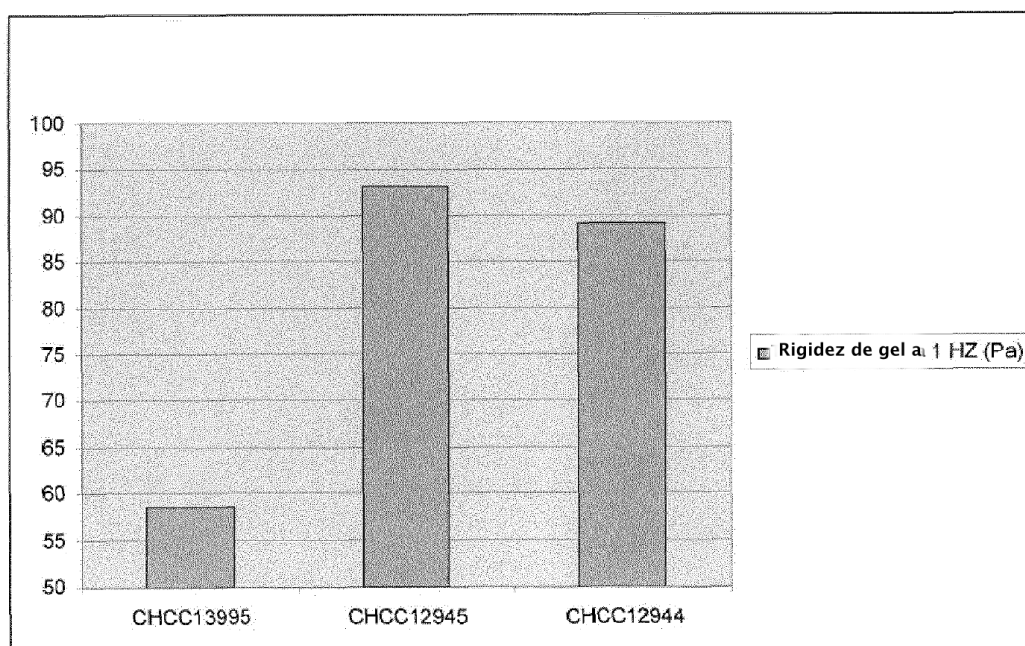


Figura 3

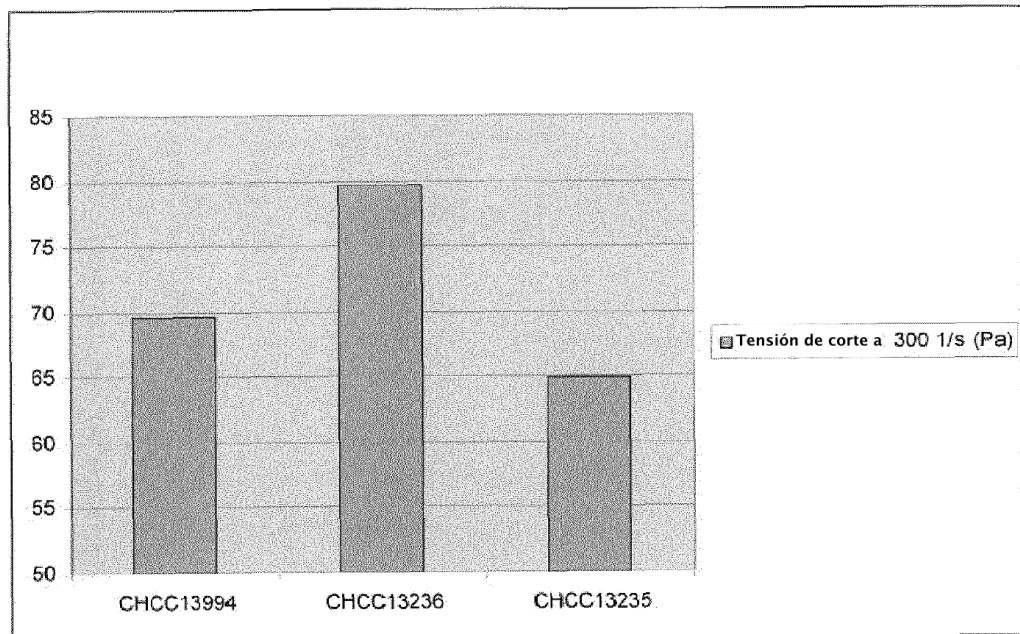


Figura 4

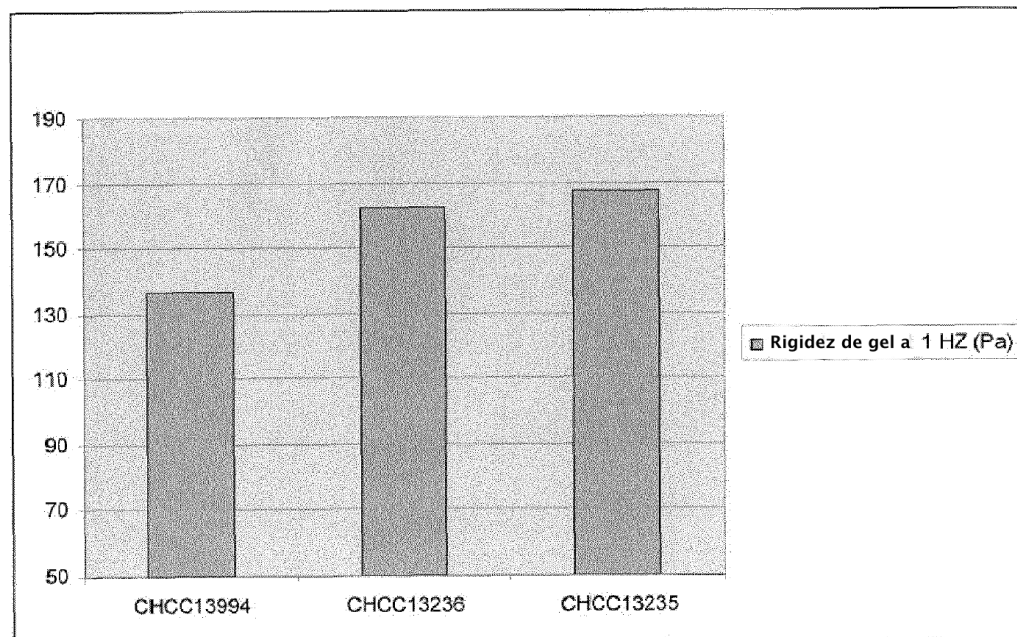


Figura 5